



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 محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : phytopathologie

Thème

Etude de l'effet de quelques huiles essentielles sur la germination des microconidies et des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* f.sp.cicers agent de la fusariose vasculaire de pois chiche (*Cicer arietinum* L).

Présenté par : Kouchit Hasna
Ouarem Nour El Houda
Chiha Zahira

Devant le jury :

Encadrant:	Dahou Moutassem	MAA	(Univ bordj bou arreridj)
président:	Khoudour Abd El malek	MAA	(Univ bordj bou arreridj)
Examineur :	Boumerfeg Sabah	McA	(Univ bordj bou arreridj)

Année universitaire : 2016/2017

Remerciement

*Tout d'abord, grâce à **ALWWAHID** qui me crée, me protège, qui est toujours avec moi. Louanges à **ALLAH**.*

*Nous remercions des fonds des cœurs **Mr Dahou M.** qui a encadré cette étude au quotidien.*

Nous remercions les membres de jury que nous avons l'honneur d'avoir accepté d'évaluer ce travail : Mr Khouidour et Mme Boumerfeg.

*Nous adressent tous mes remerciements **Mr Laazazga.**, Chef département des sciences nature et de vie l'Université de Bordj Bou Arreridj.*

*Le grand remerciement revient au personnel du département et l'équipe du laboratoire Surtout **Madame Wahiba, Mr Khalil***

*Nous voudrais remercions l'ensemble des personnes, qui m'ont aidé, de près ou de loin, à réaliser ce travail. Surtout **Baali Faiza.***

En fin, on exprime nos profonds respects à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ceux qui m'ont aidé et m'ont offert cette occasion

A mes grand parents

A mes parents

A mes frères : Amin, Zakaria

A mes sœurs : Souad, Wahiba, Assia

A mon amie : Widad

A monsieur l'ancadrant

**Et tous les personnes qui me respectent
et qui m'aiment**

Et sutout a moi même.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ceux qui m'ont aidé et m'ont offert cette occasion

A mes grand parents

A mes parents

A mes frères, ma soeur, mes fidèles,
mes camarades, mes amies

A monsieur l'ancadrant

Et tous les personnes qui me respectent
et qui m'aiment

Et sutout a moi même.



Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ceux qui m'ont aidé et m'ont offert cette occasion

A mes parents

A mes frères, ma soeur, mes fidèles,
mes camarades, mes amies

A monsieur l'ancadrant

**Et tous les personnes qui me respectent
et qui m'aiment**

Et sutout a moi même.



Résumé

Le flétrissement vasculaire de pois chiche, causé par *Fusarium oxysporum* f.sp.*ceciris*, est la maladie fongique la plus importante en Algérie. Dans le cadre de recherche de méthode de lutte basé sur des substances naturelles douées d'activité antifongiques, nous avons testé in vitro l'effet des huiles essentielles de trois plantes médicinales (*Thymus pallessens*, *Laurus nobilis*, *Pinus halepensis*,) extraites par hydrodistillation sur la germination des microconidies de FOC in vivo et la gravité de la maladie in vitro. Les résultats obtenus montrent un pouvoir antifongique remarquable contre les spores du Foc dont l'intensité varie en fonction de l'espèce végétale et la concentration. Les observations microscopiques ont montré que les huiles essentielles provoquent des modifications morphologiques figurées par un éclatement, rétrécissement et inhibition partielle ou totale de la germination. Les microconidies de FOC fortement inhibées par les doses élevées des huiles essentielles de *Thymus pallessens* (98.5%) et moyennement inhibé par *Laurus nobilis* (59,1) faiblement inhibé par *pinus halepensis* (6,6%). Les résultats obtenus montrent que l'effet sporicide montrent une activité dose-dépendante. Dont l'efficacité de l'huile augmente significativement avec l'augmentation de la dose. La dose forte est 10000 ppm semble plus intéressent pour l'inhibition de la germination sporale comparée par les autres doses (5000, 2500, 500 et 100). Les huiles essentielles ont montré une diminution très importante de la gravité de la maladie. Les résultats expriment l'activité fongicide *In vivo* consternant l'huile essentielle *Thymus pallessens*. La valeur la plus faible enregistrée est de 30 et la plus élevée 430 pour la concentration C3. En revanche, l'efficacité de l'huile de Pinus est avérée la plus faible. L'analyse dans les plantules traitées par les huiles montre également l'effet remarquable de ces molécules dans l'induction des mécanismes des défenses des plantes. A cet effet, une augmentation dans la production des flavonoïdes et les polyphénols qui sont des molécules antifongiques. A cet effet, le taux plus élevée des polyphénols sont notés chez les plantules traitées par l'huile de *Thymus pallessens* et *Pinus halepensis*. Par contre les taux les plus faibles sont enregistrés chez les plantules traitées par l'huile de *laurus nobilis*.

Les mots clés : activité antifongique, les huiles essentielles, pois chiche, *fusarium oxysporum* f.sp.*ceciri*, *Thymus pallessens*, *Laurus nobilis*, *Pinus halepensis*.

ملخص

ذبول أو عية نبات الحمص والناجمة عن الفيوزاريوم *Fusarium oxysporum f.sp. ceciris* ، هو مرض فطري الأكثر أهمية في الجزائر. في إطار البحث عن طريقة التحكم القائمة على مواد طبيعية ذات نشاط مضاد للفطريات، تم اختبار في المخبر تأثير الزيوت الأساسية من ثلاثة الأعشاب (*Thymus pallessens* L., *Pinus halepensis* Mill., *Laurus nobilis* L) على إنبات أغابير Foc ; و شدة المرض. أظهرت النتائج وجود تأثير ضد ابواغ الفيوزاريوم حسب الأنواع النباتية وتركيز كثافة. كما أظهرت الملاحظات المجهرية أن الزيوت الأساسية تحدث تغيرات مورفولوجية ظهرت من خلال انفجار، تضيق وتنشيط جزئي أو كامل للإنبات. أغابير Foc ثبتت بشدة بسبب جرعات عالية للزيوت الأساسية *Thymus pallessens* (98.5%)، و متوسط التنشيط لدى *Laurus nobilis* (59.1%) و ضعيفة التنشيط من قبل *Pinus halepensis* (6.6%). وأظهرت النتائج أن تأثير مبيد الأبواغ نشاطه يعتمد على الجرعة. فعالية الزيت يزيد بشكل كبير مع زيادة الجرعة. الجرعة هي 1000 ppm تبدو أكثر تأثيرا في تثبيط بوغ إنبات مقارنة مع الجرعات الأخرى. وقد بينت أن الزيوت الأساسية تسبب انخفاضا كبيرا جدا في شدة المرض. من خلال النتائج أظهرت نشاط كبير مضاد للفطريات لدى *thymus pallessens*. القيمة الدنيا سجلت 30 والأعلى 430 بالنسبة ل C3 بينما تأثير *pinus halepensis* هو الأضعف. تحليل الشتلات المعالجة بالزيوت ياكّد تأثير هذه الجزيئات في تحريض آليات الدفاع النباتية. تحقيقا لهذه الغاية، وزيادة في إنتاج مركبات الفلافونويد والبوليفينول التي هي جزيئات المضادة للفطريات. ، فإن المعدل الأعلى لمادة البوليفينول سجل لدى النباتات المعالجة ب *thymus pallessens* و *pinus halepensis*. مقابل أدنى معدل سجل في الشتلات المعالجة ب *laurus nobilis*.

الكلمات المفتاحية: نشاط التضاد، الزيوت الأساسية، الحمص، *fusarium oxysporum f.sp. ceciri*، *thymus pallessens*, *laurus nobilis*, *pinus halepensis*

Abstract

The vascular wilt of chickpea, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp.ceciris, is the most important fungal disease in Algeria. In vitro, we tested the effect of essential oils of three medicinal plants (*Thymus pallessens*, *Laurus nobilis*, *Pinus halepensis*,) extracted by hydrodistillation on The germination of FOC microconidia in vivo and the severity of the disease in vitro. The results obtained show a remarkable antifungal power against the spores of the Foc whose intensity varies according to the plant species and the concentration. Microscopic observations have shown that essential oils induce morphological changes represented by fragmentation, shrinkage and partial or total inhibition of germination. FOC microconidia strongly inhibited by high doses of essential oils of *Thymus pallessens* (98.5%) and moderately inhibited by *Laurus nobilis* (59.1) weakly inhibited by *pinus halepensis* (6.6%). The results obtained show that the sporicidal effect shows a dose-dependent activity. The effectiveness of the oil increases significantly with the increase in the dose. The strong dose is 1000 ppm seems more interesting for the inhibition of sporadic germination compared with the other doses. Essential oils have shown a very significant decrease in the severity of the disease. The results express the in vivo fungicidal activity of the essential oil *Thymus pallessens*. The lowest recorded value is 30 and the highest value 430 for the C3 concentration. On the other hand, the efficiency of *Pinus* oil is the lowest. Analysis in seedlings treated with oils also shows the remarkable effect of these molecules in the induction of plant defense mechanisms. For this purpose, an increase in the production of flavonoids and polyphenols which are antifungal molecules. For this purpose, the higher rate of polyphenols is noted in seedlings treated with *Thymus pallessens* and *Pinus halepensis* oil. On the other hand, the lowest rates are recorded in the seedlings treated with the oil of *laurus nobilis*.

Keywords: antifungal activity, essential oils, chickpea, *fusarium oxysporium* f.sp.ceciri, *Thymus pallessens*, *Laurus nobilis*, *Pinus halepensis*.

Sommaire

Sommaire

Remerciement	
Résumé	
La liste des figures	
La liste des tableaux	
La liste des abréviations	
Introduction	

Chapitre I : la synthèse bibliographique

I.1. Le pois chiche

I.1.1. Généralité.....	3
I.1.2. Origine.....	3
I.1.3. Classification botanique	3
I.1.4. Intérêt de pois chiche.....	4
I.1.4.1. Valeur nutritive.....	4
I.1.4.2. Intérêt agronomique.....	4
I.1.5. Importance du Pois Chiche	4
I.1.5.1. Dans le monde.....	4
I.1.5.2.En Algérie.....	5

I.2. *Fusarium oxysporium*

I.2.1. Généralité.....	5
I.2.3. Répartition géographique.....	6
I.2.4.Position systématique.....	6
I.2.5. Description morphologique.....	6
I.2.6. Cycle de vie.....	7

Chapitre II : matériel et méthode

II. Matériel et méthodes.....	10
II.1. Matériel biologique.....	10
II.1.1. Matériel Végétal.....	10

II.1.2. Matériel fongique.....	10
II.2.Extraction des huiles essentielles et calcul de rendement.....	10
II.3. Les Tests biologiques.....	11
II.3.1.Évaluation de l'activité antifongique <i>In vitro</i>	11
II.3.1.1. Préparation de l'inoculum de Foc.....	12
II.3.1.2. Préparation des concentrations des huiles essentielles.....	12
II.3.2.Évaluation de l'activité antifongique <i>in vivo</i>	12
II.3.2.1.Préparation de l'inoculum du Foc.....	12
II.3.2.2. Préparation des plantules à inoculer	12
II.3.2.3. Préparation des concentrations des huiles et traitement du sol.....	13
II.3.2.4. Exploitation des résultats et analyses statistiques	14
II.4. Analyse de l'effet des huiles essentielles sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes.....	15
II.4.1. Dosage des polyphénols.....	16
II.4. 2. Dosage des flavonoïdes.....	16
II.4.3. Analyses statistiques.....	16

Chapitre III : résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Effet des huiles essentielles sur l'aspect morphologique des spores de Foc	17
III.1.2. Effet des huiles essentielles sur la germination de spores.....	17
III.1.3. Effet des huiles sur le flétrissement vasculaire <i>in vivo</i>	18
III.1.4. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	21
III.2. Discussion	23

Conclusion

Référence

annexe

Liste des Figures

Figure 01 : L'évolution des superficies du pois chiche par apport aux autres légumineuses.

Figure02: Cycle biologique de *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici.

Figure 03: dispositif d'hydrodistillation.

Figure 04 : Modifications provoquées par les huiles essentielles sur les spores de Foc.

Figure 05 : Étude comparative des taux d'inhibition de la germination des HEs.

Figure 06: Effet des huiles essentielles sur le flétrissement vasculaire in vivo.

Figure 07 : L'effet des huiles essentielles in vivo sur le flétrissement vasculaires du pois chiche.

Figure 08: Étude comparative des taux d'inhibition de la germination des Hs de trois plantes en fonction : a- l'espèce végétales et b- la concentration de l'huile.

Liste des tableaux

Tableau I. Présentation des plantes médicinales récoltées.

Tableau II : Effet des huiles essentielles sur la germination des spores de Foc.

La Liste d'abréviation

AUDPC : the area under the disease progress curve

FAO: Food and Agriculture Organisation.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

f.sp :Forme spécialisée .

HE : Huile essentielle

ICARDA: International Center for Agricultural Research in Dry Areas.

ICRISAT: International Crops Research For The Semi-Arid Tropics ;Hyderabad ;India .

ILC : International Legume *Cicer*.

ITGC : Institut Technique des Grandes Cultures.

Gr : gramme.

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

MHE : Quantité d'extraits récupérée en g.

MS : Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

µm : micromètre.

Pc : Pois chiche.

PDB: Potato Dextrose Broth .

Ppm : Partie par million.

R : Rendement.

T : témoin.

BBA : Bordj Bou Arreridj

Introduction

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est l'une des plus importantes légumineuses alimentaires cultivées dans le monde ; il occupe la 3ème place après le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) et le pois (*Pisum sativum* L.) (Sharma et al., 1994). En Algérie, le pois chiche est la seconde légumineuse alimentaire après la fève (Hamadache et Ait Abdallah, 1998).

