

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

Évaluation de pouvoir antifongique de quelques extraits des racines de *Thapsia garganica*

Présenté par :

BENACEUR Souhila

GARADI BEDRINA Aicha

LABGAA Sarah

Devant le jury composé de :

| | | |
|------------------------|----------------------|---|
| Président : | M. Sifi Ibrahime | M.CB (Université Amar Téliidji, LAGHOUAT) |
| Rapporteur : | Mme NEBEG Halima | M.CB (Université Amar Téliidji, LAGHOUAT) |
| Co-Rapporteur : | Mme EL-HOUITI Fatiha | M.CB (Université Amar Téliidji, LAGHOUAT) |
| Examinatrice : | Mme Zoukhrouf Zohra | M.CB (Université Amar Téliidji, LAGHOUAT) |

Résumé

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antifongique des extraits des racines d'une plante appartenant à la famille des Apiacées, *Thapsia garganica* L. Quatre solvants de polarités différentes (Méthanol, dichlorométhane, acétate d'éthyle et hexane) sont utilisés pour l'extraction des composés chimique. Le processus d'extraction a été faite avec appareil de Soxhlet et sonication. Les résultats obtenus ont montré que la teneur est entre 0.21% à 4.27 %.Les différents extraits testés ont révélé des activités antifongiques modérées vis-à-vis de *Fusarium graminearum*, ou la plus forte activité a été enregistrée pour l'extrait d'acétate d'éthyle (50 mg/ml) avec une inhibition de 56.38 %.

Mots clé : *Thapsia garganica*, extrait polaire et apolaire, activité antifongique, *Fusarium graminearum*

Abstract

The objective of the present work is to demonstrate the antifungal activity of the extracts of the roots of a plant belonging to the Apiaceae family, *Thapsia garganica* L. Four solvents of different polarities (methanol, dichloromethane, ethyl acetate and hexane) were used for the extraction of the chemical compounds. The extraction process was done with Soxhlet and sonication. The results obtained showed that the content was between 0.21% and 4.27%. The various tested extracts revealed a moderated antifungal activities against to *Fusarium graminearum*, and the highest activity was recorded for ethyl acetate extract (50 mg/ml.) with inhibition of 56.38 %

Key words: *Thapsia garganica*, polar and a polar extract, antifungal activity, *Fusarium graminearum*

ملخص

الهدف من هذا العمل هو إظهار النشاط المضاد للفطريات لمستخلصات جذور نبات ينتمي إلى فصيلة الخيميات، ثافسيا غارغانিকা. استخدمت أربعة مذيبات مختلفة الاستقطاب (الميثانول وثنائي كلور الميثان وأسيتات الإيثيل والهكسان) لاستخراج المركبات الكيميائية. تمت عملية الاستخلاص باستخدام جهاز سوكسلي و الموجات فوق الصوتية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المردود يتراوح بين 0.21 %، 4.27 % . كشفت المستخلصات المختلفة التي تم اختبارها عن أنشطة معتدلة مضادة للفطريات فيما يتعلق بـ *Fusarium graminearum* ، حيث تم تسجيل أعلى نشاط من مستخلص أسيتات الإيثيل (56.38 %I) بتركيز يساوي 50 ملغم/مل.

الكلمات المفتاحية : *Thapsia garganica*، مستخلص القطبي وغير القطبي، نشاط مضاد للفطريات، *Fusarium graminearum*

Dédicaces

*On dédie ce modeste travail à
Nos très chers parents, qui nous encourageons,
Nos frères et sœurs qui nous supporterons.*

Remerciement

On remercie avant tout ALLAH tout puissant de nous avoir donnée la force et la patience et la volonté de réaliser ce travail.

*On tient à exprimer nos sincères remerciements au **Dr NEBEG Halima**, la responsable de cette étude, Pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour l'aide précieuse qu'elle nous a apporté, pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener à bien ce travail.*

*On tient à exprimer nos sincères remerciements au **Dr Fatiha Elhouiti**, la co-directrice de cette étude, Nous vous remercions de votre patience, votre disponibilité, de vos encouragements et de vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail.*

Nos remerciements s'adressent aux membres de jury, ont pris sur leur temps et ont bien voulu accepter de juger ce modeste travail :

***Mr. SIFI Ibrahime** qui nous a fait l'honneur de présider ce Jury,*

***Mme Zoukhroufe Zohra** qui a bien voulu examiner ce travail*

Un grand merci à nos familles, à nos parents qui nous ont soutenus durant tous ses années d'études et qui nous ont encouragés sans cesse.

Un grand merci à toutes les personnes qui nous soutenu de près ou de loin au cours de la réalisation de ce modeste travail.

Table de matière

| | |
|---|----|
| I.1. Les plantes médicinales | 5 |
| I.1.1. Origine des plantes médicinales | 5 |
| a. Les plantes spontanées | 5 |
| b. Les plantes cultivées | 5 |
| I.1.2. Les métabolites primaires | 5 |
| I.1.2.1. Les Lipides | 6 |
| a. Les composés phénoliques | 7 |
| b. Les alcaloïdes | 8 |
| c. Les huiles essentielles | 9 |
| I.1.4. Activités biologiques des plantes médicinales | 9 |
| <i>Présentation de l'espèce Thapsia garganica</i> | 10 |
| I.2. Généralités sur le genre <i>Thapsia</i> | 10 |
| I.2.1. Etymologie et noms vernaculaires de <i>Thapsia garganica</i> L. | 10 |
| I.2.1.1. Etymologie | 11 |
| I.2.1.2. Noms vernaculaires | 11 |
| I.2.2. Description botanique de <i>Thapsia garganica</i> L. | 11 |
| I.2.3. Classification | 12 |
| I.2.4. Localisation géographique de <i>Thapsia garganica</i> L. | 12 |
| I.2.5. Toxicité de <i>Thapsia garganica</i> | 12 |
| I.2.5.1. Symptômes et lésions | 13 |
| I.2.6. Composition chimique de <i>Thapsia garganica</i> | 13 |
| I.2.6.1. Les huiles essentielles | 13 |
| I.2.6.2. Les sesquiterpènes lactones « la thapsigargine » | 14 |
| I.2.6.3. Les polyphénols | 15 |
| I.2.7. Utilisation de l'espèce <i>Thapsia garganica</i> | 15 |
| I.2.7.1. Usage en médecine traditionnelle | 15 |
| I.2.7.2. Utilisations thérapeutiques | 16 |

