



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم: الميكروبيولوجيا.....
Département : Microbiologie.....

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Thème :

**Évaluation de l'activité antifongique des l'huiles
essentielles d'ail et argan vis-à-vis deux espèces de genre
Fusarium : *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*.**

Présenté et soutenu par :

Le : 30/09/2020

ACHOUB Khawla
KHALID Roumaissa

Membres de jury :

- ❖ Président du jury : Mme MIHOUBI Ilhem (Professeur- UFM Constantine 1)
- ❖ Rapporteur : Mme GHORRI Sana (MCB - UFM Constantine 1)
- ❖ Invité : Mme Abdeazziz Widded (MCB - UFM Constantine 1)

Année universitaire
2019-2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

*Nous sincères remerciement vont en lieu à **Dieu**, le tous puissant, le tout miséricordieux pour nous avoir guidé vers la connaissance et le savoir par sa grace on a réussi à mener bien ce travail.*

Nous adressons nos plus vifs remerciements :

*Au professeur **Mihoubi ilhem** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance.*

*Notre profonde gratitude pour notre encadreur docteur **Ghorri sana** qui nous a fait l'honneur pour sa disponibilité, pour les précieuses informations qu'elle nous a prodiguées avec intérêt et compréhension, sa rigueur scientifique, son sens d'écoute et d'échange, de d'examiner notre travail et diriger notre mémoire de master. son encouragement sa confiance en nous.*

*Nous tenons à remercier Docteur **Abdeazziz Widded** qui a généreusement accepté d'examiner notre travail*

A tous les membres et techniciennes des laboratoires du département de biologie pour leur gentillesse et leur disponibilité permanente.

Une grande pensée est adressé à l'ensemble des enseignants du département de biologie qui ont

Su nous donnée une formation honorable durant notre cursus.





Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents, que j'aime plus que tous au monde, pour leur encouragements incessants et leur soutien moral aux moments difficiles qui Furent pour moi les meilleurs gagnes de réussite que dieu les protège et leur donne.

A mes chers frères : **hamza, bilel, Ali** et **Oussama**, pour leur disponibilité et leur soutien moral.

A mes très chères sœurs : **Amina, Asma** et **Sara** pour leur encouragements et leur prières ont constitué un soutien moral inestimable pour mener à bien ma tâche.

A ma belle-famille et à tous mes collègues de ma promotion
A tous ceux et celles qui m'ont encouragé et m'ont souhaité du bien de près ou de loin.

Khawla. A



Dédicaces

♥ J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail ♥

À mes très chers parents pour leurs amours, soutiens, contributions, Je ne vous remercierai jamais assez. Les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne.

Mon père **Yacine** qui ma toujours bien toujours traité comme responsable, Que Dieu me garde son grand cœur, et vous procure bonheur, santé et longue vie.

À la mémoire de ma chère mère **Souad Rouabeh** : Je n'oublierai jamais tes conseils, tes bénédictions, et tes privations. Que Dieu l'accueille en son vaste paradis.

À ma très chère sœur unique **Hanane** remercier de l'amour que tu m'as témoigné au cours de ces années, des paroles d'encouragement que tu as su prononcer et du soutien extraordinaire que tu m'as offert. Que m'a toujours réconforté et pousser plus avant.

À mes deux chers et adorables frères **Ramdane, Abdelrazek**. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès.

À mon oncle **Ahmed** et sa femme **Nessrine** et les enfants **Ranine** et **Mounib**.

À mes amis proches

Hiba ; Hadjer ; Adlen ; Mery ; Chafik ; Aymen ; Amira ; Mohcen ; Meysoun ; Racha

À tous les profs qui m'ont enseignée depuis le premier jusqu'à ce niveau universitaire

Sachez que vous êtes, pour moi un exemple édifiant devant me servir de référence.

À mes collègues de promotion Microbiologie et Biotechnologie Fongique, que je respecte.

Roumaïssa.K

RESUME

Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales de la flore marocaine vis-à-vis de deux champignons responsables des mycoses humaines et phytopathogène : *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* . Les deux huiles essentielles étudiées provenant d'une plante liliacée, qui est l'ail et d'une autre de la famille tropicale des Sapotaceae qui est l'argan, considérées comme étant des condiments à large consommation en Algérie et Maroc. Ce modeste travail met, entre les mains du lecteur, une étude complète, qui traite à la fois les plantes médicinales, des huiles essentielles, et leurs activités antimicrobiennes en général et antifongiques en particulier, ainsi que l'étude des champignons, de leurs avantages et inconvénients. Nous concluons ce travail en abordant les principales techniques et les étapes à suivre pour mettre en évidence l'activité antifongique des huiles essentielles d'ail et d'argan.

Mots-clés: Activité antifongique, Liliacées, Sapotaceae, Hydrodistillation, Hydrocarbure apolaire, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*.

ABSTRACT

This work concerns the study of the antifungal activity of the essential oils of two aromatic and medicinal plants of the Moroccan flora against two fungi responsible for human and phytopathogenic mycoses: *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*. The two essential oils studied come from a liliaceous plant, which is garlic and another from the tropical family of Sapotaceae which is argan, considered to be widely consumed condiments in Algeria and Morocco. This modest work puts, in the reader's hands, a comprehensive study, which deals with both medicinal plants, essential oils, and their antimicrobial activities in general and antifungals in particular, as well as the study of fungi, of their benefits. and disadvantages. We conclude this work by discussing the main techniques and the steps to follow to demonstrate the antifungal activity of essential oils of garlic and argan.

Keywords: Antifungal activity, Liliacea, Sapotaceae, Hydrodistillation, Apolar Hydrocarbon, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*.

ملخص

يتعلق هذا العمل بدراسة النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية لنبتين عطريين وطبيين للنباتات المغربية ضد نوعين من الفطريات المسؤولة عن الفطريات البشرية والممرضة للنبات: *Fusarium solani* و *Fusarium oxysporum*. يأتي الزيتون الأساسي اللذان تمت دراستهما من نبات ليليسوس ، وهو الثوم وآخر من عائلة السابوتاسيا الاستوائية وهو نبات الأركان ، والذي يعتبر من التوابل المستهلكة على نطاق واسع في الجزائر والمغرب. يضع هذا العمل المتواضع بين يدي القارئ دراسة شاملة تتناول كلاً من النباتات الطبية والزيوت الأساسية وأنشطتها المضادة للميكروبات بشكل عام ومضادات الفطريات بشكل خاص ، وكذلك دراسة الفطريات وفوائدها. وعيوب. نختتم هذا العمل من خلال مناقشة التقنيات الرئيسية والخطوات التي يجب اتباعها لإثبات النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية للثوم والأركان.

الكلمات الرئيسية: نشاط مضاد للفطريات ، Sapotaceae ، Liliacée ، تقطير مائي ، هيدروكربون غير القطبي ،
Fusarium solani ، *Fusarium oxysporum* .

Liste des tableaux

	Page
Tableau 01 : Classification classique de l'ail « <i>Allium sativum</i> ».	5
Tableau02 : Classification botanique de l'arganier.	14
Tableau 03 : Classification taxinomique de <i>Fusarium solani</i> .	30
Tableau 04 : Classification taxinomique de <i>Fusarium oxysporum</i> .	35
Tableau 05 : Plan d'une plaque pour un antifongique testé.	47

Liste des figures

	Page
Figure 01: Plante d'ail.	7
Figure 02 : La préparation du matériel végétal.	10
Figure03 : Appareillage type Clevenger utilisé pour l'hydrodistillation d'huile essentielle.	11
Figure 04 : Aspect général de l'arganier.	12
Figure 05 : Distribution d' <i>Argania spinosa</i> au Maroc.	13
Figure 06 : Distribution d' <i>Argania spinosa</i> au Tindouf.	13
Figure 07 : Tronc d'arganier à Touiref Bouàam.	14
Figure 08 : Les différentes formes de développement des branches d'arganier.	15
Figure 09 : Feuille de l'arganier.	16
Figure 10 : Feuille de l'arganier à Touiref Bouàam.	16
Figure 11 : Fleur de l'arganier.	17
Figure 12 : Fruit de l'arganier.	18
Figure 13 : Arganier et nourriture animale.	20
Figure14 : 1) Dépulpage du fruit, 2) concassage des noix 3) torréfaction Traditionnelle des amandes.	21
Figure 15 : Trituration, malaxage et pressage manuel.	22
Figure 16 : Machines utilisées pour l'extraction par presse mécanique de d'huile d'argan.	23
Figure17 : Cycle de <i>Fusarium spp.</i> : Illustration des différents modes d'action	28
Figure18 : Aspect macroscopique de <i>fusarium solani</i> .	31
Figure19 : Caractères morphologiques de <i>Fusarium solani</i> : a) Conidiophores monophialids ; b) Chlamydozspores.	32
Figure 20: Monophialides.	32

Figure21: Macroconidies.	33
Figure22: Microconidies.	33
Figure23: Chlamydozoospores.	33
Figure 24 : Organisation morphologique externe de <i>F.o.albedinis</i> sur milieu PDA.	35
Figure 25: Organes de reproduction asexuée de <i>Fusarium oxysporum f.sp.albedinis</i> au MEB.	37
Figure 26: Cycle de vie du <i>Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici</i> .	38
Figure 27 : Cellule de Malassez .	41
Figure 28: Préparation des dilutions des huiles essentielles.	42
Figure 29 : Illustration de la méthode des aromatochromes sur boîte de pétri.	43
Figure 30 : Illustration de la méthode de microatmosphère	44
Figure 31 : Illustration de la méthode de diffusion par puits sur boîte de Pétri.	45
Figure 32 : Méthode de macrodilution.	47
Figure 33 : La microplaque de la méthode de microdilution.	48

Liste des abréviations

°C	degré Celsius.
CMB	Concentration Minimale Bactéricide.
CMF	Concentration minimal fongicide.
CMI	Concentration minimal inhibitrice.
F	Fusarium.
f.sp	forme spécial.
FSSC	Fusarium solani Species Complex (Complexe d'espèce Fusarium solani).
DMSO	Diméthylsulfooxyde.
HE	Huile essentielle.
LDL	Low Density Lipoprotein.
MEB	Microscope électronique à balayage.
Mh	Masse d'huile essentielle.
Mv	Masse de matériel végétal.
NaCl	chlorure de sodium.
PDA	Potatos Dextrose Agar.
RHE	Rendement en Huile essentielle
Spp.	Plusieurs espèces.
TTC	Triphényl Tétrazolium Chloride.
UFC	Unité formant colonie.
VIH	virus de l'immunodéficience humaine.



Table des matières

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

CHAPITRE I : L'HUILE ESSENTIELLE D'AIL

I .1- Généralité sur les huiles essentielles :	3
1-1-Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :	3
1.1.1- Propriétés physiques :	3
1.1.2- Les compositions chimiques des huiles essentielles :	3
I.2- Généralité sur <i>Allium sativum</i> :	5
I .3-Classification dans la systématique botanique :	5
I. 4- Origine et répartition géographique :	5
I.5- Description de <i>l'Allium sativum</i> :	6
I .6-Utilisation et propriétés thérapeutiques :	7
6.1- Propriétés antimicrobiennes :	7
6.2- Propriétés antibactériennes :	8
6.3- Propriétés antifongiques :	8
6.4- Propriétés anti-oxydants :	8
6.5- Propriétés antiparasitaires :	9
I .7-Méthode d'extraction de l'huile essentielle d'ail :	9
7-1 - Préparation du matériel végétal :	9
7-2 - Hydrodistillation :	10
7-3 - Séparation des deux phases :	11
II.1-Généralité sur <i>Argania spinosa</i> :	12
II .2- Répartition géographique de la plante :	12
II .3- Systématique :	13
II.4 - Description morphologique :	14
4.1-Le tronc :	14
4.2- Le port :	14

4.3- Le bois	15
4.4- Les rameaux	15
4.5- Les feuilles :	16
4.6- Les fleurs :	16
4.7- Les fruits	17
4.8- les racines :	18
II.5- Intérêts et usage multiple :	18
5.1 Intérêt écologique :	19
5.2 -Intérêt socio-économique	19
5.3 - Intérêt biologique :	20
II.6- Procédés d'extraction de l'huile essentielle d'argan :	20
6.1- Procédé d'extraction artisanal :	21
6.2- Procédé d'extraction par presse mécanique :	22
6.3- Procédé d'extraction par solvant organique :	23
III .1- Généralité sur les champignons :	24
1.1- Définition :	24
III.2- Les champignons phytopathogène :	24
2.1- Genre du <i>Fusarium</i> :	25
2.2- Pouvoir pathogène du genre <i>Fusarium</i> :	26
2.2.1- les phytopathogènes :	26
2.2.2- Pouvoir pathogène chez l'homme :	28
2.3 – <i>Fusarium solani</i> :	29
2.3.1- Historique :	29
2.3.2 – Taxinomie :	29
2.3.3- Répartition :	30
2.3.4 – Aspects morphologiques :	30
2.4- <i>Fusarium oxysporum</i> :	34
2.4.1- Généralité :	34
2.4.2- La taxonomie :	34
2.4.3- La morphologie :	35
2.4.4- Le cycle de vie :	37
IV.1- Matériel végétal :	39
IV.2- Extraction et conservation des huiles essentielles :	39

IV.3- Détermination de rendement de l'HE :.....	39
IV.4- Préparation de l'inoculum fongique :.....	40
4.1- Isolement et purification des souches fongiques :.....	40
4.1.1- Isolement :.....	40
4.1.2- Purification et conservation des isolats fongiques :.....	40
4.2- Identification des isolats fongiques :.....	40
4.3- Préparation de la suspension sporale :.....	41
4.4- Préparation de concentration des huiles essentielles :.....	42
IV.5- Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique :.....	42
5.1- Confrontation directe (Technique de l'Aromatogramme) :.....	42
5.2- Confrontation indirecte (Technique de microatmosphère):.....	44
5.3- Méthode de diffusion en gélose par puits :.....	45
5.4- Méthode par incorporation à la gélose :.....	46
5.5- Méthodes de dilution en milieu liquide:.....	46
5.5.1- Test de microdilution :.....	46
5.5.2- Test de macrodilution :.....	47
5.5.3- Détermination de la Concentration Minimale Fongicide (CMF) :.....	48
Conclusions et Perspectives.....	49
Références bibliographique.....	50
Annexes	



***INTRODUCTION
GENERALE***

L'agriculture constitue la base de l'économie. Malheureusement celle-ci est soumise à plusieurs contraintes, essentiellement d'ordre abiotique et biotique. Les producteurs sont confrontés à diverses maladies qui s'attaquent aux cultures, La majorité des maladies de plantes sont causées par les champignons telluriques, largement distribués dans le sol, provoquant les pourritures de cultures aussi ils endommagent de nombreuses espèces d'arbres forestiers. À l'instar des autres pays, les maladies dues aux champignons telluriques sont rencontrées en Algérie. Entre autre les fusarioses qui affectent diverses cultures (Belabid *et al.*, 2004). De plus, Il existe de nombreuses espèces de *Fusarium*, dont certaines seulement sont pathogènes et/ou sont susceptibles d'émettre des mycotoxines (fusariotoxines en l'occurrence), posant problèmes en agriculture ou en médecine humaine et pour l'industrie agroalimentaire.

Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), les légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers. La majorité des espèces de *Fusarium* sont susceptibles de produire des mycotoxines et sont ainsi impliquées dans des intoxications chez les animaux d'élevage.

Donc en raison de l'aggravation des problèmes en matière de contrôle des maladies fongiques, une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueux à l'environnement (Prapagdee *et al.*, 2008), d'ailleurs la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. Ainsi, de nombreux composés volatils sont les ingrédients courants des préparations pharmaceutiques (Pauli, 2001 cité dans Belkhouja, 2016).

L'objectif de la présente étude est l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle *Allium Sativum* et *Argania Spinosa* vis-à-vis deux espèces de genre *fusarium* champignon phytopathogène. L'*Allium sativum* communément nommé ail, est une plante herbacée bulbeuse de la famille des Alliaceae, utilisée depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Ce sont ses molécules naturelles bioactives qui lui confèrent plusieurs vertus thérapeutiques (Reuter *et al.*, 1996).

L'ail est utilisé depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Un très grand nombre d'études ont été réalisées afin de mieux connaître les principes actifs de l'ail et leurs effets. En effet l'ail sert depuis longtemps pour réduire le cholestérol et les

triglycérides (Ali *et al.*, 1995).Même utilisé traditionnellement pour ses propriétés antimicrobiennes et pour le traitement de certaines infections.

Autre étude démontré que la plante *Argania spinosa* est certes endémique du Maroc, L'Arganier est un arbre à multi usages. Chaque partie de ce dernier (bois, feuilles, fruits, huiles) est utilisable et représente une source de revenu pour l'usager. En plus, il joue un rôle irremplaçable dans l'équilibre écologique. Son système racinaire puissant et profond maintient le sol et permet de lutter contre l'érosion qui menace cet équilibre. En effet, le bois est utilisé soit dans la construction d'outils agricoles soit comme combustible sous forme de charbon. Les feuilles constituent une source de nourriture équilibrée pour les animaux et utilisées en cosmétique comme élément de valorisation supplémentaire. L'huile extraite de l'amande est utilisée en alimentation humaine et elle est incorporée dans des produits cosmétiques et pharmaceutiques, aussi bien dans le domaine de la dermatologie que la lutte contre l'inflammation ou pour le traitement des dysfonctionnements cardiovasculaire (Bellakhder , 1997).

Ainsi, l'amélioration des conditions de production de l'huile extraite des arganiers s'est avérée primordiale à cause des impuretés qui passent dans cette huile au cours des procédés d'extraction, surtout ceux qui sont utilisés dans des unités industrielles. Parmi ces impuretés, on trouve les métaux lourds qui présentent un danger pour les consommateurs lorsque les teneurs dépassent le seuil maximal.

Pour ce faire, la première partie de l'étude bibliographique de notre travail est consacrée pour traiter les généralités sur les huiles essentielles et leurs propriétés, ainsi que les défférentes parties de la plante de l'ail et l'utilisation de la méthodes d'hydrodistillation pour préparer l'huile d'ail, La deuxième partie concerne la présentation de l'arganier et de ses utilisations traditionnelles ainsi les différents procédés d'extraction de l'huile d'argan, La troisième partie traite la description de données bibliographiques relatives aux champignons d'une manière générale, à l'agent pathogène "le *Fusarium*" et finalement l'identification d'espèces du genre *Fusarium*. Le dernier chapitre il permet d'expliquer les étapes nécessaires et les différentes techniques permettant d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles des plantes étudiées *in vitro* vis-à-vis de *F. oxysporum* et *F. solani*.

Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion générale et la mise en évidence des perspectives de recherche.



CHAPITRE I
L'HUILE ESSENTIELLE
D'AIL

I.1- Généralité sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances naturelles formées de divers constituants chimiques appartenant au métabolisme secondaire. Elles sont appelées substances volatiles du fait qu'elles s'évaporent à l'air libre sous l'action de la température, sans qu'elles soient dégradées. Elles sont dénommées huiles aromatiques ou parfum, du fait qu'elles dégagent une odeur le plus souvent agréable, elles sont appelées aussi huiles éthériques vu qu'elles sont solubles dans l'éther.