Le pois chiche est une excellente source de protéines pour les populations humaines avec une teneur de 25.3 % - 28.9 % du poids du grain, riche également en fibres, en glucides complexes, en vitamines et en minéraux (Muehlbauer et Tullu, 1997 ; Mac Michael, 2001) ; il est utilisé aussi dans l'alimentation animale.

Dans les pays du pourtour méditerranéen, les légumineuses à grosses graines sont confrontées à de nombreux problèmes phytosanitaires dont les plus dommageables sont causés par des champignons. En Algérie, notamment dans le monde la fusariose causée par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *ceciris*, est la maladie la plus redoutable sur la culture de pois chiche, (Bouznad et al., 1998). Ce pathogène, constitue une menace pesante sur la culture de pois chiche, et considérés comme les plus importants facteurs limitant de la production de pois chiche (Jiménez-Gasco et al., 2004).

En effet, la fusariose du pois chiche est une maladie définie par un caractère épidémique monocyclique entraînée par l'inoculum primaire présent dans le sol. L'agent responsable, survit dans le sol même en absence du pois chiche pour plus de six ans (Haware et al., 1986 ; Nene, 1981). Cependant, la quantité et la qualité d'inoculum de Foc est un facteur épidémique influence le déclenchement et l'intensité de la maladie (Suresh et al., 2014).

La lutte chimique constitue la principale mesure pour réduire l'incidence de la maladie. Cependant, l'application de ces produits chimiques synthétiques augmente le risque de résidus toxiques. Ces substances provoquent à la fois des problèmes toxicologiques et écologiques. En plus, de nombreux travaux indiquent l'apparition des résistances des champignons vis-à-vis de ces substances chimiques.

Dans la recherche des méthodes de lutte alternatives, le règne végétal offre beaucoup de possibilité. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études.

C'est dans cette perspective que nous avons essayé d'étudier l'action de quelques huiles essentielles des plantes médicinales principalement sur la croissance des champignons de flétrissement et détérioration de pois chiche comme substances naturelles alternatives des produits chimiques. Les plantes testées sont *Laurus nobilis* L., *Pinus halepensis* Mill. et *Thymus pallessens*. Alors, l'objectif du présent travail est de tester, l'activité antifongique des extraits bioactifs, dont les principaux objectifs de ce travail consistent à :

- L'étude de l'effet antifongique in vitro des huiles essentielles de ces plantes sur la faculté germinative des spores de Foc par la méthode d'incorporation direct dans le milieu de culture PDA.
- Tester l'efficacité fongicide in vivo des huiles essentielles par le traitement des plantules de pois chiche inoculées par le Foc par les huiles essentielles de différentes plantes et différentes concentrations.

Le premier chapitre de ce document présente des généralités sur le pathosystème pois chiche agent pathogène. Le matériel et les méthodes adoptées seront présentés dans le deuxième chapitre. Les résultats et discussions sont représentés dans le troisième chapitre. Ce document est achevé par une conclusion générale.

I.1. Le pois chiche

I.1.1. Généralité

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une plante de la famille des Fabacées (ou légumineuses), voisine du petit pois mais d'un genre botanique différent. Il est cultivé dans les régions méditerranéennes et produit une graine comestible. Il est connu par sa haute teneur en glucides assimilables et son pourcentage élevé en protéines végétales.

Son nom latin d'espèce *arietinum* fait référence à la forme de la graine en tête de bélier (*aries*) flanquée de ses cornes. C'est un pois de la taille moyenne, rond et terminé en pointe. Il est très parfumé et conserve sa forme à la cuisson (environ 1 heure). Ses principaux constituants sont les lipides, les substances azotées, l'amidon, les sucres, les sels minéraux (phosphore, potassium, magnésium, calcium, sodium, silice), l'oxyde de fer, de l'arsenic, de l'asparagine, et les vitamines B et C (Laumont et Chevassus, 1956 ; Labdi, 1990).

I.1.2. Origine

Le pois chiche est probablement originaire du Proche-Orient (Sud-est de la Turquie, Syrie) où trois espèces annuelles sauvages de pois chiches existent encore dans cette région. On dit souvent que le pois chiche a conquis l'Europe durant le Moyen Âge après que les croisés l'eurent redécouvert au Proche-Orient, mais sa culture et sa consommation sont en réalité attestées bien avant, au moins dès le IX^e siècle, par des sources écrites et archéologiques. Le pois chiche est arrivé en Inde il y a seulement deux siècles en passant d'abord par l'Afghanistan.

Le nom hindi des pois chiche est Kabulichana (chana=pois chiche). Les variétés à petites graines sont appelées Desi (locale) (Kechache, 2005).

I.1.3. Classification botanique

Règne: Plantae.

Sous-règne: Trachiobionta (plantes vasculaires).

Embranchement: spermatophyta (plantes à graines).

Classe: magnoliopsida. (Ou Dicotylédones).

Sous Classe: rosidae.

Ordre : fabales.

Famille: Légumineuses.

Genre: *Cicer*.

Espèce: *Cicer arietinum* L.

Nom commun : Pois chiche. (USDA ,2008).

I.1.4. Intérêt de pois chiche

I.1.4.1. Valeur nutritive

Le pois chiche est une plante destinée à l'alimentation humaine. Sa valeur nutritive est importante grâce à ses grains qui sont riches en protéine, de l'ordre de 20 à 25%. Certaines lignées peuvent atteindre jusqu'à 28.9% (Van Der Maesen, 1972) et qui sont caractérisées par une faible quantité de matière grasse et ne contiennent pas de cholestérol. Le pois chiche présente un excellent équilibre en acides aminés essentiels. Aussi, il est riche en calcium, en phosphore, en vitamine B1 et B2 et en fibres alimentaires (Baumgartner, 1998). Il peut constituer un élément énergétique et protéique pour le bétail, car il présente une bonne digestibilité.

I.1.4.2. Intérêt agronomique

Le pois chiche est une légumineuse présentant des nodosités racinaires hébergeant des bactéries qui ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique et le restituer au sol. Cette symbiose avec *Rhizobium ciceri* enrichit le sol en azote, renforçant sa fertilité et améliorant les rendements (Plancquaert et Wery, 1991).

I.1.5. Importance du Pois Chiche

I.1.5.1. Dans le monde

Selon FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) et en anglais (Food and Agriculture Organisation), les grands pays producteurs du pois chiche sont les suivants :

L'Inde est non seulement le plus important de légumineuses alimentaires au monde , mais également le plus important consommateur.

Canada est devenu en 2000-2001 un important exporteur de pois chiches, avec des exportations évaluées à 106 millions de dollars .

La production mondiale est estimée à environ 7 millions de tonnes pour une superficie de 10 millions d'hectares .Mais selon les estimations, les superficies étaient très limitées en 2003, elles étaient de l'ordre de 9900 kha jusqu'au 2006 ont atteint 10800 kha Au cours de ces dernières années la production mondiale a connu de hauts et des bas allant de 6,7 million de tonnes (MT) en 2000-2001 à 9,5 MT en 1998-1999.

I.1.5.2. En Algérie

Le pois chiche en Algérie occupe la 2ème position après la fève dans la période entre 1994-2008 comme il est indiqué dans la figure 8 d'une superficie de 19290 en 1994 à 4600 en 2008 (fig 02). (ITGC., 2003).

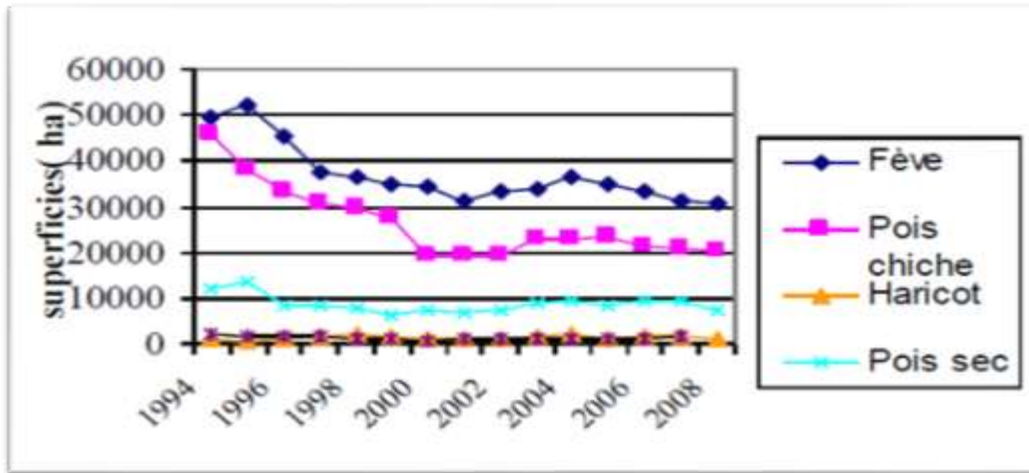


Figure 01 : L'évolution des superficies du pois chiche par rapport aux autres légumineuses (ITGC., 2009).

I.2. *Fusarium oxysporum*

I.2.1. Généralité

Fusarium oxysporum est une espèce fréquente parmi les *Fusarium* du sol, elle peut représenter jusqu'à 70% des isollements de *Fusarium* est couramment dénombrée à 10^3 propagules/g de sol (Messiaen et Cassini, 1981 ; Larkin *et al.*, 1993 ; Ocamp et Juzwik, 1995). C'est une espèce essentiellement saprophyte, mais elle a pourtant un rôle de premier plan en pathologie végétale. Elle comprend en effet des agents pathogènes responsables de dégâts importants dans de nombreuses cultures, telles que les cultures florales (œillet, cyclamen) et maraîchères sous serres (tomate, melon, concombre), les palmeraies et bananeraies, et les cultures de coton et de lin (Nelson *et al.*, 1981).

Certaines souches pathogènes provoquent des symptômes de pourriture racinaire. Mais la plupart des *F. oxysporum* pathogènes sont responsables de trachéomycose, maladie qui affecte le système vasculaire des plantes. On parle alors de fusariose vasculaire. Le mycélium colonise les tissus corticaux puis pénètre dans le cylindre central des racines, avant d'envahir l'ensemble des vaisseaux. L'infection entraîne un jaunissement des feuilles d'abord unilatéral puis généralisé, et aboutit au flétrissement, au dessèchement, et enfin à la mort de la plante.

I.2.3. Répartition géographique

Le flétrissement vasculaire des pois chiches a été découvert pour la première fois en Inde, il a ensuite propagé dans les pays du monde répartis à travers les quatre continents. En effet, la maladie a été signalée dans la majorité des pays producteurs de pois chiche : parmi laquelle USA, Maroc, Tunisie, Turquie, Argentine, Iran. (akhtarayoub, 2001)

En Algérie, et à travers les prospections réalisées par l'ITGC (institut technique des grandes cultures) en 1987 en collaboration avec l'ICARDA (international center for agriculture in the Dry areas), cette maladie s'est avérée assez fréquente, elle a été détectée dans les régions de Tieret, Constantine, Sidi bel Abbas et Guelma. (Kaouani et al., 2003).

I.2.4. Position systématique

Les nombreuses controverses dans les études taxonomiques du genre *Fusarium* ont peu concerné l'espèce *F. oxysporum*. En effet, Snyder et Hansen (1940) ont montré que les différences morphologiques décrites par (Wollenweber et Reinking, 1935) pour distinguer plusieurs espèces dans la section *Elegans* n'étaient que des variations culturelles d'une même espèce, appelée *F. oxysporum*. La plupart des systèmes taxonomiques proposés ultérieurement ont maintenu *F. oxysporum* comme espèce unique dans la section *Elegans*. La seule controverse qui subsiste concerne la position taxonomique de *F. redolens*, considérée comme une espèce (Wollenweber et Reinking, 1935 ; Gerlach et Nirenberg, 1982) ou comme une variété de *F. oxysporum* (Booth, 1971 ; Nelson et al, 1983). Cependant, des données récentes tendent à définir *F. redolens* comme une espèce à part entière (Waalwijk et al, 1996; Baayen et al., 1997 ; O, Donnell et al., 1998).

Le système Saccardo de classification des champignons imparfaits « fungi imperfecti » (Henni, 1998) classe *Fusarium* comme suit:

- Embranchement des Thallophytes.
- Classe des Deutéromycètes.
- Ordre des Monodiales.
- Famille des Tuberculariacées.
- Genre *Fusarium*.
- Espèce *oxysporum*

I.3.5. Description morphologique

Au niveau macroscopique, l'aspect cultural de *F. oxysporum* sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) correspond à un mycélium aérien de croissance rapide, et de couleur variable allant du blanc au rose ou violet. Cependant, l'aspect des souches de *F. oxysporum* peut fréquemment varier d'une culture à l'autre après des repiquages successifs, voire dans une même culture où des sections de couleurs ou d'aspects différents peuvent apparaître (Burnett, 1984 ; Windels, 1992).

Au niveau microscopique, *F. oxysporum* se caractérise par :

Microconidies abondantes généralement monocellulaires, ovales ou réniformes, produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides courts.

Macroconidies fusiformes, également abondantes, comportent quatre à six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied

Les chlamydospores sont présentes, solitaires ou en paires, lisses ou rugueuses, globuleuses terminales ou intercalaires de 5 à 15 µm de diamètre (Komi, 1993), se sont des organes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région conidie qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée.

Les organes massifs producteurs de spore ; sont deux types. La sporodochie, est un organe fructifère forme d'axes ramifiés porteurs à leur extrémité les monophialides donnant naissance aux macroconidies. Les sporodochies peuvent être dispersées dans le mycélium aérien et invisible à l'œil nu dans les cultures. Lorsque les sporodochies sont rassemblées, elles apparaissent sous forme de pustules de quelques millimètres de diamètre visible à l'œil nu (Henni, 1998).

