

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

Université Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master en Microbiologie

Option : Biotechnologie des mycètes

Thème

Contribution à la mise en évidence in vitro de l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* et *Thymus dreatensis* contre les champignons lignivores

Présenté par :

BENTAYEB Asma & DJEMMAL Saber

Soutenu le 24/06/2014

Devant le jury :

Président : Mr KACEM CHAOUCHE

Prof. Université Constantine 1

Encadreur : M^{me} MIHOUBI I.

Prof. Université Constantine 1

Examinatrice : M^{elle} LAHLAH.

MA. Université Constantine 1

Tutrice : M^{elle} BENSERRADJ O.

Doctorante. Université Constantine 1

Année universitaire : 2013/2014

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Mycologie appliquée de ChaabErsass. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine 1.

Nous remercions DIEU tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné santé, courage, volanté et patience pour avoir réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer notre très grande gratitude à Mme MIHOUBI I. pour nous avoir proposé le thème de ce travail et d'avoir accepté de la rédiger du début jusqu'à la fin. Nous la remercions sincèrement pour ses précieux conseils, ses encouragements, sa disponibilité, sa patience, le temps qu'elle nous a consacré, la correction minutieuse et tous les efforts qu'elle a fournis pour le bon aboutissement de ce travail.

Nous remercions Mr KACEM CHAUCHE N. qui n'a pas hésité à tout moment d'offrir son aide scientifique et nous à fait l'honneur d'être le président de ce jury.

Nos vifs remerciements s'adressent Melle Lahlah qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillances et nous en sommes très honorées.

Nous remercions aussi Melle BENSERRADJ OUAFA, pour sa gentillesse, et qui nous a fait bénéficier de son expérience en mycologie

En fin, nous remercions tous ce qui nous ont aidé et ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



❧

Dédicace

*Je dédie ce travail à mes chers parents
Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma
profonde gratitude pour leur amour, leur
encouragement et leur soutien tout au long de
mes études, que DIEU les bénisse*

A tous mes amis

A tous mes collègues de promotion

A tous ceux que j'aime

❧

Saber, Dj



Dédicace

A mes très chers parents

A ma grande famille

A ma cousine Zineb

A mon amie Rima et toute sa famille

A toute mes amies et mes camarades

A toute personne me connaît

Asma

Résumé

Les huiles essentielles sont l'un des composants des plantes aromatiques. Ils jouent un rôle très important comme agents antifongiques. Leurs activités biologiques *in vitro* sont largement rapportées. Grâce à cette étude, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* et *Thymus dreatensis* contre les champignons qui détériorent le bois des arbres. Quatre souches ont été identifiées comme appartenant respectivement aux genres *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Cladosporium*. L'évaluation de l'activité antifongique de *Thymus ciliatus* et *Thymus dreatensis* s'est révélée fort intéressante. En effet, les HE testées se sont avérées efficaces contre nos souches à l'exception du *Penicillium* qui semblait être plus résistant aux deux huiles. Cette activité est probablement due à la présence du thymol connu pour son efficacité contre les champignons.

Mots clés: Plantes aromatiques, *Thymus ciliatus*, *Thymus dreatensis* , activité antifongique, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Acremonium* , *Cladosporium* .

Abstract

Essential oils are one of the components of the aromatic plants. They play a very important role as antifungal agents. Their biological activities *in vitro* are widely reported. Through this study, we tried to identify the antifungal activity of essential oils of *Thymus ciliatus* and *Thymus dreatensis* against fungi that degrade wood trees. Four strains were identified as belonging respectively to the genera *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium*. The evaluation of the antifungal activity of *Thymus ciliates* and *Thymus dreatensis* are proved very interesting. Indeed, essential oils tested were effective against our strains except *Penicillium* that appeared to be more resistant to both oils. This activity is probably due to the presence of thymol known for its effectiveness against fungi.

Keywords: Aromatic plants, *Thymus ciliatus* ,*Thymus dreatensis* ; Antifungal activity, *Penicillium*, *Aspergilus*, *Acremonium* , *Cladosporium*

الملخص

تعد الزيوت الأساسية واحدة من بين مكونات النباتات العطرية. اذ تلعب دورا بارزا لكونها عامل مضاد للفطريات . بفضل هذه الدراسة، حاولنا ان نتعرف على النشاط المضاد للزيوت الأساسية و تحديدا لزيبتين أساسين لنوعين من الزعتر ،ضد الفطريات المفسدة لخشب الأشجار.و بعد عزل الفطريات انطلاقا من خشب الاشجار الفاسد تمت دراستها ماكروسكوبيا وميكروسكوبيا و حددت اربع انواع من الفطريات : *Aspergillus sp* , *Penicillium sp* , *Acremonium sp* , *Cladosporium sp*. تبين كذلك أن تقييم نشاط الزيتين الأساسيين لنوعين من الزعتر المضاد للفطريات، جد مثير للإهتمام ضد جميع الفطريات باستثناء *Penicillium sp*.الذي يعتبر جد مقاوم لهذين الزيتين الأساسيين.و ربما يرجع هذا النشاط إلى وجود الثيمول المعروف بفعاليته ضد الفطريات.

الكلمات المفتاحية :

النباتات العطرية - النشاط المضاد للفطريات - الزعتر *Aspergillus sp* , *Penicillium sp* , *Cladosporium sp* , *Acremonium sp*

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : association française de normalisation

C° : degré Celsius

C₆H₁₂O₆ : glucose

cm : centimètre

CO₂ : dioxyde de carbone

CPG : chromatographie en phase gazeuse

g : gramme

HE : huile essentielle

H₂O : eau

IR : l'indice de rétention

l : litre

ml : millilitre

mm : millimètre

Mn : minute

OMS : organisation mondiale de la santé

PDA : Potato Dextrose Agar

PH : potentiel d'hydrogène

Rd : rendement en huiles essentielles

SM : solution mère

sp : espèce

µl : microlitre

% : Pourcentage

φ : diamètre

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Classification classique des plantes

Tableau 02 : Classification classique des plantes

Tableau 03 : Les 3 formes de pourritures dues aux champignons lignivores

Tableau 04 : Description des 3 formes de pourritures dues aux champignons lignivores

Tableau 05 : Compositions chimiques, indice de rétention et pourcentage de composition de *T. ciliatus* d' Ain M'lila

Tableau 06 : Les compositions chimiques de l'huile essentielle de *T.dreatensis* Batt , de Djelfa

Tableau 07 : L'identification macroscopique et microscopique des souches

Tableau 08 : Effet des différentes concentrations d'huile essentielle de *T.ciliatus* sur les 4 souches

Tableau 09: Effet des différentes concentrations d'huile essentielle de *T.dreatensis* sur les 4 souches

Tableau 10 : Le diamètre des zones d'inhibition de croissance avec *T .dreatensis*

Tableau 11 : Le diamètre des zones d'inhibition de croissance avec *T .ciliatus*

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : *Thymus ciliatus*

Figure 02 : *Thymus dreatensis*

Figure 03 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation

Figure 04 : Image illustrant la pourriture brune

Figure 05 : Mycélium de la pourriture blanche sur du bois de sciage

Figure 06 : La pourriture molle, (ressemblance avec la pourriture brune)

Figure 07 : Illustration des champignons de la pourriture alvéolée

Figure 08 : Système d'extraction hydrodistillation

Figure 09 : Arbres pourris

Figure 10 : Les étapes de préparation des dilutions

Figure 11 : Les étapes d'obtention des puits à l'aide de pipette pasteur

Figure 12 : Principe de la méthode de la diffusion par puits

Figure 13 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Aspergillus sp*

Figure 14 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Acremonium sp*

Figure 15 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Cladosporium sp*

Figure 16 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Penicillium sp*

sommaire

INTRODUCTION	1
---------------------------	---

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les plantes aromatiques

1. Introduction	3
2. Domaines d'application des plantes aromatiques.....	4
2.1. Utilisation des plantes en médecine.....	4
2.2. Utilisation des plantes en agriculture.....	5
2.3. En alimentation.....	5
2.4. En cosmétique.....	6
3. La famille des lamiacées	6
4. Le genre thymus	7
4.1. Origine du nom.....	7
4.2. Distribution géographique des <i>thymus</i>	7
4.3. L'espèce <i>Thymus ciliatus</i>	7
4.3.1. Classification.....	7
4.3.2. Description.....	8
4.3.3. compositions chimiques	9
2. L'espèce <i>Thymus dreatensis</i>	9
4.4.1. Classification.....	9
4.4.2. Description.....	10
4.4.3. Composition chimique.....	10

Chapitre II : Les Huiles Essentielles

1. Introduction.....	11
2. Définition	11
3. La localisation des huiles essentielles.....	11
4. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	12
5. L'utilisation des huiles essentielles	12
6. Composition des huiles essentielles.....	13
6.1. Les terpénoïdes.....	13

6.2. Les composés aromatiques.....	13
6.3. Les composés d'origines diverses.....	13
7. La toxicité des huiles essentielles.....	14
8. L'activité biologique des huiles essentielles.....	14
8.1. Activité antifongique.....	14
8.2. Activité antimicrobienne.....	15
9. Les techniques d'obtention des huiles essentielles.....	15
9.1. La distillation.....	15
9.1.1. Hydrodistillation.....	16
9.1.2. L'hydrodiffusion.....	17
9.1.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	17

Chapitre III : Les Champignons Lignivores

1. Généralités sur les champignons.....	18
2. Les champignons lignivores.....	19
3. Les conditions de développement des champignons lignivores.....	20
4. Types des champignons lignivores.....	21
4.1. Les champignons de pourriture cubique brune.....	22
4.2. Les champignons de pourriture fibreuse blanche.....	22
4.3. Les champignons de pourriture molle.....	23
4.4. Les champignons de la pourriture alvéolaire.....	24

PARTIE PRATIQUE

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétale.....	26
2. Extraction des huiles essentielles.....	26
2.1. Calcul du rendement en huile essentielle.....	27
3. Matériel biologique.....	27
3.1. Echantillonnage.....	27
3.2. Isolement.....	28
3.3. Purification des souches.....	29
3.4. Identification des souches.....	29

3.4.1. Identification macroscopique.....	29
3.4.2. Identification microscopique.....	29
4. Activité antifongique in vitro des huiles de <i>T. dreatensis</i> et <i>T. Ciliatus</i>	30
4.1. Technique de diffusion par puits sur gélose.....	30

RESULTATS

1. Extraction des huiles essentielles.....	34
1.1. Rendement et composition chimique des huiles essentielles.....	34
2. Etude mycologique.....	36
2.1. Identification des souches isolées.....	36
2.1.1. Etude macroscopique.....	36
2.1.2. Etude microscopique.....	37
2.2. Activité antifongique des HE.....	39

DISCUSSION	46
-------------------------	----

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	49
---	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

L'utilisation d'agents chimiques contre les espèces fongiques responsables de la pourriture du bois tels que le benzimidazole, le chromate acide de cuivre (CCA), l'arséniate de cuivre chromé (ACC) et l'arséniate de cuivre et de zinc (ACZA) pose de graves problèmes à l'environnement en raison de leur grande toxicité. Selon (Deferera *et al*), un sérieux problème se pose quant à l'efficacité à long terme de ces produits qui se manifestent par un développement de la résistance des champignons pathogènes. Pour cela, la recherche de nouveaux produits contre les agents de la détérioration du bois ayant pour principes actifs des biomolécules naturellement présentes dans les plantes aromatiques et médicinales peut s'inscrire comme une solution écologique à un moindre coût (Haluk et Roussel, 1998). Ainsi, l'utilisation des biocides naturels, extraits des plantes, notamment les huiles essentielles est de plus en plus évoquée (Durand, 1984). Cependant, très peu d'études ont été réalisées sur leurs utilisations comme agents biologiques pour la protection du bois.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique (Quezel et santa, 1963). Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatisation des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés aux espèces de la famille des lamiacées. Les plantes sur lesquelles s'est porté notre choix sont deux espèces de thym, à savoir, « *Thymus ciliatus* » et « *Thymus dreatensis* » provenant respectivement des régions de « Ain M'Lila » et « Djelfa ».

Notre choix pour ces espèces est justifié par le fait que ces plantes sont endémiques et riches en huiles essentielles et composés phénoliques notamment les flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

Dans ce contexte, la présentation de notre étude sera répartie comme suit :

- Une première partie, bibliographique, comportant trois chapitres :
 - Le premier consacré à la présentation botanique de plantes aromatiques, du genre "*Thymus*".
 - Le deuxième consacré à l'étude des huiles essentielles.
 - Le troisième présentera un bref aperçu des champignons lignivores.

- La deuxième partie, sera consacrée à la présentation de notre travail pratique, organisé comme suit :

- Matériels et méthodes
- Résultats et discussion

L'étude sera clôturée par une conclusion et des perspectives

Revue

Bibliographique

Chapitre I : *Les plantes aromatiques*

Chapitre II : *Les huiles essentielles*

Chapitre III : *Les champignons lignivores*

Chapitre I : les plantes aromatiques

1. Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tels que les animaux et les êtres humains. L'ensemble de ses organes forme une usine productrice immense des milliers de substances différentes sur le plan structural ainsi que biologique. Cette usine utilise le CO₂ dégagé dans l'atmosphère et le H₂O comme matières premières par le biais de la photosynthèse pour produire la première matière organique qui est C₆H₁₂O₆. Toutes les catégories de molécules sont synthétisées par la suite, chacune selon sa voie de biosynthèse.

Au cours de ces dernières années, les recherches scientifiques se sont intéressées aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments; sachant que plus de 120 composés provenant des plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel (Bérubé, 2006).

Actuellement l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Bérubé, 2006). Par conséquent, les industries pharmaceutiques s'intéressent de plus en plus à la diversité des molécules biologiques des végétaux dans le but d'avoir de nouveaux composés pourvus de propriétés inédites.

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture. Ensuite, il a évolué et s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes pour soigner les différentes maladies. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (Damintoti, 2005).