Les huiles essentielles se trouvent dans plus de 2000 espèces végétales, représentées par 60 familles, dont les plus importantes sont : Lauracées, Labiées, Rosacées, Ombellifères, Rutacées, Cupressacées, Opiacées, Abiétacées (Sebai *et al.*, 2012 ; Toumi, 2009).

1-1-Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

1.1.1- Propriétés physiques

La dénomination d'huile prête parfois à confusion, les huiles essentielles étant des substances volatiles et non des corps gras. Leur volatilité augmente avec la chaleur. Elles sont très solubles dans les huiles grasses (meilleurs solvants), et solubles dans l'alcool de titre élevé, les graisses, l'éther et la plupart des solvants organiques, leur consistance est huileuse mais non grasse, Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, cette faible densité est due à la forte teneur en monoterpènes (Nedjai *et al.*, 2017). Elles sont liquides à température ambiante (Pierron, 2014). Leurs couleurs sont variées, beaucoup sont jaunâtres ou incolores mais les couleurs peuvent aller du jaune vert au brun rouge. Elles sont très odorantes (Chabert, 2013 ; Couderc, 2011). Elles ont un indice de réfraction élevé (Benkeblia N, 2004).

1.1.2- Les compositions chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (El Haib, 2012).

a) Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (El Haib, 2012).

b) Les sesquiterpènes

Composés de trois unités d'isoprènes, ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{24}$, ils sont présents dans de nombreuses huiles essentielles. Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (El Haib, 2012).

Les huiles essentielles qui renferment ces molécules rares trouvent de très larges applications dans le traitement de toutes pathologies allergiques et inflammatoires. Toutes les éruptions et irritations cutanées, les crises d'asthme, les artérites. Les sesquiterpènes n'ont pratiquement aucune toxicité aux doses physiologiques. Ils peuvent s'appliquer sur la peau sans la moindre irritation qu'ils sont même censés combattre (Pierron, 2014).

c) Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic et de l'estragon (El Haib, 2012).

I.2- Généralité sur *Allium sativum*

« Allium » provient de celtique « All » qui signifie « brûlant » en raison de la saveur du bulbe et « sativum » qui signifie « cultivé » (jung,2005). La plante d'ail est potagère monocotylédone composé par des bulbes (tête d'ail). Il a une odeur forte et caractéristique des alliées, et un goût piquant et acre. Il est plus communément appelé :ail, allilum, camphre des pauvres, lai, la mélasse des pauvres,...etc (who,1999). L'ail est un aliment médicament très puissant, car il est connu pour agrémenter nombre de plats méditerranéens et pour avoir quelques vertus médicinales (Dukan, 1998, Dufour, 2003).

I.3-Classification dans la systématique botanique

L'ail appartient à l'ordre des Liliales, à la famille des Liliacées, et au genre, Allium. Le nom botanique de l'ail est *Allium sativum* (jung,2005).

Tableau 01 : Classification classique de l'ail « *Allium sativum* ».

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous classe	Liliidae
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	Allium
Nom binomial	<i>Allium sativum</i>

I. 4- Origine et répartition géographique

L'ail est originaire d'Asie centrale, Il y a environ 10 000 ans.il s'est répandu progressivement en Extrême-Orient, en Arabie, en Égypte et dans le Bassin méditerranéen, transporté par les marchands au gré des routes commerciales. Ce bulbe est sans doute l'un des légumes les plus anciennement cultivés par l'homme qui l'utilisait autant pour son alimentation que pour sa santé.

Un lointain ancêtre, *Allium longicuspis*, croît encore dans les steppes sauvages en Afghanistan et en Iran. Du côté de l'Europe et de l'Asie, l'ail des ours, *Allium ursinum*, se rencontre aussi à l'état sauvage. Cependant, l'ail cultivé (*Allium sativum*), ne dérive pas directement des espèces sauvages, mais plutôt d'une très lente évolution génétique issue d'un travail de sélection par l'homme (Khebbeb *et al*, 2018).

I.5- Description de l'*Allium sativum*

Il s'agit d'une plante monocotylédone, vivace et diploïde ($2n = 2X = 16$) (Figliuolo *et al* ; 2001). L'ail a une odeur et un goût forts. Une tête d'ail se compose de plusieurs caïeux ou gousses d'ail (Koch *et al.*, 1996). Les gousses rassemblent 12 à 16 bulbilles. Ces derniers ont un diamètre de 5 à 10 mm et sont composées d'une enveloppe externe, d'un épiderme renfermant un mésophylle non chlorophyllien ; de parenchyme et d'une assise de cellules épidermiques inférieures (WHO, 1999).

La partie souterraine se compose d'un bulbe composé pourvu de nombreuses racines fibreuses. Le bulbe se prolonge à la surface en une tige entourée de feuilles engainantes, linéaires, planes et lisses, mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long. L'inflorescence est une ombelle sphérique portant de petites fleurs étoilées allant du blanc au rose violacé. Les fleurs sont variables en nombre et parfois absentes, elles sont installées au bout de pédicelles minces et se composent d'un périanthe de 6 pièces d'environ 4-6 mm de long, en cloche ; de 6 étamines ; et d'un ovaire supérieur trilobulaire. Elles s'épanouissent en été (Bacar *et al*, 2014).

Il existe un très grand nombre de variétés différentes d'ail selon leur taille, leur couleur et leur saveur. On distingue principalement deux sous-espèces d'ail, en fonction de la saison où les plantes sont mises en terre, l'une en automne, l'autre au printemps.

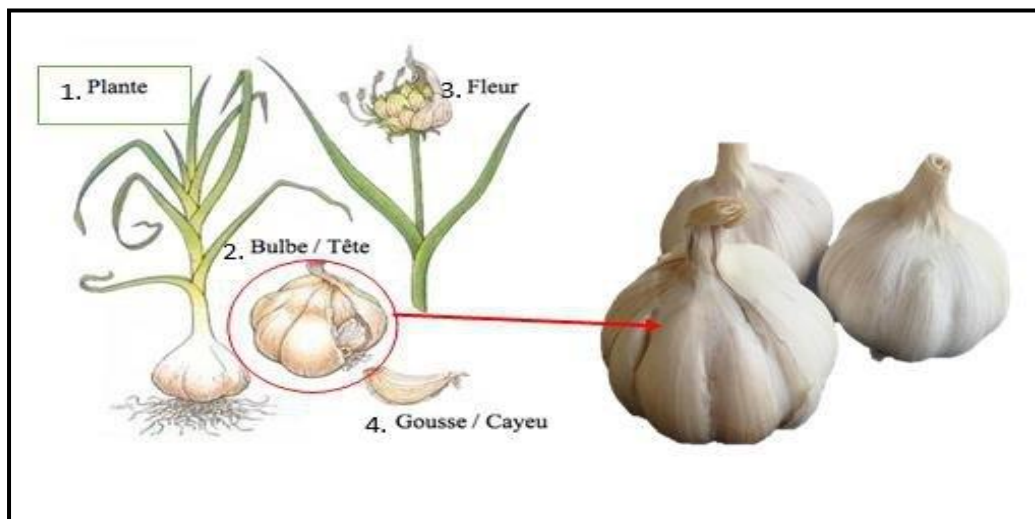


Figure 01: Plante d'ail (Dethier, 2010).

I.6-Utilisation et propriétés thérapeutiques

L'ail à plusieurs propriétés thérapeutiques en font un complément alimentaire prisé. En effet, des qualités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales et de prévention du Cancer lui ont été reconnues. En outre, il aurait le pouvoir d'inhibant la coagulation, de réduire l'hypercholestérolémie et le taux de lipides sanguins, ou encore de faciliter la digestion. L'ail prévient aussi le risque de thrombose et d'athérosclérose. Enfin, il diminue l'hyperglycémie et la tension sanguine (Silagy et Neil, 1994; Bruneton, 1999).

6.1- Propriétés antimicrobiennes

Louis Pasteur, en 1858, était le premier à avoir constaté que l'ail tue les bactéries. Durant la Première Guerre mondiale, l'ail a été utilisé pour combattre le typhus et la dysenterie, ainsi que comme désinfectant pour les plaies. Durant la Seconde Guerre mondiale, les Russes, à court d'antibiotiques, utilisaient massivement l'ail, qui fut alors appelé « pénicilline russe ». Les Irlandais, les Danois et les Russes utilisaient l'ail, il y a des centaines d'années pour traiter la toux et le froid (Shaath *et al*, 1995).

Dans les années 1990, de nombreuses études scientifiques ont porté sur les différents effets thérapeutiques attribués à l'ail. Les recherches ont permis de démontrer que L'allicine serait responsable du pouvoir antimicrobien de l'ail .

En effet, l'ail sert depuis longtemps pour prévenir et combattre les infections. Les personnes vivant avec le VIH (sida) ont souvent recours à l'ail pour prévenir autres des infections dues au champignon Candidatais, (Ghannoum ; 1990). Les bactéries Mycobactérie valium-

intracellulaire et aux parasites du genre *Cryptospridium* (Deshpande *et al* ; 1993). L'ail en effet inhibé la croissance de chacun de ces microbes dans le cadre d'expériences de laboratoire (Davis *et al*, 1994).

6.2- Propriétés antibactériennes

Les effets de l'ail sur les bactéries sont connus depuis longtemps. Des préparations d'ail se sont avérées avoir une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Salmonelle* (Uchida *et al*, 1975).

Dans une étude réalisée sur une population d'une région de Chine, une consommation élevée d'ail (plus de 5 kg par année par personne, soit l'équivalent d'environ quatre à cinq gousses d'ail par jour) a été associée à une diminution des infections à *Helicobacter pylori* (You WC *et al*, 1998). L'ail a un effet contre *Helicobacter pylori*, mise en cause dans des ulcères gastriques (Celini *et al*, 1996 ; OGara *et al*, 2000).

6.3- Propriétés antifongiques

L'extrait d'ail possède un effet fongicide et il peut aussi empêcher la formation des mycotoxines comme l'aflatoxine pour *Aspergillus parasiticus*. Cette inhibition est essentiellement due à l'allicine. L'allicine pur s'est révélée très efficace contre les espèces de *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Microsporum* à une faible concentration et avec une CMI (Concentration Minimal Inhibitrice) qui varie de 1,57 à 6,25 µg /ml (Yamada *et al*, 1997). De même, l'allicine est capable d'empêcher la germination des spores et la croissance des hyphes (Yoshida *et al*, 1987).

6.4- Propriétés antioxydantes

L'ail contient différents composés antioxydants tels que des flavonoïdes et, en plus des composés sulfurés qui contribuent aussi à son action anti-oxydante (Miean *et al*, 2001; Gorinstein *et al*, 2005 ; Leelaramgrayub *et al*, 2006).

Des recherches ont démontré que l'allicine possédait un pouvoir anti-oxydant puisqu'elle augmente les taux sanguins de la catalase et du glutathion peroxydase, deux enzymes antioxydantes très puissantes (Borek *et al*, 2001). D'autres molécules soufrées inhibent la peroxydation hépatique des lipides au niveau du foie qui est un des signes les plus évident du

vieillessement et de l'altération de la balance oxydo-réductrice (Wang *et al*, 1991 ; Helen *et al*, 1999). Ces molécules inhibent aussi l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) et sont impliqués dans la réduction du danger d'ischémie.

6.5- Propriétés antiparasitaires

Entamoeba histolytica, protozoaire parasite de l'intestin de l'homme s'est révélé être très sensible à l'allicine. Seulement 30 µg /ml d'allicine inhibe totalement la croissance de la culture d'amibe (Mirelman *et al*, 1987). Cet effet est dû à son action inhibitrice des enzymes thioliqes présentes chez ce micro-organisme comme la cysteine-protéase et l'alcool déshydrogénase (Shadkchan *et al*, 2004).

L'allicine (30µg/ml) a empêché très efficacement la croissance d'autres protozoaires parasites tels que *Giardia lamblia*, *Leishmania major*, *Leptomonas colosoma*, et *Crithidia fasciculata* (Ankri et Mirelman, 1999).

I.7-Méthode d'extraction de l'huile essentielle d'ail

A partir des bulbes d'*Allium sativum* ont été macérés et extrait l'huile essentielle par la méthode d'hydrodistillation.

7-1 - Préparation du matériel végétal

Avant de commencer l'hydrodistillation , le matériel végétal a été macéré dans l'eau distillé: 200g de bulbes d'*Allium sativum* ont été coupés en petits morceaux puis homogénéisés dans de l'eau distillé à l'aide d'un mélangeur pendant une minute à vitesse moyenne, l'homogénat obtenu est gardé pendant une heure en macération comme le montre.

La macération

La macération est nécessaire pour assurer la transformation de l'alline (constituant major de l'ail frais non contuse) en allicine (précurseur principale de l'huile essentielle).

Les bulbes d'ail cultivé ne contiennent pas d'allicine puisque l'alline et l'allinase se trouvent dans des compartiments différents au sein des cellules de bulbe d'ail, quand ce dernier est coupé ou bien écrasé l'alline entre en contact avec l'allinase pour former l'allicine, l'acide pyruvique et l'ammoniac. La thermo décomposition de l'allicine est à l'origine de la naissance des sulfites volatils d'*Allium sativum* nommé: les dérivés de 2- propényl (allyl).

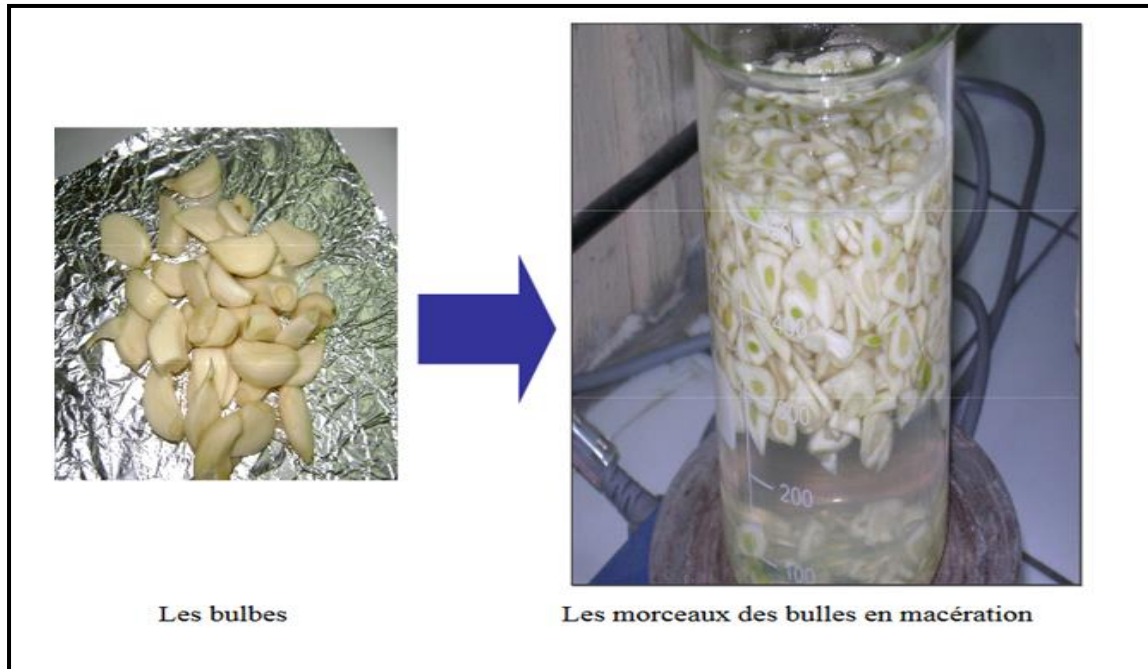


Figure 02 : La préparation du matériel végétal (Khadri2009).

7-2 - Hydrodistillation

Après une heure de macération l'homogénat est versé dans une fiole rondet de 1L puis porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures dans l'hydrodistillateur.

Sous l'action de la chaleur, les cellules sécrétrices de l'huile essentielle éclatent et libèrent des composés organiques volatils. La vapeur d'eau formée vas entraîner avec elle les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant où ils vont se condenser et chutent dans une bécher. L'eau et l'huile essentielle se séparent par différence de densité en deux phases :

- a) Phase organique : huileuse et très odorante appelée " huile essentielle" contenant la majorité des composés odorants.
- b) Phase aqueuse: odorante appelée "**eaux aromatiques**" ou encore hydrolat contenant très peu des composés odorants.

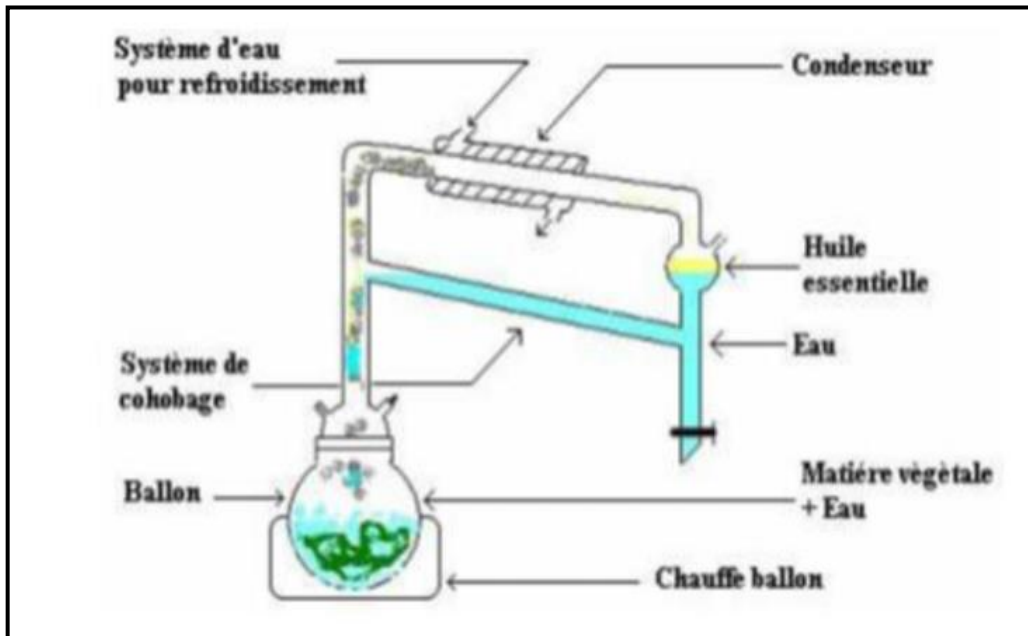


Figure 03 : Appareillage type Clevenger utilisé pour l'hydrodistillation d'huile essentielle (El Kalamouni, 2010).

7-3 - Séparation des deux phases

La totalité du distillat est versée dans une ampoule à décanter et le laisser reposer, Lorsque les phases sont bien séparées, la phase organique a été récupérée dans des petits flacons.

L'huile essentielle séparée de l'eau aromatique est séchée par le sulfate de magnésium anhydride puis conservée à 4°C sous l'abri de la lumière jusqu'à son usage.

CHAPITRE II

L'HUILE ESSENTIELLE

D'ARGAN

II.1-Généralité sur *Argania spinosa*

Le nom de l'arganier est associé au village d'Argana dans les collines entre Marrakech et Agadir (Maroc), *spinosa* montre que l'extrémité de certains rameaux se durcit en épines (Otmani, 1995).