| | |
|---|----|
| I.3. Les champignons phytopathogènes | 17 |
| I.3. 1. Généralités sur les champignons phytopathogènes | 17 |
| I.3. 2. Les maladies cryptogamiques | 17 |
| I.3.3. La fusariose | 17 |
| I.3.3.1. Cycle de vie de fusarium | 17 |
| II .1. Matériels Biologiques | 20 |
| II .1.1. Le matériel végétal | 20 |
| II.1.1.1. Description de station de collecte | 20 |
| II.1.1.2. Echantillonnage et période de collecte de plante | 21 |
| II.1.1.3. Séchage et conservation du matériel végétal | 21 |
| II.1.2. Le matériel fongique | 22 |
| II.1.2.1. La souche fongique sélectionnée | 22 |
| II.1.2.2. Le genre <i>fusarium</i> | 23 |
| II.1.2.3. <i>Fusarium graminearum</i> | 23 |
| II.1.2.4. Classification de <i>Fusarium graminearum</i> | 24 |
| II.2. Méthodes expérimentales | 24 |
| II.2.1. Extraction des fractions polaire et apolaire des racines de <i>T.garganica</i> | 24 |
| II.2.2. Calcule des rendements | 25 |
| II.2.3.1. La pré culture des champignons | 26 |
| II.2.3.2. Préparation de milieu de culture | 26 |
| II.2.3.3. Préparation des dilutions des extraits | 27 |
| II.2.3.4. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de contact direct | 27 |
| II.2.3.5. La cinétique de la croissance mycélienne | 28 |
| II.2.4. L'analyse statistique | 28 |
| Partie III : Résultats et discussions | 30 |
| III.1. Rendement d'extraction | 30 |
| III.2. L'évaluation de l'activité antifongique | 32 |
| III.2.1. La cinétique de croissance mycélienne | 32 |

| | |
|--|-----------|
| III.3.Taux d'inhibition de la croissance mycélienne | 36 |
| <i>Conclusion</i> | <i>42</i> |
| <i>Références Bibliographiques.....</i> | <i>44</i> |
| Annexes | 54 |

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Classification des composés phénoliques selon le nombre des atomes de carbone (Vermerris <i>et al.</i> , 2007). | 8 |
| Tableau 2 : Les principaux constituants volatils des racines de <i>T. garganica</i> de différentes origines | 14 |
| Tableau 3 : Situation géographique de la zone de récolte. | 20 |
| Tableau 4 : Codes et origines de souche fongique | 22 |
| Tableau 5 : Concentration des dilutions utilisées | 27 |
| Tableau 6 : Teneurs en extraits bruts (m/m %) | 30 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Structure d'un phénol simple réalisée par Chem Draw..... | 7 |
| Figure 2 : Distribution de genre <i>Thapsia</i> dans le monde | 10 |
| Figure 3 : Thapsigargine et ses pro-drogues..... | 15 |
| Figure 4 : Cycle biologique de <i>fusarium</i> sur les céréales (http://campaigns.adama.com/france/fr/info-fusariose/#fusariose) | 18 |
| Figure 5 : Carte géographique de Tadjmout-wilaya de Laghouat | 20 |
| Figure 6 : Photographie illustrant les racines de <i>Thapsia garganica</i> a. Avant nettoyage ; b. Après nettoyage | 21 |
| Figure 7 : Photographie illustrant les racines de <i>Thapsia garganica</i> . a. après séchage ; b. après broyage..... | 22 |
| Figure 8 : Photo représentant le thalle de <i>Fusarium graminearum</i> | 23 |
| Figure 9 : Procédure d'extraction par fractionnement solide-liquide | 25 |
| Figure 10: Teneurs en résidus secs des trois parties de la plante obtenus par les différents solvants | 31 |
| Figure 11: La cinétique de croissance mycélienne de <i>F. graminearum</i> en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait d'Hexane..... | 33 |
| Figure 12 : La cinétique de croissance mycélienne de <i>F. graminearum</i> en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait d' d'acétate d'éthyle | 33 |
| Figure 13: La cinétique de croissance mycélienne de <i>F. graminearum</i> en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait dichlorométhane | 34 |
| Figure 14 : La cinétique de croissance mycélienne de <i>F. graminearum</i> en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait méthanol | 35 |
| Figure 15 : % d'inhibition des deux extraits (dichlorométhane et méthanol) des racines de <i>Thapsia garganica</i> | 36 |
| Figure 16 : % d'inhibition d'extraits hexanique des racines de <i>Thapsia garganica</i> | 36 |
| Figure 17 : % d'inhibition d'extraits d'acétate d'éthyle des racines de <i>Thapsia garganica</i> | 37 |
| Figure 18 : Effet de l'extrait acétate d'éthyle de racines de <i>T.garganica</i> vis-à-vis <i>Fusarium graminearum</i> | 38 |
| Figure 19 : Effet de l'extrait méthanol de racines de <i>T.garganica</i> vis-à-vis <i>Fusarium graminearum</i> | 38 |
| Figure 20 : Effet de l'extrait dichlorométhane de racines de <i>T.garganica</i> vis-à-vis <i>Fusarium graminearum</i> | 39 |

Figure 21 : Effet de l'extrait hexane de racines de *T.garganica* vis-à-vis *Fusarium graminearum* 39

Abréviations

| | |
|---------|--|
| Ac-O-Et | Acétate d'éthyle |
| DCM | Dichlorométhane |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| F | <i>Fusarium</i> |
| Fv | Flavonoïde |
| HE | Huile Essentielle |
| I (%) | Pourcentage d'inhibition |
| INRA | Institut National de Recherche Agronomique |
| MeOH | Méthanol |
| PDA | Potato Dextrose Agar |
| pH | Potentiel hydrogen |
| SERCA | Sarco/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase |
| T | <i>Thapsia</i> |
| TG | Thapsigargine |

Introduction

Introduction

En raison de son vaste étendue et sa diversité climatique et physiographique, notre pays « Algérie », dispose d'une grande diversité floristique, Pour leur part, **quezel et Santa (1962)** dénombrent 3139 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable d'espèces endémiques.

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des molécules bioactives. En effet, les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers ont pour fonction notamment la protection contre les microorganismes, les animaux et même d'autres plantes (**Junio et al., 2011**).

Thapsia garganica L (famille des Apiacées) est une des plantes spontanées de notre région laghouatienne, d'après **Hammiche et al (2013)**, cette plante est utilisée en médecine traditionnelle algérienne, principalement sous forme de préparations à partir des racines contre les douleurs rhumatismales et les bronchites, mais, à cause de sa toxicité, l'utilisation de cette plante est limitée.

Les champignons sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées. Leur danger provoque des dégâts qui touchent différents produits agricoles, alimentaires et nombreux autres domaines (**Catherine et Roger, 2005**). Parmi eux, le *Fusarium graminearum* qui représente l'un des espèces des champignons phytopathogènes de genre *Fusarium*, responsable de la maladie des céréales appelée la fusariose, Elle provoque des nécroses sur les différentes parties végétatives de la plante affectée ; ce qui engendre des pertes importantes, de qualité et de rendement, et peut conduire à la perte de toute la culture (**El-Houiti, 2018**).