Vers les années 1990, les grandes compagnies pharmaceutiques se sont détournées des produits naturels pour s'intéresser à la chimie combinatoire, croyant que dans quelques années le nombre de médicaments serait plus élevé, cependant ce n'était pas le cas, malgré le grand budget investis, pour la recherche. Par conséquent, le nombre de médicaments a chuté d'une façon remarquable sachant que pour la synthèse d'un seul médicament 10000 molécules doivent être synthétisées et testées (Bérubé, 2006).

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques. Les plantes aromatiques sont caractérisées par leur richesse en principes actifs et en substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes.... qui sont dotées des propriétés importantes et différentes.

2. Domaine d'application des plantes aromatiques

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve dans les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (Bahorun, 1997).

Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement (Scientific Correspondence, 2003).

2.1. Utilisation des plantes aromatiques en médecine

Elles sont utilisées en tant que médicament pour l'homme dans plusieurs domaines, notamment :

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux (Svoboda et Hampson, 1999).
- Pour les systèmes cardiovasculaires, ex : Flavoc est un médicament constitué par la flavone non substituée en combinaison avec la rutine et l'isoquercétine utile dans le traitement de l'athérosclérose (Narayana et al., 2001).
- Dans les drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (*Melaleuca alternifolia*, *Echinacea angustifolia*, *Chrysanthemum* *Achillea parthenium*, *millefolium*,...etc.) (Svoboda et Hampson, 1999; Pedneault et al., 2001; Amjad Hossain, 2005).
- Contre le diabète (*Azadirachta indica*) (Amjad Hossain, 2005).
- Contre les maladies du stress ; des activités antioxydantes fournies par le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composé phénoliques, parmi lesquels theaflavine, le resveratrol, le gallate et epigallocatechine procyanidine, très étudiés en raison de leur

rôle en tant qu'agent chemopréventifs basés sur leurs capacités antioxydantes (Lee *et al.*, 2003). D'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles de romarin, de la sauge, du thym, de l'origan, de la sarriette, des clous de girofle, du gingembre et du curcuma (Cuvelier *et al.*, 1990,1992,1996).

- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire : Les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques ex : la quinine obtenue à partir du quinquina (*Cinchona*) a été employée avec succès pour traiter le malaria (Dastidar *et al.*, 2004). L'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé pour ses propriétés : antibactériennes, anti-infectieuses, antifongiques, antivirales (Svoboda et Hampson, 1999), aussi comme antiviral (*Azadirachta indica*, *Aloe vera*, *Andrographis paniculata*, *Withania somnifera*, *Astragalus membranaceus*, *Curcuma longa* ...etc) (Amjad Hossain, 2005; Lyon et Nambiar, 2005). Cependant, aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la réplication du VIH (Lyon et Nambiar, 2005), antibactérienne (*Azadirachta indica*), antifongiques (*Adenocalyma alleaceum*, *Allium ampeloprasum*, *Allium ramosum*, *Allium sativum*, *Tulbaghia violacea*, *Capsicum annum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens*) (Wilson *et al.*, 1997).

2.2. Utilisation des plantes en agriculture

L'arbre *Azadirachta indica*, qui se développe dans tout le subcontinent indien, est une des plantes médicinales les plus importantes au Bangladesh, de 12 à 18 mètres de hauteur avec un périmètre atteignant jusqu'à 1,8 à 2,4 mètres. Les huiles de cet arbre trouvent leurs utilisations dans l'agriculture, dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites) (Amjad Hossain, 2005).

2.3. En alimentation

Assaisonnements, des boissons, des colorants (Svoboda et Hampson, 1999; Porter, 2001) et des composés aromatiques (Smallfield, 2001). Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsables des plaisirs de la table (Delaveau, 1987), considérées comme condiments et aromates. La popularité des épices et herbes aromatiques a été et reste liée à leurs propriétés organoleptiques. La notion de flaveur des épices et aromates recouvre l'ensemble des perceptions olfacto-gustatives. Ces perceptions résultent de stimuli générés par une multitude de composés organiques dont

certaines sont volatils et constituent ce qu'on appelle en général l'huile essentielle, les autres non volatils, sont plus particulièrement responsables de la saveur et de la couleur (Richard et Multon, 1992; Takeoka, 1998; Belitz et Grosch, 1999).

2.4 En cosmétique

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (Porter, 2001). Par ailleurs, il est à noter qu'un bon nombre de ces plantes est utilisé comme suppléments diététiques (Smallfield, 2001).

3. La famille des lamiacées

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (Gherman *et al.*, 2000; Hilan *et al.*, 2006).

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (Miller *et al.*, 2006). Les labiées sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plantes herbacées, en général odorantes, à tige quadrangulaires, feuilles en général opposées sans stipules, fleurs pentamères en général hermaphrodites. Calice à cinq divisions, corolle en général, bilabée longuement tubuleuse parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre. La lèvre inférieure est trilobée, la supérieure bilobée. Les étamines sont au nombre de 4, la cinquième nulle ou très réduite, parfois deux étamines et deux staminodes. Ovaire super à carpelles originellement bi-ovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. (Quezel et santa, 1963).

Les lamiacées sont très nombreuses et les espèces les plus citées dans la littérature sont : *Salvia officinalis* (Fellah *et al.*, 2006), *Mentha spicata* (Choudhury *et al.*, 2006), *Origanum vulgare* (Dimitrijević *et al.*, 2007), *Rosmarinus officinalis* (Gachkar *et al.*, 2007; Marzouk *et al.*, 2006), *Ocimum basilicum* (Lee *et al.*, 2007). Ainsi que de nombreuses espèces du genre *Thymus* qui ont été abondamment étudiées de ce point de vue (Rota *et al.*, 2008; Elhabazi *et al.*, 2006).

Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiacées sont des source riches en terpénoides, flavonoïdes, iridoïdes glycosylés et composés phénoliques (Naghbi *et al.*, 2005).

4. Le genre *Thymus*

4.1. Origine du nom

Le nom « thym » proviendrait aussi bien du latin que du grec et à deux significations :

- *Thymus* : «parfumer» (latin)
- *Thumus* : «courage» (grec)

4.2. Distribution géographique des thymus

➤ *Dans le monde*

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Naghbi *et al.*, 2005). Selon Dob *et al.*, 2006, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye). Il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (Mebarki, 2010). On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar *et al.*, 2005, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen.

➤ *En algérie*

Le thym comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Mebarki, 2010). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement.

4.3. L'espèce *Thymus ciliatus*

4.3.1. Classification

Selon la classification usuelle, l'espèce *T. ciliatus* appartient à l'ordre des Lamiales et à la famille des Lamiaceae (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification classique des plantes (Benabid, 2000).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Astériidae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>T.ciliatus</i>

4.3.2. Description

Thymus ciliatus (Desf) Benth est un arbrisseau de petite taille, mais pouvant former des touffes bien étalées sur le sol (Figure 1). Les feuilles florales sont différentes des feuilles caulinaires, en général fortement dilatées à leur portion inférieure. Rencontrée dans les broussailles, matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocailleux et bien drainés, la plante se répartit sur tout le Maroc non saharien (Benabid A, 2000).



Figure (01) : *Thymus ciliatus*(www.google.com/image/thym_ciliatus)

4.3.3. Composition chimique

L'huile essentielle de *T. ciliatus* présente un polymorphisme chimique très important. En effet, (Benjlali et al., 1987a; 1987b), ont montré que le profil chimique de 14 échantillons de *T. ciliatus* de différentes régions du Maroc est très variable. La teneur et la nature des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre en fonction de l'origine des plantes : thymol (0,3- 29,3 %), carvacro (0,4- 21,7 %), acétate d' α -terpényle (0,42- 9 %), acétate de géranyle (0- 21,7 %), butyrate de géranyle (0- 26,7 %), camphre (0,4- 28,4 %) et bornéol (0,1- 31,6 %). C'est le cas aussi pour *T. ciliatus* de l'Algérie, pour lequel Giordani et al., (2008) ont montré que l'huile essentielle de cette espèce originaire de Djebel Ansel est dominée par le thymol (60,52 %). Alors que le carvacrol (72,4- 80,3 %) est le constituant principal de huit provenances de *T. ciliatus* sp. *eu-ciliatus* de la région de Tlemsen (Bousmaha *et al.*, 2007).

4.4. L'espèce *Thymus dreatensis*

4.4.1. Classification

Tableau 2 : Classification classique des plantes

(http://en.wiki/Thymus_dreatensus)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Astériidae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>T.dreatensis</i>

4.4.2. Description

Thymus dreatensis Batt se compose de tiges prostrées longuement rampantes, et des feuilles ovoïdes, moins de 2 fois plus longues que larges, toutes identiques (Figure 2). Plante très gazonnante à rameaux florifères courts, fleurs roses en Pelouses de haute montagnes (Quezel *et al.*, 1963).



Figure (02) : *Thymus dreatensis*(www.google.com/image/thym_dreatensis)

4.4.3. Composition chimique

Les compositions d'huiles essentielles isolées de neuf échantillons de trois espèces de *Thymus* (*Thymus algeriensis*, *Thymus pallescens* et *Thymus dréatensis*) ont été analysées par GC et GC- MS, et un total de 114 composants ont été identifiés. *T. pallescens* recueillies auprès de diverses régions ont montré une grande similitude dans leurs compositions et ont été caractérisées par le carvacrol (44,4 à 57,7 %), le p-cymène (10,3 à 17,3 %) et p-terpinène (10,8 à 14,2 %) que les principaux composants pour quatre échantillons; un seul échantillon était riche en thymol (49,3%) avec une petite quantité de carvacrol (9,0 %). D'autre part, *T. algeriensis* a montré un polymorphisme chimique, même pour des échantillons provenant de la même position, et deux nouveaux types chimiques de cette espèce ont été proposés. Monoterpènes oxygénés étaient la classe dominante (76,3 %) dans l'huile de *T.dreatensis* , avec le linalol (30,4 %), le thymol (20,2 %) et le géraniol (19,6 %) que les principaux constituants (M. Hazzit *et al.*, 2009).

Chapitre II : les huiles essentielles

1. Introduction

Les huiles essentielles des plantes sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes (Merghache *et al.*, 2009). Ces Huiles essentielles restent toujours notoires grâce à leurs diverses propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales mais la majorité de ses principes actifs restent à identifier (Benchohra *et al.*, 2011).

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales (Boukhatem *et al.*, 2010).

2. Définition

Il existe plusieurs expressions pour définir l'huile essentielle. La norme française, AFNOR NF T 75-006, donne comme définition « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation « sèche ». Cependant cette définition par procédé peut être considérée restrictive. La définition qui semble la plus universellement acceptée est la suivante : « *Huile obtenue suite à l'extraction de la matière végétale à la vapeur d'eau* ».

Cette huile est composée d'un mélange des substances volatiles obtenues par co-distillation avec la vapeur d'eau. Celle-ci libère des substances renfermées dans les glandes de la plante, à des températures plus basses que leur propre point d'ébullition grâce à la contribution de la pression partielle de la vapeur d'eau (Garneau *et al.*, 1996).

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent, en particulier les Labiés, les Ombellifères, les Myrtacées et les Lauracées (Bouguerra, 2011).

3. La localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, presque toutes les familles des plantes participent à leur production, en particulier les labiées qui en fournissent le plus (Saidj F, 2007). Elles sont élaborées au sein de cytoplasme des

cellules sécrétrices. Cependant, on les trouve aussi bien dans les organes végétatifs que dans les organes reproducteurs (Bhar et Balouk, 2011).

Il existe trois types de structures sécrétrices dans les plantes:

- Les poils glandulaires épidermiques : les plantes possédant ces poils font partie des familles des Lamiacées, des Géraniacées, des verbénacées, entre autres.
- Les poches sphériques schizogènes : les glandes de type poche se retrouvent chez des plantes des familles des Astéracées, Hypéricacées, Rosacées, Rubiacées, Rutacées et autres. Un bel exemple de ce type est l'Eucalyptus globulus.
- Les canaux glandulaires lysigènes : on retrouve des canaux glandulaires dans tous les bois résineux et en particulier chez les Abiétacées et les Cupressacées; le pin maritime en est un exemple. (Garneau *et al.*, 1996).

4. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques liquides odorantes, plus ou moins colorées, volatiles, de nature hydrophobe, totalement solubles dans les alcools l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Leur densité est en général, inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart des HE dévie la lumière polarisée. Contrairement aux huiles végétales. Les HE ne contiennent pas de corps gras et elles sont sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (Bhar et Balouk, 2011).

5. L'utilisation des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs.

Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains. Elles peuvent être utilisées pour usage externe (inhalations, compresses, massages, bains aromatisés, soins des cheveux, diffusion d'arôme, etc.) ou interne (infusions, sirops, pastilles, etc.).

Chaque huile essentielle a ses caractéristiques et ses fonctions qui lui sont propres. Par exemple, celle extraite du sapin baumier est un excellent antiseptique atmosphérique par diffusion. Elle permet de purifier, d'aromatiser l'air et de se prémunir ainsi contre les infections. En massage, elle fluidifie les sécrétions respiratoires et soulage les douleurs musculaires (Melanie, 2001).

6. Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent à 2 séries distinctes : la série terpénique et la série des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (beaucoup moins fréquents) (Figueredo, 2007).

6.1. Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés. On y trouve en plus des terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres.

6.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle .

6.3 Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés.

- **Alcools** : menthol, géraniol, linalol,...
- **Aldéhydes** : géraniol, citronellal,...
- **Cétones** : camphre, pipéritone
- **Phénols**: thymol, carvacrol ...
- **Esters** : acétate de géranyle,...

- **Acides** : acide géranique,...
- **Oxydes** : 1,8-cinéole,...
- **Phénylpropanoïdes** : eugénol.
- **Terpènes** : limonène, para-cymène,...
- **Autres** : éthers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène (Kabera, 2004).