Linnée en 1737, dénomme l'arganier dans un premier temps: « *Sideroxylon spinosum* (L.) » de genre *Rhammus* (Sapotacée). Puis Roemer et Schultes ont dénommé l'arganier (*Argania Sideroxylon*), le nom de *sideroxylon* se justifie par le bois de l'arbre qui est extrêmement dur.



Figure 04 : Aspect général de l'arganier (Ziani, 2014)

II .2- Répartition géographique de la plante

L'Arganier *Argania spinosa* (L.) Skeels est une angiosperme sapotacée endémique d'Afrique du Nord. Il se trouve surtout dans le Sud-Ouest Algérien dans la région de Tindoufet dans le sud atlantique Marocain (région d'Agadir) où il couvre environ 800.000 ha.

Au Maroc, la plus grande masse des peuplements à arganier des différentes densités s'étend sur un secteur littoral et para littoral entre l'Oued Tensift au sud de Safi et la plaine du Souss (Kouidri, 2009).

En Algérie, son aire de répartition géographique couvre un territoire relativement important dans le Nord-Ouest de la wilaya de Tindouf. *L'Argania spinosa* est localisée essentiellement sur les lits de certains Oueds, notamment : Oued El-ma, Oued Elghahouane, Oued Bouyadhine, Oued El-khebi, Oued Merkala et Oued Targant. Ainsi, elle est pourvue d'un entrelace épars de ruisseaux, coulant vers les petites dépressions entre les gorges Hamadienne du Drâa et les falaises de K'reb El-hamada, et la dépression du Nord de Tindouf (Lotfi *et al*, 2015).

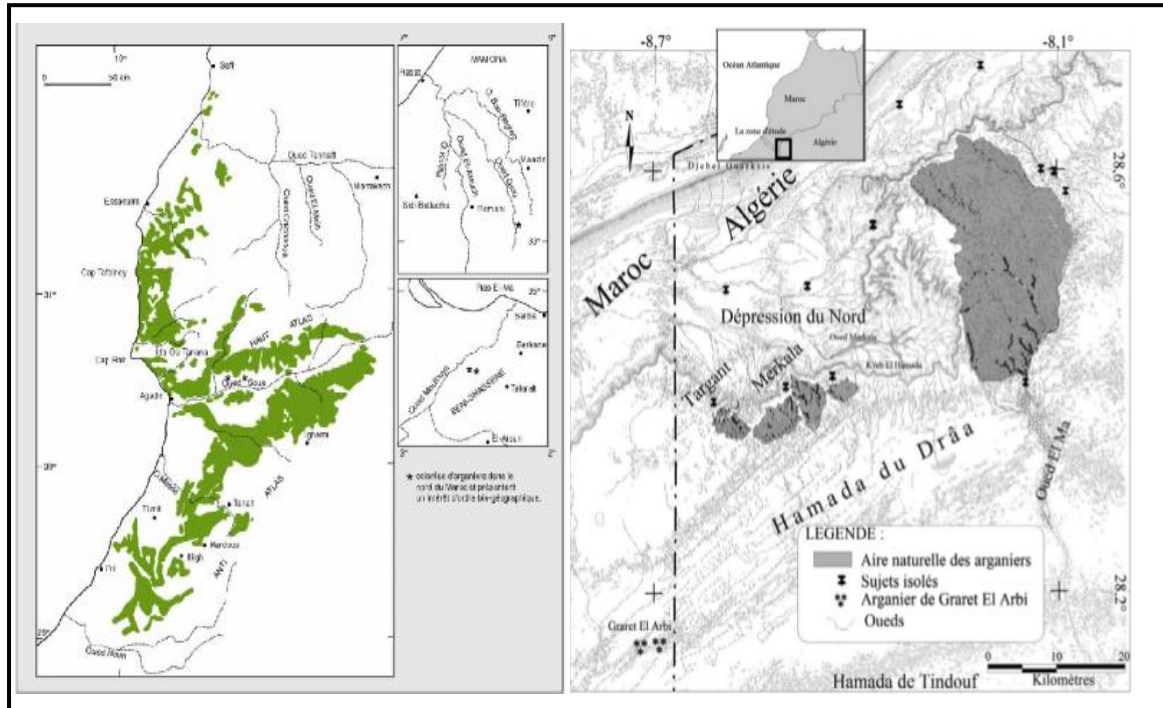


Figure 05 : Distribution d'*Argania spinosa* au Maroc (Amzal, 2010).

Figure 06 : Distribution d'*Argania spinosa* au Tindouf (Kechairi et Abdoun, 2016).

II .3- Systématique

L'arganier en français tire son nom de l'arbre « Argan », l'origine du nom d'arabe Se trouve probablement dans le mot « irgen » qui désigne en berbère « tachelhait », qui est le noyau en bois dur de fruit de l'arbre, d'où les berbères tirent une huile réputée huile« d'argan» (ROUHI, 1991).

L'arganier, *Argania spinosa* (L.) Skeels est synonymes *Argania sideroxylon* Roem. Et Schult. = *Sideroxylon spinosum* L. = *Elaeodendron Argan* Retz. Son vernaculaire est argan (berbère). Sa classification botanique se présente comme suit (Tableau02):

Tableau 02 : Classification botanique de l'arganier (Badreddine, 2016).

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Ebenales
Famille	Sapotacées
Genre	Argania
Espèce	spinosa
Nom vernaculaire	Argan (en Berbère), L'olivier du Maroc, Arbre de fer.

II.4 - Description morphologique

4.1-Le tronc

Le tronc tortueux pouvant atteindre 8 à 10 m de haut, avec une longévité de 300 à 350 ans (Boudy, 1950), possédant l'aspect de l'olivier, ils sont souvent sous formes des brins), ils peuvent être entrelacés et l'écorce des gros troncs prend souvent la forme d'une « peau de serpent ».



Figure 07 : Tronc d'arganier à Touiref Bouàm (Djied, 2011).

4.2- Le port

De cette espèce très polymorphe varie d'un individu à l'autre, il peut être dressé ou même buissonneux. Il s'est allié aux conditions du sol et du climat. Dans les régions où l'humidité est suffisante et le sol fertile, il ya une couronne largement déployée et se dresse à plus de 10m du sol. Dans les zones sèches et désertiques, les branches se replient vers le sol dans on port pleureur. Dans les zones côtière, il est vert, fleurissent et fructifient sous les vents salés.

4.3- Le bois

Le bois est très dur, sans aubier, jaunâtre et lourd, compact et incorruptible ; sa densité varié de 0.9à1. Il fournit un excellent charbon (Nouaim *et al*, 1991).

Le bois de l'arganier est utilisé pour le chauffage et après l'étude de son caractère phytochimique est constaté la présence de nouvelles saponines triterpéniques (Arganine) des hétérosides de l'acide bayogénine (Oulad-Ali et al. 1995 ; El-Fakhar *et al.*, 2007).

4.4-Les rameaux

L'arbre de l'arganeraie est caractérisé par la variabilité morphologique des rameaux qui les peuvent s'exprimer en multiples forme (figure 08).

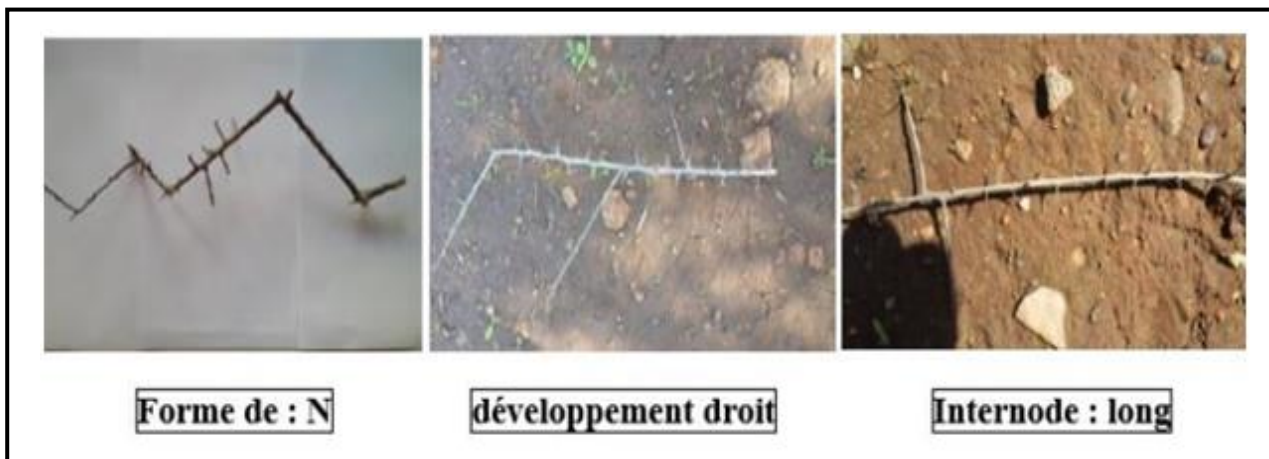


Figure08 : Les différentes formes de développement des branches d'arganier (TWF, 2015).

4.5- Les feuilles

Le feuillage est persistant. Toutefois, en cas de sécheresse sévère et prolongée, l'arbre peut perdre ses feuilles entièrement ou en partie (caractère d'adaptation assez poussé aux mauvaises conditions climatiques ou stationnelles telle que le déficit hydrique du substrat). Souvent réunies en fascicules, entières lancéolées, lancéolées-oblongues ou spatulées, atténuées ou plus ou moins nettement pétiolées, les feuilles sont vert sombre à la face supérieure, plus claires en dessous, glabres, avec une nervure médiane très nette et des nervures latérales très fines et ramifiées (M'hirit *et al.* 1998).



Figure 09 : Feuille de l'arganier (Kechebar, 2016).

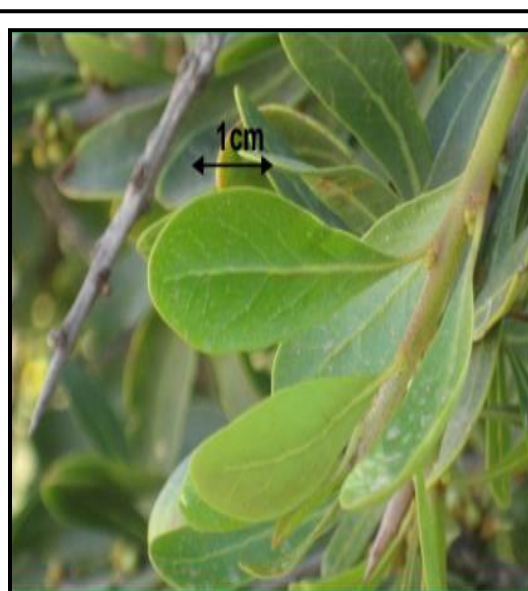


Figure 10 : Feuille de l'arganier à Touiref Bouàam (Djied, 2011).

4.6- Les fleurs

L'arganier est une espèce monoïque, à fleurs hermaphrodites, les inflorescences se présentent en glomérules axillaires, composées chacune de 5 sépales pubescents succédant à 2 bractées. La corolle en cloche est formée de 5 pétales, arrondis, blancs ; les étamines (5) sont à filets courts et portent une grosse anthère mucronée ou obtus. L'ovaire pubescent et supère est surmonté d'un style court et conique, également ou dépassant les étamines (M'hirit, 1987). La floraison de l'arganier a lieu généralement au printemps, voire en automne selon les conditions climatique.



Figure 11 : Fleur de l'arganier (Kechebar ,2016).

4.7-Les fruits

D'après Emberger (1960) ou pulpe et d'un "pseudo endocarpe" ou noyau, où sont incluses les graines généralement soudées. Le noyau central est très dur, comprenant 1 à 3 amandes, Il présente six formes différentes: fusiforme ; ovale apicule, ovale, goutte, arrondie et globuleuse. Sa taille varie de 1 à 5 cm.

Il est formé d'un péricarpe charnu (ou pulpe) qui couvre un noyau très dur (ou noix), représentant environ un quart du poids du fruit frais (Adlouni, 2010).

L'amande qui est au centre du fruit est enveloppé d'une coque extrêmement dure. La graine de l'arganier possède habituellement un à trois embryon, elle est albuminé et gorgé d'huile (Slimani, 1996).



Figure 12 : Fruit de l'arganier (Slimani, 1996).

4.8- les racines

L'arganier possède un système racinaire de types pivotant, qui peut atteindre une Profondeur de 30mètres ce qui permet ainsi la récupération des eaux à partir de couches profondes, et par conséquent une adaptation de l'arganier à un climat semi-aride et aride (Mokhtari, 2002). De plus, cet arbre possède un important réseau de racines superficielles ayant une grandes capacité de renouvellement (Nouaïm *et al.*, 1991).

Par ailleurs, l'arganier porte des endomycorhizes à arbuscules dans ses racines (Chaussod et Nouaïm, 1991). L'étude faite sur plusieurs clones très différents a révélé que cette espèce est très dépendante de la symbiose mycorhizienne (Chaussod et Nouaïm, 1995).

II.5- Intérêts et usage multiple

L'arganier est un arbre typiquement multi-usage, il représente le pivot de systèmes agro forestiers qui ont réussi jusqu'à maintenant à subvenir aux besoins des habitants de ces zones arides et semi-arides fortement marquées par les aléas climatiques (Chaussod *et al.* 2005).

En raison de son caractère écologique et socio-économique qu'il occupe, il a été déclaré comme « espèce protégée » par l'Organisation des Nations Unies de l'Education, de la Science et la Culture (UNESCO) en 2007 (Venegas *et al.* 2011).

5.1 Intérêt écologique

Le rôle de l'arganier est irremplaçable dans l'équilibre écologique. Grâce à son système racinaire puissant, il contribue au maintien du sol et permet de lutter contre l'érosion hydrique et éolienne intense est aggravée par la rareté et l'agressivité des pluies (le cas de l'Oued El Ma) (Benkheira, 2009).

De nombreux organismes vivants (flore, microflore, faune) sont directement liés à sa présence et en cas d'absence plusieurs espèces vont disparaître ce qui mène à une diminution de la biodiversité dans la région ainsi qu'une réduction du patrimoine génétique (Nada, 2003).

5.2 -Intérêt socio-économique

L'arganier joue un rôle socio économique très important. Dans ce cas, l'exemple des arganeraies marocaines est édifiant. Dans ce pays, l'arganeraie s'est toujours prêtée à une exploitation traditionnelle que les populations usagers continuent à pratiquer. Dans certaines zones du royaume, elle constitue l'unique recours pour la survie de ces populations (Charrouf, 1998). Elle permet de stabiliser les populations des campagnes et donc de limiter l'exode rural (Benziane, 1995; Tarfes, 1997). Plusieurs emplois (coopératives féminines) ont été créés dans différentes provinces du royaume afin de valoriser localement les produits de l'arganier. Ces initiatives sont faites dans le cadre d'un «programme d'appui à l'amélioration de la situation de l'emploi de la femme rurale et gestion durable de l'arganeraie» (Ziane, 2006).

De plus, l'arganeraie fournit un couvert herbacé et feuillage qui alimente le cheptel camelin et caprin. D'après (Rahmani, 1989), un hectare d'arganeraie fournit l'équivalent énergétique de 400 Kg d'orge. De même, le tourteau (résidu de l'extraction d'huile à partir d'amandes, riche en glucide et en protéine) peut servir comme aliment concentré pour les bovins soumis à l'engraissement. La pulpe de fruit est utilisée aussi dans l'alimentation des caprins (Charrouf, 1995).

Son bois est fort apprécié comme matériau de charpente et pour la fabrication de toutes sortes d'outils agricoles. Aussi, comme il est dense, et se consume lentement, il est très utilisé par les autochtones en tant que combustible, sous forme de charbon (Ottmani, 1995; Ziane, 2006).

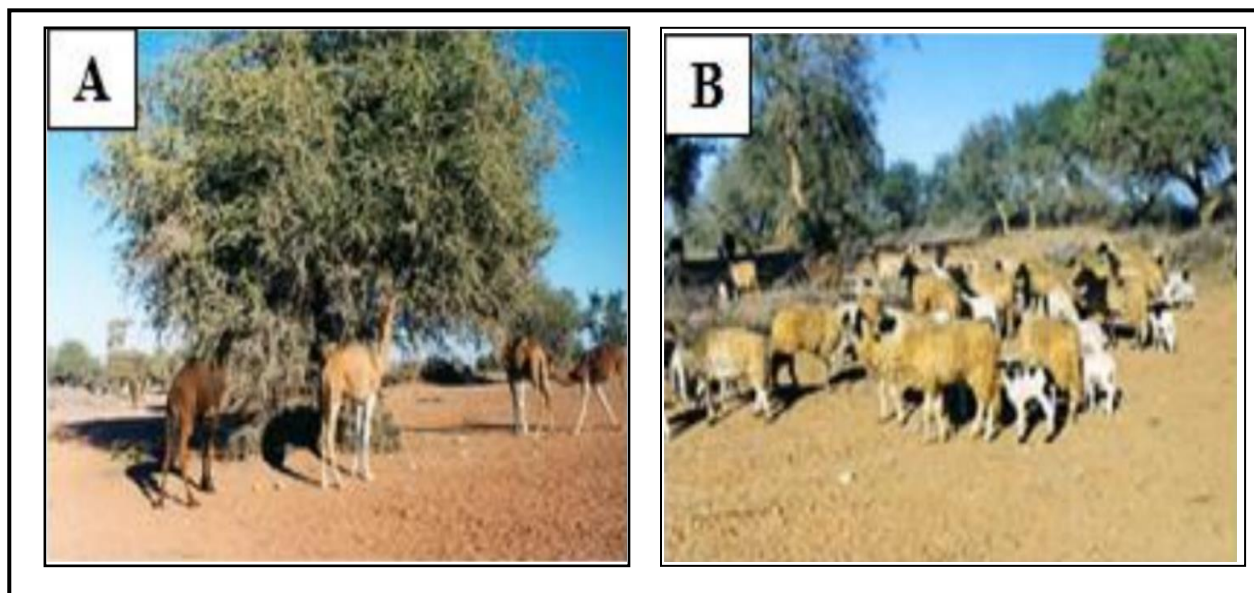


Figure 13 : Arganier et nourriture animale

A : Arganier et chameaux **B :** Arganier et moutons (Badreddine,2016).

5.3 - Intérêt biologique

L'huile d'argan est riche en matières grasses du type oléique-linoléique, elle contient environ 80% d'acides gras insaturés, qui ne présentent aucun problème d'assimilation et de digestion par l'organisme humain. La proportion des acides gras de l'huile d'argan dépasse celle du lait de la femme qui ne titre que 10% d'acide linoléique, ainsi que celle du lait de vache, de la viande, et du poisson. L'acide linoléique, bien représenté (environ 34%), intervient dans la biosynthèse des prostaglandines, hormones régulatrices des échanges membranaires qui jouent un rôle prépondérant dans la perméabilité de l'épiderme (Abdullah and Mouhamed, 2012).