I.2.6. Cycle de vie

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en l'absence de la plante-hôte, ils mènent une vie saprophyte sur des débris végétaux et les matières organiques. Les *Fusarium* sont très abondants dans le sol, les isolements effectués indiquent qu'un gramme du sol renferme près de 100.00 propagules (Smith, 1965), et les *F.oxysporum* représentent 40-70 % de la population fusarienne totale

Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance qu'on appelle des chlamydospores ou ils passent dans un état de dormance. (Booth, 1971).

En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines.

Après pénétration dans une cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisant ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent intra cellulièrement puis colonisent le cortex. Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève à l'extérieur, ils se forment des organes fructifères à la surface des feuilles appelées sporodochies et développement les macroconidies qui a leur tour contaminent d'autre plantes lorsqu'elles seront transportées par le vent, l'érosion ou bien par les insectes. (El Mahdjoub, 1972)

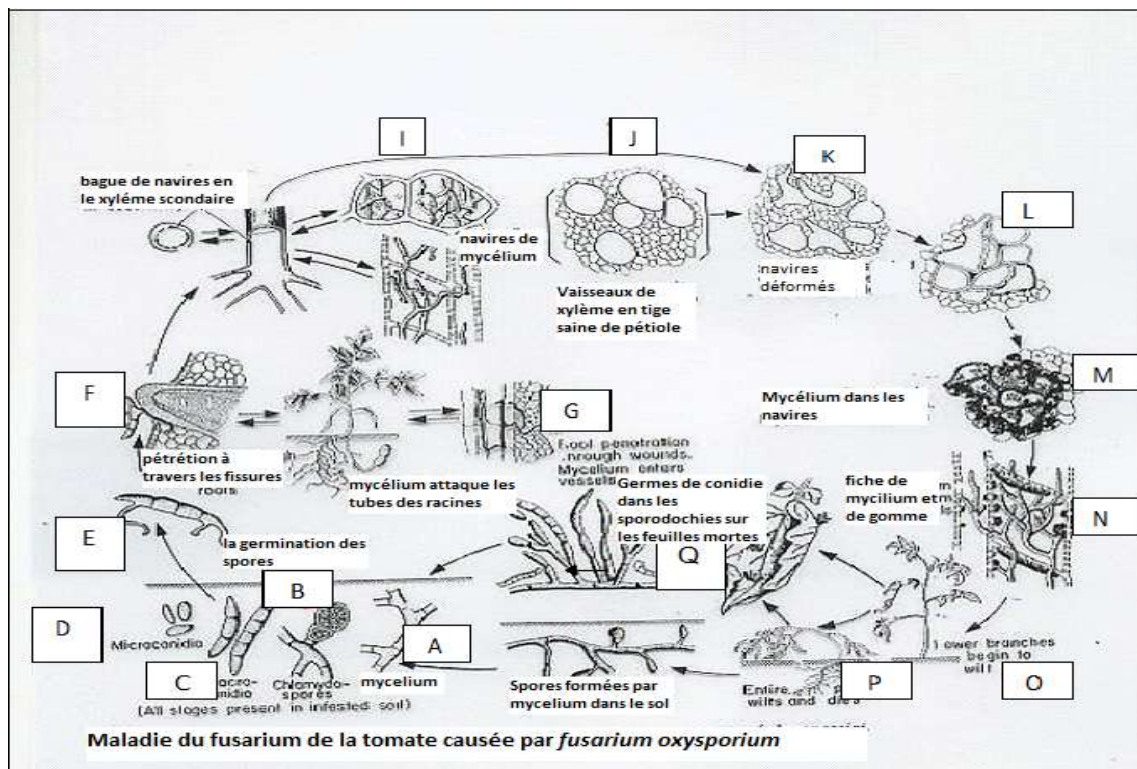


Figure 02: Cycle biologique de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Agrios, 1970).

- A: Mycélium J : Vaisseaux du xylème d'une tige saine
 B: Chlamydospores K=L : Effondrement et distorsion des vaisseaux dans une tige infectée
 C: Macroconidies M : Gomme dans les vaisseaux et les cellules adjacentes
 D: Microconidies N : Mycélium et bouchon vasculaire
 E : Spore germe O : Début d'apparition des symptômes
 F : Pénétration au niveau d'une racine latérale P : flétrissement et mort de la plante

G : Pénétration dans la racine au niveau d'une blessure
Q : spores formées par le Mycélium dans le sol
I : Mycélium dans le vaisseau

En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines.

Après pénétration dans une cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisant ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent intra cellulièrement puis colonisent le cortex. Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève. À l'extérieur, ils se forment des organes fructifères à la surface des feuilles appelées sporodochies et développent les macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes lorsqu'elles seront transportées par le vent, l'érosion ou bien par les insectes. (El Mahdjoub, 1972).

II. Matériel et méthodes

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence un éventuel effet anti fongique d'huiles Essentielles extraites à partir de l'espèce *Thymus pallessens* L., *Pinus halepensis* Mill., *Laurus nobilis* L.

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Matériel Végétal

Le matériel végétal (la plante hôte) utilisé dans cette étude est constitué de la variété du pois chiche Ghab 04 qui a été fournis par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif, où elles sont multipliées chaque saison.

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne des plantes médicinales à partir des recherches antérieures qui sont déjà faites, et les usages traditionnels appliqués : *Thymus pallessens* L., *Pinus halepensis* Mill et *Laurus nobilis* L., de différentes familles, récoltées de différentes régions dans la willaya de Bordj Bou Arreridj, la willaya de Mascara (Tableau 03).

Tableau I. Présentation des plantes médicinales récoltées.

	Plantes	Famille botanique	Date	Région
1	<i>Thymus pallessens</i> L.	<i>Lamiaceae</i>	26/01/2017	Mascara
2	<i>Pinus halepensis</i> Mill.	<i>Pinaceae</i>	04/12/2017	Bordj Bou Arreridj
3	<i>Laurus nobilis</i> L.	<i>Lauraceae</i>	14/01/2017	Bordj Bou Arreridj

II.1.2. Matériel fongique

Le matériel fongique a été représenté par un isolat de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* (FOC) ; agent responsable du flétrissement vasculaire du pois chiche. Cet isolat est originaire de la région de Mascara (Algérie), a été isolé à partir des tiges de pois chiche présentant les symptômes de la maladie.

II.2.Extraction des huiles essentielles et calcul de rendement

Les plantes, fraîchement récoltées, ont été nettoyées par l'eau distillée. Les feuilles sont ensuite séparées puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Celles-ci ont été ensuite pesées, réduites (coupée en petites parties) pour augmenter la surface de contact avec de l'eau et récupérées dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'expérience (Aida., 2015)

Les huiles essentielles (HE) ont été isolées par hydrodistillation. En utilisant un appareillage de type Clevenger (Fig.1). L'extraction a duré 2 à 3 heures pour un mélange de 50g de matériel végétal sèche avec 750ml d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon à 3 cols ou fiole d'un litre surmonte d'une colonne de 60cm de longueur reliée à un réfrigérant.

Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles recueillie par décantation à la fin de la distillation a été filtrée en présence de sulfate de sodium (NaSO_4) pour éliminer les traces d'eau résiduelles et les huiles essentielles seront par la suite récupérées et stockées à 4° C à l'obscurité dans des flacons en verre appropriés, hermétiquement fermés et couverts d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Bougerra, 2012)

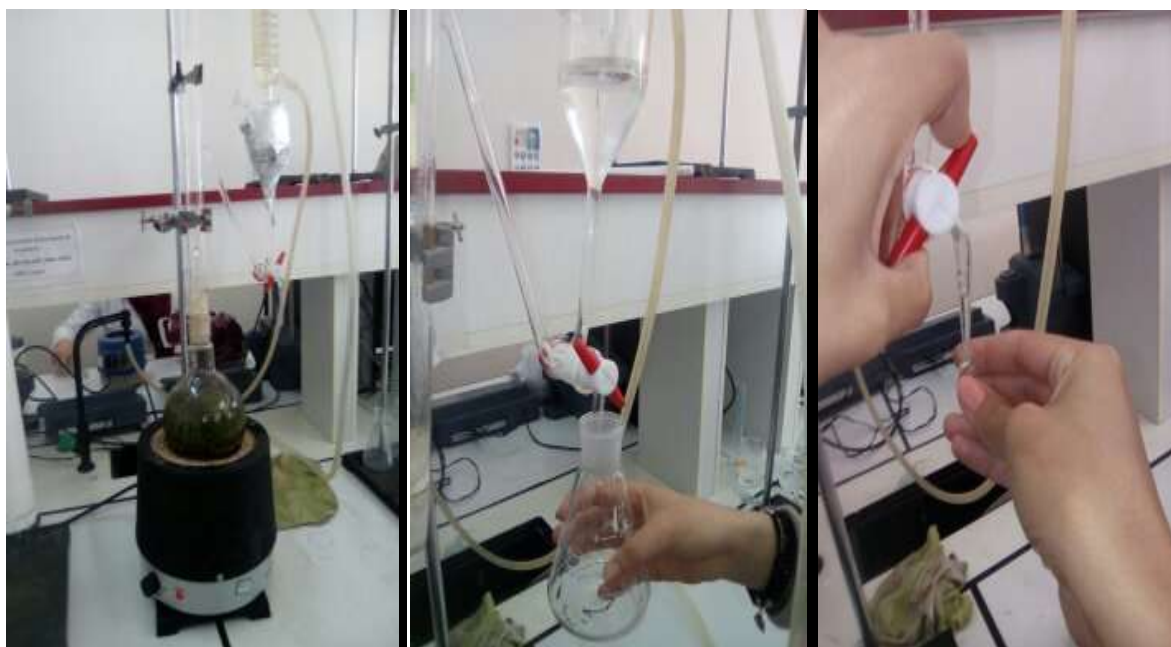


Figure 03 : dispositif d'hydrodistillation (originale, 2017).

II.3. Les Tests biologiques

II.3.1.Évaluation de l'activité antifongique *In vitro*

II.3.1.1. Préparation de l'inoculum de Foc

L'inoculum a été préparé selon la méthode de consiste à mettre six explants de Foc âgé de 7 à 15 jours dans des erlenmeyers contenant 600 ml de bouillon de pommes de terre dextrose (PDB) stérilisé préalablement à 120°C pendant 20 min. Ces derniers ont été incubés à 25°C pendant 10 jours. La suspension sporale a été filtrée avec un papier filtre stérile et ajustée à 5×10^8 spores / ml (Calvet *et al.*, 1989).

II.3.1.2. Préparation des concentrations des huiles essentielles

Les explants du Foc ont été cultivés dans des erlenmeyers contenant chacune 200 ml de bouillon de pommes de terre dextrose (PDB) pendant une semaine à 25°C et bien mélangé avec le milieu en utilisant un agitateur magnétique. Après filtration, la suspension de spores a été ajustée à 106 spores / ml (Calvet *et al.*, 1990).

Les huiles essentielles extraites à partir de *plantes* ont été testées avec des concentrations de: 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm, 500 ppm, 100 ppm sur 20 ml de PDB et pour chaque concentration cinq répétitions ont été effectuées.

Les cinq dose ont été préparées par la méthode d'incorporation directe de formulation huile essentielle et tween 80 (3%) dans 20 ml du milieu de culture PDB chargé de l'inoculum de Foc.

II.3.2.Évaluation de l'activité antifongique *in vivo*

II.3.2.1.Préparation de l'inoculum du FOC

La préparation de l'inoculum de FOC a été effectuée selon la technique de (Jimenez-Gasco *et al.*, 2001) dans des sacs de 3kg en plastiques contenant du sable tamisé et ajouté à la farine de maïs humidifié par l'eau distillée, selon la proportion de 9/1/2 respectivement. Le mélange est stérilisé deux fois à l'autoclave à 121° C pendant 20 min, puis ensemencé par 50 explants de 8 mm de diamètre prélevé à partir d'une culture de FOC âgées de 15 jours, l'incubation est réalisée pendant 21 jours à 25°C. Une agitation des sacs tous les 3 jours est effectuée afin de permettre une colonisation homogène du milieu par le champignon. L'inoculum ainsi obtenu est incorporé dans des pots contenant le substrat de culture stérilisé à raison de 100g d'inoculum pour 1kg de substrat, ce dernier est composé d'un mélange de sable, terre et terreau selon les proportions respectivement de 1/1/1 stérilisé à 121°C pendant 24h.

II.3.2.2. Préparation des plantules à inoculer

Les graines de la variété moyennement résistante Ghab 04 désinfectées préalablement superficiellement par un trempage dans de l'hypochlorite de sodium (5 %) trois fois successives pendant 3 minutes, rincées trois fois successives à l'eau distillé stérile (Hibar *et al.*, 2005).

Après un séchage sur deux papier filtres stériles, les graines sont mises aseptiquement dans des boîtes de Pétri en verre stériles contenant des papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile, à raison de 30 graines réparties uniformément sur toute la surface de la boîte. La germination des graines est assurée suite à l'incubation de ces boîtes dans une étuve réglée à 25 °C pendant quatre à cinq jours. Une fois celles-ci prégermées, le repiquage des graines est réalisé dans des petits pots en plastique (10 graines par pot), contenant un substrat stérile ; un mélange de 1 volumes sol et 1 volume tourbe et 1 volume de sable stérilisé auparavant à 100°C pendant 24 heures. Pour le témoin les semences désinfectées ont été semées dans des pots contenant seulement le substrat infecté par le FOC. L'élevage des plants est réalisé dans le laboratoire sous une température d'environ 25C° et une photopériode de 12 heures. Les plants sont irrigués régulièrement avec de l'eau distillée une fois par semaine. L'élevage de ces plants a duré environ trois semaines (Hibar *et al.*, 2005).