En ce qui concerne la lutte contre la fusariose, les agriculteurs utilisent généralement des fongicides synthétiques qui peuvent stimuler la biosynthèse des mycotoxines et entraîner le développement de souches résistantes. De plus, elle présente plusieurs inconvénients tels que les problèmes de pollution environnementale (**Kanda, 2003**).

Alors, suite aux problèmes environnementaux causés par l'utilisation des produits chimiques affectant l'environnement, la biodiversité et la santé humaine et animale, les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle des molécules naturelles bioactives, et font l'objet de projets de recherche pour leur

éventuelle utilisation dans divers domaines, notamment comme alternative à la protection des végétaux

Dans ce contexte, parmi les stratégies alternatives à l'utilisation des pesticides chimiques, les bio-pesticides d'origine végétale connaissent depuis quelques années un intérêt grandissant ; afin de réduire l'utilisation des fongicides synthétiques.

Les recherches menées avant sur la *Thapsia garganica* étaient sur sa composition en huiles essentielles, ses activités antioxydantes et antimicrobiennes, et d'après littérature, il n'y a aucune étude concernant l'évaluation de l'effet antifongique, des extraits de cette plante, contre le *Fusarium graminearum*.

Pour ce, et dans le but de trouver des nouvelles substances naturelles alternatives aux produits chimiques utilisées contre le fusariose, l'objectif de notre travail est l'évaluer l'activité antifongique de quatre extraits des racines de *T garganica* sur la croissance de *Fusarium graminearum*

Le plan de travail adopté est réparti en trois parties :

- la première partie est exploitée pour la recherche bibliographique où nous apportant des généralités sur les plantes médicinales, étude botanique de *Thapsia garganica*, les métabolites primaires et secondaires et les champignons phytopathogènes.
- La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées pour réaliser ce travail.
- La troisième partie présentera les résultats obtenus accompagnés de leur discussion.

Enfin on terminerons par une conclusion et certaines perspectives.

Etude Bibliographique

Partie I : Etude bibliographique

I.1. Les plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Ils peuvent être utilisés à la fois en médecine classique et en phytothérapie: leur existence c'est en effet un avantage qui manque souvent aux médicaments (**Iserin, 2001**).

On appelle plante médicinale toute plante utilisée en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur effet provient de leurs substances bioactives (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie de différentes composées présentes (**Sanogo, 2006**).

I.1.1. Origine des plantes médicinales

a. Les plantes spontanées

Les plantes spontanées sont des espèces végétales qui se développent naturellement à l'état sauvage, sans l'intervention de l'homme (**Guehiliz, 2016**).

Les ressources végétales spontanées constituent jusqu'à ce jour une source d'intérêt primordial pour l'homme et ses besoins. Elles représentent aussi un phytomédicament appréciable par la population de certains pays du Monde et surtout les pays en voie de développement (**Bradai et al., 2014**).

b. Les plantes cultivées

Les plantes cultivées appartiennent à une série étroitement liée à la présence de l'homme par ailleurs la culture consiste à reproduire le milieu original de ces plantes dans des zones cultivées (un champ ou un jardin) (**Barbié, 2007**).

I.1.2. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires tels que les glucides, les acides organiques et aminés, et les lipides, sont essentiels à la croissance, au développement, à l'adaptation au stress et à la défense des plantes. Outre l'importance pour la plante elle-même, ces métabolites déterminent la qualité nutritionnelle des aliments, la couleur, le goût, l'odeur, les propriétés

antioxydants, antihypertenseurs, antimicrobiennes, immunostimulantes et antifongique (Zaynab *et al.*, 2019).

I.1.2.1. Les Lipides

Les lipides (du grec lipos signifié graisse) forment un ensemble de différentes molécules ; qui sont facilement soluble dans les solvants organiques mais très peu dans l'eau Ils comprennent les graisses, les huiles ainsi que les phospholipides et les glycolipides .Les stérols et les molécules qui comportent une grande chaîne d'hydrocarbures tels que les pigments chlorophylliennes ou les caroténoïdes, bien qu'ils sont chimiquement différents, sont considérés comme des lipides sur la base de leurs solubilité (Hopkins, 2003).

Les lipides jouent un rôle important en tant que médiateurs endogènes de fonctions biologiques spécifiques (Lagarde, 2003). Ils représentent environ 20 % du poids du corps, et considérées comme une grande réserve énergétique (Touitou, 2005).

Plusieurs classifications existent pour cette famille de molécules et selon divers critères, mais l'une des plus importantes est celle qui repose sur la structure (Nebeg, 2020). ; on distingue ainsi :

a) Lipides vrais

Ce sont des esters d'acides gras et d'alcool. Ils sont saponifiables, c'est-à-dire qu'ils forment des savons lors de leur hydrolyse par une base forte en milieu alcoolique. Ils se subdivisent en lipides simples et lipides complexes

b) Les composés à caractères lipidiques

Ce sont les composés naturels qui ne font pas partie des lipides vrais (liaison avec des acides gras, saponification) mais qui en possèdent la plus part des propriétés des lipides (physiques et chimiques), tout particulièrement la solubilité : insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. Ils se divisent en icosanoïdes et isoprénoïdes.

I.1.3. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être définis comme un groupe hétérogène de produits métaboliques naturels qui ne sont pas essentiels à la croissance végétative des organismes producteurs, mais ils sont considérés comme des composés de différenciation conférant des rôles adaptatifs par exemple en agissant comme des composés défensifs dans les interactions écologiques Ou le rôle de molécules de signalisation, symbiose, transport de métaux, compétition (Thirumurugan *et al.*, 2018).

Les métabolites secondaires des plantes sont classés selon leurs structures chimiques en plusieurs classes :

a. Les composés phénoliques

Ce sont des composés qui ont un ou plus de groupes hydroxyle attachés directement à un cycle aromatique (Vermerris *et al.*, 2007).

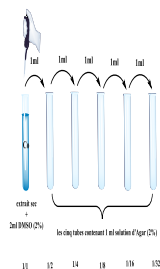


Figure 1: Structure d'un phénol simple réalisée par Chem Draw

Les composés phénoliques constituent probablement le plus grand groupe de métabolites secondaires végétaux. Ils partagent la présence d'un ou plusieurs groupes phénol comme une caractéristique commune et vont des structures simples avec un cycle aromatique à des substances polymères très complexes.

Ils sont répandus dans les plantes où ils contribuent de manière significative à la couleur, au goût et à la saveur de nombreuses herbes, aliments et boissons (Hussein *et al.*, 2018).

Ces composés phénoliques peuvent être classés selon plusieurs critères. **Harborne et Simmonds (1964)** ont classé ces composés, dans des groupes, sur la base de nombre des atomes de carbones (tableau 01).