II.6- Procédés d'extraction de l'huile essentielle d'argan

L'huile d'Argan est une huile d'excellente valeur alimentaire. Elle possède des propriétés diététiques très intéressantes, car elle est constituée à 80 % d'acides gras insaturés dont une bonne proportion est celle d'acide linoléique. Actuellement, la production totale de l'huile d'Argan varie de 3000 à 4000 tonnes et représente donc au maximum 1,6 % de la consommation marocaine en huile alimentaire et 9 % de la production nationale. L'amande oléagineuse ne représente que 3 % du poids du fruit frais (Abdullah and Mohammed, 2012).

6.1- Procédé d'extraction artisanal

La préparation traditionnelle de l'huile d'argan nécessitant de longues heures de travail physique pénible est assurée par les femmes de l'arganeraie. Seule la collecte des fruits est une tâche familiale.

Après séchage du fruit, il faut assurer son dépulpage et le concassage des noix. Ceci est réalisé à l'aide de pierres : une plate qui sert de support, et une allongée qui fait office de marteau. La torréfaction des amandons qui n'est effectuée que pour la préparation de l'huile d'argan alimentaire, est l'étape qui lui confère son parfum unique et caractéristique de noisette. Elle est réalisée sur feu doux sur un plan en terre.

Le broyage des amandons torréfiés est ensuite accompli dans un moulin à bras pour aboutir à une pâte lisse et beige à marron clair qui est recueillie dans une bassine en terre. De petites quantités d'eau chaude sont alors ajoutées progressivement à la pâte pendant que les femmes la malaxent longuement à la main. Petit à petit, le mélange durcit et l'huile se sépare progressivement de la pâte. Il faut compter en moyenne entre 30 et 40 kg de fruits secs et 20h de travail intense pour donner un litre d'huile (Harhar 2010).



Figure 14 : 1) Dépulpage du fruit 2) concassage des noix 3) torréfaction traditionnelle des amandes (Badreddine,2016).



Figure 15 : Trituration, malaxage et pressage manuel (Badreddine,2016).

6. 2- Procédé d'extraction par presse mécanique

En 1985, il a été enregistré un brevet sur le premier procédé d'extraction mécanique. Cela a permis d'introduire la production mécanisée de l'huile d'argan dans les coopératives dans le sud-ouest du Maroc, afin de produire de grandes quantités d'huile d'argan de haute qualité. Grâce à cette technologie, 4-6 L d'huile peut être obtenue à partir de 100 kg de fruits secs après 13 h de travail par une seule personne (El Monfalouti *et al.* 2010).

Ce processus a présenté un grand pas en avant dans l'histoire de la production de l'huile d'argan. Il commence par le dépulpage des fruits, l'étape la plus laborieuse qui est réalisée mécaniquement à l'aide d'une « dépulpeuse-gratteuse ». Aucune innovation actuelle n'a été faite sur l'étape de concassage qui reste toujours manuelle. En revanche, l'étape de torréfaction est faite par des torréfacteurs à gaz qui remplacent la torréfaction manuelle, ce qui permet d'obtenir des amandes de couleur homogène. La mouture et le malaxage se font par une presse à froid où la température ne dépasse pas 60°C lors de l'extraction de l'huile, (Charrouf and Guillaume, 2008).

Le pressage mécanique améliore le rendement d'extraction via la récupération de 10 % de l'huile restante dans les tourteaux. L'huile obtenue sera filtrée et mise en bouteille après avoir été décantée pendant 15 jours.

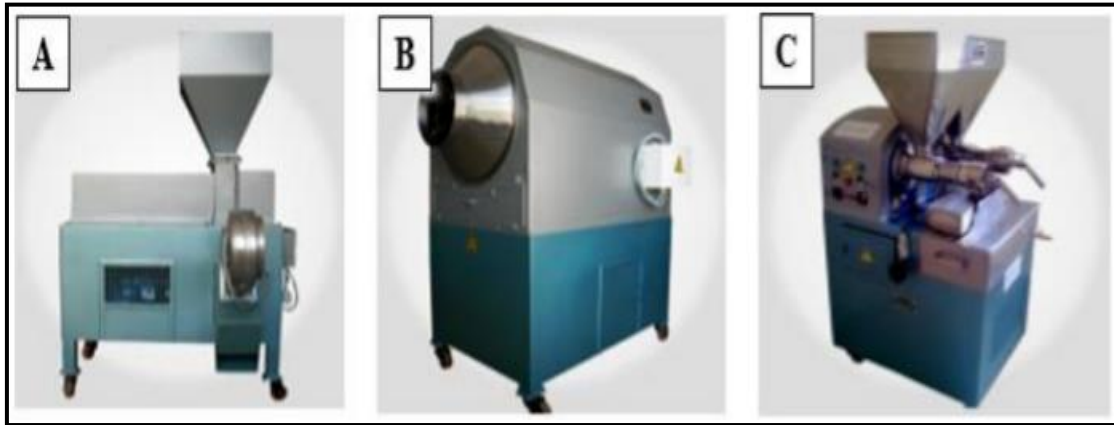


Figure 16 : Machines utilisées pour l'extraction par presse mécanique de l'huile d'argan
A: Dépulpeuse; B: Torrificateur à gaz; C: Presseuse de pâte (Benjelloun,2014).

6.3- Procédé d'extraction par solvant organique

La préparation de l'huile d'argan à usage pharmaceutique ou cosmétique se pratique par extraction à l'aide de solvant organique de type hydrocarbure éventuellement halogène, en présence d'un antioxydant lipophile représentant 0,02-0,1% de poids des amandons. Ces derniers sont soigneusement séparés des débris du péricarpe, puis réduits en poudre dans un broyeur à meules ou à cylindres. Cette poudre est soumise à une extraction avec un solvant apolaire, comme l'hexane par exemple, dans un appareil d'extraction approprié en acier inoxydable. Le solvant est ensuite évaporé (Adlouni, 2010).

L'huile d'argan industrielle est obtenue avec un rendement de 50 à 55 %. Ses qualités organoleptiques ne sont pas appréciées par les consommateurs. La teneur en insaponifiable dans ce type d'huile est trois fois plus faible que celui de l'huile extraite par presse (Monfalouti,2013).



CHAPITRE III

LES CHAMPIGNONS

III .1- Généralité sur les champignons

1.1- Définition

Les champignons sont des organismes eucaryotes ne constituent pas une entité monophylétique mais forment au contraire un groupe très hétérogène dont la caractéristique essentielle commune est la nutrition hétérotrophe par absorption, celle-ci pouvant prendre la forme du saprophytisme, du parasitisme ou de la symbiose (Nasraoui, 2006).

a) Les champignons symbiotiques : Il s'agit des champignons mycorhiziens, qui aboutissent des interactions à bénéfices avec les racines des plantes (Vander *et al.*, 1998).

b) Les champignons phytopathogènes : Ils établissent des interactions antagonistes avec les plantes (Vander, 2003).

c) Les champignons saprophytes (libres) : Ils participent notamment aux processus de décomposition des matières organiques, d'immobilisation des éléments minéraux et établissent des interactions neutres avec la plante (Klein et Paschke, 2004).

1.2- Systèmes de classification et d'identification des champignons

L'identification des très nombreuses espèces fongiques susceptibles de coloniser les végétaux est une étape très importante. En effet, toutes les espèces n'ayant pas les mêmes caractères physiologiques ni les mêmes exigences, l'identification peut donner des indications précieuses sur l'origine d'une contamination et permettre un traitement adapté.

Cette identification a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils d'aide à l'identification (Abdel Massih, 2007).

Toutefois, la complexité du règne fongique fait, qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (Tabuc, 2007).

III.2- Les champignons phytopathogène

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes.

Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des eumycètes ou «champignons vrais»: ascomycètes, basidiomycètes, chytridiomycètes, zygomycètes et deutéromycètes (champignons imparfaits) (Deacon, 2005).

Ils sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (Garrido, 2012).

Plusieurs genres de champignons telluriques sont capables d'infecter les racines de plantes sauvages et cultivées et de causer des dégâts importants. Il s'agit notamment des *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Pythium*, *verticillium*... L'ensemble de ces microorganismes provoquent des maladies sur diverses cultures maraîchères, céréales, plantes, (Agrios, 2005).

2.1- Genre du *Fusarium*

Le genre *Fusarium* appartient au règne des Fungi, au phylum des Ascomycota, à la classe des Pezizomycotina, à l'ordre des Hypocreales et à la famille des Hypocreaceae .

Il s'agit d'un genre à taxonomie très complexe et profondément remodelée par les techniques de biologie moléculaire. Le genre comprend près de 40 espèces souvent largement répandues (Nelson *et al.*, 1983).

Ce genre correspond à des espèces anamorphes (formes asexuées) mais certains complexes d'espèces possèdent des formes téléomorphes (formes sexuées) ; c'est notamment le cas de *Fusarium solani* ou de *Fusarium verticillioides*, ces espèces correspondant aux genres *Nectria* ou *Gibberella* (Thomas, 2017). Néanmoins, certains complexes d'espèces, comme *Fusarium oxysporum* sont connus exclusivement sous formes anamorphes. Deux noms différents peuvent ainsi désigner la même espèce ou le même complexe selon que la classification historique repose sur la forme sexuée ou non.

Les *Fusarium* sont des champignons ubiquitaires. Ils peuvent être retrouvés sous toutes latitudes, aussi bien tempérées que tropicales .Ces champignons ubiquitaires ne sont pas inoffensifs pour les autres organismes vivants, qu'ils s'agissent de végétaux ou d'animaux.

En effet de très nombreuses espèces de *Fusariums* ont phytopathogène et sont ainsi responsables d'importants dommages sur les cultures céréalières humaines aboutissant à la destruction de nombreuses récoltes (Thomas, 2017).

Sur le plan économique le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies (fusarioses) chez de

nombreuses plantes. Il est considéré parmi les champignons telluriques les plus agressifs, causant des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées, (Benhamou *et al.*, 1997).

En outre, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), des légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitier (Tabuc, 2007).

Les principales espèces de *Fusarium*, compte tenu de leur fréquence dans les différents substrats, notamment les céréales, de leur potentiel toxigène et de leur pouvoir pathogène, sont : *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* et *F. verticilloides* (*F. moniliforme*). (Tabuc, 2007). *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* sont les agents pathogènes de la maladie des pourritures racinaires qui se manifeste aussi bien sur blé dur et tendre que sur l'orge. Cette maladie apparaît particulièrement dans les zones semi-arides et durant les années à faible pluviométrie. (Ezzahiri, 2008). Chez le pois ce type de maladie peut aussi être occasionné par *F. oxysporum* *f.sp. solani* (Haglund et Kraft, 2001).

Le flétrissement vasculaire est la maladie qui provoque les plus grandes pertes pour de nombreuses plantes cultivées, telles que les légumes, et des cultures tropicales elle est aussi provoquée par *F. oxysporum* (Agrios, 2005).

2.2-Pouvoir pathogène du genre Fusarium

2.2.1- la phytopatogènes

Le *Fusarium* responsable d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte, chez les légumineuses, est transmis essentiellement par les semences, mais peut aussi provenir du sol où il se conserve sous forme de spores durables. Parasitant les caryopses, le *Fusarium* peut être présent à la surface, soit à l'état de spores libres, soit sous forme de petites colonies mycéliennes. Plus fréquemment, il est interne et se localise dans le péricarpe ou plus profondément dans les téguments séminaux et l'embryon. Présent autour de ce dernier sous forme de mycélium, les caryopses germent et donnent des plantules qui présentent des faciès caractéristiques durant le cycle vital de la plante hôte (Champion, 1997).

Les plantules détruites par le parasite, en pré-émergence comme en post-émergence, constituent une source de contamination par des plantes voisines, c'est le premier foyer infectieux. En effet, le parasite édifié sur la plantule détruit des coussinets sporifères qui sont les spores entraînées par le vent et par la pluie. Ces spores vont infecter les autres plantes ou

contaminer le sol. Au cours des périodes successives de croissance jusqu'à celles de la reproduction de la plante puis la maturité des graines, le *Fusarium*, d'abord localisé au niveau des parties souterraines, se développe et sporule abondamment. Il constitue ainsi un deuxième foyer d'infection qui favorise la dissémination de la maladie aux plantes voisines. La maladie se perpétue ainsi d'une année à une autre, soit par les caryopses infectés qui hébergent le parasite, soit par les spores formées sur la plante parasitée durant tout le cycle végétatif, soit enfin par contamination du sol (Mrabet, 1998; Caron, 2000).

F. oxysporum : est l'une des espèces les plus économiquement importantes compte tenu de ses nombreux hôtes et le niveau de perte qui peut entraîner. Les formes spéciales de *F. oxysporum* sont des agents pathogènes vasculaires provoquant souvent le flétrissement vasculaire, la fonte de semis et les pourritures racinaires (Nelson *et al.* 1981).

Les isolats de *F. oxysporum* sont difficiles à distinguer de ceux de *F. solani* et *F. uhglutinans*. Le *F. solani* forme des microconidies en fausses têtes sur des monophialides très longues formées sur les hyphes et le *F. subglutinans* se distingue de *F. oxysporum* par la formation de microconidies sur des polyphialides (Summerell et Rurgess, 1992). *F. oxysporum* est un agent du sol où il croît sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydospores.

Les chlamydospores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (Beckman et Roberts, 1995; Agrios, 2005).

F. solani : est enregistré comme un agent pathogène sur une gamme vaste et diversifiée de plantes-hôtes. *F. solani* est cependant, bien documenté comme un agent pathogène pour plusieurs cultures où il est associé à des pourritures racinaires, des fontes des semis et des problèmes de dépérissement des arbres. La germination des spores de *F. solani* est stimulée par des aldéhydes, l'heptanal, octanal, nonanal, décanal et undécanal (Harman *et al.* 1980) et flavanoids (Bagga et Straney, 2000).

Les Macroconidies peut exiger l'éthanol à germer dans certaines conditions (Phillips *et al.* 1989) et peut être inhibée par l'ammoniaque et le pH (Loffler et Schippers, 1984).

Les mécanismes de pathogénicité de *F. solani* ont été largement liés par l'enzyme de cutinase, les modes de fixation et la pénétration de spores de *F. solani* (Epstein *et al.* 1994).

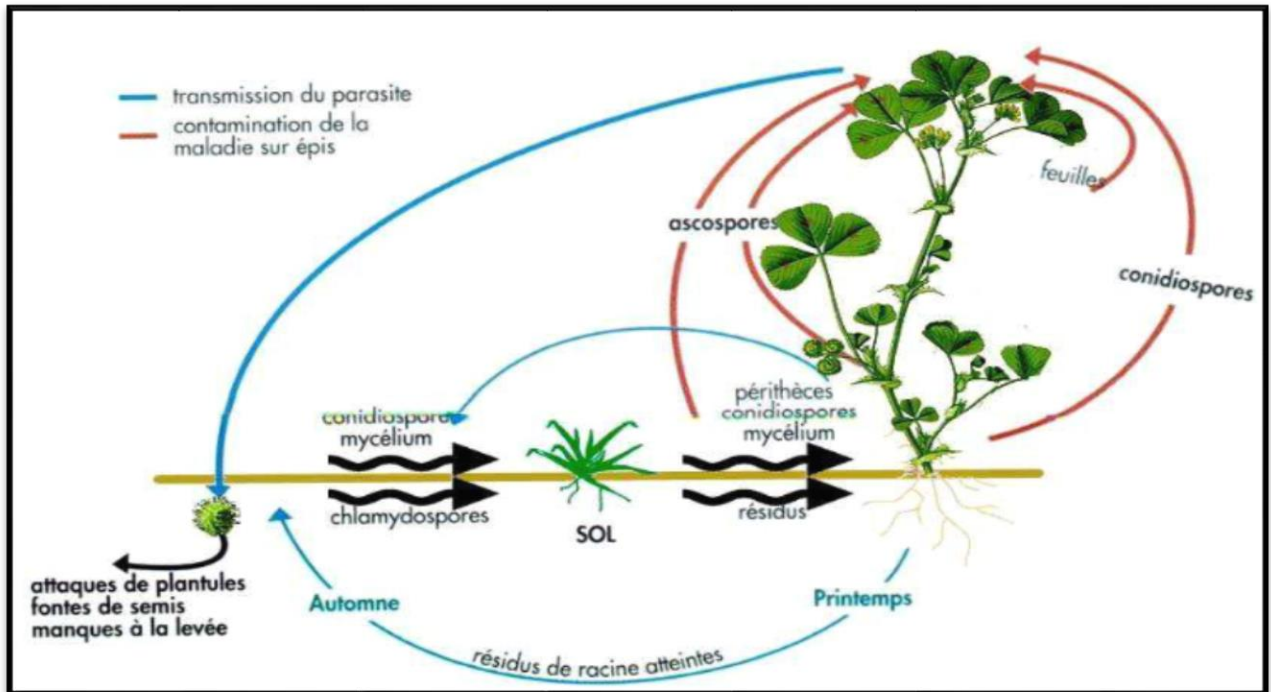


Figure17 : Cycle de *Fusarium* spp. : Illustration des différents modes d'action (Caron, 2000).

2.2.2-Pouvoir pathogène chez l'homme

Les espèces du genre *Fusarium* sont connues pour être des pathogènes de l'homme, ainsi que d'animaux principalement domestiques ou d'élevage. *F. oxysporum* et *F. solani* sont les deux espèces majoritairement impliquées dans les pathologies humaines et animales, bien que beaucoup d'autres espèces soient également isolées.

Une mycose est une infection rare chez le sujet sain. Elle dépend généralement de la pathologie sous-jacente, du niveau d'immunosuppression et des traitements associés (Ripert, 2013). Les *Fusarium* sont considérés comme des agents fongiques opportunistes émergents chez les patients immunodéprimés. Ils sont responsables de la fusariose, une maladie mortelle, dont le taux de mortalité peut atteindre près de 70% (Leslie and Summerell, 2006).

Les effets chez l'homme sont divers. Bien que rares, les infections à *Fusarium* retrouvées chez les immunocompétents sont principalement des pathologies superficielles comme des kératites, notamment chez les porteurs de lentilles de contact, des onyxis des mains ou des pieds avec ou sans périonyxis, ou, plus rarement, des mycétomes.

Les patients immunodéprimés sont touchés par des infections invasives et disséminées à *Fusarium*. Des endocardites, des péritonites, des arthrites et des abcès cérébraux peuvent aussi

être diagnostiquées. Les *Fusarium* sont également des colonisateurs des brûlures étendues, surtout si les brûlures touchent plus de 50% de la surface corporelle. Lors d'une revue de la littérature, il a été estimé que le taux d'incidence d'une fusariose disséminée était de 6 cas pour 1000 greffes de cellules souches hématopoïétiques. Chez les patients cancéreux, les infections à *Fusarium spp* sont retrouvées en 2ème position après *Trichosporon* comme pathogènes fongiques inhabituels (Brown and Proctor, 2013; Bullock and Khamis, 2010; Gangneux and Drogoul, 2008; Ripert, 2013).

Concernant le traitement en cas d'infection, il faut savoir que les *Fusarium* présentent une mauvaise sensibilité aux antifongiques. Lors d'une kératite à *Fusarium*, un collyre à l'amphotéricine B ou à la natamycine, de la classe des polyènes, sont les traitements de choix. Dans le cas d'une infection systémique, il est préconisé de favoriser le voriconazole, antifongique triazolé à large spectre, ou l'amphotéricine B, macrolide polyène. Les *Fusarium* sont peu sensibles aux antifongiques de la classe des échinocandines (Ripert, 2013).