II.3.2.3. Préparation des concentrations des huiles et traitement du sol

D'après les résultats du test *In vitro* trois huiles ont été sélectionnées pour les *testées In vivo* : *Thymus pallessens* L., *Laurus nobilis*., *Pinus halepensis* Mill. Avec des concentrations de 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm ont été préparées par un mélange de 500, 250, et 125 µl d'huile essentiel avec 50 ml d'eau distillée stérile et 1500 µl tween 80 (3%) (Belabid *et al.*, 2010). Après l'agitation cette formulation a été mise dans un dispositif de pulvérisation produisant des gouttelettes fines (Kamdi *et al.*, 2012).

Les plantules âgées d'environ une semaine ont été arrachées soigneusement et traitées avec l'huile essentielle de différentes plantes et en plusieurs concentrations, Dans des bécards stériles de 100ml. Le trempage des racines en chaque concentration des huiles a été effectué séparément pendant 10 minutes. Les pots déjà remplis par le substrat inoculés par le FOC en été traités par pulvérisation des huiles essentielles et les mêmes concentrations. Deux témoins ont été préparés. Le premier témoin positif, contient un substrat inoculé par le Foc et traité par un mélange de l'eau distillé stérile et tween 80 (3%). Le deuxième est un témoin négatif contient un substrat stérile non inoculé et traité par un mélange de l'eau distillé stérile et tween 80 (3%) (Soylu., 2010).

II.3.2.4. Exploitation des résultats et analyses statistiques :

Le prélèvement des résultats obtenues est basé sur l'observation des symptômes et la notation de l'incidence (DI) et la sévérité (ISM) de la maladie. Les deux notations sont exprimées en index de maladie DII. Lors de chaque notation, l'incidence et la sévérité de la maladie ont été évaluées selon les méthodes de (Trapero-Casas, 1983).

• II.4.1. Mesure de l'Incidence :

L'incidence est le pourcentage de plantes malades. Il nous donne une idée sur l'état de la population de pois chiche vis-à-vis de l'agent pathogène.

L'incidence est le moyen le plus rapide pour la mesure de la maladie ; il nécessite seulement le comptage du nombre d'unités malades qui peut être exprimé par un pourcentage du nombre total d'unités. L'incidence (**DI**) est évaluée selon la formule :

$$DI = \frac{NPM}{NTP} \times 100$$

NPM : nb du plantes malades.

NTP : nb totale des plantes.

• II.4.2. Mesure de la sévérité d'attaque :

La sévérité ou la gravité de la maladie est obtenue selon l'évaluation visuelle de la proportion des tissus de la plante atteinte par le flétrissement ou le jaunissement.

La sévérité (S) ou l'indice de sévérité moyenne (ISM) est calculée selon la formule :

$$S \text{ ou } (ISM) = \frac{\sum n_i \times i_j}{\sum n_j}$$

Où

n_j : est le nombre de plantes caractérisées par l'indice

i_j : est l'indice de sévérité attribué aux plantes malades.

Cette échelle consiste à donner une note à la plante malade examinée en fonction de l'importance des symptômes observés :

0: pas de symptômes.

1 : jaunissement ou flétrissement du 1/3 de la plante.

2: mêmes symptômes mais affectant les 2/3 de la plante.

3: symptômes identiques affectant la plante entière.

4: plante morte.

• II.4.3. Calcul de l'indice de Flétrissement (*DII*)

L'incidence *I* et la sévérité *S* sont utilisés pour le calcul, l'index de l'intensité de la maladie *DII*

Où :

$$DII = \frac{DI * ISM}{4}$$

• II.4.4. Calcul de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve)

AUDPC est une méthode d'analyse qui permet de résumer les données de l'intensité de la maladie, en une seule valeur. Cette valeur est indispensable pour la comparaison entre les différentes épidémies à travers les années, les emplacements, ou les stratégies de la gestion (Cook, 2006 ; Sparks *et al*, 2008). Cependant, cette méthode est utile pour la description, l'estimation et la comparaison entre les épidémies causées par le FOC (Navas-Cortes *et al*, 2000 ; 1998). L'AUDPC est calculé en utilisant la formule suivante :

L'AUDPC est calculé selon la formule rapportée par (Cook, 2006) :

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n [(x_i + 1)/2](t_{i+1} - t_i)$$

Où :

x_i = la proportion des tissus ou le nombre de plantes malades à toute une seule mesure (intensité de la maladie) à l'observation i ,

t_i = temps (jours) après l'inoculation à l'observation

n = le nombre total d'observations. La somme de régions individuelles trapézoïdes, ou régions de i à $n-1$. i

$i + 1$ représente des observations de 1 à n .

II.4. Analyse de l'effet des huiles essentielles sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes :

II.4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

200 µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à

température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

II.4. 2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) et est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

1 ml de chaque extrait et (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol).

Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Effectuer la même opération pour la quercitrine à différentes concentrations en introduisant 1 ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d' AlCl_3 à 2%. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l' AlCl_3 , toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de les plantes étudiés (*Pinus halepensis*, *Lorus nobilis*, *Thymus pallessens*) sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercitrine comme standard, les résultats sont exprimés en μg équivalent en quercitrine/ mg de matière fraîche.

II.4.3. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été traités par deux analyses indépendantes à l'aide de logiciel XLSTAT (2008). La première analyse est l'analyse de la variance « ANOVA » permettant de connaître la signification des différences (le seuil de signification est $\leq 0,05$). La deuxième analyse consiste à mettre en évidence des corrélations entre les variables étudiés (zone d'inhibition, le type de l'huile et la concentration et l'interaction entre les deux facteurs au seuil de signification $\leq 0,05$).

III.1. Résultats

III.1.1. Effet des huiles essentielles sur l'aspect morphologique des spores de Foc

Les observations microscopiques des suspensions sporales du Foc déjà traitées avec l'huile ont montré des effets très profonds sur le nombre, la forme et la germination des microconidies, ainsi que sur le tube germinatif. Les microconidies déjà traitées par les huiles ont subi un éclatement, un rétrécissement et une inhibition de la germination (Figure 04).

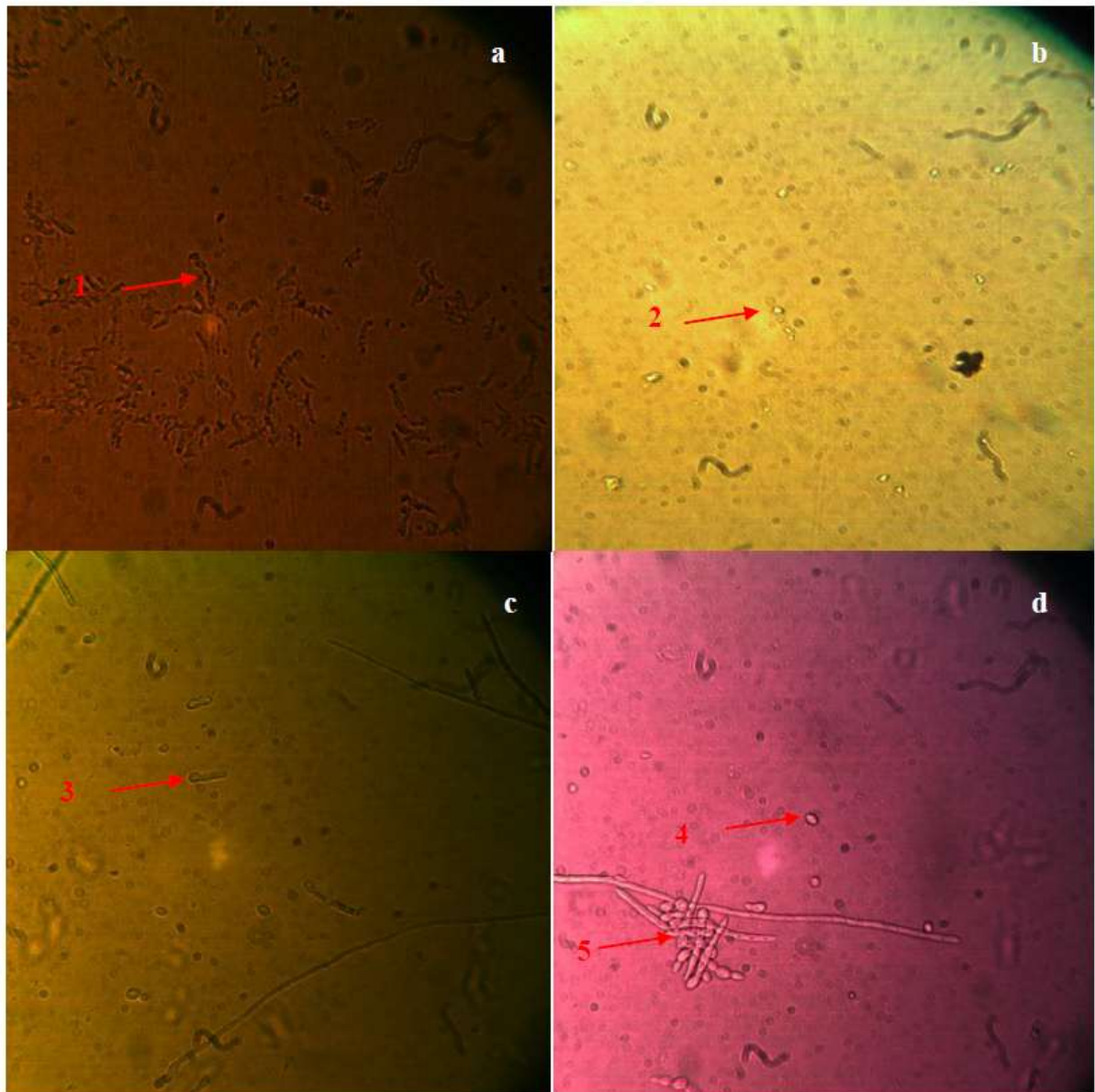


Figure 04 : Modifications provoquées par les huiles essentielles sur les spores de Foc. 1) éclatement, 2) rétrécissement, 3) germination 4) inhibition de la germination 5) germination massive.

III.1.2. Effet des huiles essentielles sur la germination de spores

D'après l'analyse de variance, l'espèce, la concentration et l'interaction entre les deux facteurs ont montré un effet très hautement significatif ($p \leq 0.05$) sur la variation du taux de germination. En général, l'effet inhibiteur de la germination a exposé différentes intensités selon l'espèce végétale et la concentration. Les résultats de l'effet des huiles essentielles sur le taux de la germination des spores de Foc sont affichés dans le tableau 1.

Les résultats obtenus avec les huiles essentielles, contre le Foc indiquent une activité antifongique positive. L'emploi de l'huile essentielle des deux trois plantes a permis de réduire significativement la germination des spores comparativement aux témoins non traitées.

Tableau II : Effet des huiles essentielles sur la germination des spores de Foc. Les valeurs représentent la moyenne de 5 répétitions $\pm$ SE (Erreur standard). Les lettres indiquent une différence significative entre les moyennes à $p < 0,05$.

	Espèce végétale	Concentration	Taux d'inhibition de la germination
1	<i>Thymus pallessens</i>	C1	100 $\pm$ 0a
2	<i>Thymus pallessens</i>	C2	100 $\pm$ 0a
3	<i>Thymus pallessens</i>	C3	100 $\pm$ 0a
4	<i>Thymus pallessens</i>	C4	100 $\pm$ 0a
5	<i>Thymus pallessens</i>	C5	73,33 $\pm$ 4,85abcd
6	<i>Pinus halepensis</i>	C1	69,52 $\pm$ 4,20bcde
7	<i>Pinus halepensis</i>	C2	43,09 $\pm$ 9,52ef
8	<i>Pinus halepensis</i>	C3	54,36 $\pm$ 3,78def
9	<i>Pinus halepensis</i>	C4	45,94 $\pm$ 2,34def
10	<i>Pinus halepensis</i>	C5	36,25 $\pm$ 6,81f
11	<i>Laurus nobilis</i>	C1	100 $\pm$ 0a
12	<i>Laurus nobilis</i>	C2	90,13 $\pm$ 4,12ab
13	<i>Laurus nobilis</i>	C3	86,66 $\pm$ 4,51abc
14	<i>Laurus nobilis</i>	C4	62,5 $\pm$ 12,66cdef
15	<i>Laurus nobilis</i>	C5	61,60 $\pm$ 6,74cdef

L'analyse de la variance (ANOVA) effectuée par le logiciel SAS (Statistical Analysis System. Cary, NC) et les moyennes sont comparées par le test de Duncan à 5 %. Les principaux résultats obtenus de la recherche d'éventuelles corrélations (Tableau 08), indiquent

une corrélation positivement significative entre l'inhibition de la germination et le type de l'huile essentielles.

L'effet inhibiteur le plus élevé a été enregistré pour le traitement avec le *Thymus pallessens*, dont le taux d'inhibition de la germination est environ 100 % pour les concentrations C1, C2, C3 et C4. Cependant, la C5 a montré une inhibition de la germination aussi supérieure environ 73.33%.

Il paraît que le Foc est plus au moins résistant à l'huile de *Pinus halepensis* avec une fréquence d'inhibition environ 69,52 % à la concentration C1. Par ailleurs, la concentration C5 a provoqué une inhibition plus au moins faible environ 36,25.

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* a exercée une importante activité inhibitrice vis-à-vis du FOC. Ce dernier a montré une inhibition totale dans le milieu amendé avec les concentrations C1, et avec un taux d'inhibition important environ 61,60% à la concentration C5.