7. La toxicité des huiles essentielles

De nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que présente leur emploi. La toxicité chronique des huiles est assez mal connue; contrairement aux risques de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyona (thuya, absinthe, sauge officinale, tanaïs) ou à pinocomphone. Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels qui nécessitent l'hospitalisation. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles pures et à forte dose, par voie orale et à fortiori en mélange. Elle oblige à employer un matériel de qualité à bon escient. C'est-à-dire sur un diagnostic bien posé et selon les posologies parfaitement adaptées à l'état et à la physiologie propre à chaque patient (Saidj, 2007).

8. L'activité biologique des huiles essentielles

Les HE ont de nombreuses propriétés thérapeutiques : antibactériennes, antivirales, antitoxique et antifongique.

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

8.1. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire. (Lis- Balchin, 2002).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukou et al., 1988).

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : Phénols, Alcools, Aldéhydes, Cétones, Ethers, Hydrocarbures. (Utree *et al.*, 2002).

8.2. Activité antimicrobienne

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HE sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Cox *et al.*, 2000; Carson *et al.*, 2002).

9. Les techniques d'obtention des huiles essentielles

Différentes techniques d'extractions sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En générale le choix de la technique d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graine, feuilles, ramilles), de la nature des composés par exemple les flavonoïdes, les HE, les tanins).

Parmi ces techniques on trouve : l'extraction par micro-onde, extraction par les solvants et par les graisses et l'extraction au CO₂, supercritique.

9.1. La distillation

Selon Piochon (2008), il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

Ces trois modes reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal.

9.1.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysât par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolysât pendant l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques. (Lucchesi, 2005).

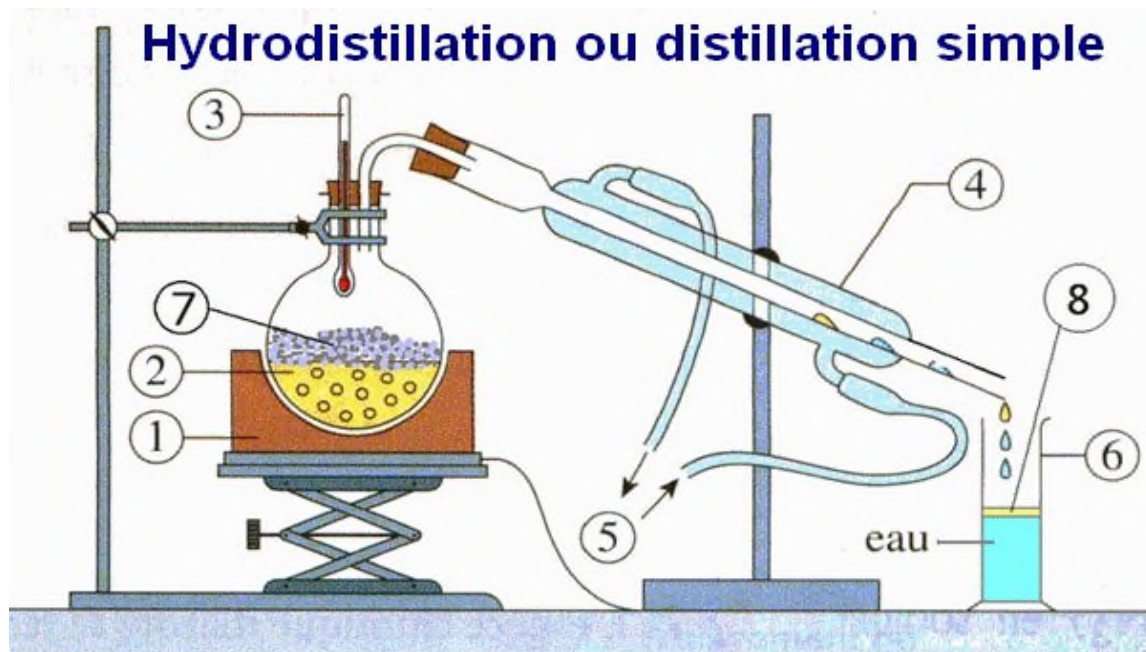


Figure 03 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

- | | |
|-------------------|---------------------------------|
| 1- Chauffe ballon | 5- Entrée et sortie d'eau |
| 2- Ballon | 6- Erlenmyer |
| 3- Thermomètre | 7- Matière à extraire l'essence |
| 4- Réfrigérant | 8- La couche d'HE |

9.1.2 L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie. (Benmehdi et Mana, 2001).

9.1.3 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

2. Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérateur. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques. Le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Mebarki, 2010).

Chapitre III : Les champignons lignivores

1. Généralités sur les champignons

Les champignons (fungi ou mycètes) constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, riche de quelques 120000 espèces, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, adaptés au mode de vie saprophyte, parasitaire ou symbiotique (Senal *et al.*, 1993 ; Anonyme a, 2000 ; Anonyme b, 2000 ; Kirk *et al.*, 2001). Les mycètes sont des microorganismes eucaryotes filamenteux, aérobies strictes et rarement anaérobies (Mathew, 1995; Tortora *et al.*, 2003), ayant un métabolisme hétérotrophe car ils tirent leur énergie de la respiration et de la fermentation des matières organiques solubles disponibles dans leur environnement (Leveau and Bouix, 1993 ; Nicklin *et al.*, 1999). Sur le plan morphologique, le mycète est constitué d'un thalle qui forme son appareil végétatif (Hawksworth *et al.*, 1994). L'appareil végétatif se compose d'éléments de base appelé hyphes qui forme un réseau de filaments ramifiés ; le mycélium (Mathew, 1995). Chez la plupart des mycètes, les hyphes sont divisés par des cloisons, ou septa (septum au singulier) formant des unités qui ressemblent à des cellules distinctes avec un seul noyau, on les appelle alors hyphes segmentés ou septés. Dans quelques classes de mycètes, les hyphes ne contiennent pas des cloisons et ont l'aspect de longues cellules continues à noyau multiples ; ils sont appelées cénocytes (Tortora *et al.*, 2003). Les hyphes, segmentés ou non, sont en fait de petits tubules transparents s'entourant d'une paroi cellulaire rigide formée de polymère de chitine et des polymères de la cellulose, éléments chimiques qui lui confèrent une grande rigidité, une longévité et une grande capacité de résistance à la chaleur et à des pressions osmotiques élevées. De ces faits, les mycètes sont donc capables de vivre dans un environnement rude (Tortora *et al.*, 2003). En effet, les mycètes se développent à pH légèrement acide (3 et 7) et à une température optimale comprise entre 20°C et 30°C, cependant certaines espèces sont psychrophiles, se développant à des températures très basses (<15°C ou même parfois à <0°C (Botton *et al.*, 1990 ; Guiraud, 1998 ; Tortora *et al.*, 2003). La plupart des champignons possèdent deux modalités de reproduction ; la reproduction asexuée (imparfaite ou végétative) et la reproduction sexuée (parfaite) (Senal *et al.*, 1993). La plupart des espèces sont, en effet, capables de former des spores, soit à l'intérieur de sporocystes (chez les champignons inférieurs et à thalle non cloisonné), soit sur des ramifications différenciées du mycélium (conidiophores) (Davet, 1996).

2. Les champignons lignivores

Un champignon lignivore est un champignon qui se nourrit de bois humide, en causant sa décomposition.

Dans les activités forestières, les champignons sont divisés en catégories artificielles qui ne sont liées ni à la systématique ni à la morphologie des organismes, mais au type de dégâts qu'ils occasionnent. La dégradation du bois due à un champignon lignivore présente trois formes variables présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 03 : Les 3 formes de pourriture dues aux champignons lignivores

<p>POURRITURE FIBREUSE</p>	<p>Traces blanches sur du bois.</p>	<p>Polypore des caves, Pycnoporus, Collybia.</p>	<p>Le champignon lignivore se nourrit à la fois de la cellulose et de la lignine du bois. Cette dégradation simultanée développe une maladie du bois appelée « maladie cryptogamique du bois » : une couleur claire commence à apparaître, la fibre du bois se casse en petits morceaux, la résistance mécanique du bois se brise.</p>
<p>POURRITURE MOLLE</p>	<p>Lorsque le doigt posé sur le bois s'enfonce dedans sans peine.</p>	<p><i>Chaetomium globosum</i></p>	<p>Chaetomium globosum apprécie les températures chaudes et les sels minéraux. Il atteint l'arbre par l'eau et la terre, il choisit le plus souvent des arbres feuillus : l'arbre doit comporter un taux d'humidité de plus 50 %. Il se nourrit uniquement de la cellulose du bois à l'intérieur : ainsi, la pourriture ne devient visible que très tard. La fibre du bois se ramollit jusqu'à perdre toute résistance mécanique. Attention ! La pourriture molle peut faire de gros dégâts avant de devenir apparente.</p>
<p>POURRITURE CUBIQUE OU SÈCHE</p>	<p>Coloration brune et découpage du bois en forme de petits rectangles.</p>	<p>Mérules, coniophore des caves, lenzite des poutres, <i>Gloeophyllum trabeum</i>.</p>	<p>Le champignon se nourrit de cellulose. Pour l'atteindre, il synthétise les radicaux libres contenus dans le bois. Cela occasionne la casse de la couche lignine (en forme de petits rectangle) À noter : une fois débarrassé du champignon, l'arbre se reconstitue de lui-même.</p>

Les champignons responsables de la pourriture du bois regroupent un nombre important d'espèces dites lignivores (Vernay et Mouras, 2002). Lignivores car elles se nourrissent de la lignine et /ou de la cellulose, constituant essentiel de la paroi des cellules de bois des arbres (Mühlberger et Maignet, 1999). Ces champignons lignivores sont dotés d'enzymes capables de dégrader le bois. Présents dans l'atmosphère, ils se fixent sur le bois lorsque les conditions de leur développement sont favorables.

3. Les conditions de développement des champignons lignivores

Il faut un certain nombre de circonstances favorables pour qu'un champignon puisse se développer. Ce sont :

- un taux d'humidité suffisant
- une température assez élevée
- de la lumière pour produire les fructifications

➤ **Le taux d'humidité** qui favorise l'éclosion et le développement est voisin du taux de saturation des fibres pour la plupart des espèces, ce taux étant lui même voisin de 30 %. On peut dire que si l'on abaisse le taux d'humidité à moins de 20 % le bois restera indéfiniment exempt de pourriture.

➤ **La température** de 25°C à 35°C est la plus favorable au développement, actif des champignons. La constance de cette température est aussi un élément favorable. Les mycéliums sont tués aux environs de 55°C. Les spores soumises à des températures de l'ordre de 80°C survivent.

➤ **La lumière** n'est absolument pas nécessaire à la croissance du mycélium or c'est le mycélium qui "digère" la matière attaquée. D'ailleurs chacun connaît les attaques des champignons des caves sur les portes ou cloisons de bois, sans qu'on n'ait jamais vu de fructifications. En effet, les fructifications ont besoin de lumière pour apparaître.

➤ **L'oxygène** : Les champignons sont des organismes aérobies. L'oxygène est donc indispensable à leur développement. Ils sont cependant assez peu exigeants. Certains champignons peuvent exploiter l'oxygène dissout dans le substrat.

4. Types des champignons lignivores

Toutes les espèces arborées peuvent être touchées car il existe différents types de champignons lignivores de toxicité plus ou moins importante.

On distingue différents groupes de ces pourritures en fonction des substances qu'elles dégradent dans le bois (Tableau 4) (Mühlberger et Maignet, 1999) .

Tableau 04 : Description des 3 formes de pourriture dues aux champignons lignivores

POURRITURE FIBREUSE	Le polypore des caves (<i>Donkioporia expansa</i>).	Champignon blanc et dur qui grandit dans les milieux chauds, très humide et obscurs : il s'attaque aux résineux.
	Pycnoporus.	Champignon orange et arrondi.
	Collybia (les collybies).	Champignon sur pied à la chair tendre, dégage parfois un mucus comparable au savon.
POURRITURE MOLLE	<i>Chaetomium globosum</i> .	Organisme microscopique de forme chevelue.
POURRITURE CUBIQUE	Les mérules.	-
	Le lenzite des poutres (<i>Lenzites sepiaria</i>).	Connu pour se développer sur les barrières et les bois verticaux, ce champignon a une apparence jaune et sombre : il s'installe durablement sur le bois, même si celui-ci sèche.
	<i>Gloeophyllum trabeum</i> .	Forme une pourriture brune, en particulier dans les forêts de conifères, il peut également entrer dans les habitations.
	Le coniophore des caves (<i>Coniophora puteana</i>).	Organisme jaune et blanc souvent confondu avec la mérule, mais plus rare en raison de ses besoins en eau. Se compose de deux parties : une partie dans cavité du bois, une partie en surface.

4.1. Les champignons de pourriture cubique brune

Ils appartiennent à la classe des Basidiomycètes. Ils attaquent particulièrement les bois résineux, mais également les bois feuillus. Le bois dégradé est cassant, anormalement foncé et découpé en cubes selon les trois sens d'orientation du plan ligneux, rappelant l'aspect du bois calciné (Figure 04).

C'est la cellulose qui disparaît et il ne subsiste que la trame de lignine ; la phase ultime de dégradation aboutit à la perte complète des propriétés mécaniques du bois. Dans le cas d'une pourriture brune, non discernable extérieurement pendant les premiers stades de l'attaque, le phénomène se traduit par une coloration foncée du bois et l'apparition de fentes longitudinales puis transversales délimitant des structures plus ou moins cubiques. Un bois très altéré deviendra extrêmement friable et se réduira en une poudre très fine sous la pression du doigt.