Tableau 1 : Classification des composés phénoliques selon le nombre des atomes de carbone (*Vermerris et al., 2007*).

| Structure | Classe |
|----------------------|--|
| C6 | Phénol simple |
| C6_C1 | Acides phénolique |
| C6_C2 | Acetophenones and phenylacetic acids |
| C6_C3 | Cinnamic acids,cinnamyl aldehyds,cinnamyl alchools |
| C6_C3 | Coumarins ,isocoumarins , and chromons |
| C15 | Chalcons , aurones , dihydrochalcones |
| C15 | Flavans |
| C15 | Flavones |
| C15 | Flavanones |
| C15 | Flavanonols |
| C15 | Anthocyanidins |
| C15 | Anthocyanins |
| C30 | Biflavonyls |
| C6_C1_C6_C6_C2_C6 | Benzophenones , xanthones , stilbenes |
| C6_C10_C14 | Quinines |
| C18 | Betacyanins |
| Lignans , neolignans | Dimmers or oligomers |
| Lignin | Polymers |
| Tannins | Oligomers or polymers |
| Phlobaphenes | Polymers |

b. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des molécules ou des substances organiques naturelles provenant principalement des plantes, leurs structures chimiques contiennent au moins un atome d'azote, des dizaines de milliers d'alcaloïdes en ont été isolés à partir des plantes depuis que le premier alcaloïde à savoir la morphine a été identifié (**Muniz, 2006**).

c. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange complexe de composés organiques volatils qui sont synthétisés naturellement dans différentes parties de la plante (**Vigan *et al.*, 2010**).

Les familles végétales riches en huiles essentielles sont assez nombreuses; la composition de chaque huile dépend non seulement de la famille mais aussi de la partie de la plante dont elle est extraite, et parfois du sol où pousse la plante, et même du moment de la récolte (**Wani *et al.*, 2020**).

I.1.4.. Activités biologique des plantes médicinale

De nombreuses plantes médicinales ont été consacrées au traitement de différentes maladies chez l'homme et les animaux en raison de leurs propriétés biologiques intéressantes qui sont utilisés dans divers domaines (**Jdidi, 2015**).

En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne et antifongique (**Kada, 2018**).

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal ; Un très grand nombre de genres de cette famille sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique , Plusieurs propriétés biologiques différentes telles que les propriétés antioxydantes antifongiques, anti-inflammatoires cytotoxiques et anticancéreuses ont été rapportées pour espèces de cette famille et certaines d'entre elles sont encore utilisées en médecine traditionnelle (**Naghibi *et al.*, 2005 ; Djeridane *et al.*, 2006 ; Liu *et al.*, 2006 ; Jakobsen *et al.*, 2001 ; Ouarghidi *et al.*, 2012; Abderrahim *et al.*,).**

Présentation de l'espèce *Thapsia garganica*

I.2. Généralités sur le genre *Thapsia*

Le genre *Thapsia* L. appartient à la famille des Apiacées réparties dans la région méditerranéenne de la péninsule ibérique et de l'Afrique du Nord (figure 01) (Casiglia *et al.*, 2016). Ce genre est actuellement mal défini, avec des erreurs fréquentes dans l'identification des espèces, selon la base des données « Plants of the World online (25 mai 2021) », il comprend exactement 20 espèces connues.



Figure 2 : Distribution de genre *Thapsia* dans le monde

<http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:40592-1>

■ Albanie, Algérie, Baléares, Est de la mer Égée, France, Grèce, Italie, Kriti, Libye, Maroc, Portugal, Sardaigne, Sicile, Espagne, Tunisie, Turquie

Les espèces de *Thapsia* sont des plantes herbacées vivaces, atteignant 50–200 cm de hauteur. Les inflorescences sont de grandes ombelles régulièrement réparties. Les fruits ont deux ailes membraneuses très caractéristiques (Andersen *et al.*, 2015). L'espèce la plus largement distribuée au sein du genre est *T. garganica*, qui est la plus utilisée en médecine traditionnelle et moderne (Weitzel *et al.*, 2014).

I.2.1. Étymologie et noms vernaculaires de *Thapsia garganica* L.

I.2.1.1. Etymologie

Le mot *Thapsia* dérive du nom de l'île de Thapsus, voisine de la côte de Sicile (au sud de l'Italie où elle était découverte pour la première fois. *Garganica* vient de Garganus, mont d'Apulie (actuellement les Pouilles) où elle poussait abondamment (**Hamliche et al., 2013**).

I.2.1.2. Noms vernaculaires

Français : Thapsia du Mont-Gargan, Faux fenouil, Thapsie.

Arabe dialectal : Bou-nafà (le père de l'utile), Dryas, aderyas, Adrias.

Berbère : Atharghis, Toufelt, Adbib, Tafsia (**Hamliche et al., 2013**).

I.2.2. Description botanique de *Thapsia garganica* L.

La racine : Possède une écorce qui se présente sous forme de fragments, sa face externe est de couleur jaune brunâtre très claire, sa face interne est blanche, l'odeur de l'écorce de racine est presque nulle alors que sa saveur est à la fois piquante et caustique (**Nebeg, 2020**).

La tige : Une tige striée, glabre, vert-grisâtre, ramifiée dans sa partie supérieure, atteignant de 0,90 à 1,40m de hauteur (**Pottier-Alapetite, 1981**).

Les feuilles : Les feuilles sont vertes, glabres. Les feuilles primordiales sont petites, elliptiques et entières, les suivantes sont palmatilobées. Les feuilles de la base de la tige sont grandes, 2-3 pennatiséquées, les supérieures sont réduites à une gaine large (**Pottier-Alapetite, 1981**).

Les fleurs : Les inflorescences jaunâtres, en grandes ombelles presque sphériques, à 15-20 rayons, sans involucre; calice à 5 lobes courts et corolle à 5 pétales lancéolés, courbés à leur sommet; 5 étamines; un ovaire inférieur terminé par deux styles, L'inflorescence de cette plante aura lieu entre le mois d'Avril et juillet (**Baba Aissa, 2000**).

Le fruit : Le fruit de grande taille - 25 mm sur 15 mm - est un akène double dont les deux méricarpes ont les cotes secondaires, latérales, fortement dilatées en ailes membraneuses (**Hamliche et al., 2013**).

I.2.3. Classification

D'après **Guignard (1989)**, la classification de la *Thapsia garganica* est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes (plantes à graines)

Sous embranchement : Angiospermes (plantes à fleurs)

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Apiales

Famille : Apiacées (Ombellifères)

Genre : *Thapsia*

Espèce : *Thapsia garganica* L (**Outroune et Ramini., 2012**).

I.2.4. Localisation géographique de *Thapsia garganica* L

Le genre *Thapsia* généralement et l'espèce *T. garganica* en particulier sont présents principalement dans les régions ouest du bassin méditerranéen et s'étendent jusqu'aux côtes atlantiques du Portugal et du Maroc (**Antonio et Arregui, 2003**). Elle affectionne les localités marécageuses, les marais en voie de dessiccation et le bord des ruisseaux, aussi, les lieux rocheux, les champs et les pentes ensoleillées (**Soubeiran, 1870 in Bouhidel et al., 2016**). En Algérie, elle est commune dans les champs et sur les bords des routes (**Baba Aissa, 2000**).