Une gamme de concentration de 10000, 5000, 2500, 500 et 100 ppm a été choisie. Elle a permis d'établir des courbes dose-effet (figure 05, 06). La courbe exprime la relation entre la dose testée et l'effet sporicide montrent une activité dose-dépendante. En général, les résultats obtenus avec les différentes concentrations de l'huile révèlent que l'activité inhibitrice croît au fur et à mesure que la concentration augmente. La dose forte D1 (10000ppm) semble plus intéressante pour l'inhibition de la croissance mycélienne comparée par les autres doses.

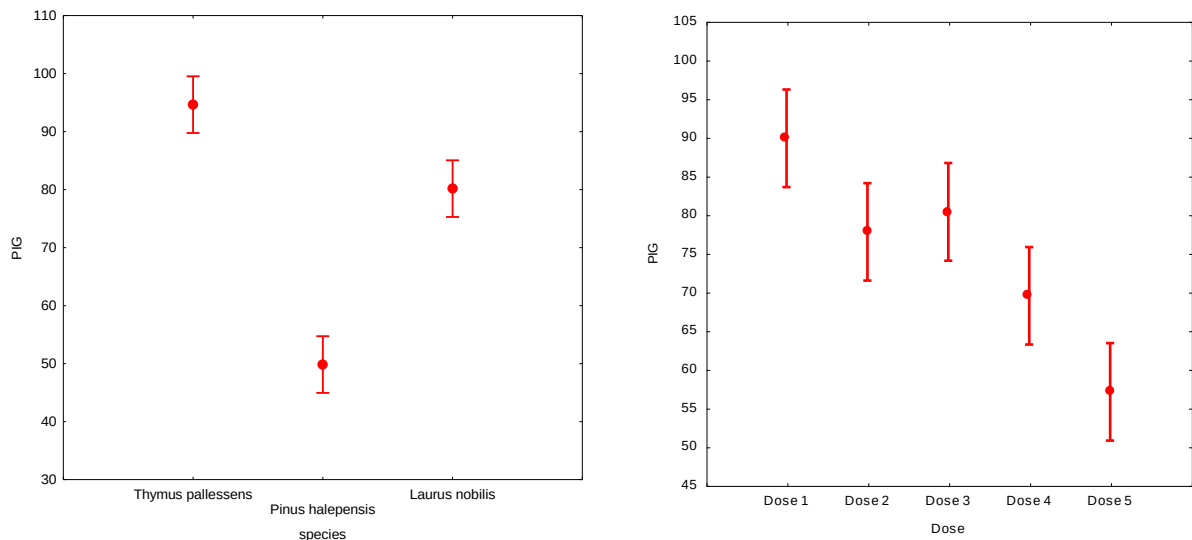


Figure 05: Étude comparative des taux d'inhibition de la germination des huiles essentielles de trois plantes en fonction : a- l'espèce végétales et b- la concentration de l'extrait.

Les résultats affichés dans la figure montrent que le taux d'inhibition est de 61,60 % à la concentration C5 de *Laurus nobilis*, par contre 100%, 90,13%, 86,66%, 62,5% et pour les concentrations C1, C2, C3, C4 respectivement.

III.1.3. Effet des huiles sur le flétrissement vasculaire in vivo :

Les huiles essentielles ont montré une diminution très importante de la gravité de la maladie. D'après l'ANOVA, l'espèce, la concentration et l'interaction entre les deux facteurs ont montré un effet très hautement significatif ($p \leq 0.05$) sur la variation de la valeur de l'AUDPC. Les résultats obtenus suite à ce travail montrent que les symptômes de la maladie ont été observés 20 jours après le semis sur les plantules déjà traitées par l'huile essentielle de *Pinus halepensis*. Cependant, les symptômes ont été remarqués 22 et 25 jours après le semis sur les plantules traitées par l'huile de *Laurus* et *Thymus* respectivement.



Figure 06: Effet des huiles essentielles sur le flétrissement vasculaire in vivo
(originale, 2017).

Les résultats expriment l'activité fongicide *In vivo* de l'huile essentielle *Thymus pallessens*. La valeur la plus faible enregistrée est de 30 et la plus élevée 430 pour la

concentration C3. Ces dernières sont traduites par une réduction très importante de la gravité de flétrissement vasculaire qui varie entre 78.5 et 98,5% comparée avec le témoin non traité. L'huile de *Laurus nobilis* L a montré moins efficace contre le FOC. A cet effet, les valeurs de l'AUDPC calculées pour le traitement par l'huile *Laurus nobilis* L varient entre 750 (C1) et 830 (C3), ces valeurs se traduisent pour une réduction inférieure à 74% de la gravité de la maladie. Cependant, ces valeurs sont de 520 (C1) et 750(C4) pour le traitement par l'huile essentielle de *Pinus halepensis*. Ces valeurs sont inférieures à celles des témoins positifs expriment une réduction inférieure à 72% de la gravité de la maladie.

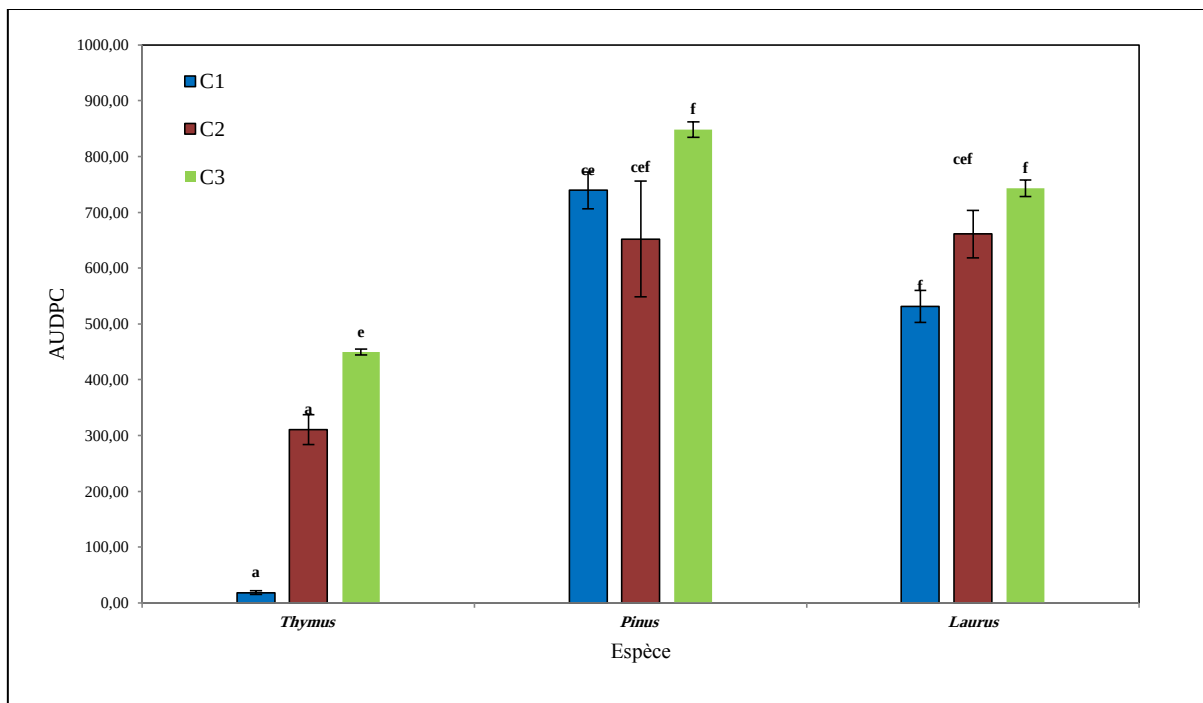


Figure 07 : L'effet des huiles essentielles in vivo sur le flétrissement vasculaires du pois chiche. Les données sont les moyennes de 3 répétitions de l'AUDPC $\pm$ ES. Les lettres indiquent une différence significative entre les moyennes à $p < 0,05$.

Les résultats affichés dans la figure 7 montrent que la concentration de thymus présente la plus efficace, ceci est expliqué par la valeur moyenne de l'AUDPC la plus faible constatée 30, suivie par la C2 (300). Par contre, la C3 constitue la moins efficace avec une valeur de l'AUDPC environ 440. Aucun symptôme a été observés sur les plantes traitées avec l'huile essentielle de *Thymus pallessens* notamment sur les concentrations C1 et C2. En parallèle, les symptômes ont été observés 25 jours après le semis dont le traitement par la dose C3. L'analyse des valeurs de l'AUDPC montrent également une diminution de 100% de la maladie pour les concentrations C1 et C2. Cependant, cette diminution est d'environ 98,5% pour les concertations C3.

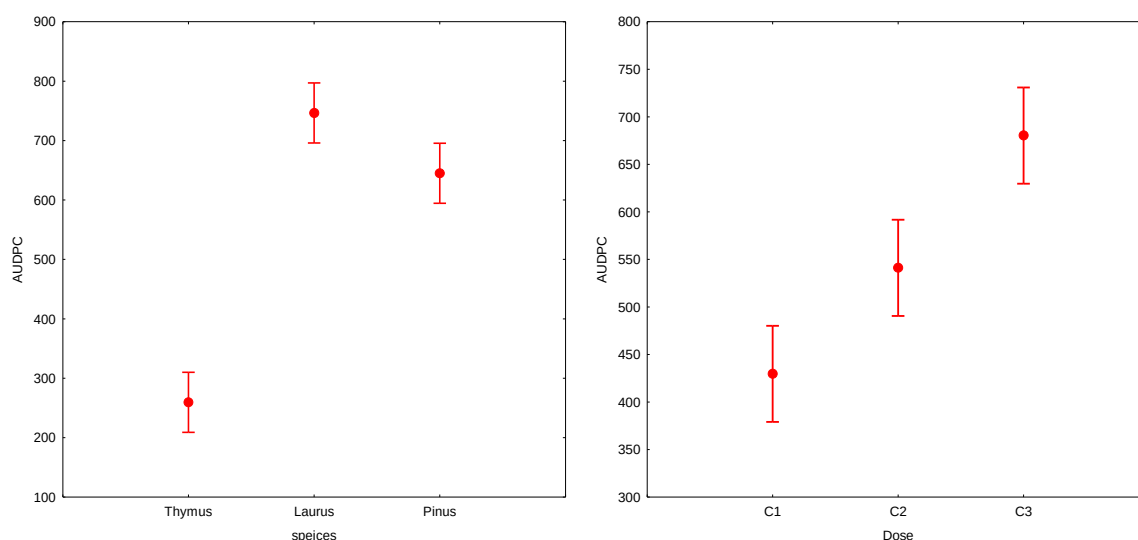


Figure 08: Étude comparative des taux d'inhibition de la germination des spores de trois plantes en fonction : a- l'espèce végétales et b- la concentration de l'huile.

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* présente une efficacité moyenne, ceci est expliqué par la valeur moyenne de l'AUDPC la plus faible constatée 530, suivie par la C2 (650). Par contre, la C3 constitue la moins efficace avec une valeur de l'AUDPC environ 740. Notamment sur les concentrations C1 et C2. En parallèle, les symptômes ont été observés 22 jours après le semis dont le traitement par la dose C3. L'analyse des valeurs de l'AUDPC montrent également une diminution de la maladie pour les concentrations C1 et C2. Cependant, cette diminution est d'environ 74,5% pour les concertations C3.

La faible efficacité enregistrée pour le *Pinus halepensis*, l'AUDPC la plus faible constatée 740, suivie par la C2 (650). Par contre, la C3 constitue la moins efficace avec une valeur de l'AUDPC environ 950. Notamment sur les concentrations C1 et C2. En parallèle, les symptômes ont été observés 20 jours après le semis dont le traitement par la dose C3. L'analyse des valeurs de l'AUDPC montrent également une diminution de la maladie pour les concentrations C1 et C2. Cependant, cette diminution est d'environ 72% pour les concertations C3.

La recherche de la cinétique de l'évolution de la maladie en fonction de la dose a permis d'établir des courbes dose-effet (Figure 08 b). La courbe exprime la relation entre la dose et la valeur de l'AUDPC et montre une activité dose-dépendante (Corrélation négative). En général, les résultats obtenus avec les différentes concentrations révèlent que la gravité de la maladie diminue au fur et à mesure que la concentration augmente. Les résultats affichés dans la figure 8 montrent que les C1 présente la plus efficace, ceci est expliqué par la valeur moyenne de l'AUDPC constatée 430. Les C2 présente une efficacité intermédiaire observés sur les plantes traitées montrée 550, notamment sur les concentrations C3, présente la faible efficacité.

III.1.4. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes :

Les analyses ANOVA effectuées avec logiciel STATat ont montré un effet hautement significatif de l'espèce et la dose. L'analyse des graphes mentionnés dans la figure montre également l'effet de l'espèce sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes. Le taux des flavonoïdes est supérieur dans les plantules traitées avec l'huile essentielle de Thymus et pinus. Par contre le taux est faible chez les plantules traitées avec l'huile de Laurus. Par ailleurs, le taux des polyphénols est trouvées supérieur chez les plantules traitées avec l'huile essentielle de Laurus, et faible chez les plantules traitées avec les huiles de Thymus et Pinus.