2.3 – *Fusarium solani*

2.3.1-Historique

Historiquement, l'appartenance au genre *Fusarium* et l'identification d'espèces était établie sur des similitudes morphologiques et physiologiques. Cependant ce mode de répartition des espèces est artificiel et manque de robustesse pour en déduire des fonctions biologiques, telles que la synthèse de mycotoxines spécifiques.

Le nom *Fusarium solani* est très utilisé mais il faut maintenant considérer qu'il s'agit d'un complexe appelé FSSC. Depuis deux décennies, l'analyse multilocus de polymorphismes nucléotidiques de *Fusarium solani* et de son téléomorphe *Nectria haematococca* a montré que ces deux formes constituent un groupe de plus de 50 espèces distinctes tout en étant reliées génétiquement (Zhang *et al.* 2006).

2.3.2 –Taxinomie

L'espèce *Fusarium solani* (nommée en 1881), qui est l'anamorphe de *Nectria haematococca* (Hoog *et al.* 2011).

La classification taxinomique complète, actuelle et corrigée de cette espèce (ou complexe d'espèces) est la suivante :

Tableau 03 : Classification taxinomique de *Fusarium solani* (Debourgogne, 2013).

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Sous classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	Fusarium
Espèce	<i>Fusarium solani</i>

2.3.3-Répartition

Le complexe d'espèces *Fusarium solani* est présent dans des environnements extrêmes, comme à l'intérieur du réacteur nucléaire endommagé de Tchernobyl, hautement radio-actif, ou dans des milieux en anaérobiose ou présentant une toxicité pour la plupart des autres Champignons (Coleman *et al.* 2009).

2.3.4 –Aspects morphologiques

2.3.4.1- Macroscopique

Dans le cas du complexe d'espèces *Fusarium solani*, la culture sur Oatmeal agar pousse rapidement et présente un mycélium aérien de couleur blanche à crème et habituellement une teinte verte à brune lors de la présence de sporodochia (Figure 18). Le revers de la culture ne présente pas de couleur, mais une pigmentation de couleur « lie de vin » existe pour certaines souches.

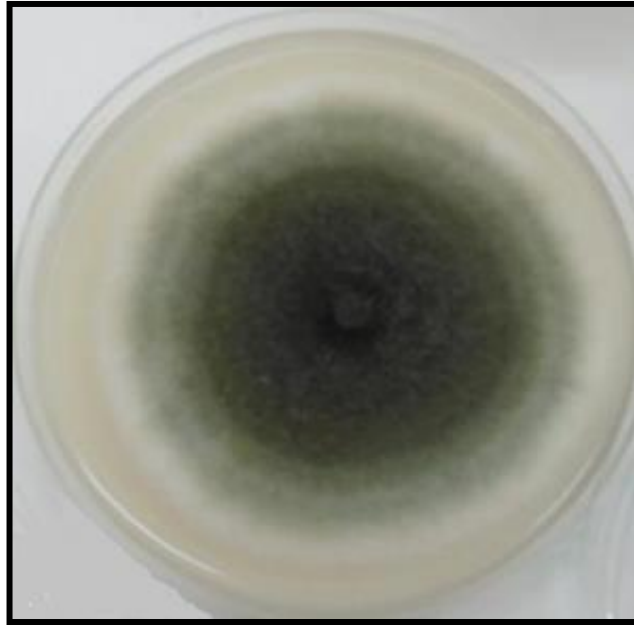


Figure18 : Aspect macroscopique de *Fusarium solani*

(Thomas, 2017)

2.3.4.2 -Microscopique

D'un point de vue microscopique (figure19) le complexe d'espèces *Fusarium solani* présente des conidiophores émergents perpendiculairement des filaments aériens, de type monophialides avec une collerette distincte (figure20). Les macroconidies sont produites sur des conidiophores courts et branchés et sont généralement peu incurvées, avec une base apicale courte et émoussée et sans cellule basale distinguable (figure21).

La plupart d'entre elles présentent 3 septa, ou occasionnellement 5, et mesurent 28 - 42 x 4 - 6 μm . Les microconidies, habituellement abondantes, sont produites sur des conidiophores allongés et verticillés et mesurent 8 - 16 x 2,0 - 4,5 μm (figure22). Les chlamydospores sont fréquentes, uniques ou en paires, terminales ou intercalaires, lisses ou rugueuses et mesurent de 6 à 10 μm de diamètre (figure23). (Hoog *et al*, 2011).

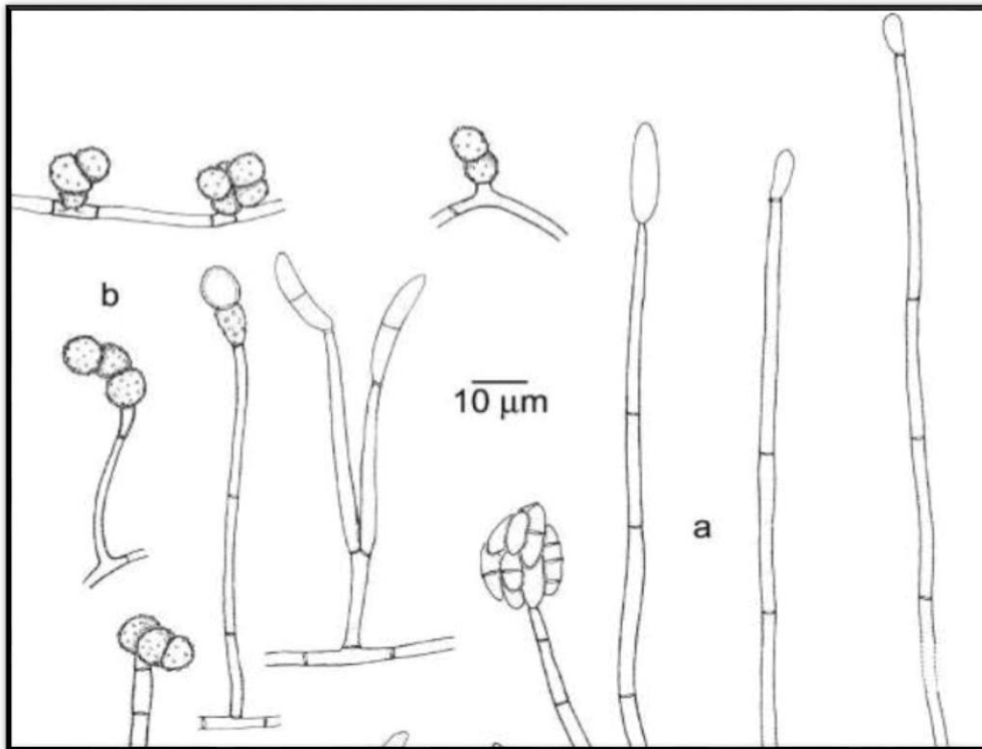


Figure 19 : Caractères morphologiques de *Fusarium solani*:

A:conidiophores avec monophialides ; **B** : chlamydospores (Debourgogne, 2013)

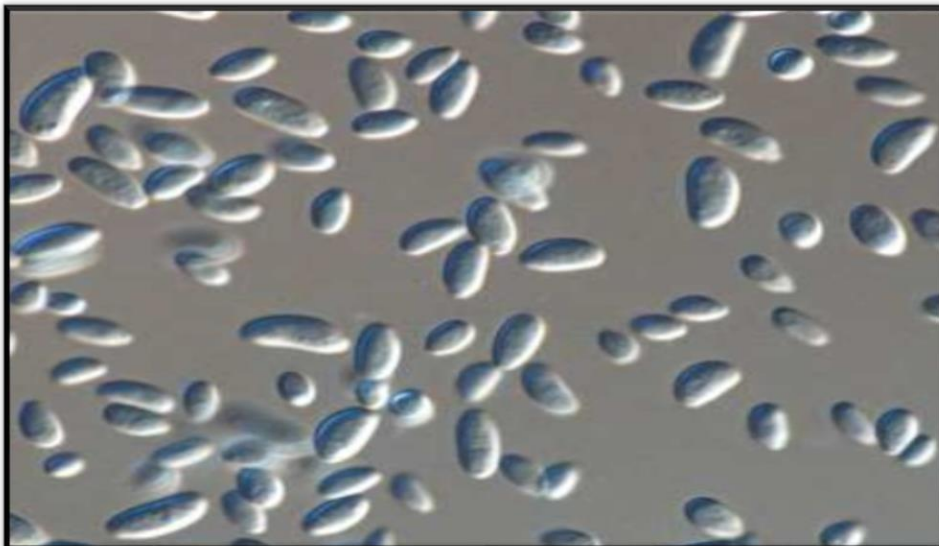


Figure 20 : Monophialides (Thomas, 2017).

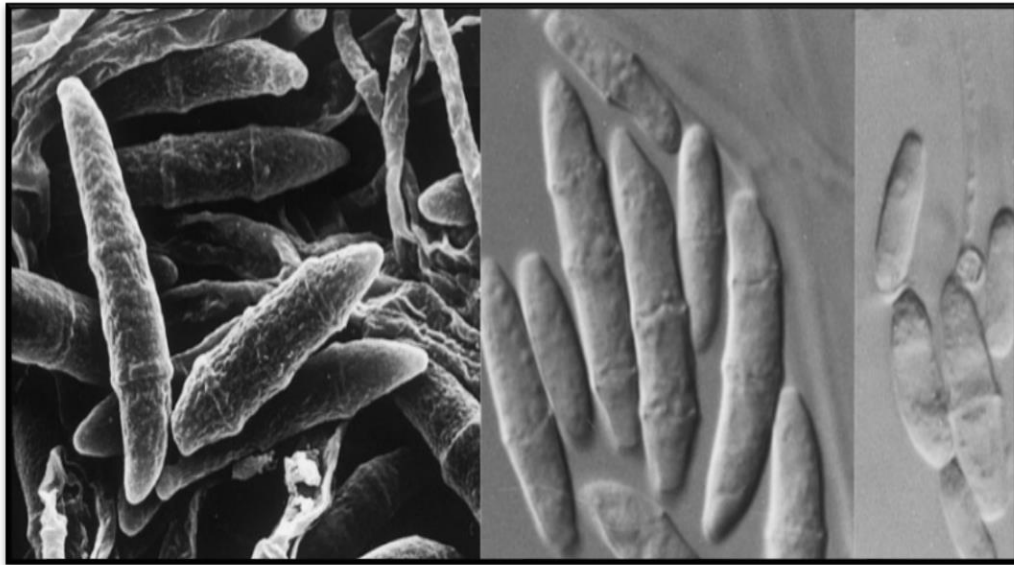


Figure21: Macroconidies (Thomas, 2017).

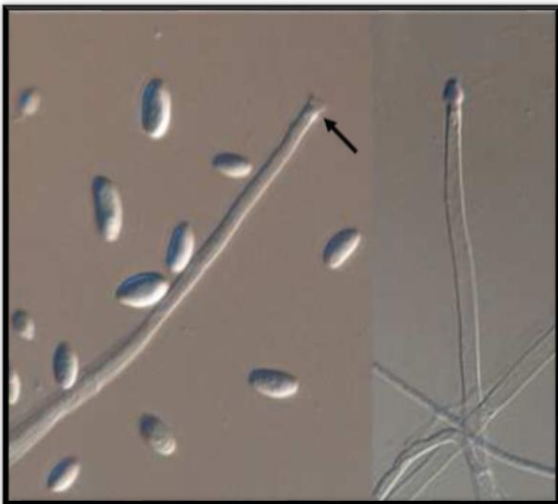


Figure22:Microconidies
(Debourgogne, 2013).



Figure23:Chlamydospores
(Debourgogne, 2013).

2.4-*Fusarium oxysporum*

2.4.1- Généralité

En 1809, le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par Link (Jeunot, 2005). Ce dernier se compose de plusieurs espèces phytopathogènes responsables de maladies appelées « fusariose » sur un grand nombre de plantes. L'origine du nom *Fusarium* provient du latin *Fusus*, car ses spores sont en formes de fuseau (Jeunot, 2005). Le genre *Fusarium* est caractérisé par de nombreuses espèces très variables au niveau morphologique. Chacune d'elle étant représentée dans la nature par une majorité de souches saprophytes ou parasites de faiblesse au sein desquelles peuvent se différencier des formes plus ou moins spécialisées douées d'une véritable pathogénicité (Feron, 1970). Parmi le genre *Fusarium*, *Fusarium oxysporum* est certainement l'espèce de champignon tellurique la plus répandue dans la nature et dans tous les types de sols (Champion, 1997, Fravel *et al.*, 2002). Cette espèce serait plus virulente lors de la rencontre avec le champignon *Rhizoctonia solani* qui est présent aussi dans le sol (Brigitte, 2019).

Différentes souches de ce pathogène existent, celles qui envahissent le système vasculaire par les racines profondes induisant une maladie de type systémique et celles qui peuvent pénétrer les racines sans envahir les vaisseaux et causer la maladie (Fravel *et al.*, 2002).

En outre, il possède de nombreuses formes spécialisées ce qui lui permet de s'attaquer à une multitude de cultures, telles que les légumineuses (*F. oxysporum f. sp. pisi* sur pois) (Champion, 1997), les plantes maraîchères (*F. oxysporum f. sp. lycopersici*) (Messiaen *et al.*, 1991), le melon (*F. oxysporum f. sp. melonis*) (Oumouloud *et al.*, 2001), les plantes ornementales (*F. oxysporum f. sp. dianthi* sur œillets) (Ardila *et al.*, 2014) et tropicales (*F. oxysporum f. sp. cubenses* sur bananiers) (Nel *et al.*, 2006).

D'après tous ces auteurs, l'impact économique est très important. En effet, sur œillets, la présence de *F. oxysporum f. sp. dianthi* a entraîné des pertes économiques et une diminution significative de la production (Ardila *et al.* 2014).

2.4.2-La taxonomie

Les *Fusarium* (Link, 1809) sont des champignons imparfaits « Fungiim perfecti » ou Deutéromycètes ou encore Adélomycètes. L'espèce *Fusarium oxysporum* existe sous de nombreuses formes spéciales (*f.s.*). Selon Bouth (1971), cette espèce posséderait 77 formes parasites attaquant aussi bien des plantes annuelles (cotonnier, lin, tomate, pois, melon), que des plantes pérennes comme le bananier, le palmier à huile et le palmier dattier.

Tableau 04 : Classification taxinomique de *Fusarium oxysporum*. (Hoog *et al.*,1995 ; Henni,1988).

Règne	Fungi
Phylum	Ascomycota
Sous phylum	Pezizomycotina
Classe	Sordariomycota
Sous-classe	Hypocreomycetida
Ordre	Hypocréales
Famille	Nectriaceae
Genre et espèce	<i>Fusarium oxysporum</i>

2.4.3-La morphologie

Dans un milieu de culture solide, comme le milieu PDA, les différentes formes spéciales de *F.oxysporum* peuvent varier d'apparence. Généralement, au début de la croissance, le mycélium aérien est blanc et peut ensuite changer vers une grande variété de couleurs (du violet jusqu'au pourpre foncé) selon la souche de *F. oxysporum* (ou forme spéciale) (Smith *et al.*, 1965).



Figure 24 : Organisation morphologique externe de *F.o.albedinis* sur milieu PDA (Ait Kettout, 2011).

Selon Rahmania (2000) *Fusarium oxysporum* produit trois types de spores asexuées: microconidies, macroconidies et chlamydo-spores.

a- Les microconidies

Hyalines, de formes et de dimensions variables, de 3 à 15 μm de long et de 3 à 5 μm de diamètre. Ces structures généralement unicellulaires, sont sphériques au début de leur formation et deviennent peu à peu allongées, elliptiques, droites ou légèrement courbées. Ces conidies se forment à l'extrémité des microphialides.

b- Les macroconidies

Les macroconidies sont peu nombreuses, leur base est pédiforme et leur extrémité est pointue et courte, elles sont en général tétracellulaires. Elles mesurent 20 à 35 μm de long et entre 3 et 5 μm de diamètre et elles prennent naissance à partir de macrophialides.

c- Les chlamydospores

Se forment, soit à partir d'articles mycéliens, soit à partir d'une cellule de macroconidies. Elles sont caractérisées par une paroi très épaisse et accumulent d'importantes réserves de nature lipidique, ces structures sont toujours arrondies, ayant de 6 à 20 μm de diamètre. Ce sont des spores de résistance produites en grande quantité dans les cultures âgées ou en réponse à des conditions défavorables (température élevée, manque d'oxygène, milieu pauvre en substances nutritives) (Rahmania, 2000).

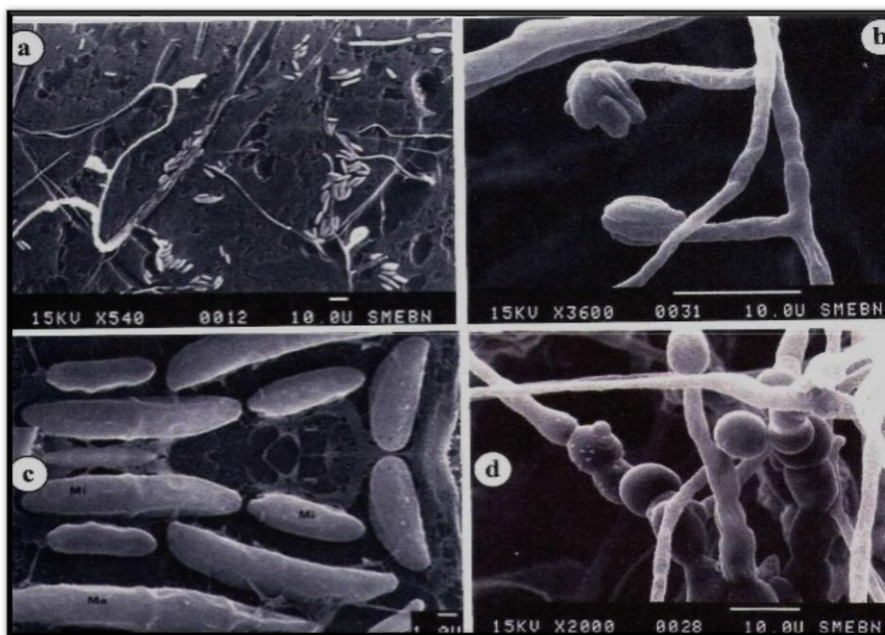


Figure 25: Organes de reproduction asexuée de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* au MEB (Rahmania, 2000).

2.4.4-Le cycle de vie

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques. Les isolements effectués indiquent qu'un gramme de sol renferme près de 100.000 propagules (Smith, 1965) et les *F.oxysporum* représentent 40-70% de la population fusarienne totale.

Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance (chlamydo-spores) en état de dormance (Booth, 1971). En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydo-spores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines. Après pénétration dans la cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisent ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent à l'intérieur des cellules puis colonisent le cortex, arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante. A la surface des feuilles, se forment des organes fructifères appelés sporodochies qui produisent des macroconidies qui vont à leur tour contaminer d'autres plantes lorsqu'elles sont transportées par le vent, par l'eau ou bien par l'intermédiaire des insectes (El Mahdjoub , 1972).