T.garganica croit en abondance, spontanément et sans aucune culture dans les conditions suivantes :

- **Exposition:** Plein soleil;
- **Humidité:** Sol sec à moyen;
- **Sol:** Sol léger à moyen, riche en humus;
- **pH:** Sol acide ou calcaire (**Soubeiran, 1870 in Bouhidel et al., 2016**)

I.2.5. Toxicité de *Thapsia garganica*

Cette plante est classée parmi les plantes toxiques (Quezel et Santa, 1962), d'après Hammiche *et al* (2013), toute la plante est toxique par sa résine, jaune ou légèrement rougeâtre, rubéfiante et vésicante, particulièrement abondante dans l'écorce de la racine. Les racines contiennent principalement des constituants volatils et des lactones sesquiterpènes : thapsigargine et thapsigarginine. La thapsigargine est capable d'induire la libération d'histamines de diverses cellules de l'organisme. Cette propriété est à l'origine du caractère vésicant mais aussi d'intoxication humaine si elle est consommée (Mohammedi *et al.*, 2014).

Il s'agit, surtout, d'intoxications animales. Elles ne sont pas rares, soit que des fruits et des feuilles soient mêlés au fourrage, soit que les troupeaux nomadisent loin de leur aire naturelle de pâturages ; ainsi, les chameaux qui confondent les jeunes pousses de *Thapsia* avec une Ombellifère saharienne, sont pris de gastro-entérite. Les intoxications humaines sont toutes dues aux utilisations traditionnelles mal maîtrisées. Au CAP d'Alger, on relève, chaque année, une à deux intoxications causées par des utilisations abusives de la racine, principalement (Hammiche *et al.*, 2013).

I.2.5.1. Symptômes et lésions

Sur la peau, l'action révulsive se manifeste d'abord par une rubéfaction violente avec forte éruption de vésicules et s'accompagne d'un œdème sous-jacent et de prurit intense qui peut aboutir à la formation de pustules. On note, parfois, de la fièvre. L'inflammation et le prurit évoluent, en 3 à 4 jours, vers un dessèchement de l'épiderme qui se desquame sans laisser de cicatrices. L'ingestion, chez l'homme, se traduit, même à faible dose, par de la diarrhée parfois des vomissements, un érythème de la face, un œdème buccal et oculaire (Hammiche *et al.*, 2013)

I.2.6. Composition chimiques de *Thapsia garganica*

Thapsia garganica contient des métabolites primaires et des métabolites secondaires utiles tels que les huiles essentielles, les polyphénols et les sesquiterpènes.

I.2.6.1. Les huiles essentielles

À l'issue de plusieurs travaux réalisés sur les huiles essentielles de différentes parties de l'espèce *Thapsia garganica* : graines, feuilles et racines, les résultats ont montré une diversité dans la composition des huiles dans différentes régions du monde.

Les principaux travaux sont recueillis dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Les principaux constituants volatils des racines de *T. garganica* de différentes origines

| Organes | Origine | Principaux composants | Référence |
|-------------|---------|--|-------------------------------|
| Les racines | Italie | Élémicine (53,7–73,0%), latifolone (19,6–32,7%), dérivés de l'acide férulique (2,6–6,6%), myristicine (1,3–3,2%) | Avato et Rosito (2002) |
| Les racines | Tunisie | Bicyclogermacrene (21.6%), (E)-phytol (4.5%), hexadecanoic acid (4.0%), geranial (3.8%), | Hassen et al., (2015) |
| Les racines | France | δ-cadinène (16,7%), β-myrcène (2,9%), δ-guaiène (2,3%), 2-nonénal (2,2%), β-citral (2,2%), β-élémente (2,1%) | Drew et al., (2012) |

I.2.6.2. Les sesquiterpènes lactones « la thapsigargine »

Le genre *Thapsia* des Apiacées est la source naturelle principale des lactones sesquiterpènes qui appartiennent au groupe des guaianolides, le composant le plus connu est la thapsigargine (TG) (**Drew et al., 2012**).

Ce composé est isolé à partir des fruits et des racines de *T. garganica*, elle présente une structure complexe avec un noyau tricyclique polyoxygéné à huit centres stéréogènes (Makunga *et al.*, 2003).

La thapsigargine est actif aux concentrations de nM, jeu le rôle d'un inhibiteur sélectif de la pompe $\text{Ca}^{2+}/\text{ATPase}$ du réticulum sarcoplasmique/endoplasmique (SERCA) spécifique chez les cellules animales, aussi il pourrait offrir un nouveau type de chimiothérapie pour le traitement du cancer de la prostate «le pro-drogue G202 » (Denmeade *et al.*, 2003).

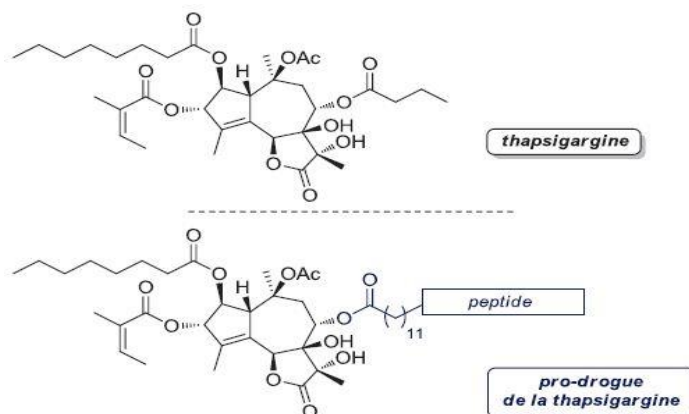


Figure 3 : Thapsigargine et ses pro-drogues
(Christensen *et al.*, 2009).

I.2.6.3. Les polyphénols

Plusieurs travaux ont montré que *Thapsia garganica*, contiennent des polyphénols dont la classe dominante est celle des flavonoïdes (Rached *et al.*, 2010, Djeridane *et al.*, 2007), les résultats de Nebeg (2020) ont montrés une différence considérable entre les proportions des flavonoïdes dans les phénols totaux entre les différentes parties de plante, les teneurs polyphénols totaux obtenues sont exprimées en milligrammes équivalents d'acide gallique par matière végétale sèche et varient de 0,05 à 09,09 mg EAG/g Ms et la teneur totale en flavonoïdes est exprimée en équivalent quercétine par gramme de matière sèche

I.2.7. Utilisation de l'espèce *Thapsia garganica*

I.2.7.1. Usage en médecine traditionnelle

L'effet irritant de l'extrait de la racine de *T. garganica* sur la peau a été décrit pour la première fois par Hippocrate le « père de la médecine grecque » 400 ans AJC, et les

préparations à partir de ses racines ont été utilisées depuis en médecine traditionnelle en Europe et dans certains pays arabes de la côte méditerranéenne (**Frédéric, 2012**).