Figure 04: Image illustrant la pourriture brune
(<http://www.alliancesudexpertise.com/insectes-a-larves-xylophages-parasites-du-bois.php>)

4.2. Les champignons de pourriture fibreuse blanche

Ils appartiennent à la classe des Basidiomycètes et des Ascomycètes. Les agents de la pourriture fibreuse blanche attaquent plus particulièrement les bois feuillus. La lignine et la cellulose sont dégradées simultanément. Le bois attaqué est ramolli, blanchâtre et se décompose en fibrilles qui se détachent facilement à l'ongle, il perd ainsi toute sa structure. On rencontre exceptionnellement ces champignons sur les résineux à la faveur d'une très forte humidité persistante (Figure 05).

Les agents de pourriture fibreuse sont bien plus exigeants en eau que les champignons de la pourriture cubique. Habituellement non discernable macroscopiquement pendant les premiers stades de l'attaque, une pourriture de type fibreuse occasionne une décoloration

progressive du bois qui devient marbré puis blanchi. Quelques espèces de champignon ne dégradent pas d'une manière homogène tout le substrat, formant, par endroit, des poches blanches. Les cellules gardent leur forme et leur taille au moins à l'état humide. Après une dégradation forte, le bois devient mou sans être vraiment friable, excepté quand il devient très sec. En séchant le retrait du bois dégradé est semblable à celui du bois sains et la surface du bois reste sans fissures (Levi,1965).

On peut distinguer deux groupes de pourriture fibreuse, les premières qui sont capables de dégrader simultanément les polymères structuraux c'est-à dire, lignine, hémicelluloses et cellulose dans une proportion similaire (*simultaneous white rot*) tandis que les secondes ont une préférence pour dégrader la lignine et les hémicelluloses avant d'attaquer la cellulose (*preferential white rot*) (Eaton et Hale 1993). Les dernières ont un grand intérêt dans l'industrie papetière pour leur potentiel de délignification (bio-pulping) et de blanchissement (bio-bleaching) des pâtes (Blanchette *et al.*1988).

Parmi les agents de pourriture blanche connus pour la dégradation *Coriolus versicolor* (L.) a été le plus étudié.



Figure 05 : Mycélium de la pourriture blanche sur du bois de sciage
(<http://www.alliancesudexpertise.com/insectes-a-larves-xylophages-parasites-du-bois.php>)

4.3. Les champignons de la pourriture molle

Ces champignons lignivores (Figure 06) appartiennent à la classe des Ascomycètes et Deutéromycètes capables de dégrader la cellulose, les hémicelluloses et parfois partiellement la lignine. Ils sont capables de dégrader les résineux et les feuillus surtout en contact avec le sol ou en présence d'une humidité importante, mais les résineux sont moins susceptibles à la dégradation grâce à une plus grande quantité du monomère guaiacycle de la lignine, qui joue le rôle d'un protecteur des celluloses et hémicelluloses (Singh, 2004). Ils causent des cavités plutôt dans la paroi secondaire. La lamelle mitoyenne, grâce à sa concentration en lignine est non dégradable par cet agent.



Figure 06: La pourriture molle, (ressemblance avec la pourriture brune).
(<http://www.alliancesudexpertise.com/insectes-a-larves-xylophages-parasites-du-bois.php>)

4.4. Les champignons de la pourriture alvéolaire

Ce sont généralement des champignons saprophytes appartenant principalement à la classe des Ascomycètes. Ces champignons dégradent la cellulose en premier, ensuite, la lignine est lentement dégradée. L'espèce *Ustulina deusta* se retrouve sur les arbres vivants (Figure 07). Le Tramète du Pin (*Xanthochrous pini*) est facilement caractérisé par des réceptacles appliqués contre le tronc de l'arbre, généralement en forme de console, parfois de sabot de cheval. La face intérieure, dite face hyméniale, est largement et irrégulièrement ondulée, de teinte brun-ferrugineux, garnie de pores provoque une pourriture alvéolaire brun rouge plus accentuée dans le duramen que dans l'aubier (la résine de l'aubier est une protection). C'est la fructification en forme de chapeau dur, épais, à face supérieure brune marquée de lignes concentriques qui caractérise ce champignon qui, sans tuer l'arbre rapidement, enlève absolument toute valeur au bois. Les blessures de l'élagage artificiel ou naturel sont les voies ordinaires de l'infection qui se propage dans le bois parfait, surtout dans les arbres ayant dépassé 50 ans. Il faut abattre les arbres atteints et détruire les fructifications, car la propagation se fait exclusivement par les spores.

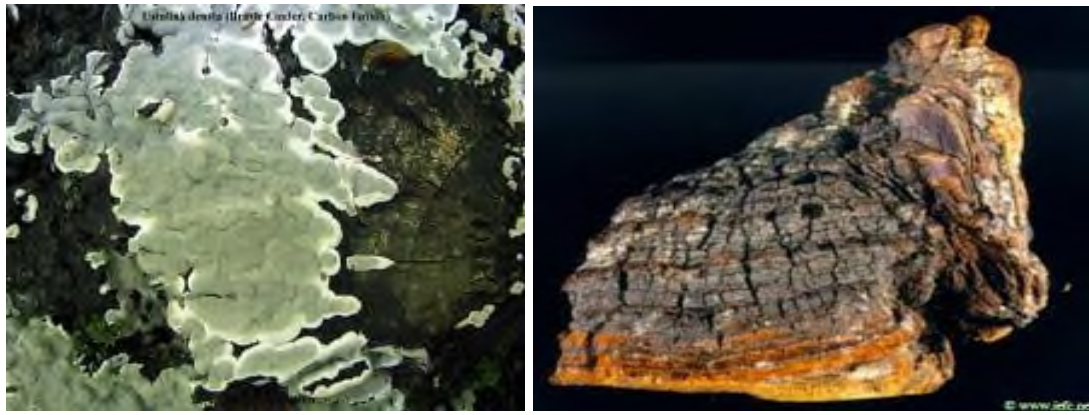


Figure 07 : Illustration des champignons de la pourriture alvéolée (*Ustulina deusta* à gauche ; *Xanthochrous pini* à droite) (<http://www.wisconsinmushrooms.com/Ustulinadeusta.html>)

Matériel

Et

Méthodes

L'objectif de ce travail est l'extraction des huiles essentielles de deux plantes aromatiques, du genre *Thymus*, dans le but de mettre en évidence leur activité antifongique. Cette activité a été évaluée sur des champignons responsables de la pourriture du bois.

1- Matériel végétale

Les plantes utilisées dans cette étude sont : *Thymus dreatensis* de Djelfa et *Thymus ciliatus* d'Ain M' Lila. Elles ont été récoltées durant le Mois de Mai 2013. L'identité et la systématique des plantes ont été confirmées au niveau du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques LOST, Université Constantine 1).

2- Extraction des huiles essentielles

Le type d'extraction, utilisé dans cette étude, est l'hydrodistillation. L'extraction de l'huiles essentielles a été effectuée au niveau du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST) en utilisant un appareil de type Clevenger (Figure 8) (Clevenger, 1928).

Une quantité de 200g de matériel végétale est mise dans un ballon à distillation de 1000 ml. Ce dernier est rempli au trois quart d'eau et surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Le distilla est récupéré dans un Erlenmeyer puis transvasé dans une ampoule à décanter.

L'hydrodistillation consiste à porter à ébullition les feuilles de thym et d'eau. Sous l'action de la chaleur, les cellules des plantes éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils. La vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant. La condensation de ce mélange gazeux provoque sa séparation en deux phases liquides :

- Une phase organique huileuse et très odorante, appelée "huile essentielle", contenant la majorité des composés odorants.
- Une phase aqueuse, odorante appelée "eau aromatique" qui n'en contient que très peu.



Figure 08 : Système d'extraction hydrodistillation (Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques LOST)

2-1- Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter (Carre, 1953 in Bakhechi-Benhabib, 2001)

$$\text{Rd (\%)} = \frac{m_1 \times 100}{m_0}$$

m₁ : masse en gramme de huile essentielle.

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche.

Rd : rendement en huile essentielle.

3- Matériel biologique

3-1- Echantillonnage

Ce travail porte sur les champignons susceptibles d'être à l'origine de la pourriture du bois. L'échantillon choisi est le bois pourri des arbres de la région de « Chettaba » à Ain Smara Constantine (Figure 9).



Figures 09: Arbres pourris (Région de Chettaba – Ain Smara- Constantine)

Les échantillons de bois prélevé sont introduits dans des boites stériles afin de les transporter jusqu'au laboratoire.

3-2- Isolement

Le bois prélevé est préalablement traité par passage successif des fragments à l'éthanol, l'eau de javel et l'eau distillée, à l'aide d'une pipette stérile.

L'ensemencement a été réalisé dans des boites de Pétri contenant le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar). 2 fragments de bois ont été ensemencés par boîte. L'incubation des boites est réalisée à 25°C pendant 5-7 jours.

3-3- Purification des souches

La purification des isolats a été effectuée par repiquage d'un hyphe terminal. La souche a étéensemencée au centre d'un milieu gélosé (PDA et Sabouraud). Le prélèvement a lieu lorsque le développement de la souche est suffisant (Guiraud, 1998).

3-4- Identification des souches

L'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères cultureux (aspect macroscopique) et à la morphologie (caractères microscopiques) (Botton *et al.*, 1990).

3-4-1 Identification macroscopique

L'identification macroscopique est basé sur ;

- La vitesse de croissance : rapide, moyenne, lente ;
- La texture du thalle : velouté, laineux, etc.... ;
- La couleur du thalle : pigmentation du mycélium, couleur des conidies ;
- La couleur du revers de la culture et l'odeur (Botton *et al.*, 1990).

3-4-2- Identification microscopique

L'identification microscopique des champignons repose sur plusieurs méthodes. Les deux méthodes utilisées, dans cette étude, sont celles du scotch (test du drapeau) pour les cultures filamenteuses et poudreuses et la méthode du lactophénol bleu de coton (Chabasse *et al.*, 2002).

- **Scotch** : un petit morceau de scotch est appliqué par sa face collante sur la colonie à l'aide d'une pince, puis déposé sur une goutte de lactophénol bleu coton sur une lame propre.une deuxième goutte (plus réduite) est alors déposée sur la face supérieure du scotch qui est ensuite recouvert d'une lamelle, on chauffe légèrement en passant la lame sur une flamme faible du bec bunsen sans laisser sécher le colorant sur la lame, enfin, les lames préparées seront observées au microscope optique.
- **Lactophénol bleu coton** : Cette identification a été effectuée par un prélèvement soigneux d'un petit fragment de la souche fongique (quelques spores et un fragment mycélien à la marge du thalle) à l'aide d'une anse de platine stérile. Ce fragment a été ensuite transféré sur une lame, en lui ajoutant du lactophénol-bleu (diluant).

L'observation au microscope optique a été effectuée aux différents grossissements (GX 4, GX 10, GX 40) et par immersion à (GX 100). Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation,...) et des spores (forme, couleur, texture des parois) (Guiraud, 1998).

4- Activité antifongique *in vitro* des huiles de *T. dreatensis* et *T. ciliatus*

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'activité antifongique d'une huile essentielle : la méthode de diffusion par disque, méthode de micro-dilution en milieu liquide, méthode de micro-dilution en milieu solide..... Nous avons utilisé dans notre travail la technique de diffusion par puits.

4-1- Technique de diffusion par puits sur gélose

Du fait de la non miscibilité de l'huile essentielle à l'eau et donc aux milieux de culture, une mise en émulsion sera réalisée grâce à une solution d'agar à 20% afin de favoriser le contact germe/composé (0,2g d'agar sont dissouts dans 100 ml d'eau distillée puis stérilisee à l'autoclave).

- L'émulsion est de 10% préparée en ajoutant 1 ml d'HE à 9 ml de solution aqueuse stérile de 0.2% d'agar agar (solution mère).
- Les concentrations finales des huiles essentielles (0.1%; 0.2%; 0.3%; 0.4% et 0.5% v/v) sont obtenues par addition de volumes variables d'HE à partir de la solution mère au milieu de culture. On prépare des dilutions en mettant dans chaque tube à essai stérile 10µl d'HE dans 1 ml de solution mère ; puis 20µl d'HE dans 1ml de solution mère ; puis 30µl, 40µl et 50µl dans 1 ml de solution mère (Figure 10).