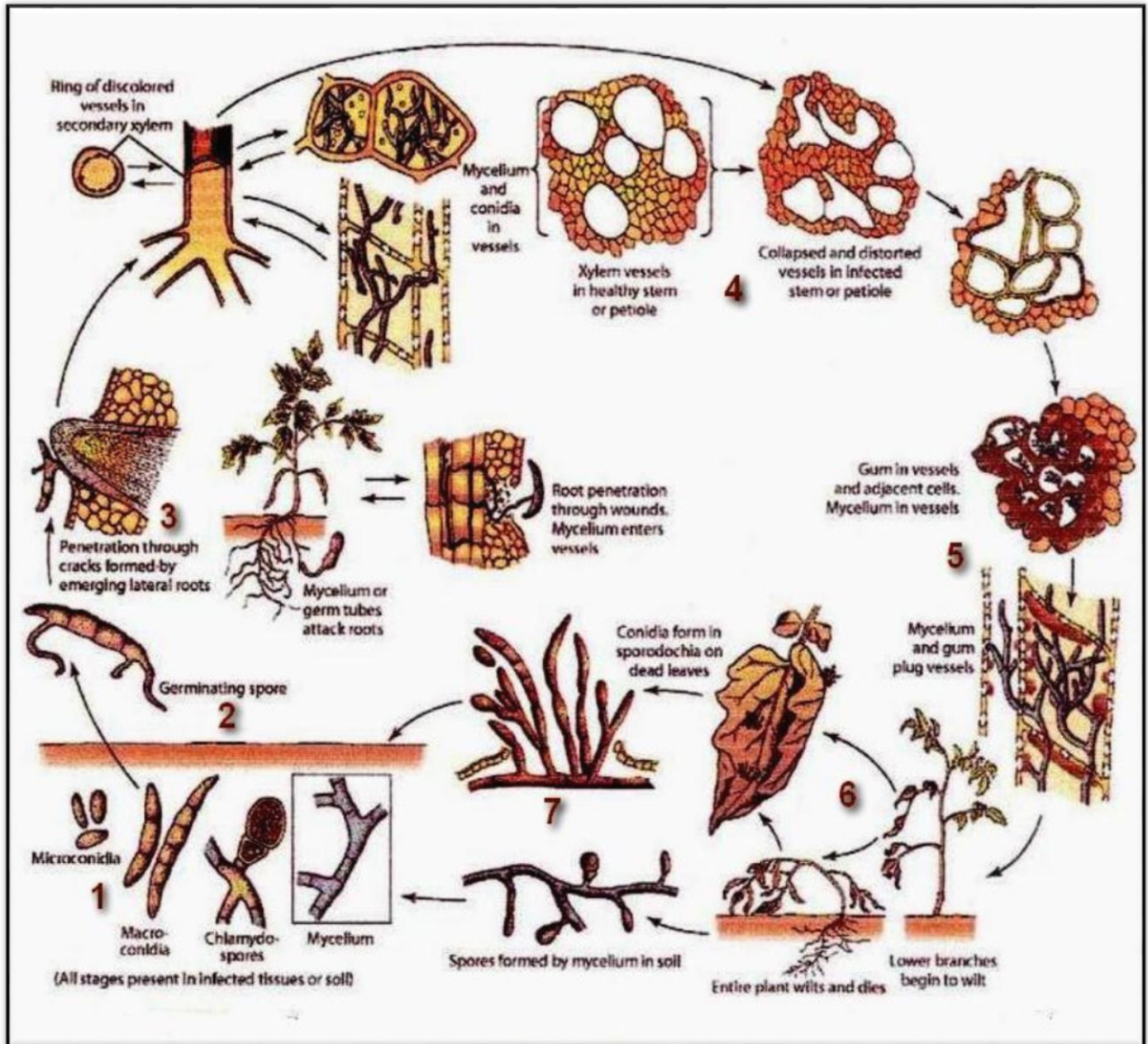


Figure 26: Cycle de vie du *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (Agris, 2005).

- 1-** Conidies, chlamydo-spores ou mycélium vivant dans le sol.
- 2-** Germination des spores.
- 3-** Pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines.
- 4-** Invasion des vaisseaux par les conidies et/ou mycélium.
- 5-** Production de gomme à l'intérieur des vaisseaux.
- 6-** Flétrissement et mort de la plante.
- 7-** Sporodochies ou mycélium produisant des conidies.



CHAPITRE IV

***EVALUATION DE L'ACTIVITE
ANTIFONGIQUES DES HE***

IV.1- Matériel végétal

Les bulbes d'*Allium sativum* à l'état frais et les grains de l'*Argania spinosa* sont récoltées et identifiées par basée sur les déterminations d'auteurs référenciés et des expériences précédentes répertoriés.

Les organe des plantes sont nettoyés, séchées à l'ombre et à température ambiante. Ensuite le matériel végétal est coupé en petits morceaux avec un couteau universel puis stockée à l'abri de la lumière dans un endroit sec et aéré jusqu'à son utilisation pour extraire leurs huiles essentielles.

IV.2-Extraction et conservation des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction.

L'extraction de l'huile essentielle de l'ail effectuée par la méthode de l'hydrodistillation à l'aide d'un appareillage de type Clevenger et pour l'huile essentielle d'argan récupéré par solvant organique. L'huile ainsi obtenue est récupérée et conservée dans des flacons opaques bien scellés à basse température (4-5 C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition (El Kalamouni, 2010).

IV.3- Détermination de rendement de l'HE

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent (AFNOR, 2000). Après récupération des huiles essentielles, le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante (Selvakumar *et al.*, 2012).

$$\text{RHE}\% = \frac{Mh}{Mv} \times 100$$

RHE : Rendement en Huile Essentielle en %.

Mh : Masse d'huiles essentielles récupérées en gramme (g).

Mv : Masse du matériel végétal en gramme (g).

IV.4- Préparation de l'inoculum fongique

4.1- Isolement et purification des souches fongiques

4.1.1- Isolement

L'isolement de l'agent phytopathogène « *Fusarium spp.* » a été réalisé à partir de plusieurs aliments infectés (tomate, fraise, pois, les grains de maïs, les grains de blé, les gains des haricots). L'isolement est effectué par la désinfection superficielle des petits fragments de chaque organe endommagé à l'aide d'un pince et ce trempage dans de l'éthanol absolu pendant cinq minutes. Les organes sont ensuite rincés abondamment avec de l'eau distillée stérile, afin d'éliminer les contaminants de l'air (Benhamou *et al.*, 1997). Après séchage, les fragments sont mis aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles contenant le milieu PDA (Potato Dextrose Agar), et incubées à 28 °C pendant six jours jusqu'à ce que la sporulation soit complète.

La croissance bactérienne a été inhibée par l'addition de Streptomycine aux milieux de culture à une concentration de 5 mg/l (Botton *et al.*, 1999).

4.1.2- Purification et conservation des isolats fongiques

Les colonies fongiques obtenues ont subi une purification, en réalisant des repiquages successifs jusqu'à l'obtention de souches pures. Par ailleurs, la méthode de conservation des souches utilisée, consiste à repiquer les souches en boîtes de pétri contenant de la milieu PDA, les cultures sont maintenues pendant 7 jours à 28°C, puis stockées à 4°C (Botton *et al.*, 1990).

4.2- Identification des isolats fongiques

L'identification des moisissures isolées à l'état pure est réalisée par examen de la culture sur milieux solides en boîte de Pétri. L'examen est effectué à l'œil nu, à la loupe et au microscope optique.

- **Etude des caractères macroscopique**

L'examen est effectué à l'œil nu, Les caractères culturaux sont remarqués de préférence sur un milieu PDA car les milieux trop riches en sucre et en peptone entraînent des phénomènes de pléomorphisme, les colonies peuvent perdre leur aspect caractéristique et ne pas sporuler (Guiraud, 1998).

Les caractères culturels ainsi remarqués sont : Vitesse de croissance, Couleur des colonies et variation des couleurs en fonction du temps, Structure du thalle, Couleur de l'envers des colonies, Couleur et changement de couleur du milieu, Présence de gouttes de transpiration sur le mycélium aérien (exsudat), Odeurs.

- **Etude des caractères microscopique**

L'examen microscopique s'effectue sur des préparations à l'état frais et après une coloration au bleu de méthylène dans quelque cas et sans coloration dans la majorité des cas à différents grossissements (x10, x40) et (x100) pour l'étude des spores et permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature de la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores (Gams *et al.*, 1998).

4.3- Préparation de la suspension sporale

Une suspension de spores de chaque moisissure est préparée, Après raclage à l'aide d'une pipete pasteur, la suspension de spores de la moisissure en question est récupérée dans un tube à essai contenant une solution de l'eau physiologique stérile à 0.9% de NaCl, et à laquelle on rajoute quelques gouttes de Tween20 pour disperser les spores et on procède au comptage à l'aide d'une cellule de Malassez. Le comptage permet d'avoir le même nombre de spores sur l'ensemble des boites de Pétri, ainsi la suspension est agitée à l'aide d'un vortex pour l'homogénéisation la densité cellulaire de chaque suspension a été ajustée par dilution dans l'eau physiologique stérile et en comparaison avec la solution à 0,5 McFarland à raison de sont normalisées de longueur d'onde correspondante (10^6 spores/ml) respectivement.

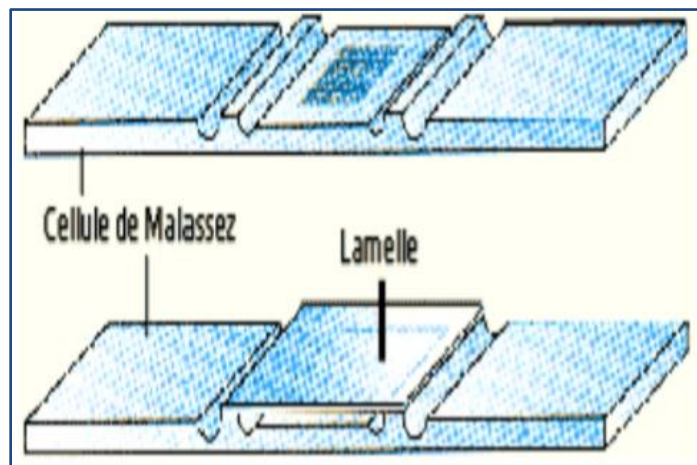


Figure 27 : Cellule de Malassez.

4.4- Préparation de concentration des huiles essentielles

La gamme de concentration des extraits végétaux a été préparé dans tubes à essai par la méthode de dilution de deux en deux (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32,), à partir d'une solution mère (Yakhlef, 2010). On prépare 4 tubes en verre stériles (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) ; le premier contient 500µl de chaque huile essentielle et 500 µl de diluant (DMSO). On deuxième tube (1/4) 500 µl du premier tube (1/2) et 500 µl DMSO, agité bien. On répète le procédé jusqu'on terminé (Negaz, 2018).

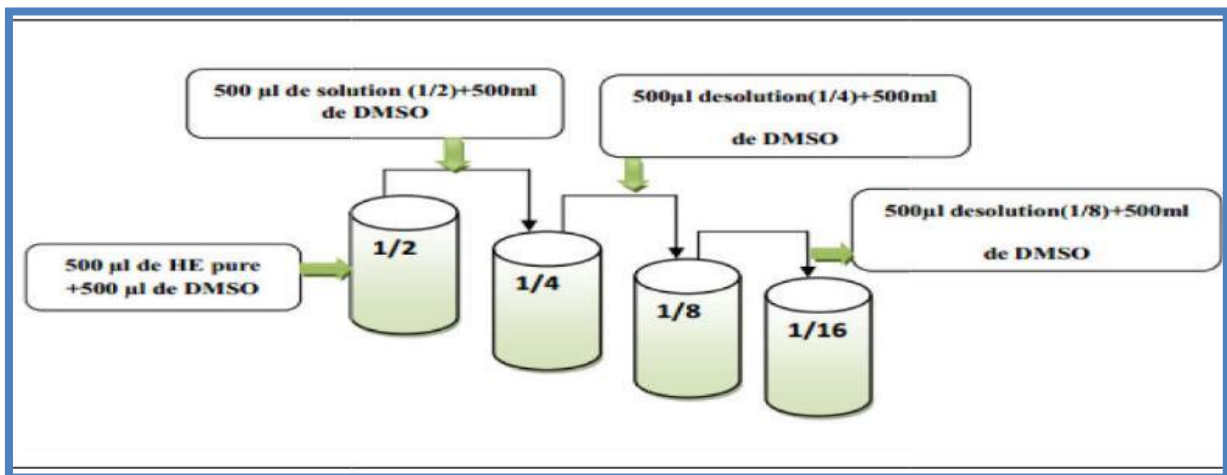


Figure 28 : Préparation des dilutions des huiles essentielles (Negaz,2018)..

IV.5- Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique

5.1- Confrontation directe (Technique de l'Aromatogramme)

Une étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle est réalisée par la méthode de diffusion en gélose par l'utilisation des disques de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre (Whatman N°1) (Hayes et Markovic, 2002). Les suspensions de spores fongiques sont normalisées à 10^6 spores/ml respectivement et étalés à la surface du milieu gélosé PDA à l'aide d'un râteau.

Les disques sont imprégnés de 10 µL de la solution d'huile essentielle brute ou huile essentielle diluée (1/2, 1/4 à 1/16 v/v) dans 10 % de Diméthyle Sulfoxide (DMSO) et déposés à l'aide d'un emporte-pièce stérile au centre des boitesensemencée par la gélose PDA.

DMSO 10 % est utilisée comme contrôle négatif, le 5 Fluorocytosine (5CF 10 µg) est utilisé comme témoin positif pour les champignons respectivement.

Les boîtes sont fermées avec du parafilm et ensuite déposées dans un réfrigérateur à 4°C pendant 12 heures pour assurer une bonne diffusion de l'huile dans la gélose. Le diamètre d'inhibition est mesuré après 7 jours à 28 °C pour l'incubation des champignons. Les essais sont réalisés en trois répétitions (Bouزيد, 2018).

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en millimètre à l'aide d'une règle de pied à coulisse en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque (Labiod, 2016).

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la croissance mycélienne des souches testées est calculé par la formule suivante (Haddouchi, Lazouni *et al.* 2009):

$$PI (\%) = \frac{(Dt - Dc)}{Dt} \times 100$$

PI : Inhibition de la croissance fongique en pourcentage.

Dt : Diamètre de la croissance mycélienne dans un milieu sans huile essentielle (témoin).

Dc : Diamètre de la croissance mycélienne en présence d'huile essentielle.

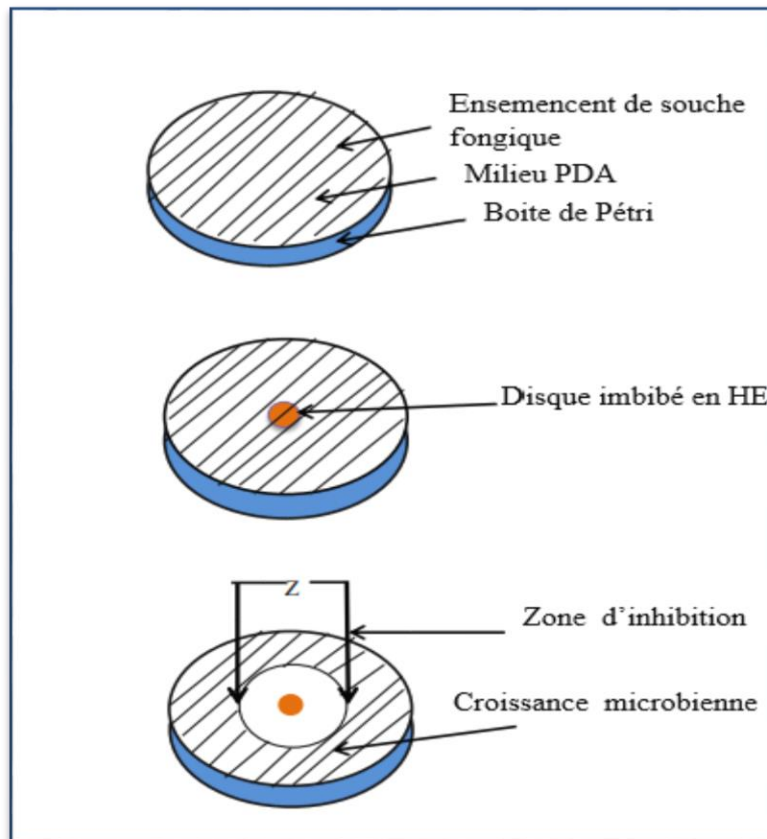


Figure 29 : Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de pétri

(Bacar, 2014).

5.2- Confrontation indirecte (Technique de microatmosphère)

Le protocole des microatmosphères est techniquement proche de celui des aromagrammes la différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Cette méthode en boîte de Pétri constitue une première approche pour l'étude de l'activité antimicrobienne des vapeurs de produits volatils (Billerbeck, 2007).

Selon Bousbia (2004), cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné d'HE au centre du couvercle d'une boîte de Pétri (Figure 30), sans que l'HE entre en contact avec la gélose ensemencée par les micro-organismes. La boîte est hermétiquement fermée.

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées. La lecture du test port donc sur la croissance ou non de l'inoculum se traduisant par un halot qui sera mesuré par un pied à coulisse.

La méthode de microatmosphère ne quantifie pas l'activité antimicrobienne réelle des HE elle montre seulement la sensibilité du microorganisme présent aux constituants volatils à la température d'incubation (Bousbia, 2004).

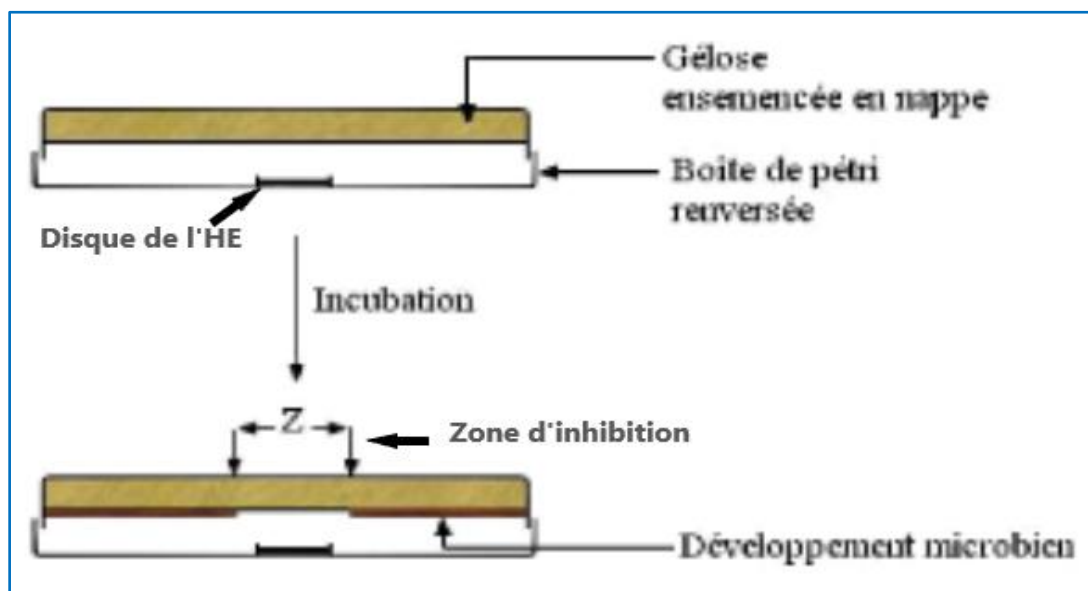


Figure 30 : Illustration de la méthode de microatmosphère (Bousbia, 2004).