Cette plante est d'un usage traditionnel curant en Algérie pour le traitement des hémorroïdes, des affections broncho-pulmonaires, des troubles digestifs et rhumatisme sous forme de préparations aqueuses ou huileuses à application externe exclusive (**Maiza et al., 1993**). En certains lieux de la Kabylie (Algérie), le premier jour du printemps est solennisé par une préparation d'un plat cuisinier : couscous à la vapeur d'une décoction de racines de *Thapsia* pour ses vertus digestives.

Dans la médecine traditionnelle marocaine, on trouve également des utilisations locales dans les bronchites et les toux rebelles ainsi que par voie orale dans la fertilité féminine. On l'utilise aussi, mélangé à de la farine et à du son, en cataplasmes locaux, contre les morsures d'animaux veineux ou enragés (**Bammi et Douira, 2002**).

La racine fraîche est enfouie dans des cendres chaudes jusqu'à ramollissement et exsudation de la résine; elle est, alors, grossièrement broyée et placée dans un pansement; Ce pansement, appliqué sur le thorax préalablement enduit d'huile d'olive (**Hammiche et al., 2013**). La plante entière est utilisée comme cataplasme contre les fluxions, les abcès etc. (**Rached, 2009**).

I.2.7.2. Utilisations thérapeutiques

La plante fait l'objet d'investigations dans le traitement du cancer de la prostate ; Les chercheurs ont conçu, à partir de la thapsigargine et la thapsigargicine (des composés majoritaires de *T. garganica*), une pro-drogue appelée G202. La G202 est hydrolysée par une carboxypeptidase membranaire, spécifique des cellules cancéreuses prostatiques ; cette hydrolyse active la G202 qui inhibe les ATPases de réticulum endo et sarco plasmiques ce qui induit la mort de ces cellules (**Hammiche et al., 2013, Makunga et al., 2003**).

Outre la thapsigargine, des travaux ont été réalisés sur les autres métabolites dont les flavonoïdes et les composés phénoliques. Dans ce contexte, **Rached et al. (2010)** a signalé la présence d'un effet antioxydant in vitro des extraits bruts des racines et des feuilles de *T. garganica*.

I.3. Les champignons phytopathogènes

I.3. 1. Généralités sur les champignons phytopathogènes

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).

I.3. 2. Les maladies cryptogamiques

Les maladies cryptogamiques sont considérées comme facteurs limitant de la production des céréales, des cultures maraîchères et forestières, car elles occasionnent des pertes considérables (Azouaoui-Ait Kettout *et al.*, 2007) . Parmi ces maladies la fusariose.

I.3.3. La fusariose

La fusariose est une maladie causée par des champignons du genre *Fusarium* qui vivent dans le sol, et attaquent de nombreuses plantes. La fusariose peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* (Parry *et al.*, 1995) dont le nom donné est relié à l'allure fusiforme de ses spores. Les espèces du genre *Fusarium* sont des pathogènes responsables des pertes économiquement importantes chez la majorité des cultures. Ces agents pathogènes peuvent causer la fonte de semis, la pourriture des racines et du collet (Pauvert, 1984). Ils attaquent tous les organes végétatifs et reproducteurs des plantes (Gargouri, 2003).

I.3.3.1. Cycle de vie de fusarium

Le champignon qui cause la maladie persiste et se multiplie sur les résidus végétaux infectés, qu'il s'agisse de céréales, de graminées ou d'autre plantes, cultivées ou non, qui se trouvent dans le champ et dans les environs. Les spores de fusarium se déposent sur les épis à la faveur de vent et des éclaboussures. Les petites céréales sont sensibles à l'infection à partir de la floraison jusqu'au stade mi-pâteaux, voire plus tard selon les caprices du climat. Les conditions les plus propices à l'infection sont des périodes de 48 à 72 heures de forte humidité et des températures de 24 à 30°C (Lounaci, 2017).

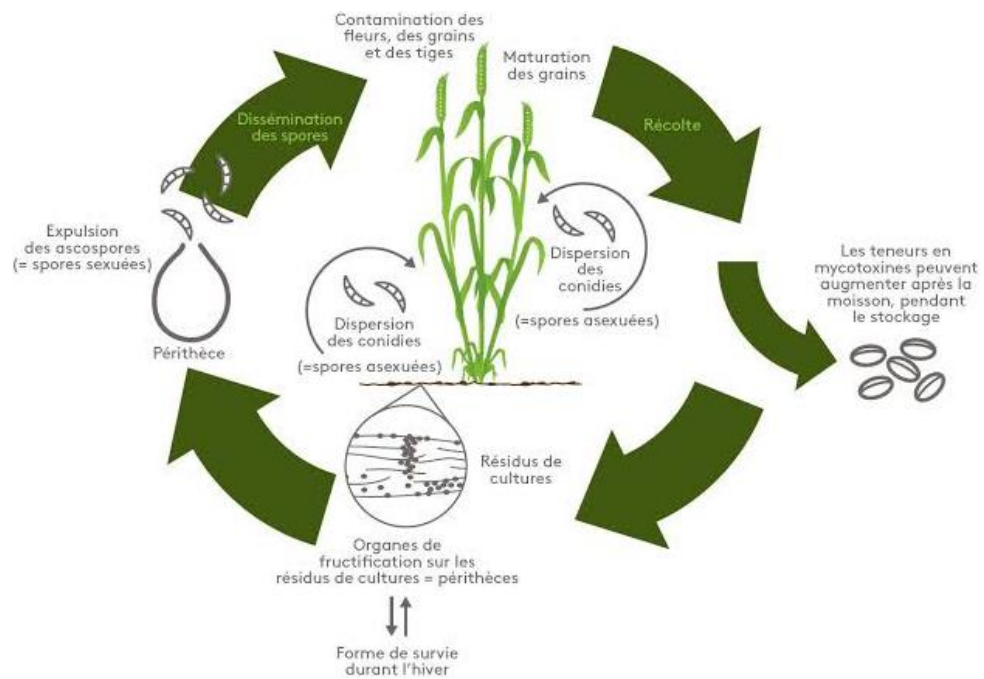


Figure 4 : Cycle biologique de *fusarium* sur les céréales
(<http://campaigns.adama.com/france/fr/info-fusariose/#fusariose>)

Matériels et Méthodes

II.1.1.2. Echantillonnage et période de collecte de plante

La croissance de la plante, qui se caractérise par un cycle végétatif court commençant en janvier et se terminant en juillet. *Thapsia garganica* reste intacte pendant toute cette période car elle n'est pas exposée au pâturage des animaux (Nebeg, 2020).

Les racines de cette plante ont été cueillies au cours du mois de mars. Ce processus se fait en prenant toutes les mesures nécessaires pour éviter le contact direct avec la plante qui cause une dermatite de contacte.