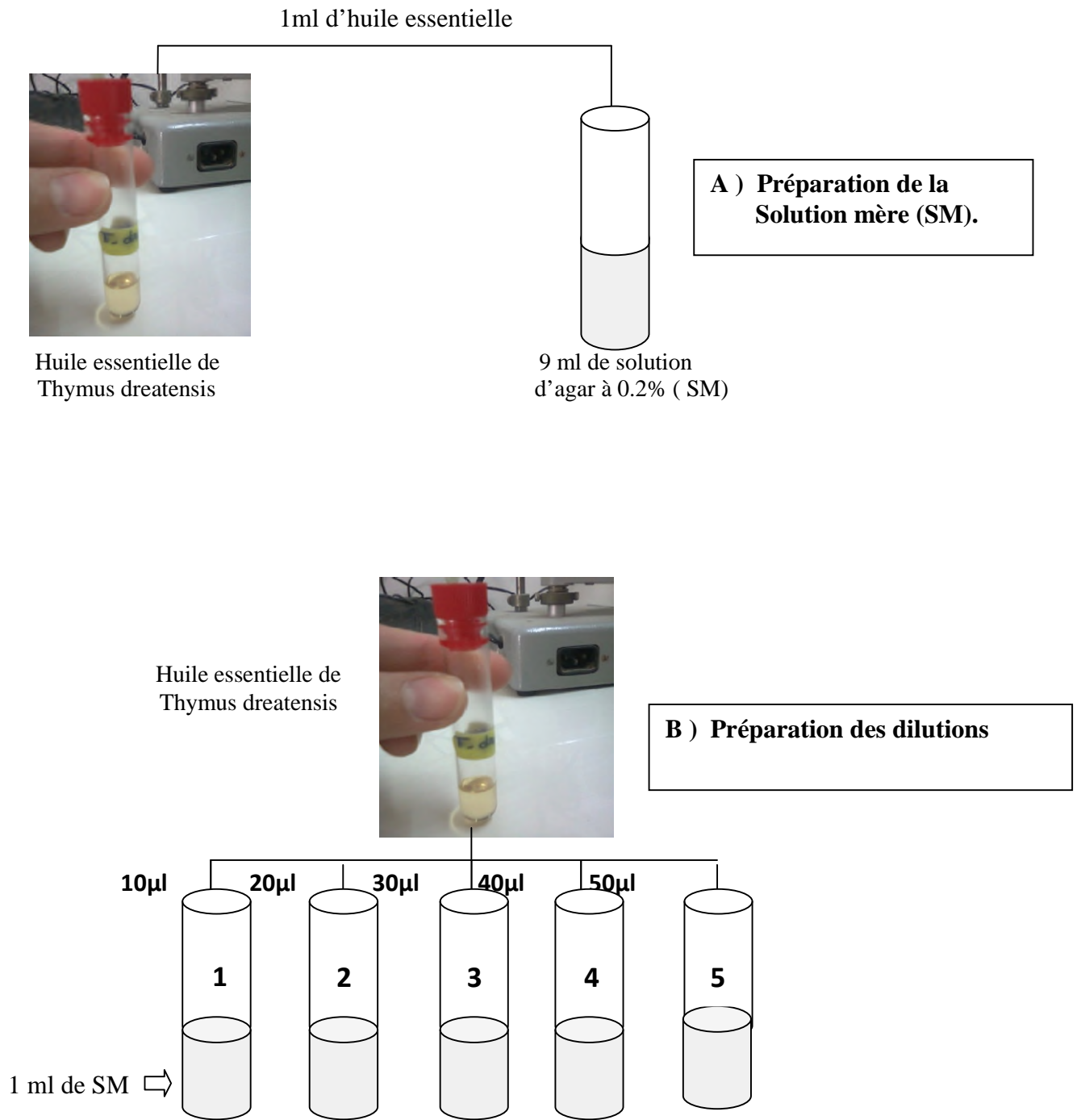


Figure 10: Les étapes de préparation des dilutions

- On coule les boîtes de Pétri avec le milieu PDA et on réalise deux répétitions pour chaque dilution.
- A partir d'une culture de 5 jours, l'ensemencement est effectué par inondation sur Potato Dextrose Agar préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 5 mn de séchage, des puits ont été réalisés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse de 6 mm de ϕ) (Figure 11). Le fond des puits est obturé par une goutte de PDA pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose.



Figure 11 : Les étapes d'obtention des puits à l'aide de pipette pasteur

- On remplit les cavités de 50 μ des différentes concentrations d'HE qui va diffuser dans la gélose plus une boîte avec 50 μ l d'HE brute.
- Après diffusion de 20 mn, à peu près, les cultures sont incubées pendant 5-7 jours, à 25 °C et les auréoles d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse (Figure 12) (Boubrit *et al.*, 2007 ; Rhayour, 2002). Le pourcentage d'inhibition est ensuite calculé à l'aide de la formule suivante (Haddaf *et al.*, 2004) :

$$\text{Inhibition (\%)} = (\mathbf{D}_{\text{test}} / \mathbf{D}_{\text{boîte Pétri}}) \times 100$$

D test : Diamètre de la zone d'inhibition

D boîte Pétri : Diamètre de la boîte de Pétri

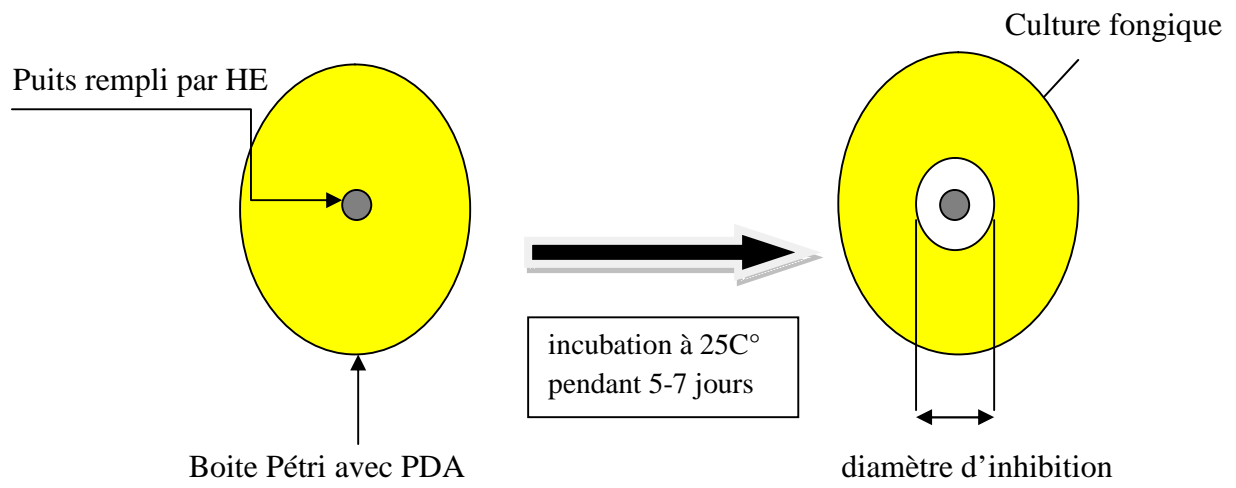


Figure 12: Principe de la méthode de la diffusion par puits

Résultats
Et
Discussion

1- Extraction des huiles essentielles

1-1- Rendement et composition chimique des huiles essentielles

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche. Les échantillons de *Thymus deatensis* ont fourni un taux faible ne dépassant pas 1,2%, celui obtenu à partir de *Thymus ciliatus* est plus importante avec 2%.

Les huiles essentielles extraites par hydrodistillation sont analysées par la chromatographie en phase gazeuse et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse selon la méthode décrite par Adams et Arpino (1995).

Il est à noter que n'ayant pas eu le temps nécessaire pour réaliser la détermination des compositions des HE de nos plantes, nous nous sommes permis de reporter les différents constituants de ces huiles. Les compositions respectives des espèces *T. dreatensis* et *T. ciliatus* ayant été déterminées, au préalable, par l'équipe du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques, Université Constantine 1. Les constituants ayant représenté un total d'environ 98,49 % de l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* (Tableau 5) et 97,4 % de l'huile essentielle de *Thymus dreatensis* (Tableau 6).

L'essence de *Thymus ciliatus* de Ain mlila est composée principalement de : thymol (54,98 %), γ -terpinene (11,33%), ρ -cymene (6,66 %), carvacrol (4,96 %). Les concentrations des autres constituants sont inférieures à 5%. Pour l'huile de *thymus dreatensis* de Djelfa, les composées majoritaires sont : le thymol(28.1%) , et γ -terpinene (18.7 %) , Thymyl methyl ether (10.9 %) , ρ -cymene (8.8 %) , linalool (5.0 %). Les autres composés étant présents à l'état de traces.

Tableau 5 : Composition chimique, indice de rétention et pourcentage de composition de *T. ciliatus* d'Ain mlila

N°	Composants	RI	%
1	α -thujene	930	2.43
2	α -pinene	937	2.32
3	Camphene	952	0.12
4	Sabinene	974	0.33
5	β -myrcene	989	2.67
6	3-octanol	991	0.05
7	α -phellandrene	1002	0.48
8	δ -3-carene	1010	0.12
9	α -terpinene	1016	2.80
10	ρ -cymene	1024	6.66
11	β - phellandrene	1029	1.02
12	1,8-cineole	1030	0.05
13	Trans- β -ocimene	1047	0.15
14	γ -terpinene	1060	11.33
15	cis-sabinene hydrate	1068	0.55
16	Linalool	1095	3.81
17	α -terpinolene	1091	0.10
18	Borneol	1169	0.12
19	4-terpineol	1179	0.44
20	β -fenchyl acetate	1226	0.17
21	Thymyl methyl ether	2237	0.78
22	Neral	1244	0.13
23	Thymol	1294	54.98
24	Carvacrol	1302	4.96
25	β -bourbonene	1390	0.05
26	germacrene D	1491	0.47
27	caryophyllene oxide	1599	1.06
28	α -muurolene	1625	0.34
Total			98.49%

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de *T.dreatensis* Batt , de Djelfa

N°	Composants	RRI	%	N°	Composants	RRI	%
1	α -thujene	929	0.1	20	Camphor	1147	0.4
2	α -pinene	938	1.8	21	Borneol	1169	4.1
3	camphene	951	1.4	22	4-terpineol	1181	0.5
4	Sabinene	974	0.3	23	ρ -cymen-8-ol	1189	0.1
5	β -pinene	977	0.6	24	α -terpineol	1192	1.0
6	3-octanone	985	0.3	25	Cis-dihydrocarvone	1200	0.1
7	β -myrcene	989	1.3	26	Thymyl methyl ether	1241	10.9
8	3-octanol	991	0.1	27	carvacroll methyl ether	1249	0.2
9	α -phellandrene	1003	0.5	28	Thymol	1294	28.1
10	δ -3-carene	1009	0.1	29	Carvacrol	1303	2.9
11	α -terpinene	1016	3.0	30	β -caryophyllene	1410	2.8
13	ρ -cymene	1025	8.8	31	β -silinene	1491	0.1
14	limonene	1030	1.1	32	β -bisabolene	1514	0.8
15	1,8-cineol	1032	0.4	33	δ -cadinene	1531	0.2
16	γ -terpinene	1064	18.7	34	caryophyllene oxide	1592	0.4
17	cis-sabinene hydrate	1095	0.8	35	β -eudesmol	1661	0.1
18	linalool	1100	5.0	36	α -cadinol	1671	0.2
19	Trans-pinocarveol	1141	0.1				
Totale					97.4 %		

2- Etude mycologique

2-1- Identification des souches isolées

Le bois possède une grande charge des éléments nutritifs, il constitue un substrat de croissance des champignons lignivores avec des conditions favorables. Après purification, des souches isolées à partir du bois des arbres détériorés, une identification basée sur les critères macroscopiques et microscopiques a été réalisée.

2-1-1- Etude macroscopique

Les caractères macroscopiques des différentes souches sont étudiés sur le milieu PDA le plus communément utilisé à cet effet (Botton *et al.*, 1990). Le tableau 7 résume l'aspect du mycélium des souches isolées, la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

2-1-2- Etude microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des souches fongiques (Conidiophores, conidies, mycéliums etc.). Quatre genres sont mis en évidence (Tableau 7).

- Une souche présente les caractéristiques suivantes :
- ✓ Des conidies unicellulaires ovoïdes ou oblongues.
- ✓ Des phialides aciculaires directement insérées sur les filaments végétatifs.

Cette souche appartient probablement au genre *Acremonium*

- Une souche présente les caractéristiques suivantes :
- ✓ Des conidies produites par des phialides insérées à l'extrémité dilatée d'un conidiophore large et non cloisonné (disposition en tête aspergillaire). Cette souche semble appartenir au genre *Aspergillus*

- Une souche a les caractéristiques suivantes :
- ✓ Des conidiophores ramifiés et allongés.
- ✓ Des conidies en chaîne acropétale, septées avec plusieurs sites conidiogènes. Cette souche appartient probablement au genre *Cladosporium*

- Une souche décrite par les caractéristiques suivantes :
- ✓ Des conidies produites par des phialides groupées en verticilles à l'extrémité non dilatée d'un conidiophore fin et cloisonné (disposition en pinceau).
- ✓ Des phialides à col peu développés disposées en pinces serrés. Cette souche appartient probablement au genre *Penicillium*

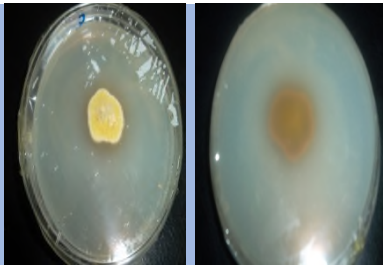


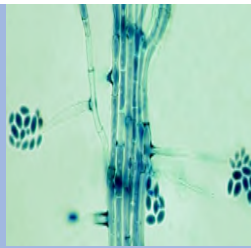
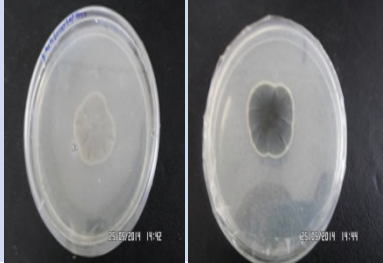

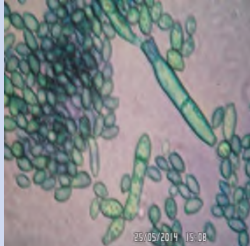
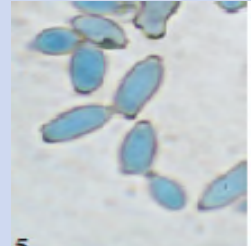
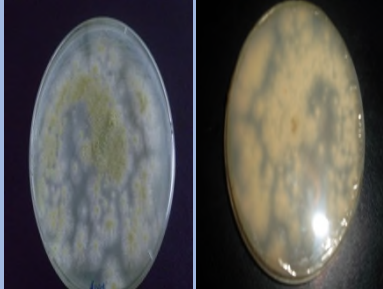
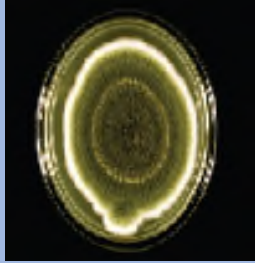
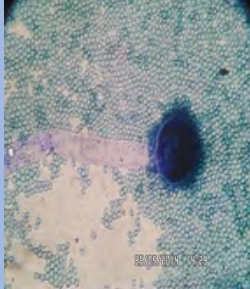
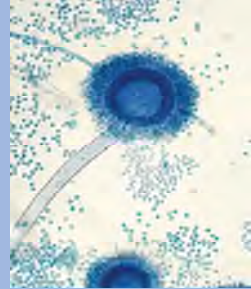
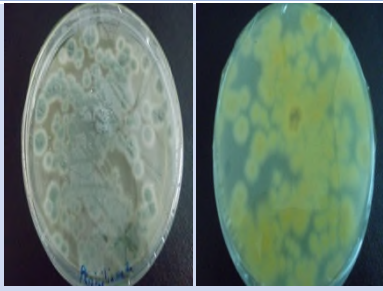
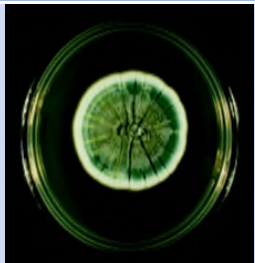
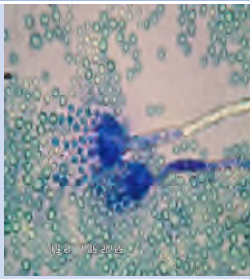