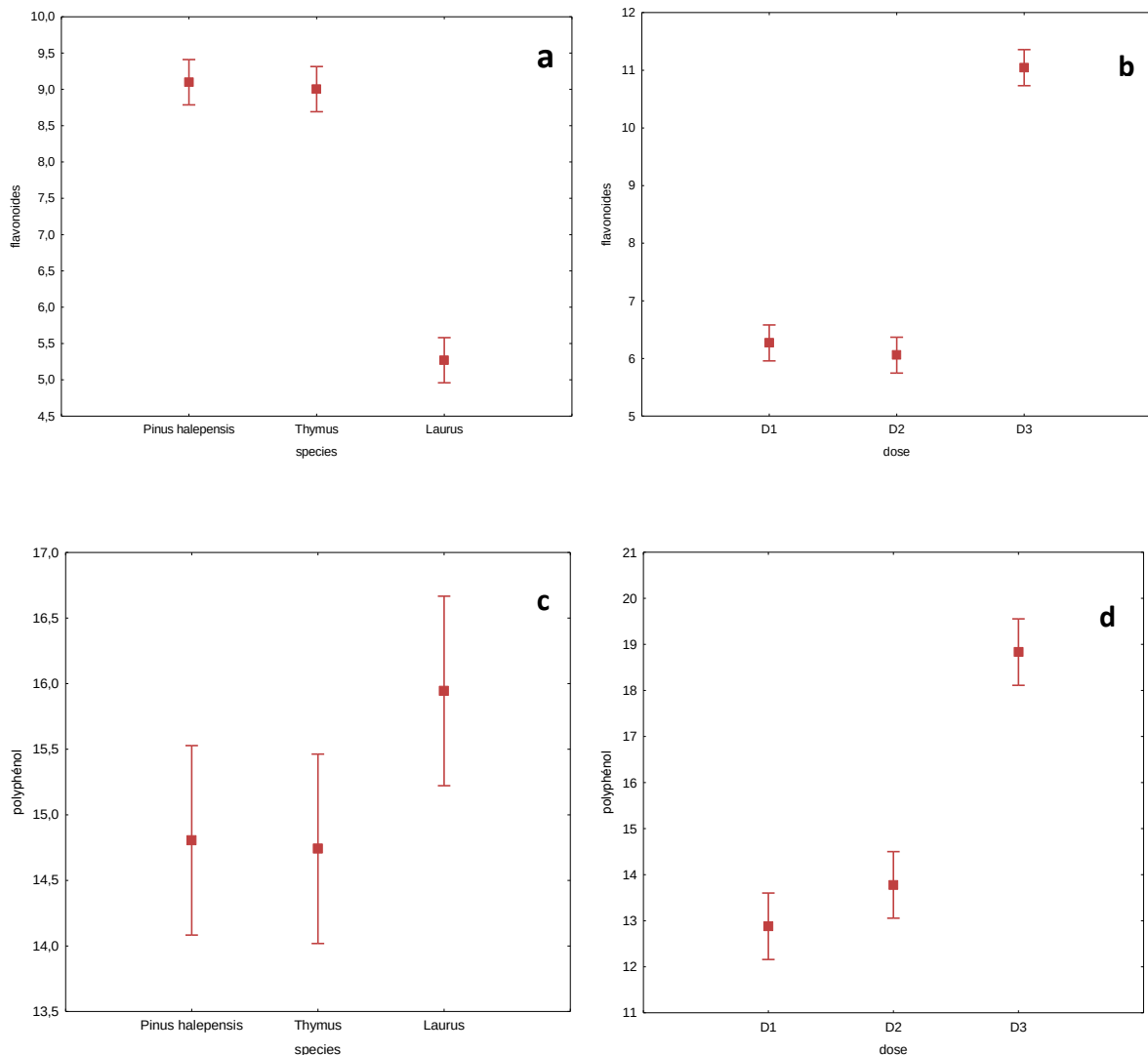


Figure 9 : L'étude comparative des taux des flavonoïdes (a et b) et des polyphénols (c et d) de plantules traitées avec les huiles essentielles de trois plantes en fonction l'espèce végétales et la concentration de l'huile.

Selon les données présentées dans les figures, le taux des polyphénols et des flavonoïdes diminuent significativement avec l'augmentation de la concentration. A cet effet, Les plantules traitées par les doses D1 ont effectivement montré un taux faibles des polyphénols et des flavonoïdes. Par conte, les plantules traitées par les doses D3 ont montré un taux élevé de polyphénols et de flavonoïdes.

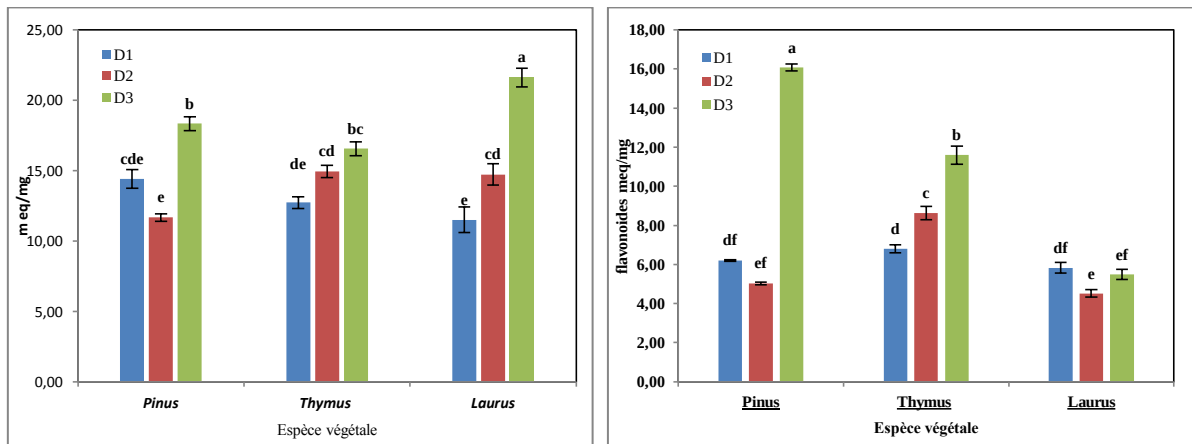


Figure 10 : Taux des polyphénols et des flavonoïdes plantules traitées avec l'huile essentielle de trois plantes. Les données sont les moyennes de 3 répétitions de taux des polyphénols ou des flavonoïdes $\pm$ ES. Les lettres indiquent une différence significative entre les moyennes à $p < 0,05$.

Les analyses ANOVA effectuées sur les taux des polyphénols et des flavonoïdes ont avérés un effet hautement significatif de l'interaction entre la dose et l'espèce végétale. L'utilisation de test tukey à 5% nous a permis d'établir un classement des taux de ces deux biomolécules dans des groupes homogènes qui sont affichés dans la figure 1 a et b.

L'analyse des donnée montrent également que le taux le plus élevé des polyphénols a été enregistré chez les plantules traitées avec l'huiles essentielles de Laurus () et pinus () à la dose D3. En revanche, le taux le plus faibles a été noté chez les plantules traitées par l'huile essentielle de Pinus () et Laurus () par la concentration D2.

La lecture des résultats mentionnés dans la figure montre que le taux des flavonoïdes est très élevé chez les plantules traitées avec l'huile de Pinus (16.06) à la dose D3 et l'huile de Thymus environ 11.58 et 8.63 à la dose D3 et D2. Par contre, les taux faibles ont été notés pour les plantules traitées avec la dose 1 de l'huile essentielles de Laurus (5,48) et la dose D2 de l'huile essentielles de *Pinus* et *Thymus* avec des fréquences 4,50 et 5,031 respectivement.

III.2. Discussion :

Différentes plantes aromatiques synthétisent des molécules odorantes qui constituent les huiles essentielles capables d'exercer un effet équivalent à celui des fongicides, et cela grâce à la nature chimique de leurs constituants. Les extraits végétaux ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene *et al.*, 2006). Elles agissent en empêchant la croissance et la sporulation des champignons.

Bien que les travaux effectués sur les huiles essentielles de trois plantes médicinales sur la germination des spores de *Fusarium oysporum* f sp *ciceris* aient montré une activité antifongique remarquable qui varie selon l'espèce végétale, la dose appliquée et l'interaction entre les deux.

En effet, les huiles essentielles ont été démontrés pour être en mesure d'inhiber la germination des spores de plusieurs champignons pathogènes de plantes (Daouk *et al.*, 1995; Paster *et al.*, 1995; Adam *et al.*, 1998; Lambert *et al.*, 2001; Marino *et al.*, 2001; Abou-Jawdah *et al.*, 2002; Bouchra *et al.*, 2003; Daferera *et al.*, 2003; Zambonelli *et al.*, 2004; Soyly *et al.*, 2006; Bajpai *et al.*, 2007; Martínez-Romeroa *et al.*, 2007; Soyly *et al.*, 2007; Hadian *et al.*, 2008; Kordali *et al.*, 2008; Ozcan *et al.*, 2008).

Le pouvoir antifongique et les différences observées dans l'efficacité des huiles essentielles sont expliqués d'une part par la composition et la richesse des huiles testées en composés antifongiques et de leurs variabilités en fonction des espèces végétales d'autre part. Il est cependant clair qu'ils interviennent directement sur la morphologie ou la physiologie de l'organisme nuisible ou indirectement par le déclenchement des mécanismes de défense de la plante.

En effet, l'activité antifongique des huiles essentielles peut s'expliquer par les principaux composés des huiles essentielles (Herman *et al.*, 2016 ; Carovic-Stanko *et al.*, 2010) les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques). Des composés chimiques qui ont une grande efficacité et à plus large spectre sont présents dans les huiles essentielles en particulier les phénols (1,8 cinéole, carvacrol, octanol.) les alcools, (α - terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones (Camphor, etc.) (Sokovic *et al.*, 2006 ; Herman *et al.*, 2016 ; Carovic-Stanko *et al.*, 2010 ; Dorman *et al.*, 2000), ce qui explique l'activité antifongique sur les mycètes (Chu *et al.*, 2001) suggèrent que le pouvoir antifongique est lié aux composants volatils des huiles et qui sont : l' α pinène, β pinène, P cimène et 1,8 Cinéole. Toutefois, il ya beaucoup de

recherches qui tentent d'expliquer les mécanismes par lesquels ces composés agissent sur les champignons.

L'activité antifongique des huiles essentielles, peut se faire selon différents mécanismes, qui peuvent être représentés par une attaque sur la composition phospholipidique de la membrane cellulaire, la perturbation des systèmes enzymatiques, l'inactivation et la destruction du matériel génétique fongique, l'hydroperoxydase est la formation des acides gras par l'oxygénation des acides gras insaturés, la coagulation du cytoplasme, la perturbation de la force motrice protonique, le flux d'électrons et / ou le transport actif (Badawy et Abdelgaleil, 2014). La nature lipophile des huiles essentielles peut faciliter leur pénétration dans la membrane fongique particulièrement entre la bicouche lipidique et causent des perturbations de la membrane (33,34). Pour soutenir cette hypothèse l'observation des spores de *F. oxysporum* f. *Sp. lycopersici* exposé à l'huile de girofle a révélé une augmentation considérable de la rugosité de la surface cellulaire dans la morphologie des hyphes et des spores. Cela pourrait entraîner une fuite de constituants cellulaires (Plasmolyse) et par la suite la mort de *F. oxysporum* f. *sp. lycopersici* (Sharma *et al.*, 2016).

Les propriétés antifongiques exposées par les huiles peuvent être attribuées à la présence de terpènes bioactifs, les acides phénoliques, les alcools, les hydrocarbures et les aldéhydes (23,24). En général, les composés antimicrobiens actifs des huiles essentielles sont les terpènes phénoliques. La plupart des études sur le mécanisme d'action des composés phénoliques ont été concentrés sur leurs effets contre les membranes cellulaires. En fait, les composés phénoliques attaquent les parois et les membranes cellulaires, affectant ainsi la perméabilité et la libération des constituants intracellulaires, mais ils interfèrent également avec la fonction de la membrane (Al-Reza *et al.*, 2010). Ainsi, les terpènes phénoliques actifs pourraient avoir plusieurs cibles invasives qui pourraient conduire à l'inhibition des champignons pathogènes des plantes (Al-Reza *et al.*, 2010).

La propriété antifongique des huiles essentielles pourrait impliquer l'inhibition de la synthèse des enzymes extracellulaires et la rupture de la structure de la paroi cellulaire entraînant par conséquent un retractionnement de cytoplasme, des dommages intégrale et finalement la mort mycélienne. Les effets peuvent être aussi marqués par une rupture de la membrane, hyperacidité de cytoplasme, rupture de la chaîne de transport d'électrons, H^+ - ATPase et l'inhibition de certains événements métaboliques structurels et éventuellement liés à la propriété antifongique des huiles essentielles (9,10,25). Autrement, il sont également signalé que les huiles essentielles pouvaient s'intervenir dans le système membranaire mitochondrial par la perturbation des activités étroitement associée aux réactions

enzymatiques, telles que le transport d'électrons respiratoires, transport de protéines et couplage Phosphorylation (4,35).

(Velluti *et al.* 2011) ont rapporté que l'eugénol (un composé phénolique connu comme composant majeur de l'huile essentielle de *C. zeylanicum*) présente son activité antimicrobienne attribuée à la présence d'un noyau aromatique et un groupe OH phénolique connu pour être réactif et pour former des liaisons hydrogène avec des sites actifs d'enzymes cibles. Bien que l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est attribué principalement à ses composantes principales, les synergiques ou effet antagoniste des composés en pourcentage mineur dans le mélange doit être considéré (15,42).

Dans cette étude, les résultats obtenus montrent le potentiel de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* comme un inhibiteur important aussi bien comme agent fongicide contre FOC. En effet, l'activité antifongique prononcée de *T. vulgaris* est en relation avec sa richesse en Thymol, p -cymene, limonene, α -pinene, carvacrol, γ -terpinine.