II.1.1.3. Séchage et conservation du matériel végétal

Suit de la récolte les racines sont bien nettoyées pour éliminer, l'écorce, le reste de terre, la poussière, ainsi que d'autres impureté.



Figure 6 : Photographie illustrant les racines de *Thapsia garganica* a. Avant nettoyage ; b. Après nettoyage

Après deux mois de séchage à l'aire libre, à température ambiante, à l'abri de la lumière et dans un endroit sec, la partie souterraine de la plante (racine) est soumise à un broyage. Une fois séché et broyé, il a été conservé dans des sacs en papier jusqu'au moment de l'extraction.

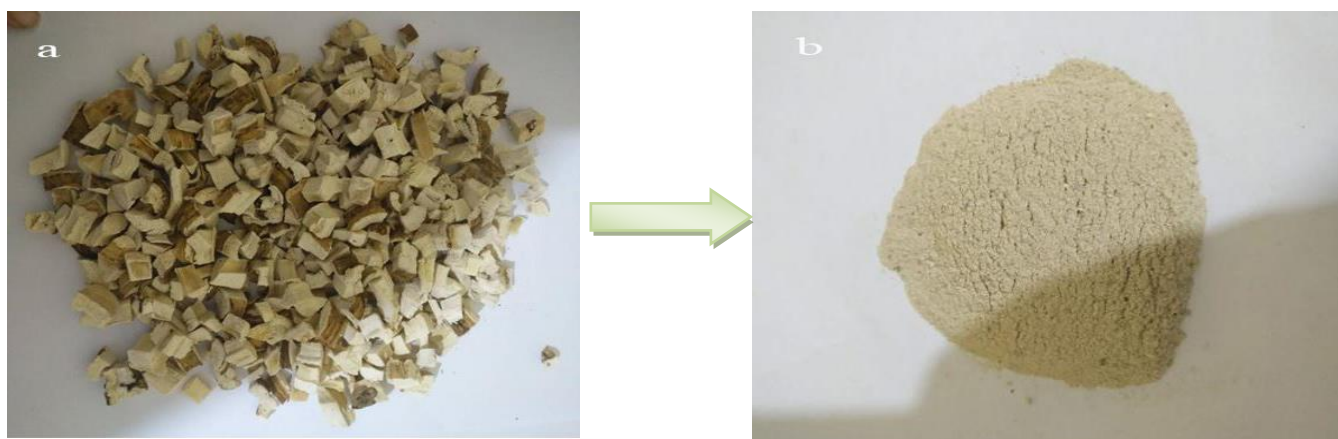


Figure 7 : Photographie illustrant les racines de *Thapsia garganica*. a. après séchage ; b. après broyage

II.1.2. Le matériel fongique

II.1.2.1. La souche fongique sélectionnée

Les extraits des racines de *Thapsia garganica* L. ont été testés vis-à-vis une souche fongique qui fait partie d'un groupe de microorganismes appartenant au genre *Fusarium*. Il s'agit de champignons filamenteux (*Fusarium graminearum*) qui est phytopathogène responsable de la fusariose des céréales.

La souche fongique, utilisée dans cette étude, a été fournie par l'unité de recherche 1264 MycSA de l'institut national de recherche agronomique (INRA) bordeaux, France.

Tableau 4 : Codes et origines de souche fongique

| Espèce | Code | Origine |
|-----------------------------|----------|---|
| <i>Fusarium graminearum</i> | INRA 812 | Appartient à la collection FungalGenetic Stock Center (Michigan, États-Unis) |

II.1.2.2. Le genre *Fusarium*

Les champignons du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles (Siou, 2013). Ces champignons contaminent les céréales, les légumes, les arbres fruitiers provoquant des maladies nommées fusarioses. Les *Fusarium* sont généralement impliqués dans la pourriture des racines, tiges et fruits ; dans la dégradation du système vasculaire. Parmi ces champignons cryptogamiques est *F. graminearum*.

II.1.2.3. *Fusarium graminearum*

Fusarium graminearum est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des Nectriaceae. Cette espèce est également connue sous le nom de *Gibberella zeae* (téléomorphe) (Cambaza, 2018).

Il est le principal agent pathogène responsable de la maladie connue sous le nom de fusariose de l'épi (FBH) dans les petites céréales du maïs cultivé au Canada, aux États-Unis, en Chine et dans de nombreux pays européens (Kant *et al.*, 2017).

La couleur du thalle dépend fortement du pH des composants du milieu de culture sur PDA, thalle rose à pourpre devenant brun vineux, Mycélium aérien floconneux, blanchâtre virant au brun rose. Le revers est de couleur rouge à brun rouge (figure 01).

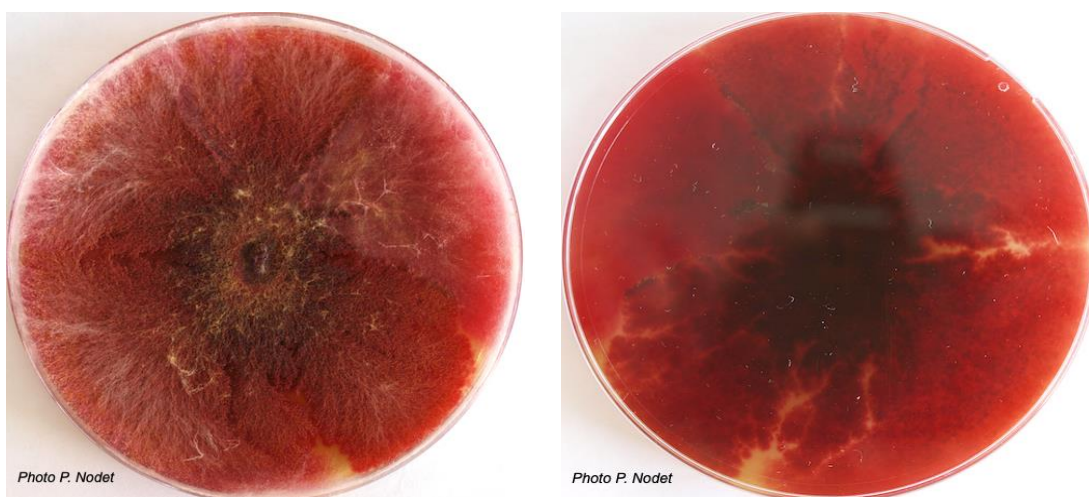


Figure 8 : Photo représentant le thalle de *Fusarium graminearum*

(<https://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/fusagramin>)

II.1.2.4. Classification de *Fusarium graminearum*

Classification de *Fusarium graminearum* (Goswami et Kistler ,2004)

| | |
|----------------------|--|
| Règne | Champignons |
| Embranchement | <i>Ascomycota</i> |
| Classe | <i>Sordariomycetidae</i> |
| Ordre | <i>Hypocreales</i> |
| Famille | <i>Nectriaceae</i> |
| Genre | <i>Fusarium (Gibberella)</i> |
| Espèce | <i>Fusarium graminearum</i> <i>(Gibberella zae)</i> |

II.2. Méthodes expérimentales

II.2.1. Extraction des fractions polaire et apolaire des racines de *T.garganica*

L'extraction par solvant est une opération de séparation d'une substance se trouvant dans une matière première solide grâce à l'utilisation d'un solvant liquide dans lequel la substance à extraire est soluble (Ngamprasertsith, 1993).