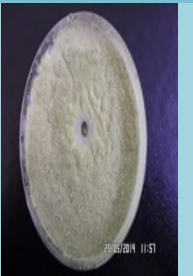
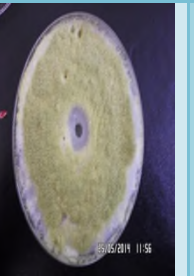
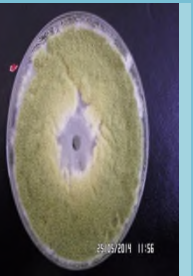
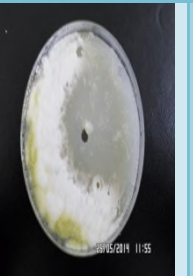
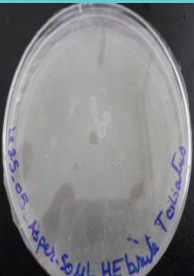








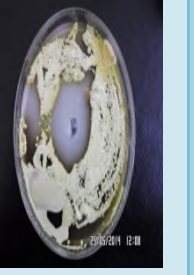

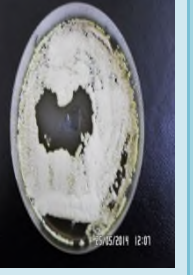


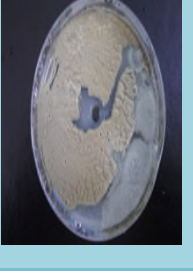


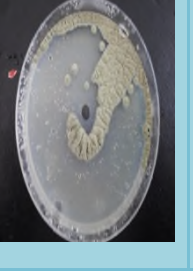

Site de prélèvement	Parties des plantes	N° de souche	Observation macroscopique	Photo référence	Observation microscopique	Photo référence	Identification présumée
Forêt De chettaba	Bois arboré	01					<i>Acremonium sp</i>
		02					<i>Cladosporium sp</i>
		03					<i>Aspergillus sp</i>
		04					<i>Penicillium sp</i>

Tableau 7 : Identification macroscopique et microscopique des souches

2-2- Activité antifongique des HE

L'activité antifongique contre les champignons responsables de la pourriture du bois a été évaluée en observant l'inhibition de la croissance des espèces fongiques testées en contact de nos échantillons d'huiles essentielles de *Thymus dreatensis* et *Thymus ciliatus* à différentes concentrations (Tableaux 8 et 9). Les diamètres d'inhibitions relevés sont regroupés dans les tableaux (10 et 11).

Tableau 8 : Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *T. ciliatus* sur les 4 souches

N° de souche	10 µl	20 µl	30 µl	40 µl	50 µl	HE brute	Type de souche	Huile essentielle
01							<i>Aspergillus sp</i>	<i>T. ciliatus</i>
02							<i>Penicillium sp</i>	
03							<i>Acremonium sp</i>	
04							<i>Cladosporium sp</i>	

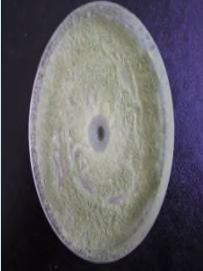
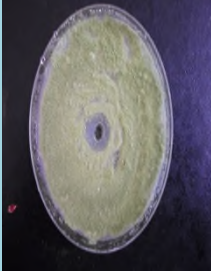
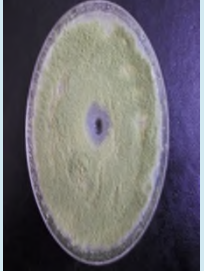

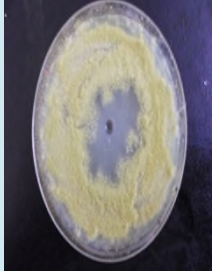


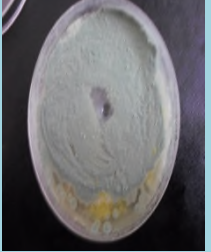

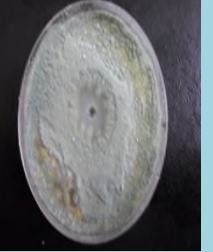
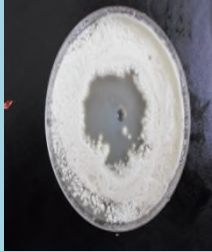





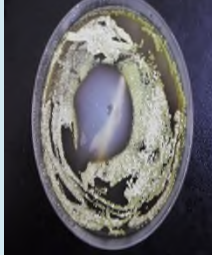
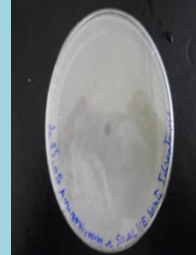






N° de souche	10 µl	20 µl	30 µl	40 µl	50 µl	HE brute	Type de souche	Huile essentielle
01							<i>Aspergillus sp</i>	T. dreatensis
02							<i>Penicillium sp</i>	
03							<i>Acremonium sp</i>	
04							<i>Cladosporium sp</i>	

Tableau 9 : Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *T.dreatensis* sur les 4 souches

Tableau 10 : Le diamètre des zones d'inhibition de croissance avec *T.dreatensis*

HE Souche	<i>T.dreatensis</i>					
	10µl	20 µl	30 µl	40 µl	50 µl	HE (brute)
<i>Aspergillus sp</i>	13 ,5mm	16,5mm	19 mm	20 mm	35 mm	-
<i>Penicillium sp</i>	13,5 mm	14,5mm	17 mm	25,5mm	39 mm	37,5 mm
<i>Acremonium sp</i>	9 mm	11 mm	13,5mm	19 mm	37,5 mm	-
<i>Cladosporium sp</i>	22,5 mm	26 mm	28,5mm	38,5mm	46 mm	-

Tableau 11 : LE diamètre des zones d'inhibition de croissance avec *T.ciliatus*

HE Souche	<i>T.ciliatus</i>					
	10µl	20 µl	30 µl	40 µl	50 µl	HE(brute)
<i>Aspergillus sp</i>	11,5mm	15,5mm	18,5mm	32,5mm	42,4 mm	-
<i>Penicillium sp</i>	0,9 mm	11 mm	18 mm	24 mm	41 mm	41 mm
<i>Acremonium sp</i>	11 mm	19,5mm	29 mm	31 mm	31 mm	-
<i>Cladosporium sp</i>	14 mm	13 mm	16,5mm	16,5mm	17,5 mm	-

Les résultats de l'effet antifongique, par la méthode des puits, sur *Aspergillus sp* montre que les deux huiles possèdent un effet inhibiteur croissant en fonction des concentrations. Cependant, l'activité antifongique est plus marquée avec l'HE de *T. ciliatus* (Figure 14) . Par ailleurs, il apparait un pourcentage d'effet fongicide total à la concentration brute pour les deux HE.

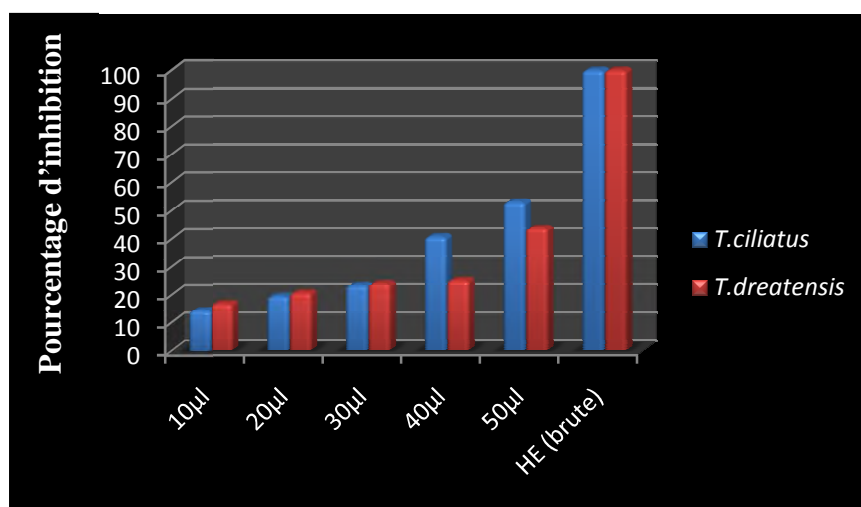


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Aspergillus sp*

La souche *Acremonium sp* a révélé une certaine sensibilité aux huiles essentielles étudiées aux concentrations allant de 10µl jusqu'à 50µl. Il en ressort un effet plus important pour l'HE de *T.ciliatus* que celui de *T.dreatensis*. Par ailleurs, comme pour la souche précédente, l'HE brute des deux plantes a donné 100% d'effet inhibiteur sur notre champignon (Figure 15).

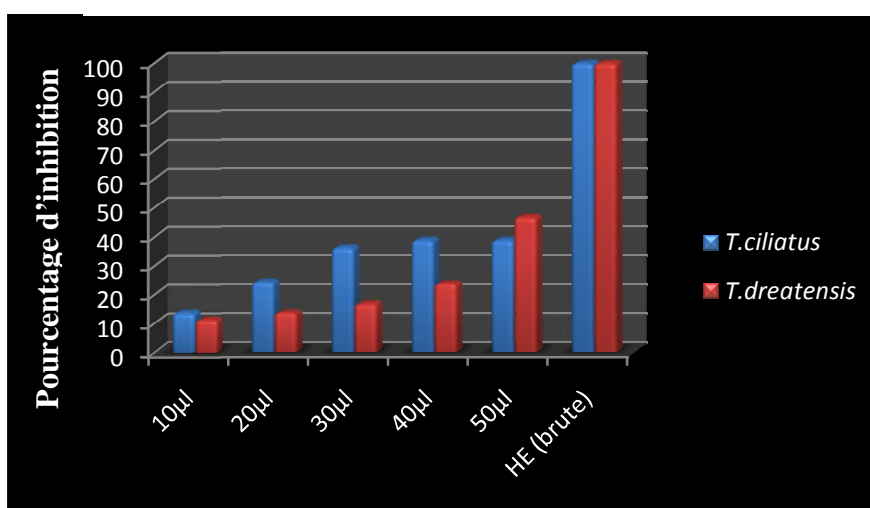


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Acremonium sp*

Selon les résultats obtenus, on peut déduire que *Cladosporium sp* est plus sensible à l'HE de sensible de *T.dreatensis* que pour *T.ciliatus* aux concentrations variant entre 10µl et 50µl. Contrairement à *T. ciliatus* qui dont l'effet est presque constant à ces mêmes concentrations. Par ailleurs, les deux espèces végétales sont complètement inhibitrices lorsqu'elles sont à l'état brut.

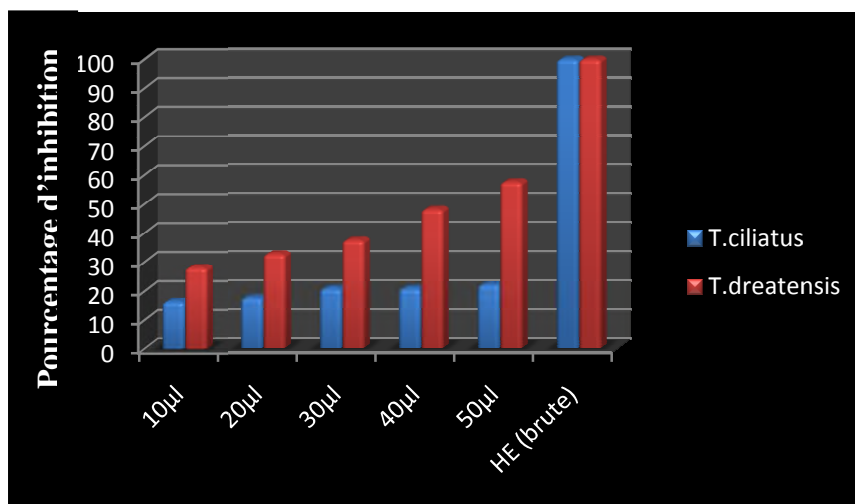


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Cladosporium sp*

Enfin, la souche *Penicillium sp* s'avère être la plus résistante aux huiles essentielles de *T. ciliatus* et de *T. dreatensis*. En effet, un pourcentage maximum d'inhibition de 51,25% a été noté pour *T.ciliatus* contre 46,87% pour *T.dreatensis* (Figure 17).