Des résultats similaires ont été obtenus par (Manganyia *et al.*, 2015) après un traitement de milieu de culture avec différentes concentrations de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*. Les résultats obtenus montrent une zone d'inhibition totale contre *Fusarium oxysporum* avec les concentrations 500, 1000, 2000, 2500 et 3000 ppm et 61% pour la concentration 250 ppm. Nos résultats se corroborent avec ceux obtenus par (Kumar *et al.*, 2008), dont une inhibition totale a été obtenu après le traitement de par l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. Ces chercheurs ont constaté une zone d'inhibition environ 100% avec une concentration minimale de 700ppm. Les travaux menés par (Bhaskara Reddy *et al.*, 1997) sur les effets des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L sur *Botrytis cineria* et *Rhizoctonia stolonifer* ont montré leur effet antifongiques, à différentes concentration de l'huile. La zone d'inhibition marquée à la concentration 50 ppm est de 26,5% pour *B. cinerea* et 5.5% pour *Rhizoctonia stolonifer*. Ces valeurs elles sont élevées à la concentration 200ppm 63.5% pour *B. cinerea* et 50.5% pour *Rhizoctonia stolonifer* des résultats similaires ont été obtenus par (Serife Evrim Arici *et al.*, 2013). L'étude de l'activité antifongique de *Thymus vulagris* L contre *Fusarium oxysporum radicis-lycopersici* et *F. oxysporum f. sp. Lycopersici* a montré une zone d'inhibition totale par trois concentrations 0.5, 1 et 2%. Cependant, l'application des huiles essentielle avec une concentration 2% d'*Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* et *Lavendala sp* ont montré une activité antifongique moins prononcée contre *Fusarium oxysporum radicis-lycopersici* dont la zone d'inhibition enregistrée est de 5.6, 34.4 et 34.4 respectivement.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par (Cordova-Albores *et al.*, 2015). Les travaux de ces derniers ont prouvé l'efficacité des huiles essentielles de *Gatropha curcas* contre le FOg. Une d'inhibition de la germination des spores obtenues sont supérieurs à 50%.

Les travaux menés par (Daferera *et al.*, 2003) ont montré l'efficacité des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Fusarium sp* en particulier ceux extraites de *Rosmarinus officinalis* et *Lavandulla sp*. La croissance de *Fusarium sp* a été inhibée avec un taux de 83% et 72% par l'huile de la *Lavandulla sp* et *Rosmarinus officinalis* respectivement. L'efficacité de l'huile de *Rosmarinus officinalis* est attribuée par ces auteurs à la composition chimique représentée par le taux élevé d'eucalyptol qui constitue 50% de taux total. En effet, (Hamrouni *et al.*, 2014), ont étudié l'activité antifongique des huiles essentielles extraites de *Pinus halepensis* contre dix champignons phytopathogènes, dont l'inhibition varie 41.9 et 52,9%. Cependant, l'inhibition de *Fusarium oxysporum* est de 46.7%. Après les analyses chromatographiques les chercheurs ont conclu que cette activité est liée au taux élevé de monoterpéniques Hydrocarbonés présentes dans l'huile essentielle de *Pinus halepensis*. En outre, La croissance mycélienne de quelques espèces fongiques tel que *F. oxysporum*, *Bipolaris*, *Microdochium* et *Alternaria*, en présence des huiles essentielles a montré différents degrés d'inhibition cependant, les huiles riches en composés sesquiterpéniques ont montré une zone d'inhibition très importantes (Hamrouni *et al.*, 2014). (Amri *et al.*, 2013) ont montré une activité inhibitrice moyenne de l'huile de *Pinus halepensis* contre *Fusarium oxysporum* (39.43%) à ma concentration 10ul/ml-1. Cependant, l'inhibition est très faible 5.65% à la concentration 1 ul/ml-1. L'activité antifongique de l'huile essentielle *Pinus halepensis* a été investiguée par (Abi-Ayad *et al.*, 2011). Les résultats obtenus montrent une efficacité moyenne de l'huile contre *Fusarium oxysporum*, à une concentration de 15 uL/mL la zone d'inhibition est environ 35,71%.

Les expériences menées par portées sur huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* ont montré leur activité antifongique contre *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* et *A. flavus*. Les résultats obtenus montrent une inhibition totale des trois souches à une concentration de 5 mg/mL.

L'effet inhibiteur d'*Artemisia herba alba* sur 2 souches de *Fusarium oxysporum* D'après (Kolai *et al.*, 2012), ont montré que l'activité antifongique est due uniquement aux substances renfermées dans les extraits de l'huile essentielles d'*Artemisia herba alba*.

Les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* ont montré faiblement efficace contre *Penicillium citrophthora*, l'amendement de milieu de culture par une concentration de 250 ppm a montré une inhibition environ 25,2% (Chebli *et al.*, 2003).

L'activité antifongique de *Laurus nobilis* a été décrite par ; (Aumeeruddy-Elalfi *et al.*, 2015), Un pouvoir antifongique très important a été avéré par (De Corato *et al.* 2010). Les résultats obtenus montrent une inhibition supérieure à 38% de la germination des spores de deux agents pathogènes de conservation à savoir *Botrytis cinerea*, *Monilinia laxa* et *Penicillium digitatum*. Une bonne activité antifongique contre les champignons sporifères de stockage, cette activité inhibitrice prononcée est probablement liée à la richesse de l'huile de cette plante en 1,8-cineole, linalool, terpinéol acétate, méthyle eugénol et un faible contenu de linalyl acetate, eugénol, sabinene, b-pinène et a-terpineol. Le pouvoir antifongique l'huile essentiels de *Laurus nobilis* sur les champignons de stockage de riz *A. alternata*, *B. oryzae*, *F. graminearum*, *F. equiseti* et *F. verticillioides* a été investigué par Pilar. L'activité antifongique a été attribuée à la présence de 1,8-cineole (51.95%), a-terpinyl acétate (12.93%) suivie par les monoterpènes hydrocarbonés (9.56%).

L'efficacité des huiles et les extrais sur la fusariose vasculaire *In vivo*, pourraient être attribué à l'effet des extrais ou des huiles sur l'agent pathogène, sur l'hôte ou de l'interaction entre les deux.

La germination des spores dans les tissus vasculaires (xylème) des plantes est considérée comme un mécanisme important de pathogénicité de *F. oxysporum* f. Sp. lycopersici (38). Par conséquent, l'apparition des hyphes et des spores effondrés dans les échantillons traités par l'huile impliquent que l'huile de girofle pourrait être un outil potentiel pour freiner le fléau de Fusarium Maladie à la fois préventive et thérapeutique.

En effet les extrais et les huiles bioactives des plantes exercent une activité fongicide contre la population fongique du sol, celui-ci est témoigné par les travaux de (Belabid *et al.*, 2010). Le traitement du sol par les huiles essentielles de neuf plantes médicinales inoculé préalablement par le Fol *Fusarium oxysporum* f. sp *lentis* diminue significativement la population fongique et par conséquent, l'incidence de la maladie. Par ailleurs, les extrais chloroformique diminuent significativement la densité de la population fongique de *Fusarium oxysporum* agent de la fusariose de la tomate (Singha *et al.*, 2011). Selon les mêmes auteurs, l'extrais chloroformique diminue significativement la population fongique de *Fusarium oxysporum* entre 3 et 7 10 et l'incidence entre 95,6% et 100 selon la virulence de la souche.

Les résultats obtenus lors de l'essai biologique du pot sont conformes aux Résultats obtenus dans des conditions in vitro. L'huile de girofle a montré très Effet inhibiteur fort entraînant une réduction significative de la maladie de fléau Dans les plants de tomates. Cependant, l'efficacité de l'huile de girofle était la dose Dépendance montrant l'activité biocide la plus élevée à 5%. Concentration à 10% était phytotoxique peut-être en raison de niveaux élevés de matières volatiles d'huile de girofle Toujours présent dans le sol au moment

de la transplantation. En conclusion, les données obtenues fournissent des informations substantielles à l'appui de l'essentiel Huiles comme agents naturels pour le contrôle de la maladie de flétrissement de *Fusarium*. Cependant, une évaluation plus approfondie du coût et de l'efficacité de ces huiles essentielles Car la bioformulation dans les serres / champs commerciaux est justifiée (Sharma et *al.*, 2016).

De plus, l'effet des huiles essentielles sur la maladie pourrait être directement lié l'accumulation intensive de substances phénoliques dans la plante infectée (Ben-Jabeur et *al.*, 2015). Ces auteurs, ont constaté une réduction significative de l'incidence et de la gravité de flétrissement vasculaire de la tomate causé par *Fusarium oxysporum f.sp. radicis lycopersi*. Après sept jours de traitement une réduction de 30.76% a été observée. Par ailleurs, les mêmes auteurs montrent bien que l'effet biologique des huiles essentielles dans la réduction de la gravité fusarienne est accompli par l'activation des mécanismes de défense de la plante via une augmentation des quantités produites des composés phénoliques et la voie des peroxydases dans les racines et les feuilles. Par conséquent, l'expression de nombreux gènes de défense et les gènes de biosynthèse de métabolites secondaires.

Les expériences effectuées par (Hashema et *al.*, 2010) portés sur l'effet des huiles essentielles sur le complexe de la pourriture radiculaire provoqué par (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. equiseti* et *F. Lateritium*) ont présenté une réduction très importante de la gravité de la maladie. Les résultats obtenus montrent une réduction de la fréquence qui varie entre 28.1 et 92,5%.

Des résultats similaires ont été obtenus par (Nguefack et *al.*, 2013), dont montrent l'efficacité des huiles essentielles in vivo dans la réduction de l'incidence de la maladie de riz causée par *Bipolaris oryzae*. Les résultats obtenus montrent que le traitement de trois variétés de riz (riz rouge, Nerica et Tox) par l'huile de *Callistemon citrinus* provoque des degrés variable de diminution. L'incidence enregistrée est de 8, 1 et 0% sur la variété riz rouge, Nerica et Tox comparé avec les témoins non traités 54, 12 et 4% respectivement.

De même, (Soylu et *al.*, 2010) ont investigué l'effet des huiles essentielles de sur *Botrytis cineria*. Le niveau de protection des huiles testées contre ce champignon obtenu est varié en fonction la dose appliquée et le type de traitement préventifs et curatifs. Le niveau des traitements curatif par l'huile est supérieur entre 30.0 et 80,53% comparé avec le traitement préventif qui varie entre 8.95 et 78.95%. Cependant, le niveau de protection augmente au fur et à mesure l'augmentation de la dose.

Les résultats obtenus suites aux dosages effectués des flavonoïdes et des polyphénols ont montré également une augmentation des les plantules traitées par les concentrations faibles des huiles essentielles par rapport au témoin non traité.

Un niveau plus au moins faible de polyphénols et de flavonoïdes a été constaté chez les plantules traitées par l'huile essentielle à des concentrations très élevée. Ces résultats sont expliqués par premièrement l'effet direct des huiles essentielles en exerçant un effet sporicide sur le Foc et par l'intervention de ces composés dans les mécanismes de la défense des plantes. En outre, la diminution des phénoliques peut être attribuée au renforcement des parois cellulaires de la plante par polymérisation des lignanes et lignines. Les composés phénoliques produits par les plantes se forment à travers le métabolisme des phénylpropanoïdes. Lors de l'établissement d'une interaction hôte-parasite, de nouveaux composés phénoliques peuvent être formés à partir de substrats phénoliques préexistants ou par de répression de gènes ou activation de systèmes enzymatiques latents conduisant à la synthèse de nouvelles molécules, les phytoalexines (Singha et *al.*, 2011). Les composés phénoliques pré-infectionnels et post-infectionnels peuvent être impliqués dans les phénomènes de réticulation, subérification et lignification visant notamment à limiter l'action des forces de compression et celle des hydrolases des parasites. L'esterification et l'étherification d'acides phénoliques aux polymères pariétaux, polysaccharides et lignine (Liyama et *al.*, 1994) sont généralement considérées comme une réponse très active et précoce. Ces réactions s'accompagnent fréquemment d'une augmentation de l'activité des peroxydases anioniques, de la cinnamyl alcool deshydrogenase (CAD) et de l'accumulation de polymères phénoliques pariétaux, lignine et subérine.

Conclusion

En Algérie, la culture du pois chiche occupe une place importante parmi la légumineuse alimentaire. Le pois chiche participe à l'amélioration de la fertilisation du sol grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, cependant cette culture est exposée aux infections de *Fusarium oxysporum f.sp.cicers*, où elle constitue une menace plus grave, pour la culture du pois chiche, en raison de son développement rapide et les dégâts qu'il occasionne. Nous avons essayé d'étudier l'action de quelques huiles essentielles des plantes médicinales principalement sur la germination des spores de champignon ainsi que le flétrissement vasculaire de la plante.

Les huiles essentielles des plantes tests ont été évaluées pour leur activité inhibitrice de la germination vis-à-vis les spores de Foc. L'observation microscopique des spores traitées par les huiles essentielles a montré également des modifications morphologiques : éclatement, rétrécissement et la diminution de pouvoir germinatif total ou partielle. Les résultats obtenus suite à ce travail montrent que la germination du Foc a été inhibée par les huiles essentielles à des degrés variables, selon l'espèce végétale ainsi que la concentration utilisées. L'analyse des données montre que l'huile essentielle de *Thymus pallessens* L a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis le FOC. Ce dernier s'est montré plus sensible aux cinq concentrations appliquées. À cet effet, l'effet inhibiteur total a été constaté total pour les quatre premières concentrations et très élevée par la concentration C₅ (73,33%). Par ailleurs, l'huile essentielle de *Pinus halepensis* L présente une activité inhibitrice avérée faible contre le Foc, particulièrement à la concentration C₅ (36,25%).

Les huiles essentielles de trois plantes ont montré une diminution plus importante de la gravité de la maladie. En effet, l'application de l'huile essentielle de *Thymus pallessens* a montré le plus efficace contre la maladie. La valeur moyenne de l'AUDPC enregistrée est environ 300. Cependant, l'huile de *Laurus nobilis* demeure moyennement efficace avec une valeur 680 d'AUDPC. Par contre, l'huile de *Pinus halepensis* a montré moins efficace contre le Foc. À cet effet, les valeurs de l'AUDPC calculées ont varié entre 720 (C₁) et 830 (C₃).