5.3- Méthode de diffusion en gélose par puits

Principe

Le principe de cette technique est semblable à la méthode de disque, mais ce dernier est remplacé par un puits creusé stérilement sur la géloseensemencée. L'incubation des boîtes de Pétri à la température optimale de croissance du micro-organisme permet le développement des colonies. La formation d'un halo clair autour du puits indique l'absence de la croissance microbienne dont le diamètre dépend de la sensibilité à l'HE (Mnayer, 2014). Le développement des cultures est en fonction de la concentration en HE maintenue (Kermiche et Chougui., 2014).

Mode opératoire

La technique consiste à réaliser des puits à l'aide des embouts en verre stériles. Ensuite, dans chaque puits 100 μ L de chaque huile essentielle (HE) sont introduit à l'aide d'une micropipette. La zone où les champignons n'ont pas pu se développer a été mesurée.

L'ensemencement de 1ml de suspension sporale a été effectué par écouvillonnage à la surface de gélose PDA qui coulé en chaque boîte. Dix boîtes ont été réalisées, chaque boîte contient quatre puits remplis avec 100 μ L de chaque HE de différentes concentrations. Les boîtes ont été incubées à 4°C pendant 2 heures, puis à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après incubation le diamètre d'inhibition a été mesuré en millimètres (Bouamara, 2016).

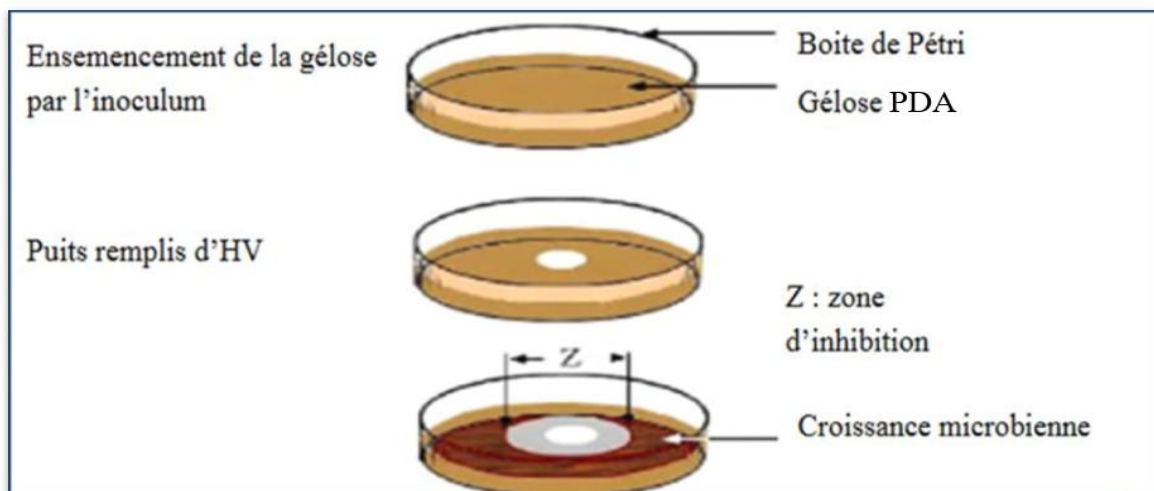


Figure 31 : Illustration de la méthode de diffusion par puits sur boîte de Pétri (Bouamara, 2016).

5.4- Méthode par incorporation à la gélose

Pour les souches fongiques, les tests sont réalisés par incorporation de 1 ml de la dilution dans 9 ml du milieu PDA en surfusion, puis le milieu est coulé dans la boîte. La gélose PDA estensemencée par un disque mycélien (5 mm de diamètre) prélevé du centre d'un mycélium pré cultivé et déposé au centre de la gélose. Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 27°C, cette durée permet selon Gilbert et Woods (2006) la colonisation de tout la gélose. Tous les tests y compris les témoins sont répétés 03 fois sous les mêmes conditions expérimentales (Benmeddour *et al.* ;2015) . En fin de l'incubation, l'effet des extraits sur les champignons est évalué par le calcul du taux d'inhibition suivant la formule utilisée par Leroux et Credet (1978):

$$Ti = [(N0 - Nc) / N0] \times 100$$

Dont Ti: taux d'inhibition de la croissance (%);

N0: nombre de colonies fongiques dans le témoin ;

Nc : nombre ou diamètre de colonies fongiques en présence de l'extrait.

5.5- Méthodes de dilution en milieu liquide

5.5.1- Test de microdilution

Méthode de référence permettant la détermination des valeurs de CMI et CMF d'une HE comme une substance antifongique testée. La détermination de l'activité antifongique de l'huile essentielle en milieu liquide se fait au moyen d'une microplaque de 96 puits (8 lignes et 12 colonnes) (Figure 32) (Lakhdar ,2015).

Après la préparation de l'inoculum à partir de cultures de 18-24 heures à 37 °C des souches fongiques (*Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*) afin d'obtenir un 0,5 McF soit $1-5 \times 10^6$ UFC/ml et l'ensemencement dans le milieu de culture liquide à l'aide de l'anse de platine.

Pour chaque ligne de microplaque, dans le premier puits N°01 déposé 150 µl de milieu liquide puis en rajouté 50 µl d'HE à tester. Le contenu du puits N°1 est mélangé. Pour les puits numérotés de 2 à 10, il a été introduit 100 µL de solution de HE (par l'ordre de concentration décroissante d'antifongique), puis 100 µL de la mélange qui transférer par l'obtention des dilutions semi successives. Pour le puits 11 (témoin positif), il a été introduit 100 µL de même milieu de culture d'inoculum et on rajouté 100 µL d'ATF classique. Pour le puits 12 (témoin négatif), il a été introduit les même composants des autres puits mais sans HE. Ensuite la microplaque est fermé stérilement par leur couvercle et elle été mise à l'incubation pendant 5 jours à 35°C (Prigent, 2016).

La lecture des résultats a été effectuée par l'observation directe des puits à l'aide d'une source lumineuse ou à l'aide d'un spectrophotomètre utilisant une longueur d'onde de 530 nm. La plus faible concentration d'HE qui inhibe 99,9% des croissances fongiques visible en culture sur ce milieu correspond à la CMI (Lakhdar ,2015).

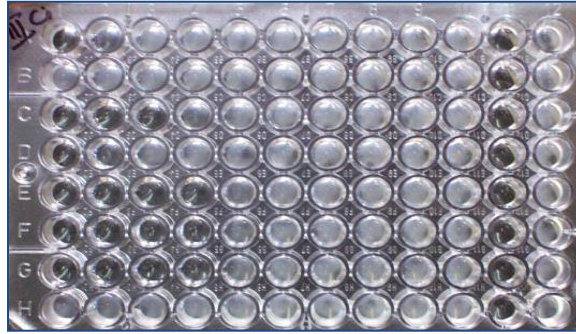


Figure 32 : La microplaque de la méthode de microdilution (Azzi, 2016).

N°isolat	Concentration finale d'antifongique dans le puits mg/l										T+	T-
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												

Tableau 05 : Plan d'une plaque pour un antifongique testé (Prigent, 2016).

5.5.2- Test de macrodilution

Le principe est le même que celui du test de microdilution, sauf qu'il est effectué dans une série de tube à hémolyse ou des tubes à essais stériles contenant l'huile essentielle, à différentes concentrations, incorporée dans un bouillon de culture liquide.

La CMI est déterminée au niveau du dernier tube ne montrant aucune croissance microbienne visible (Lakhdar ,2015).

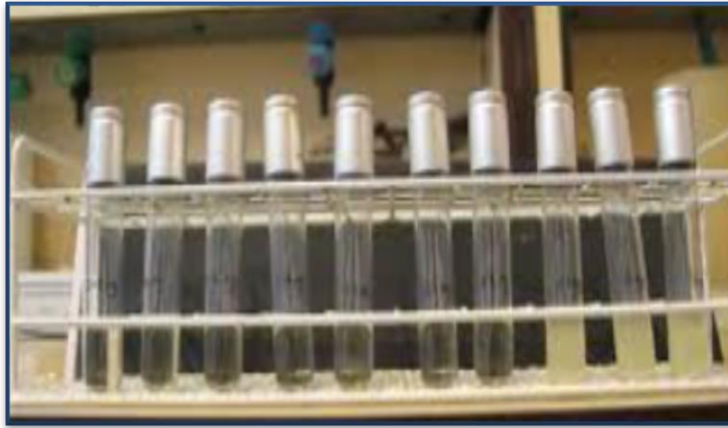


Figure 33 : Méthode de macrodilution
(Azzi, 2016).

5.5.3- Détermination de la Concentration Minimale Fongicide (CMF)

La CMF a été définie comme étant la plus faible concentration d'antifongique (d'HE) ne donnant aucune croissance après repiquage sur gélose et qui détruit 99,9% de l'inoculum fongique. La détermination de la CMF est réalisée selon le protocole utilisé aussi pour la détermination de la CMB.

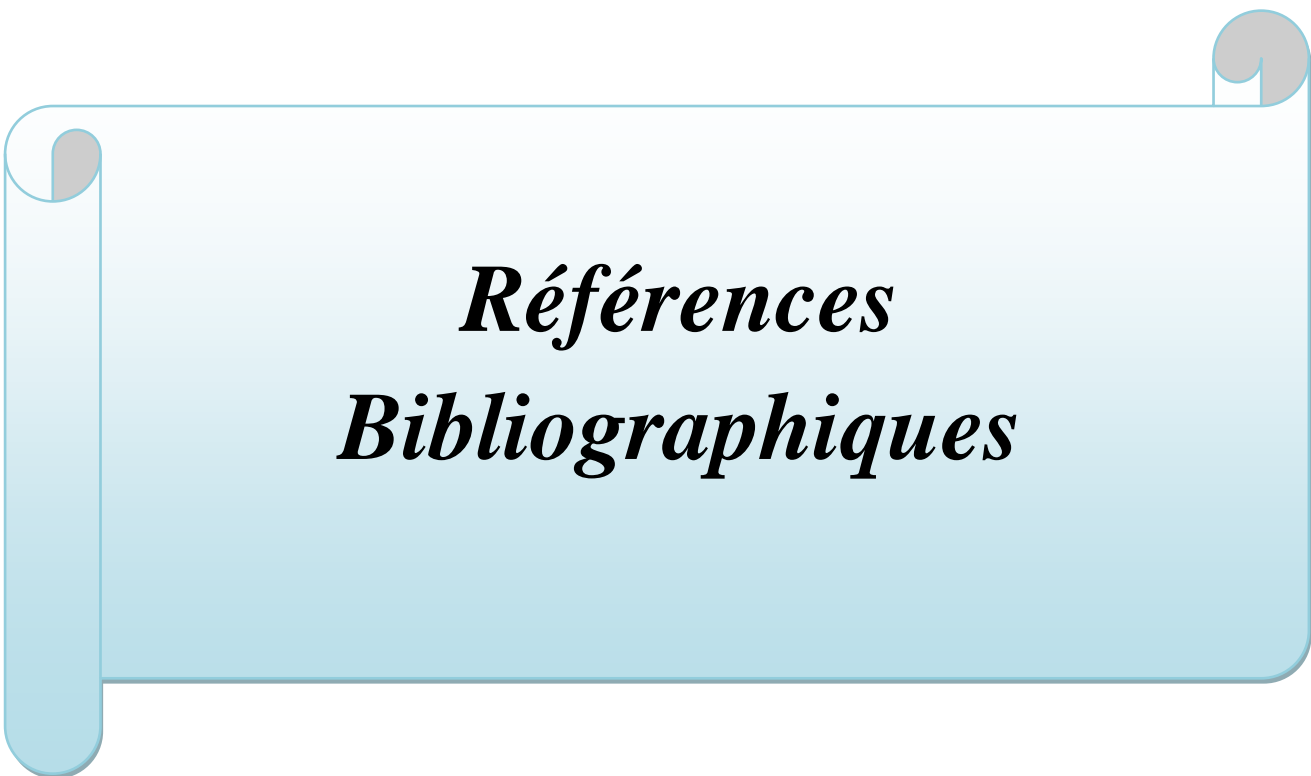


Conclusion et perspectives

Le présent travail était dans la conception de la lutte biologique contre le champignon phytopathogène "*Fusarium*". Les *Fusarium* sont des champignons mal connus et relativement peu étudiés surtout dans le milieu médical. Néanmoins ces champignons sont responsables de diverse pathologie végétale, animale et humaine, la plupart du temps sont anodine certain fusarioses peuvent révéler gravissimes notamment dans un contexte d'immunodépression.

L'objectif initial de notre travail étaient l'étude de l'activité antifongique de deux HE d'ail et de l'argan vis à vis des souches fongiques du genre *Fusarium*, responsables de diverses pathologies végétale, animale et humaine qui sont en l'occurrence *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*.

Cette étude théorique complète sera une référence pour les étudiants et les chercheurs, où nous mettons entre leurs mains les principales méthodes mises en œuvres pour tester l'activité antifongique des huiles essentielles d'ail et de l'argan, et il leur servira de base pour eux, pour d'autres recherches théoriques et pratiques sur les huiles essentielles et leur activité antimicrobienne et antifongique.



***Références
Bibliographiques***

-A-

- 1-** Abdel Massih, M. (2007). Moisissures: identification, sources de contamination et moyens.
- 2-** Abdullah, F. et Mohammed E. (2012). "Modélisation de la répartition du transfert des métaux lourds et des oligoéléments dans les sols forestiers, l'huile d'argan et dans les différentes parties d'arganier."
- 3-** Adlouni A. L'huile d'argan, de la nutrition à la santé. *Phytothérapie*. 2010 ; 8, 89-97.
- 4-** Afnor. (2000). Huiles essentielles, échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles.
- 5-** Agrios, G.N.(2005). *Plant Pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- 6-** Ait Kettoutt., 2011. Isolement et identification des exométabolomes de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (Killian et Maire) Gordon, agent causal du Bayoud, fusariose du Palmier Dattier (*Phoenix Dactylifera* L), thèse doctorat USTHB, ALGER, 145p.
- 7-** Amzal, H. (2010). Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier, Thèse de doctorat, Université Mohammed V Agdal, Rabat, Maroc, 143p.
- 8-** Ankri S. et Mirelman D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*. 1 : 125–9. Pôle technologique agroalimentaire: 3.
- 9-** Augusti K.T. et Sheela C.G. (1996). Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats. *Experientia*. 52 (2) : 15-20.
- 10-** Azzi, M. (2016). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de *Lavandula multifida*. L. En vue de l'obtention du Diplôme de master : microbiologie appliquée. Tlemcen : Université de Tlemcen ,p14.

-B-

- 11-** Bacar, E, et Meskine, H. (2014). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de l'ail (*Allium sativum* L.). Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Biologie moléculaire des procaryotes. Guelma: université 8 mai 1945 guelma, p 40.
- 12-** Bagga S et Straney D. (2000). Modulation of cAMP and phosphodiesterase activity by flavonoids which in duce spore germination of *Nectria haematococca* MP VI (*Fusarium solani*). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 56: 51-6.
- 13-** Badreddine A. (2016). Préparation et Caractérisation d'Extraits d'*Argania spinosa* et d'Huile d'Argan Et Evaluation de leurs Effets Neuroprotecteurs In Vivo et In Vitro.

- 14-** Belabid L., Baum M., Fortas Z., Bouznad Z. et Imad-Eujayl I. (2004). Pathogenic and genetic characterization of Algerian isolate of *Fusarium oxysporum f. sp. lentis* by RAPD and AFLP analysis. *Afr. J. Biotechnol.* 3(1), 25-31.
- 15-** Belaiche, P. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, tome I*, Ed. Maloine S.A., 1979,
- 16-** Benhamou N., Chet I. (1997). Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, p. 2095–2099.
- 17-** Benhamou, N., Chet, I. (1996). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* (86), p. 405–416.
- 18-** Benkeblia N. (2004). Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*), *Lebensm.-Wiss.U-Technol.*, p: 263-268.
- 19-** Benkheira A. (2009). L'arganeraie algérienne N°9 juin 2009 , Numéro spécial.
- 20-** Benzyane M., (1995). Le rôle socio-économique et environnemental de l'arganier in *Actes de journées d'étude sur l'arganier. Essaouira du 29 et 30 septembre maroc.*
- 21-** Benjelloun. (2014). Huile d'argan : propriétés pharmacologiques et mise en place d'un processus de contrôle
- 22-** Billerbeck V.-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*.5,249-253.
- 23-** Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, 273p
- 24-** Borek C. (2001). Antioxidant health effect of aged garlic extract. *J Nutr.* 131: 1010S-1015S.
- 25-** Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.-J., Vayssier Y and Veau P. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle*, (edn) Masson, Paris.
- 26-** Bouamara , K. et Haddad, S.(2016). Evaluation des activités biologiques de quelques huiles végétales. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Sciences alimentaire. Béjaia : université de Béjaia, p21.
- 27-** Boudy P, 1950. *Economie forestière nord-africaine (Monographies et traitements des essences forestières)*, Tome II (1), Larose (Ed.). : 382-416.

28- Boureghda H. et Z. Bouznad ., (2009). Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. Acta Phytopathol. Entomol. Hung. 44, 25-38.

29-Bousbia N. (2004). Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin) étude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de Magistère, option Sciences Alimentaires, Institut National Agronomique, Alger (Algérie).

30- Bouzid, Dj. (2018). Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse : Microbiologie Appliquée. Sétif : université de Sétif-1, p35.

31- Brigitte, M (2019). Fiche technique culture ornementales en serre, Fusariose vasculaire [en ligne] (consultée le 28.05.2020).

32-Brown, D.W., et Proctor, R.H. (2013). *Fusarium*: genomics, molecular and cellular biology (Norfolk: Caister Acad. Press

33-Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed.TEC et DOC, Paris.

34- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations Lavoisier.

35-Bullock, J.D., et Khamis, H.J. (2010). A retrospective statistical analysis of the *Fusarium keratitis* epidemic of 2004-2006. *Ophthalmic Epidemiol* 17, 179–184 p.136. https://www.agrireseau.net/documents/Document_99524.pdf.

-C-

36- Caron J. (2002). Conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémile 5 décembre 2002.

37- Cellini L, Di Campli E, Masulli M, Di Bartolomeo, S. et Allocati N. (1996). Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 13 : 273 –277.

38-Chabert, G., (2013). Myrtacées et aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier Grenoble.

39- Champion R.1997. Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et Pratiques. INRA Editions p166 à 197.

38- Charrouf Z and Guillaume D. (2008). Argan oil : occurrence, composition and impact on human health. *Eur J Lipid Sci.*; 110 : 632– 636.