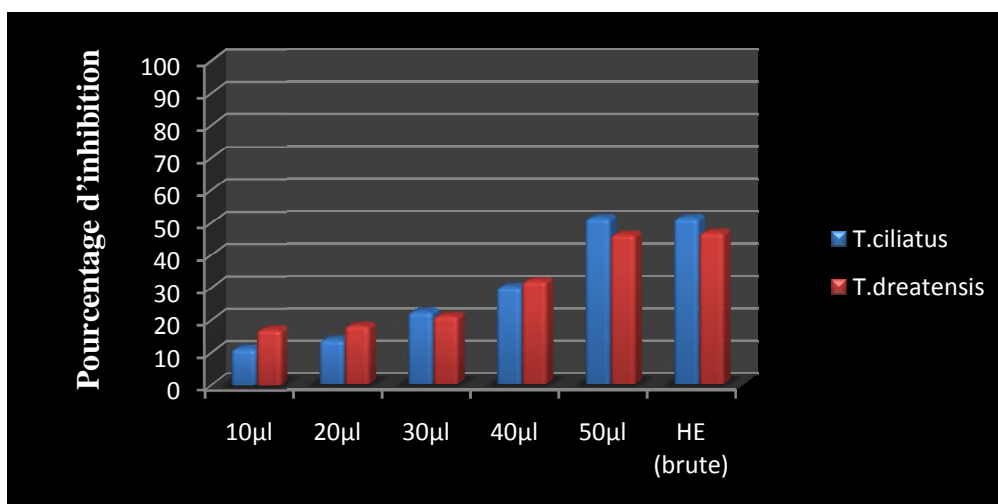


Figure 16 : pourcentage d'inhibition des huiles essentielles sur *Penicillium sp*

Remarque : Pour les espèces fongiques, il faut noter que les mesures de l'effet antifongique sont étudiées seulement avec les diamètres des zones de croissance.

La présente étude porte sur deux espèces Algériennes *Thymus ciliatus* d'Ain M'lila et *Thymus dreatensis*. Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche. Les échantillons de *T. ciliatus* ont fourni un taux de 2% relativement plus élevé que celui obtenu à partir de *T.dreatensis* et qui est de 1,2%. Ce même taux à été obtenu par El Ajjouri *et al.*, (2008) à partir de deux échantillons de *Thymus capitatus* et *Thymus bleicherianus*.

Le rendement obtenu à partir des deux huiles essentiels de *T.ciliatus* et *T. dreatensis* est considéré comme important par rapport à celui donné par El Ajjouri *et al.*, (2010) (1,2%). En effet, Dob *et al.*, (2006) ont obtenu un rendement de 1,13% à partir de *Thymus algeriensis*, à partir de la même huile El Ajjouri *et al.*, (2010), ont obtenu un taux faible ne dépassant pas 0,3%. Cette variation de rendement s'expliquerait, non seulement par la différence de variété au sein de la même espèce, mais aussi par d'autres facteurs tels que le climat, le stade de développement de la plante, la période de la cueillette et même la technique d'extraction des huiles essentielles utilisées.

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles, réalisés par le laboratoire de chimie (LOST, Université Constantine 1) ont permis d'identifier 28 composés qui représentent environ 98,49% pour *T. ciliatus* contre 36 composés (97,4%) pour *T.dreatensis*.

Le constituant principal de l'huile essentielle de *T. ciliatus* est le thymol (54,98%), suivi du γ -terpinene (11,33%), de p-cymene (6,66) et de carvacrol (4,96%); ils sont accompagnés de constituants mineurs : linalol (3,81%), α -terpinene (2,80%), β -myrcene (2,67%), α -thujene et α -pinene (2,32) totalisant environ 91,96%.

Les compositions chimiques des échantillons de *T. ciliatus* de différentes régions d'Algérie ont été décrites (Bousmaha *et al.*, 2007). Une grande diversité en ce qui concerne les composés majoritaires de ces huiles a été trouvée. En effet, Giordani *et al.*, (2008) ont montré que l'huile essentielle de *T. ciliatus* de Djebel Ansel (Algérie) est dominée par le thymol (60,52%). En revanche, le carvacrol (72,4-80,3%) est le constituant principal de huit échantillons de *T. ciliatus* subsp. *ciliatus* en provenance de la région de Tlemcen (Bousmaha *et al.*, 2007). Ces résultats vont dans le sens de notre travail. Il en est de même pour les échantillons en provenance du Maroc où les compositions chimiques de 14 échantillons de *T. ciliatus* de différentes régions du Maroc ont été décrites (Benjilali *et al.*, 1987a,b). La teneur et la nature des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre en fonction de l'origine de la plante : le thymol (0,3-29,3%), le carvacrol (0,4-21,7%), l'acetate d' α -terpenyle (0- 42,9%), l'acetate de geranyle (0-21,7%), le butyrate de geranyle (0-

26,7%), le camphre (0,4-28,4%) et le borneol (0,1-31,6%). L'huile essentielle de *T. ciliatus* du Maroc présente donc plusieurs chimotypes bien distincts.

Les huiles essentielles de *T. dreatensis* ont montré une composition chimique sensiblement analogue à celle de *T. ciliatus* avec un composé majoritaire le Thymol (28,1%) suivi du γ -terpinène (18,7%), de Thymyl méthyl éther (10,9%), de p -cymène (8,8%) et de linalol (5,0%). D'autres composés sont également présents mais à des teneurs moins importantes ; Borneol (4,1%), Carvacrol (2,9%) et β -caryophyllène (2,8%). D'après ces résultats nous pouvons déduire que le thymol est le constituant principal des deux espèces de *Thymus*. Beaucoup de travaux ont souligné l'efficacité antifongique du thymol. Cette molécule possède un très large spectre d'activité antimicrobienne et elle est naturellement présente dans les essences de la plupart des espèces de *thym* (Cosentino *et al.*, 1999). En effet les analyses par CPG/SM effectuées par Dob *et al.*, (2006) ont mis en évidence 47 composés dans les huiles essentielles de *Thymus fontanesii* de Djelfa (Algérie). Ces huiles extraites par hydrodistillation sont riches en monoterpènes (91,5%) avec comme composé majoritaire le thymol dont la teneur atteint 29,3%. Une autre analyse effectuée par Ghannadi *et al.*, (2004) sur les huiles essentielles de cette même plante de la région de Sétif (Algérie) a révélé aussi la présence de thymol comme composé majoritaire et la richesse en ce composé (67,8%) par la même technique d'analyse (CPG/SM).

Par ailleurs, plusieurs travaux ont mentionné que le principal constituant biologiquement actif dans les huiles de *thym* est le carvacrol (Karaman *et al.*, 2001 ; Bousmaha *et al.*, 2007 ; El Ajjouri *et al.*, 2008). Cette composition chimique est analogue à celle d'une huile essentielle de *Thymus capitatus* originaire de Tunisie constituée majoritairement par le carvacrol (62-83%)(Bounatirou *et al.*, 2007). Cette même espèce, en Grèce, s'est avérée plus riche en carvacrol avec un taux supérieur à 80% (Karpuchsis *et al.*, 1998). Cependant, les principaux constituants de l'huile de *T. capitatus* de Sardaigne sont le thymol (29,3%) et le p -cymène (26,4%) ; le carvacrol ne représente que 10,8% de cette essence (Cosentino *et al.*, 1999).

Les variations rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles, du point de vue qualitatif et quantitatif, peuvent être dues à plusieurs facteurs tels que les paramètres écologiques, l'espèce de la plante et son patrimoine génétique (Senatore, 1996 ; Kokkini *et al.*, 1997 ; Russo *et al.*, 1998 ; Thompson *et al.*, 2003 ; Karousou *et al.*, 2005).

L'activité antifongique contre les champignons responsables de la pourriture du bois a été évaluée en observant l'inhibition de la croissance des espèces fongiques testées en contact avec nos différentes concentrations d'huile essentielle de *T.ciliatus* et *T.deatensis*. L'huile essentielle de *T.ciliatus* a exercé une activité inhibitrice vis-à-vis de tous les champignons de pourriture du bois. Les champignons : (*Acremonium sp* , *Aspergillus sp* , *Cladosporium sp* et *Penicillium sp*) ont montré une faible sensibilité à une concentration de 10 μ l à cette huile . Ceci est dû à leurs profils chimiques riches en thymol . Nos résultats corroborent ceux d'autres recherches qui ont démontré que le thymol est parmi les composés des huiles essentielles les plus actifs contre les champignons. En effet, Karmen *et al.*, (2003) ont testé 22 composés purs issus d'huiles essentielles sur *Coriolus versicolor* et *Coniophora puteana* et ils ont montré que le thymol est plus actif contre ces deux champignons d'altération du bois.

Le mécanisme de la toxicité des phénols envers les champignons est basé sur l'inactivation des enzymes fongiques qui contiennent le groupement SH dans leur site actif (Farag *et al.*, 1989 ; Cowan, 1999 ; Celimene *et al.*, 1999). Les terpènes phénoliques agissent aussi en se fixant sur les groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires microbiennes provoquant l'altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaires (Juven *et al.*, 1994 ; Ultee *et al.*, 1999 ; Knowles *et al.*, 2005 ; Lopez-Malo *et al.*, 2005).

Quant à l'activité fongicide de *T. ciliatus*, elle reste légèrement supérieure à celle de *T. deatensis* testée, grâce à la teneur plus élevée en thymol dans l'essence de *T. ciliatus* .

Par ailleurs, Dorman et Deans (2000) ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne contre 25 genres de bactéries testées. Les espèces de thym sont naturellement riches en phénols, plus particulièrement le thymol et le carvacrol ; ces deux composés sont caractérisés par leur important pouvoir antimicrobien (Cosentino *et al.*, 1999 ; Arras & Usai, 2001 ; Hammer *et al.*, 2003 ; Pepeljnjak *et al.*, 2003).

L'efficacité antifongique de l'essence de *T.ciliatus* par rapport à celle de *T. deatensis* peut être due aussi à l'activité synergique entre le thymol et le carvacrol. Ces composés sont présents dans l'huile de *T.ciliatus* avec des taux respectifs d'environ 54,98% et 4,96% alors que la teneur en thymol dans l'essence de *T. deatensis* est de 28,1%. La synergie entre ces deux phénols a été constatée dans plusieurs études (Crespo *et al.*, 1990 ; Didry *et al.*, 1993 ; Deferera *et al.*, 2000). Selon ces observations, on peut spéculer que la forte activité antifongique observée chez les huiles essentielles des deux thyms peut être attribuée seulement au thymol et au carvacrol, comme elle peut être le résultat de synergies entre les différents constituants de ces huiles.

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés antifongiques, antibactériennes et antioxydantes très intéressantes à mettre à profit dans différents domaines, notamment, dans la préservation des produits alimentaires par exemple.

Les travaux menés par notre étude ont permis de mettre en évidence l'activité antifongique des HE de *Thymus ciliatus* et *Thymus dreatensis* à l'encontre des champignons présumés responsables de la détérioration du bois des arbres, à savoir : *Acremonium sp* , *Aspergillus sp* , *Cladosporium sp* et *Penicillium sp*.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que l'huile essentielle de *T. ciliatus* semble être plus appropriée comme agent antifongique, sur les souches testées, que l'HE de *T. dreatensis*.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussée de l'activité antifongique, en complément des activités antibactérienne et antioxydante, sur les HE utilisées seules ou leurs composants majoritaires, mais également en mélange, permettant ainsi une éventuelle synergie. Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres champignons lignivores afin de confirmer l'efficacité ou non des HE des thyms et pourquoi pas, utiliser ces essences végétales dans le traitement du bois *in vivo*.

*Références
bibliographiques*

- Amjad Hossain M.(2005). Neem seed oil: Bangladesh. Examples of the Development of Pharmaceutical Products from Medicinal Plants. Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR). 10, 59-63.
- Arras G., Usai M.(2001). Fungitoxic activity of twelve essential oils against four postharvest *Citrus* pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* (L.) oil and its effect in sub atmospheric pressure conditions. *J. Food Prot.* 64, 1025-1029.
- Bahorun T.(1997). Substances Naturelles Actives:La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council.
- Belitz H. D. et Grosch W.(1999). Food chemistry. Second edition. Spriger- Verlag. Berlin Heidelberg. 992 p.
- Benabid A.(2000). *Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité.* Paris : Édition Ibis Press, 159-161.
- Benchohra H.A., Hamel L., Bendimered F.Z.et Benchohra M.(2011). Composition chimique des huiles essentielles des L'*Inula viscosa*. Science Lib Editions Mersenne.p 2. ISSN 2111-4706.
- Benjlali B., Hammouni M., M'Hamedi A. & Richard H.(1987). Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. *Sci. Aliments.* 7, 275-299.
- Benjlali B., Hammouni M. & Richard H.(1987). Chemical polymorphism of Moroccan thyme essential oils: compounds characterization. *Sci. Aliments.* 7, 77-91.
- Benmehdi ., Mana .(2012). Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles des plantes aromatiques,*Mentha peperita* L.et *Rosmarinus officinalis* L.Mémoire pour l'obtention de diplôme de master .Univercité Constantine.p19.
- Bérubé-Gagnon J.(2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de l'université de Québec.
- Bhar H ., Balouk A.(2011). Les plantes aromatiques et médicinales. p7-p28.
- Blanchette R. A., Burnes T.A.(1988). Selection of white-rot fungi for paper biopulping. *Biomass* 15 : 93-101.
- Botton B., Breton A., Féver M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P.(1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. *Ed. Mason,Paris.*
- Boubrit S., Boussad N. (2007). Détermination *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus,myrte,clous de girofle et sarriette,et leur application à la conervation de la viande fraiche type hachée. Ingéniorat d'état en biologie.Université Mouloud Mammerie

de Tizi-ouzou.p4.