Les résultats obtenus suite aux dosages effectués des flavonoïdes et des polyphénols ont montré également une augmentation des plantules traitées par les concentrations faibles des huiles essentielles par rapport au témoin non traité. L'analyse des données montrent également que le taux le plus élevé des polyphénols a été enregistré chez les plantules traitées avec l'huile essentielle de *Laurus* (22,5) et *pinus* (18) à la dose D3. En

revanche, le taux le plus faibles a été noté chez les plantules traitées par l'huile essentielle de Pinus (14.75) et Laurus (12) par la concentration D2.

Ces résultats, peuvent être expliqué par le double effet qu'ils possèdent les extraits de plante, d'une part confirme le fait in vitro représenté par l'effet sporocide exercé sur les spores de Foc, qui par conséquent diminue l'infectivité de l'agent pathogènes, et d'autre part, démontre l'effet indirect sur la plante par le déclenchement des mécanismes de défense par la libération des molécules antifongiques figurées par les flavonoïdes et les polyphénols.

Référence

AFNOR., (1986): Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57p.

Aida O., (2015) : Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Thèse. UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED. p19.

Aida O., (2015) : Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Doct. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA.p15. (Propriétés phy chimi activité anitifongique)

Al-Owain M, Al-Zaidan H, Al-Hashem A, Kattan H, Al-Dowaish A.Eur J Pediatr., (2010) :Munchausen syndrome by proxy mimicking as Gaucher disease.;169(8):1029-32

Agrios G.N., (1970): Plants pathology. Ed académie Press, Network pp ; 411-415.

Akhtar Ayoub,M., (2001) : Evaluation of chickpea germplasm, fungitoxicant, org and inorganic material for the management of wilt fusarium oxysporium f. sp ciceris. Thèse de doctorat. Université of agriculture, faisalabad, Pakistan. p 132.

Amira O. (2015) : Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Thèse. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA. P14.

Aumeeruddy-Elalfi Z., Gurib-Fakim A., Mahomoodally F. (2015). Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius. *Ind. Crops Prod.* **71** 197–204. 10.1016

Badawy M.E.I., Abdelgaleil S.A.M., Suganuma T., Fuji M. (2014): Antibacterial and biochemical activity of pseudoguaianolide sesquiterpenes isolated from *Ambrosia maritima* against plant pathogenic bacteria. *Plant Protect Sci.*, **50**: 64–69

Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD (1998). *Am J Epidemiol.*;147(8):755-63. Erratum in: *Am J Epidemiol* 1999 Jun 15;149(12):1161

Baser KHC. and Buchbauer G., (2010). Handbook of Essential oils: Science, Technology and Applications. CRC Press. UK.

Belabid, Lakhdar, Simoussa, Leila Bayaa and Bassam., (2010) : Effect of some plant extracts on the population of *Fusarium oxysporium* f. sp. lentis, the causal organism of lentil wilt. *Advances in Environmental Biology.* **4**(1): 95100

Ben Jabeur L., Tamine L., Boughanem M, (2012): A Bayesian network retrieval model for tweet search », *Proc. ACM Symposium on Applied Computing (SAC)*, ACM, p. 943-948

BELKOU H., BEYOUN F., TALEB BAHMED Z. (2005) - Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*menthe spicata* L) dans la région de Ouargla, Mémoire DES, univ Ouargla pp 2,61.

- Bertoncelj J, Fabri RL., (2009) :** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem* **105**: 822–8
- Bhaskara Reddy, M.V., Essaid, A.B., Castaigne, F., Arul, J., (1997) :** Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. 94th Ann Int. Conf. Am. Soc. Hort. Sci. Vol. 32, Salt Lake City, Utah, USA, 237 pp. (Abs).
- Booth C. (1971):** “The genus *Fusarium* ,” Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England
- Bouguerra ALI M. (2012) :** Etude des activités biologiques de l’huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill .en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse Magister: biotechnologies alimentaire. Constantine: Université Mentouri (I.N.A.T.A.A.), 111p.
- Brunneton J., (1993):** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. 484, 489, 548, 555,634 p
- Burnett J.H., (1984):** Aspects of *Fusarium* genetics. In “The Applied Mycology of *Fusarium* “ (Moss M.O. & Smith J.E., eds.), pp. 39-69. Cambridge University Press, Cambridge.
- Celiktas., (2007) :** In vitro antioxidant ctivities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem.* **101**: 1457-1464
- Chebli B., Achouri M., Idrissi Hassani L.M. & Hmamouchi M., 2003.** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan *Labiatae* against *Botrytis cinerea* Pers:
Fr. J. Ethnopharmacology, **89**, 165-169.
- Cordova-Albores., (2015) :** Microscopic study of the morphology and metabolic activity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* treated with *Jatropha curcas* oil and derivatives, *Journal of Microscopy and Ultrastructure* ,Volume **4**, Issue 1, Pages 28-35
- Daferera, D.J,Ziogas B.N., polissiou, M.G., (2003) :** The effective of plant essenciel oils in the growth of *botrytis cinerea*, *fusarium* s.and *clavibacter* subsp. *Crop protection* **22**, 39-44.
- Daouk KD, Dagher MS, Sattout JE., (1995);** Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. *Journal of Food Protection*, 1995; **58**: 1147-1149.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food Chem.*, **97**: 654-660.
- Dorman HJ, Deans SG.J Appl Microbiol., (2000);** Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. *88(2)*:308-16.
- El Mahdjoub M, 1972.** Etude des relations hôte parasite dans le cas de trachéomycoses. *I.N.R.A.T. ARIANA*; 17p.
- Food Chemistry., (2000) :**Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils *J Appl Microbiol.* **119(1)**:196-201

Jiminez Gasco M.M., Perez Artes E. and Jiminez Diaz R, M, (2001). Identification of pathogenic races 0, 1B/C 5, and 6 of *Fusarium oxysporium* f. sp. *Ciceris* with random amplified polymorphic DNA (RADPD). *Eur.J. Plant Path.* **107**: 237-48.

Hamadache A et Ait Abdallah F., 1998. Lutte contre les adventices en culture du Pois chiche d'hiver: UN facteur determinate pour la valorization du materiel vegetal et du semis précoce .céréaliculture N°33 ISSN 1011-9582.

Haware M P., Nene. And Rao N, (1981), additional source of resistance to wilt and root of chickpeas. *International chickpea Newsletter.* **4**:18

Henni J.E, 1998. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. 171p.

Herman BK.,(2016) : The neurobiological basis of binge-eating disorder .Department of Radiology, University of Alabama at Birmingham School of Medicine,2016 :e34589.

Hibar H., Daami-Remadi M., Jabnoun-khiarddine H., El akram Znaidi I. et El mahdjoub M,(2005). Effets des extraits de compost sur la croissance mycélienne et l'agressivité du *Fusarium oxysporium* f.sp. *radicis-lycopersici*, **2** :101-108.

Ismail Amri, Lamia Hamrouni, Mohsen Hanana , Samia Gargouri, Tarek Fezzani & Bassem Jamoussi ., (2013) :Chemical composition, physico-chemical properties, antifungal and herbicidal activities of *Pinus halepensis* Miller essential oils. *Biological agriculture end horticulture. An international journal for sustainable production system.*volume **29**.

ITGC., 2003 : « céréaliculture » revue de l'institut technique de grandes cultures n°40.

Kamdi SP and Palkar PJ, (2013). Bioéquivalence study pantoparazole sodium-HPBCD and conventional pantoparazole sodium eutectic-coated tablet formulation. *ISRN pharmacol*: E347457.

Kaouiani, A., Khaldoun, A., et B ellah. F., (2003) : Sélection pour la résistance du pois chiche a la maladie du flétrissement *Fusarium oxysporium* f. s.*Cieri*. *Céréaliculture revue technique et scientifique de l'TGCn*40.

Kichache. K., (2005) : contribution a l'étude de l'effet de la fertilisation phosphatée a la base des engrais SPP 20% ET STP 46% sur le pois chiche, mémoire de fin d'étude.

Kolai N., Saiah F., Boudia A , (2012) : Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d' *Artimesia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Algerian journal of arid environment* ,**2** :71-76

Komi A, 1993. Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp.*vasinfectum* (ATK) SN. Et H : Agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier II. Sciences et Techniques du Languedoc.

Kurita, N., myaji, M., kurane, R., Takahara, Y., Ichimara, K., (1979) : Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compound from oils of higher plants. *Agric. Boil.Chem.* **43**: 2365-2371

Lam TB-T, Iiyama K, Stone BA .,1999, Primary and secondary walls of grasses and other forage plants: taxonomic and structural consideration. In DE Akin, MG Ljundahl, RJ Wilson, PJ Hams, eds, *Microbial and Plant Opportunities to Improve Lignocellulose Utilization by Ruminants*. Elsevier, New York, pp 43-69.

Laumont P., et Chevassus A., (1956) : Note sur l'amélioration du pois chiche en Algérie. Institut Agricole d'Algérie. Maison-carrée, Alger ; 24 p.

Massian CM et Cassini R., (1981) : taxonomy of fusarium . in fusarium disease. Biology of taxonomy Pennsylvania state university park. pp427-445.

Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S. (2006) : Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal, **7(1)**: 3-8.

Markowicz B ., (2007) :Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts Molecules. **12**: 423-432.

Mohammedi ., (2006) : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister.Tlemcen**Navas-Cortés, J.A., Alcalá-Jiménez, A.R., Hau, B. (2000)** : Journal of Plant Pathology 106: 135.

Nguefack, S. (2005) Le Syndrome de West: Aspects étiologiques et évolutifs. A propos de 42 cas. Mémoire de fin d'étude de spécialisation en pédiatrie. Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, Yaoundé 26, 174-177.

Plancquaert PH. et Wery J.,(1991): Le pois chiche : Culture et utilisation. Brochure Ed. ITCF, Paris, France; 11 p.

Ribèreau-Gayon., (1972) : Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, 1972, p. 671.

Sharma, P. M., Bowman, M., Madden, S. L., Rauscher, F. J., III, and Sukumar, S. (1994). Genes Dev. **8**, 720-731.

Serife Evrim Arici, 2013. INVESTIGATION OF POTANTIAL BIOLOGICAL CONTROL OF FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. RADICIS-LYCOPERSICI AND F. OXYSPORUM F. SP. LYCOPERSICI BY ESSENTIAL OILS, PLANT EXTRACT AND CHEMICAL ELICITORS IN VITRO. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural, Suleyman Demirel University, Isparta, Turkey **45(6)**: 2119-2124

SINGH N, HANDA A, HASEGAWA P et BRESSEN R ., 1987 : caractérisation of osmotin. Plant physiology **85** : 529-536.

Sinha B, Köster D, Ruez R, Gonnord P, Bastiani M, Abankwa D, Stan RV, Butler-Browne G, Védie B, Johannes L, Morone N, Parton RG, Raposo G, Sens P, Lamaze C, Nassoy P.Cell. 2011Cells respond to mechanical stress by rapid disassembly of caveolae. ;**144(3)**:402-13.

Sipailiene A., Venskutonis, P.R., Baranauskiene, R et Sarkinas, A., 2006. Antimicrobial activity of

Smith S.N; Jeffers D et Devay J.E, (1965) : Effect of glucose and biotin on the growth and spoulation of *Fusarium spp.* Especially pathologenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*

Snyder W. C et Hansen H.N, (1945) : The species concept in *Fusarium* with reference to discolor and other section. American Journal of Botany 32-657-666.

Sokovic M., O. Tzakou D. pitarokili and M. couladis (2006) : Antifungal ovtivities of selected aromatic plants grawing wil in greece. Nahrung **46** :317-320.

Soylu Emine Mine, Sener Kurt, Soner Soylo, (2010): In vivo and in vitro antifungal activities of the essential oils of virous plants againts tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. International Journal of food microbiology **143**(2010) 183_189.

Suresh S., Mahendra J. (2014) : Multifactorial relationship of obesity and periodontal disease. *J. Clin. Diag. R.* 8 ZE01–ZE03. 10.7860/JCDR/2014/7071.4227

Trapero-Casas, (1983) : commercial samples of thyme and majoral oils. Journal of essential oil.research, vol **18** p698-703.

USDA., 2008 : plante profile of cicer arietinum (chickpea). United states departement of agriculture (USDA), natural ressources conservation services (NRCS). Plant detabase

Van Der Maesen, L.J.G. (1972): A monograph of the genus with special reference to the chickpea (*C. arietinum* L.) Veeman and Zoren, Wageningen, The Netherlands. 72-10.

Vuorela ., (2005): Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.

Waalwijk C ; Baayen R.P et Gams W., (1996) :Ribosomal DNA analyses challenge the status of *Fusarium* section *Liseola* and *Sydowia* 48,90-104.

WollenweberH. W et Reinking O.A, (1935):“Die Fusarium, ihre Beschreibung“, Schadwirkung und Bekämpfung, Berlin: Paul Parey.

Wong C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006): A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* **97**: 705-711.

Yahyaoui 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 confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.(localisation HES

Zahira.G., (2013) : l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante *lorus nobilis*. Thèse. Université Kasdi Merbah Ourgla .P 19.

Les listes des annexes

Composition des milieux des cultures utilisés :

Milieu PDA :

Extrait de pomme de terre	20g
Glucose.....	20g
Agar agar.....	15g
Eau distillé.....	100ml

Milieu de pois chiche :

Pois chiche

Agar agar.....	20g
Saccharose.....	20g
Eau distillé	100ml