40-Charrouf Z.,(1995). L'arganier patrimoine marocain et mondial à sauvegarder et à protéger :mini-review sur la composition de ses produits et sur les essais de valorisation Al Biruniya , revue Maroaine de pharm.Tom11,N2,119p.

41- Charrouf Z.,(1998). Valorisation de l'huile d'argan par des groupements de femmes

42- Chaussod R, Adlouni A, Christon R. (2005). L'arganier et l'huile d'argane au Maroc : vers la mutation d'un système agroforestier traditionnel ? Enjeux et contribution de la recherche. Cahiers Agricultures. ; vol. 14, n° 4.

43- Coleman JJ, Rounsley SD, Rodriguez-Carres M, Kuo A, Wasmann CC, Grimwood J, *et al.*(2009). The Genome of *Nectria haematococca*: Contribution of Supernumerary Chromosomes to Gene Expansion. Madhani HD, éditeur. PLoS Genetics. 28 août 2009;5(8):e1000618.

44-Correll, J.C, Puhalla,J.E ,Schneider,RW.(1986). Identification of *Fusarium oxysporum f.sp.apii* on the basis of colony size,virulance and végétative compatibility.phytopathology76 :396-400.

45-Couderc, V.L. (2011). Toxicité des huiles essentielles. Thèse du doctorat vétérinaire. L'université Paut Sabatier de Toulouse.

-D-

46- Davis, L.E ,Shen, J,(1994).In vitro synerbism of concentrtd *Allium sativum* extract and amphotericin Bagainst *Cryptococcus neoformans*. Planta Medica, 60(6) : 546-549.

47- Debourgogne, (2013). Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole.

48- Deshapande, RG Khan, MB et al (1993) ; inhibition of mycobacterian avium complex isolates form AIDS patients by garlic (*Allium sativum*).Journal of antimicrobiol chemtherapy, octobre, 32(4)623-626.

49- Dethier, B (2010). Contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail.

50- Dufour Anne, 2003.Aliments santé,guide pratique,Leduc Editions.

51- Dukan Pierre 1998. Dictionnaire de diététique et de nutrition, Tec§Doc.

-E-

52-El Fakhar N, Charrouf Z, Coddeville B, Leroy Y, Michalski JC, Guillaume D. (2007). New triterpenoids saponins from *Argania spinosa*. Journal of Nat. Med., 61(4):375-380.

53-El Haib, A., (2012). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

54- El kalamouni C, Marzouk B, Menut C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits des plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorats, Université de Toulouse.

55-El Mahjoub M, Le picard, D, Czaniski, y, (1984) couche protectrice et appareil de transfert dans les cellules de contact de xylème primaire de Melon (*Cucumis melo* L) .C.R.Acad .Sc. 299 :809-812.

56-El Monfalouti H, Guillaume D, Denhez C, Charrouf Z. (2010). Therapeutic potential of argan oil- A review. J Pharm Pharmacol.; 62, 1669-1675.

57-Epstein L., Kwon Y.H., Almond D. E., Schached L.M et Jones M.J. (1994). Genetic and biochemical characterization of *Nectria haematococca* strains with adhesive and adhesion reduced macroconidia. Applied and Environmental Microbiology. 60: 524-530.

58- Ezzahiri, B. (2001). Les maladies du Blé Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte (Bulletin Mensuel d'information et de liaison du PNTTA) N°77.

-F-

59-Figliuolo G, Candido, V, Logoza, G, Miccolis, V, Spagnolettizeli, P.L. (2001). Genetic evaluation of cultivated garlic germplasm (*Allium sativum* L. and *A. ampeloprasum* L) Euphytica 121, 235-334.

-G-

60- Gams, W. et Bissett, J. (1998.) Morphology and identification of *Trichoderma* sp. *Trichoderma* & *Gliocladium*, Volume 1 : Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Londres: Kubicek, C.P.; Harman, G.E. & Ondik, K.L., CRC Press, pp.3-34, 300 P.

61- Gangneux, J.-P., and Drogoul, A.-S. (2008). Infections fongiques invasives : nouvelles données épidémiologiques et écologiques. Hématologie 14, 5-11.

62- Ghannoum, M.A. (1990). Inhibition of *Candida* adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extract of *Allium sativum* (garlic). Journal of applied Bacteriology, 68 (2) :163-169.

63-Gorinstein S, Drzeviecki (2005). Comparaison of the bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish ukrainian and israelien garlic .J Agri Food chem. 53(7):2726-2732.

-H-

64- Haddouchi, F., H. A. Lazouni, *et al.* (2009). "Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut." *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie* 5.

65- Haglund, W.A., Kraft, J.M. (2001). *Fusarium* wilt. In "Compendium of Pea Diseases

66- Harhar H., (2010) Contribution à la valorisation de l'arganier: *Argania spinosa* (L.) Skeels Sapotaceae : Evaluation des déterminants de la qualité de l'huile d'argan et de la Composition chimique de la pulpe du fruit de l'arganier. Thèse de Doctorat National, Faculté des Sciences, Université Mohammed V-Agdal.

67- Harman G.E., Mattick L.R., Nash G et Nedrow B.L.(1980). Stimulation of fungal spore germination and inhibition of sporulation in fungal vegetative thalli by fatty acids and their volatile peroxidation products. *Canadian Journal of Botany*. 58: 1541-1547.

68- Hayes A.J. and Markovic B. (2002). Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1 Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*. 40:535-543.

69- Henni, J.E.(1998). Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *F. oxysporum* et *f.sp lycopersici*. Thèse de doctorat d'état. Université d'Oran. 171p.

70- Helen A, Rajasree C.R, Krishnakumar K, Augusti K.T. et Vijayammal P.L. (1999). Antioxydant role of oils isolated from garlic (*Allium sativum* Linn) and onion (*Allium cepa* Linn) on nicotine-induced lipid peroxidation. *Vet Hum Toxicol*. 41 (5): 316-319.

71- Hoog, S. Guarro, J. Géné, J et Figueras M. (1995) "Atlas of Clinical fungi v4.1.4

72- Hoog S, Guarro J, Géné J, Figueras M. Atlas of Clinical Fungi. 2011.

-J-

73- Jung S. (2005). Apport des drogues végétales dans la prévention des maladies cardiovasculaire liées à l'hypocholestérolémie. Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, de l'université Henri Poincaré-Nancy. Faculté de pharmacie. 15- 16.

-K-

74- Kamgang Mbe Symplice. (2004). Contribution à l'étude des plantes médicinales du cameroun : Evaluation des propriétés antimicrobiennes de deux extraits de graines de piper guineense Schum,& Thonn. Mémoire de l'obtention de la maîtrise. Biochimie. Cameroun : Université de Douala. p8-9.

75- Kechairi R, Abdoun F.(2016). État des lieux cartographiques de l'arganier *Argania spinosa* (L.) Skeels (Sapotaceae) en Afrique Nord-Occidentale (Algérie et Sahara Occidental), *International Journal of Environmental Studies*, 1029-0400.

76- Kechebar Med Seif allah (2016). "Caractérisation de l'arganier (*Argania spinosa L.*) en Algérie et impact de la salinité." these doctorat.

77-Kermiche, N et Chougui, M (2014). Les activités antifongiques et antioxydantes des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Eucalyptus globulus*. Mémoire : biologie et physiologie végétale. Constantine : université de Constantine 1, 74p.

78- Klein, D.A., Paschke, M.W. (2004). Filamentous Fungy: The indeterminate lifestyle and Koch HP. Garlicin – fact or fiction? *Phytother Res*, 1993, 7: 278-280.

79- Kouidri M. (2009). Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile d'argan provenant d'arbres cultivés des deux régions de l'Algérie (Tindouf et Moustaganem). Thèse de magister en sciences alimentaires. Université Hassiba Ben Bouali, Faculté des sciences agronomiques et sciences biologiques, Chlef, 77 p. *microbial ecology. Microbial Ecology*. 47: 224-235.

80-Khadri S.(2009). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail cultivé (*Allium sativum*) de l'est Algérien vis-à-vis de différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

-L-

81-Labioud, R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat : Biochimie appliquée . Annaba : universite badji mokhtar-Annaba, p48.

82-Lakhdar, L.(2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycète mcomitans* :Etude in vitro. Thèse de Doctorat : Sciences Odontologiques. Maroc : Université Mohammed V de Rabat, p45.

83-Lee larungrayub N, et Rattanapanone V (2006). Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *J. Nutrition*; 22(3):266-74.

Leslie J.F et Summereli B.A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Iowa, US

84-Lotfi N., Chahboun N., El Hartiti H., Kabouche Z., El M'Rabet M., Berrabeh M., Touzani R., Ouhssine M. et Oudda H. (2015). Study of the antibacterial effect of Argan oil from Bechar region of Algeria on hospital resistant strains. *Journal of Materials and Environmental Science.*, 6 (9) : 2476-2482.

-M-

85- M'Hirit O. (1987). L'arganier, une espèce fruitière, forestière à usages multiples des zones arides méditerranéens. *Inst. Agr. Médit*, 20 p., Saragoss.

86-M'herit, O., M. Benzyane, et al. (1998). L'Arganier: Une espece fruitiere-forestiere a usages multiples, Mardaga.

87- Miean KH, Mohamed S (2001). Flavoinoid content of edible tropical plant J Agri Food chem 49(6): 3106-3112.

88-Mirelman D, Monheit D. et Varon S. (1987). Inhibition of growth of *Entamoeba histolytica* by allicin, the active principle of garlic extract *Allium sativum.*, J. Infect. Dis. 156 : 243–244.

89- Mnayer, D.(2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Présentée pour obtenir le grade de Docteur : CHIMIE. France : Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, p 28.

90-Mokhtari M., (2002). production rapide de plante d'arganier aptes à la transplantation. Bulletin mensuel d'information du PNTTA n95 AOUT.

91- Mrabet, B. 1998. Incidence de la fusariose au nord de la Tunisie. Identification de source de résistance chez le blé. École Supérieure Agronomique de Kef, Kef, Tunisie, 60 p.

-N-

92-Nada R. (2003). L'arganier arbre de sud-ouest marocain, en péril à protéger. Thèse de doctorat en pharmacie, université de Nantes.

93-Nasraoui, B. (2006). Les champignons parasites des plantes cultivées, biologie, systématique, national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest. Spécialité : pathologie,

94- Nedjai, I et Nedjai, S. (2017). Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire: écologie microbienne. Bejaia: Université A. Mira. 64p.

95- Negaz, M. (2018). Activités biologiques de l'extrait des grains de *L'Argania spinosa* (L'argan) récolté de la région de Tindouf. Mémoire de Master : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie. Bouira : Université Akli MouhandOulhadj Bouira , p27.

96- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. (1983). *Fusarium* species: an illustrated Manuel for identification. Pennsylvania state Univ. Editor.

97- Nouaïm R., Chaussod R., Yacoubi B., (1995). Effet de la mycorhization sur six clones d'arganier multipliés par bouturage. Bulletin de recherche forestière du Maroc. Etudes sur l'arganier, Essaouira 29-30 septembre 1995, pp : 7-11.

-O-

99-Ottmanii, (1995). Etude sur l'arganier et la lutte contre la désertification in Actes de journée d'étude sur l'arganier . Essaouirra 29au 30 septembre 1995.

100-Ouidri M. (2009). Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile d'argan provenant d'arbres cultivés des deux régions de l'Algérie (Tindouf et Moustaganem). Thèse de magister en sciences alimentaires. Université Hassiba Ben Bouali, Faculté des sciences agronomiques et sciences biologiques, Chlef, 77 p.

-P-

101- Phillips N.J., Goodwin J.T., Fraiman A., Cole R. J et Lynn D.G. (1989). Characterization of the *Fusarium* toxin equisetin: The use of phenylboronates in structure assignment. Journal of the American Chemical Society. 111: 8223-8231.

102-Pierron, C., (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse Doctorat en Pharmacie. Université Lorraine.

103-Prigent, G. (2016). Etude de la sensibilité aux échinocandines de *Candida spp.*chez des transplantés hépatiques à l'hôpital henri mondor.Mémoire : Biologie médicale. Paris : Université de paris descartes, p 64- 65.

-R-

104- Rahmania F., (2000). Contribution à la connaissance des relations hyto-cytophysiologique entre le Palmier Dattier, Phoenix Dactylifera L. et l'agent causal du Bayoud, *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Thèse doctorat d'état, USTHB, Alger, 156.

105- Reuter H.D., Koch, H.P, and Lawson, L.D. (1996).Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations In Garlic. The Science and Therapeutic Application of *Allium sativum* L. and Related Species, 2nd Ed., ed., H.P. Koch and L.D. Lawson, Williams & Wilkins, Baltimore,

106- Rouhi R. (1991). Anatomie de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). In : colloque international sur l'arganier. Agadir. Pp, 100 – 103.

-S-

107-Sabaou N., Bounaga N and Bounaga D. (1983). Actions antibiotique, mycolytique et parasitaire de deux actinomycètes envers *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* et autres formae speciales. Can. J. Microbial. 29, 194-199.

109-Sebai, M. et Boudali, M., (2012). Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA (Algérie).

110-Selvakumar P., Edhaya-Naveena B. et Prakash D.S. (2012) .Studies on the antidandruff activity of the essential oil of *Coleus amboinicus* and *Eucalyptus globules*, Asian pacific journal of tropical biomedicine. 715 - 719.

111-Shaath NA, Flores FB, Osman M, Abd-El Aal M. (1995). The essential oil of *Allium sativum* L., Liliaceae (Garlic). In Charalambous G (Ed.), Food Flavors: Generation, Analysis and Process influence. Elsevier Science.

112-Shadkchan Y, Shemesh E, Mirelman D, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M. et Oshero N. (2004). Efficacy of allicin, the reactive molecule of garlic, in inhibiting *Aspergillus* spp. in vitro, and in a murine model of disseminated aspergillosis. J Antimicrob Chemother. 53 (5): 832-836.

113- Silagy C.A., Neil H.A. (1994), A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. Journal of Hypertension, 12(4): 463-468.

114- Silagy C.A., Neil H.A. (1994), Garlic as a lipid lowering agent: a meta-analysis. Journal of the Royal College of Physicians of London, 28: 39-45.

115- Slimani H., (1996). Contribution à l'étude de l'arganier (*Argania Spinosa* (L.) Skeels) de deux provenance Tindouf-Mostaganem (Etude expérimentale sur lagermination des graines et extraction d'huile d'argan).Mémoire d'ing. État en Agronomie, F.S.A. Univ. Sidi bel-Abbés, 102p.

-T-

117-Thomas, B. (2017). Etude épidémiologique des infections à *Fusarium* au CHRU de Nancy sur 10 ans et identification moléculaire d'espèces. Thèse pour le Diplôme D'étude en biologie médicale: faculté de pharmacie. France : Université de Lorraine, 110p.

118- Toumi- Benali, F. (2009).Valorisation de *Tetraclinis articulata* dans la mise en valeur des espèces dégradés dans l'Ouest Algérien, possibilité de culture, régénération et potentielité phyto-bioclimatique de l'espèce. Thèse de doctorat. Université Sidi Bel Abbes

119- Twf, (2015). International Union For The Protection of New Varieties of Plants Geneva Technical Working Party For Fruit Crops Forty-Sixth Session Mpumalanga, South Afric.

-U-

120- Uchida Y, Takahashi T. et Sato N. (1975). The characteristics of the antibacterial activity of garlic, *Jpn J. Antibiotics*, 28: 638-642.

-V-

121- Vander Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*. 396: 69-72.

122- Venegas C, Cabrera-Vique C, Garcia-Corzo L, Escames G, Acuna-Castroviejo D, Lopez LC. (2011) ; Determination of coenzyme Q10, coenzyme Q9, and melatonin contents in virgin argan oils : comparison with other edible vegetable oils. *J Agric Food Chem*. 59, 12102-12108.

-W-

123- Wang W. et Chen W.W. (1991). Antioxidative activity studies on the meaning of same original of herbal drug and food. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 11 (3): 159-161.

124- WHO (World Health Organization). WHO Monographs on selected medicinal plants. Vol. 1. WHO: Genève, 1999.

-Y-

125- Yakhlef, G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L, Université de Batna 2.

126- Yamada Y. et Azuma K. (1997). Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicine. *Antimicrob Agents Chemother*. 11 (4) : 743-749.

127- Yoshida H, Iwata N, Katsuzaki H, Naganawa R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T. et Suzuki A. (1998). Antimicrobial activity of a compound isolated from an oil macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1014-1017.

-Z-

128- Zhang N, O'Donnell K, Sutton DA, Nalim FA, Summerbell RC, Padhye AA, et al. Members of the *Fusarium solani* Species Complex That Cause Infections in Both Humans and Plants Are Common in the Environment. *Journal of Clinical Microbiology*. 6 juin 2006;44(6):2186-2190.

129- Ziane N., 2006. importance subvention pour le « projet Arganier » pour la sauvegarder d'une grande ressource forestière marocaine .le portrait smagigh.

130- Ziani, S. (2014). Multiplication de l'Arganier (*Argania spinosa* L. Skeels) par vitro semis, microbouturage, microgreffage, organogenèse et/ou embryogenèse somatique, Saadia .



ANNEXE

ANNEXES

Milieux de cultures

Milieu Oatmeal-salts Agar (OAT) :

Magnesium sulphate.....	1 g
Mono potassium phosphate.....	1.5 g
Sodium nitra.....	1 g
Flocons d'avoine (Gruau Quaker, caisson lente).....	10 g
Agar.....	18 g
H ₂ O.....	Compléter jusqu'à 1 L

Milieu Potato dextrose Agar (PDA) :

Pomme de terre	200g
Glucose	10g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml
Ph : 5.6	

Eau physiologie :

Eau distillée.....	1000ml
NaCl.....	9g

Achoub khawla

Khalid Roumaissa

Date de soutenance : 30 /09 /2020

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Thème :

Évaluation de l'activité antifongique des l'huiles essentielles d'ail et argan vis-à-vis deux espèces de genre *Fusarium* : *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*.

Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales de la flore marocaine vis-à-vis de deux champignons responsables des mycoses humaines et phytopathogène : *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* . Les deux huiles essentielles étudiées provenant d'une plante liliacée, qui est l'ail et d'une autre de la famille tropicale des Sapotaceae qui est l'argan, considérées comme étant des condiments à large consommation en Algérie et Maroc. Ce modeste travail met, entre les mains du lecteur, une étude complète, qui traite à la fois les plantes médicinales, des huiles essentielles, et leurs activités antimicrobiennes en général et antifongiques en particulier, ainsi que l'étude des champignons, de leurs avantages et inconvénients. Nous concluons ce travail en abordant les principales techniques et les étapes à suivre pour mettre en évidence l'activité antifongique des huiles essentielles d'ail et d'argan.

Mots-clés: Activité antifongique, Liliacée, Sapotaceae, *Allium sativum*, *Argania spinosa*, Hydrodistillation, Hydrocarbure apolaire, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*.

Président du jury : Mme. MIHOUBI Ilhem (Professeur - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mme. GHORRI Sana (M.C.B. - UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme. Abdeazziz Widedd (M.C.B. - UFM Constantine 1).