- **Bouguerra A.** (2011). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister en Sciences Alimentaires. Université de Constantine. p4.
- **Boukhatem M. N ., Hamaidi M.S ., Saidi , F et Hakim Y.**(2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimique de l'huile essentielle du Géranium Roast (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja(Algérie).*Nature and Technologie*.p37-45.
- **Bounatirou S. et al.**(2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoffm. & Link. *Food Chem.* 105, 146-155.
- **Bousmaha L., Atik Bekkara F., Tomi F. & Casanova J.**(2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth.ssp. *eu-ciliatus* Maire from Algeria. *J. Essent. Oil Res.* 19(5), 490-493.
- **Bousmaha L., Elmoualdi L., Ouhssine M. et El Yachioui M.**(2007). Souche de *Candida guilliermondii* isolée de la saumure de carottes productrice d'une β -fructofuranosidase extracellulaire. *Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux.* 146, 51-62.
- **Caree P.**(1953). Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed. Ballière JB. et fils.
- **Carson C.F .,Rilley T.V .,Bosque F.**(2002). Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology.*78, p:264-269.
- **Celimene C.C., Micales J.A., Ferge L. & Young R.A.**(1999). Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. *Holzforschung.* 53, 491-497.
- **Chabasse D., de Gentile L., Brun S., Cimon B. et Penn P.** (2002). Cahier de formation biologie médicale, les moisissures d'intéer médical.ed BIOFORMA.N°25.10-110.
- **Choudhury RP., Kumar A., Garg AN.**(2006). *J Pharm Biomed Anal.* 7:825-32.
- **Clevenger J. F.**(1928). Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am. Perf.Ess. Oil Rev.* 467–503.
- **Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. & F. Palmas.**(1999). *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl.Microbiol.* 29 (2), 130-135.
- **Cowan M.M.**(1999). Plant products as antimicrobial agents.*Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564-582.

- Cox S.D., Mann C .M., Markham J .L., Bell H.C., Gustafson J. F ., Warmington J. R. et Wyllie S.G.(2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.
- Crespo ME., Jimenez J., Gomis E.et Navarro C.(1990). Antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus serpylloides subspesies gadorensis*. *Microbios*. 61, 181-184.
- Cuvelier M-E., Berset C. et Richard H.(1990). Use of a new test for determining comparative antioxidant activity of BHA, BHT, and tocopherols and extracts from rosmary and sage. *Sci. Aliments*. 10, 797-806.
- Cuvelier M-E., Richard H. et Berset C.(1992). Comparaison of antioxidant activity of some acid phénols: structure-activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem*. 56, 324-325.
- Cuvelier M-E., Richard H. et Berset C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosmary. *J.am.oil Chem. Soc*. 73, 645-652.
- Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T.(2005). Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.
- Dastidar S. G., Manna A., Kumar K. A., Mazumdar K., Dutta N.K., Chakrabatary A.N., Motohashi N. et Shirataki Y.(2004). Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 23, 99-102.
- Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. p4.
- Davidson P.M .(1997). Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*.43, p:148-155.
- De Billerbeck V.G ., Roques C., Vaniere P. et Marquier P.(2002). Activité antibactérienne et antifongique produits à base d'huiles essentielles. *Revue d'hygiènes - volume x* .p248.
- Deferera D.J., Ziogas B.N., and Polissiou M.G.(2000). *GCMS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungi toxicity on Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem*. 48(6), 2576-2581.
- Delaveau P.(1987). Les Epices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Albin Michel Editeur. 372 p.
- Dictionary of the fungi , ninth edition. CAB International & Cambridge University Press , United kingdom . 655p.
- Dimitrijević S.I., Mihajlovski K.R., Antonović D.G., Milanović-Stevanović M.R., Mijina D.Z.(2007). *Food chemistery Journal*, 104 :774-782.

- Didry N., Dubreuil L. & Pinkas M.(1993). Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie*, 48, 301-304.
- Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C.(2006). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. DOI:10.1080/13880200600897106. *Pharmaceutical Biology*, Volume 44, Issue 8 October 2006, pages 607 – 612.
- Dorman H.J.D., Deans S.G.(2000). Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 308-316.
- Durand P.Y.(1984). *A Technological Survey of plantation-grown Teak in Ivory Coast*. IUFRO Meeting - Project Group P5.01. Manaus, Brésil.
- Eaton R.A., Hale, M.D.C. (1993). *Wood: Decay, Pests and Protection*. Chapman and Hall, London. 546p.
- El Ajjouri M .et al .(2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12(4), 345-351.
- El Ajjouri M .et al .(2010). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, 157:2, 285-294.
- Elhabazi K., Dicko A., Desor F., Dalal A., Younos C., Soulimani R.(2006). *Journal of Ethnopharmacol.* 103 :413-419.
- Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M. & El-Baroly G.S.A.(1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.* 52, 665-667.
- Fellah S., Romdhane M., Abderraba A.(2006). *J.Soc.Alger.Chim.*, 16 : 193-202.
- Figueredo G.(2007). Étude chimique et statistique de la composition d'huile essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne . THÈSE pour obtenir le grade de doctorat .Université blaise Pascal. p30.
- Fisher K., Phillips C .(2009). *Br. J. Biomed. Sci.* 66: 180-
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M., Taghizadeh M., Astaneh S., Rasooli I.(2007). *Food Chemistry* 102: 898-904.
- Garneau F.X., Gagnon H., Jean F.I ., Koumaglo H.K ., Moudachirou M . et Addae-mensah I . (1996). Les chémotypes de *Lippia multiflora*, *Melaleuca quinquenervia* et *Clausena anisata* du Togo, Bénin et Ghana. LASEVE-UQAC, Chicoutimi, Québec. . p 125-135.185.
- Gherman C., Culea M., Cozar O.(2000). Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. 53 :253-62.

- Ghannadi A., Sajjadi S.E., Kabouche A., Kabouche Z.(2004). *Thymus fontanesii* Bioss. & Reut,A Potential Source of thymol-Rich essential oil in North Africa. *Z. Naturforsch.*59c, 187-189.
- Giordani R., Hadeif Y. & Kaloustian J.(2008). Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79, 199-203.
- Guiraud J.P. (1998). *Microbiologie alimentaire*.(Ed).Dunod.Paris:310-321.
- Haddaf Y., Kaloustian J., Giordan R., Regli P., Chefrour A., Abou L., Mikail C.et Portugal H.(2004). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Thymus numidicus* Poiret d'Algerie- 6^e symposium international d'aromathérapie scientifique et plantes médicinales ; Grasse, France.
- Haluk J.P. and Roussel C., (1998), *Durabilité naturelle du Red cedar et application des biotechnologies végétales dans le domaine de la préservation du bois*. In : Communication de Journées Scientifiques Bois-Forêt, Épinal, France.
- Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V.(2003). Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J. Appl. Microbiol.*, **95**, 853-860.
- Hawksworth D .L., Sutton B.C., Ainsworth G.C.(1994) . Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- Hilan C., Sfeir R., Jawich D. et Aitour S.(2006). *Journal Scientifique Libanais*, **7**: 13-22.
- Juven B.J., Kanner J., Schved F. & Weisslovicz H.(1994). Factors that can interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl. Bacteriol.* 76, 626-631p.
- Kabera J.(2004) .Caractérisatiopn des huiles essentielles de trois plantes aromatiques. : Hyptis Spicigera, Pluchea Ovalis et Laggera Aurita. Mémoire pour l'obtention de diplôme de DEA .Universite de Lome- Togo.p5.
- Karaman S., Digrak M., Ravid U.A. & Ilcim A.(2001). Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak. from Turkey.*J. Ethnopharmacology*,76,183-186.
- Karousou R., Koureas D.N. & Kokkini S.(2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*. 6, 2668-2673.
- Karpouhtsis I. et al.(1998). Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1111-1115p.
- Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Staplers J. A.(2001). Ainsworth & Bisby's

- Knowles J.R., Roller S., Murray D.B. & Naidu A.S.(2005). Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 797-803.
- Kokkini S. et al.(1997). Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, 44, 883-886.
- Lahlou M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*.18, p: 435-448.
- Lee K .W., Kim Y. J., Lee H. J. et Lee C. Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7292-7295.
- Lee S J., Umamo K., Shibamoto T., Lee K.G. (2007). *Food Chem.*91:131-137.
- Leveau J.Y., Bouix M.(1993). Les levures Ds :Bourgeois C.M., Leveau J.Y. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires,édition 21 Lavoisier-Tec & Doc :206-229p.
- Levi M.P.(1965). The Fungal Degradation of Wood. *Journal of the Institute of Wood Science.* 12:56-66.
- Lis-balchin M.(2002).Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis. London. 155-200.
- Lopez-Malo A., Alzamora S.M. & Palou E.(2005). *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int. J. Food Microbiol.* 99, 119-128.
- Lucchesi M.E.(2005). Extraction sans solvants assistée par micro –ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles.Thèse de doctorat en Sciences, discipline : Chimie.Université de la Réunion.
- Lyons L., Nambiar D.(2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. CATIE. 60p.
- Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chraief I., Fatiha K., Chekir Ghedira L., Boukef K. (2006) . *Food, Agriculture & Environment (JFAE)*. 4 :61-65.
- Mathews K.G., Koblik P.D., Richardson E.F., Davidson A.P.et Pappagianis D.(1995). Computed tomographic assessment of noninvasive intranasal infusions in dogs with fungal rhinitis. *Vet. Surg.*25, 309- 319.
- Mebarki N. (2010).Extraction de l'huile essentielles de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Mémoire pour l'obtention de diplôme de magister. Université M'hamed bougara Boumerdes.p20-p36

- **Mélanie T.**(2001). Profil des produits forestier Première transformation huiles essentielles . Bibliothèque nationale du Québec. p2.ISBN 2-550-38585-3
- **Merghache S ., Hamza M et Tabti B .**(2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de Ruta Chalepensis L. de Tlemcen, Algérie .Afrique Science 05(1) .p 67-81 . ISSN 1813-548X.
- **Miller R.E., Mc Conville M.J., Woodrow IE.**(2006). *Phytochemistry*. 67 : 43-51.
- **Muhlberger, E., P. Maignet.**(1999). Aleurodes sur to-mate: Trialeurodes vaporariorum et Bemisia argentifolii.PHM Rev. Horticole 407: 21-25.
- **Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A.**(2005). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 4(2): 63-79.
- **Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R. et Krishna D.R.**(2001). *Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential*. Indian Journal of Pharmacology. 33, 2-16.
- **Nicklin K., Graeme K., Paget T .et Killington R.**(1999). L'essentiel en Microbiologie. BERTI Ed. 32-35 p.
- **Pedneault K., Léonhart S., Angers P., Gosselin A., Ramputh A., Arnason J. T. et Dorais M.** (2001). *Influence de la Culture Hydroponique de Quelques Plantes Médicinales sur la Croissance et la Concentration en Composés Secondaires des Organes Végétaux*. Texte de conférence - 5ième Colloque sur les produits naturels d'origine végétale. Université Laval, Qc, Canada. 2p.
- **Pepeljnjak S., Kosalec I., Kalodera Z. & Kustrak D.**(2003). Natural antimycotics from Croatian plants. *In: Rai M.K.& Rai R., eds. Plant-derived antimycotics*. Binghampton, NY, USA: The Haworth Press, 49-81.
- **Porter N.** (2001). *Essential oils and their production*. Crop & Food Research. Number 39.
- **Quezel P., Santa S.**(1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.Tome II. Ed. C.N.R.S.Paris. Réduit.Mauritius.
- **Rhayour K.**(2008). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli,Bacillus subtilis et sur Mycobacterium fortuitum.Thèse de Doctorat National.Université Sidi Mohamed Beb Abdellah.P9.
- **Richard H., Multon J.L.**(1992). Les arômes alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 438 p.
- **Rota M.C., Herrera A., Martinez R.M., Sotomayor J.A., Jordan M.J.**(2008). *Food Control*. 19: 681-687.

- Russo M., Galletti G., Bocchini P. & Garnacini A.(1998). Essential oil chemical of composition of wild populations of Italian origano spice (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* Link): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *J. Agric. FoodChem.*46, 3741-3746
- Said F.(2007). Extraction de l'huile essentielles de thym :*Thymus numidicus kabylica*. Mémoire pour l'obtention le diplôme de magister en Génie des procédés. Université de Boumerdes.p13 -p17.
- Scientific Correspondence.(2003). Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings. 85 (1), 30-34.
- Senatore F.(1996). Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *J. Agric. Food Chem.* 44, 1327-1332.
- Singh A.L., Basu M.S .et Singh N.B.(2004). Mineral Disorders of Groundnut. National ResearchCenter for Groundnut (ICAR), Junagadh, India, p85.
- Smallfield B.(2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45, 4p.
- Svoboda K.P., Hampson J.B.(1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.
- Takeoka G.(1998). Flavor chemistry of vegetables. In Flavor chemistry. Thirty years of progress. Teranishi R.et al. (Ed.). Cluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 287-304.
- Thompson J.D. et al.(2003). Qualitative and quantitative variation in monoterpene co occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* CHEMOTYPES. *J. Chem. Ecol.*, 29(4), 859-880.
- Tortora G.J., Funke B.R. et Case C.L. (2003). Introduction à la microbiologie. Edition du renouveau pédagogique. Canada.945p.
- Ultee A., Kets E.P.W. & Smid E.J.(1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4606-4610p.
- Ulfree A., Slump R.A., Steging G. et Smid E.J.(2002). Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection* .63,p 620-624.

- Vernay M., Mouras S.(2002). Utilisation des bois de Guyane dans la construction. Editions Quae, Versailles, France, 159 p.
- Vokou D ., Kokkini S. et Bressiere J.M.(1988). *Origanum onites*(Lamiaceae) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . *Economy botanic.* 42, p407-412.
- Wilson C.L., Solar J.M., El Ghaouth A. et Wisniewski M. E.(1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.* 81, 204-210.

Références électroniques:

- (site web): http://en.wikipedia.org/wiki/Thymus_dreatensis
- (site web) : www.google.com/image/thym_ciliatus
- (site web) : www.google.com/image/thym_dreatensis
- (site web) : <http://www.wisconsinmushrooms.com/Ustulinadeusta.html>
- (site web): <http://www.alliancesudexpertise.com/insectes-a-larves-xylophages-parasites-du-bois.php>

Annexes

ANNEXES

✚ Composition des milieux de cultures utilisés

Milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar)

Pomme de terre.....	200g
Agar.....	20g
Glucose.....	20g
Eau distillée.....	1000 ml

pH final $5,6 \pm 0,2$

Milieu Sabouraud-chloramphénicol

Peptone.....	10g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Chloramphénicol.....	0,5g
Eau distillée	1000ml

pH : 5-5,6