Dans le but d'étudier la fraction lipidique des racines de *Thapsia garganica*, nous avons adopté la méthode de l'extraction par Soxhlet avec l'utilisation de l'hexane comme solvant. L'extraction est réalisée pendant 24 h.

Les ultrasons de puissance sont maintenant bien connus pour avoir des effets significatifs sur la cinétique de certaines réactions chimiques ou encore sur la réduction du temps et aussi sur l'augmentation des rendements. En effet, la cavitation provoquée par les ultrasons est à l'origine de ces effets : le jet de bulles est généré par la pression acoustique, qui impose au contact de la surface membranaire, libérant les molécules biologiquement actives présentes dans les cellules végétales (Veillet, 2010).

Après délipidation, et afin de solubiliser le maximum de composés chimiques présents dans les racines de cette plante, une extraction par fractionnement solide-liquide

avec l'utilisation de trois solvants de polarités croissantes (Dichlorométhane, acétate d'éthyle, et le méthanol) a été effectuée par sonication (Figure 09).

La matière végétal délipéde est mis dans un flacon de 100 ml, une quantité déterminer de solvant est alors ajoutée .le mélange est laissé macéré pendant une heure et a une température de 35 C⁰. Par la suit la matière végétal doit être sécher du solvant précédent avant l'utilisation d'un nouveau solvant.

Une étape de filtration est nécessaire pour séparer l'extrait pur de la poudre végétal produite par les deux types extractions. L'extrait obtenu est ensuite évaporer à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 45 C^o, jusqu'à l'obtention d'un résidu sec.

Les extraits obtenus sont pesés afin de déterminer leur masse pour calculer le rendement.

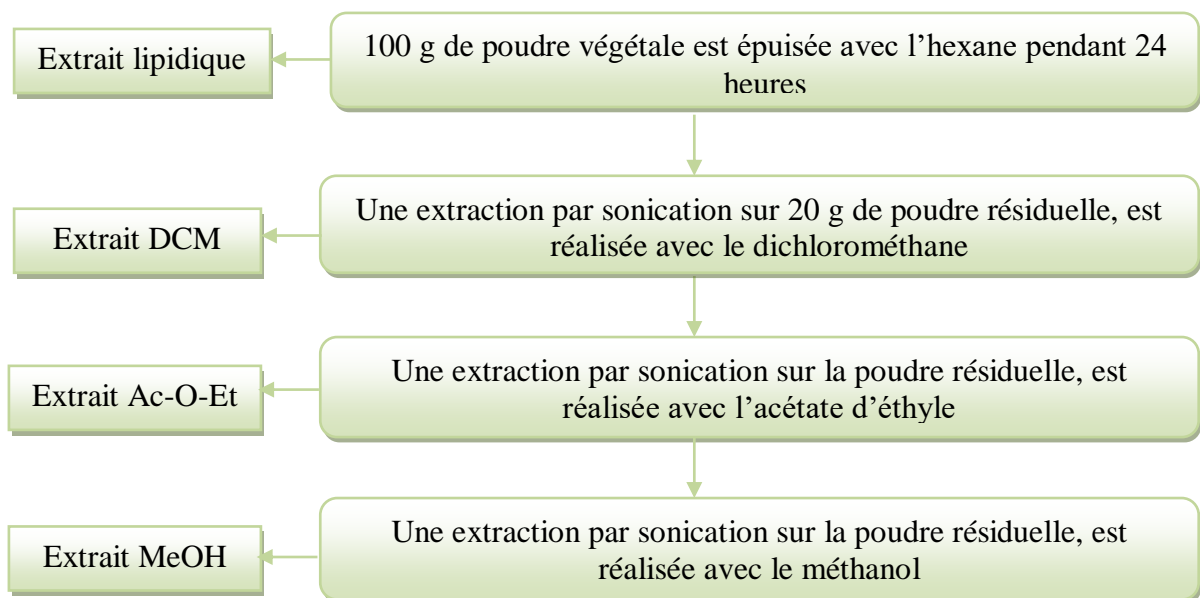


Figure 9 : Procédure d'extraction par fractionnement solide-liquide

II.2.2. Calcule des rendements

La teneur en extrait est définie comme le rapport entre la quantité de l'extrait obtenu et la masse sèche de la plante traitée (El houiti, 2010)

$$T\% = \left(\frac{m}{m_0}\right) \times 100$$

Où,

T% = Teneur exprimé en %

m = La masse de l'extrait récupéré exprimé en g

*m*₀ = La masse de la matière végétale exprimée en g

II.2.3. Etude de l'activité antifongique

La méthode que nous avons adoptée pour évaluer le pouvoir antifongique des extraits de *Thapsia garganica* sur le développement et la croissance mycélien est la méthode de diffusion directe dans le milieu nutritif, ou encore appelée contact direct.

Cette méthode repose sur l'interaction entre le champignon et le milieu de culture qui contient l'extrait à différentes concentration. Un disque mycélien est placé au centre d'une boîte de pétri contenant l'extrait dans un milieu solide gélosé.

II.2.3.1. La pré culture des champignons

Afin d'ensemencer le milieu solide, nous avons transféré une disque de gélose contenant du mycélium sur le milieu PDA vierge à partir d'une culture pure préparée préalablement au centre de chaque boîte de Pétri, l'incubation est réalisée à $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, pendant 6 à 7 jours, jusqu'à ce que la croissance mycélienne atteint les bords des boîtes de Pétri (Collin *et al.*, 1989 in El-Houiti, 2010).

II.2.3.2. Préparation de milieu de culture

Dans notre travail nous avons utilisé le PDA (Potato Dextrose Agar ou pomme de terre glucosée et gélosée) comme un milieu de culture, le choix de ce dernier repose sur son adéquation pour un bon développement du champignon.

a. Mode opératoire

Après avoir épluché les pommes de terre, on mélange 200 grammes de cette dernière, qui a été finement hachée en petits carrés, avec 1 litre d'eau distillée puis on laisse bouillir le mélange à 100°C pendant 20 à 25 minutes jusqu'à ce qu'il murir, puis après filtration, on récupère le jus de pomme de terre .

Le filtrat du bouillon résultant est ensuite dilué avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final d'un litre. On y ajoute 16 g d'agar sous forme de poudre et 20 g de glucose (Ismaili *et al.*, 2014)

Après avoir préparé notre milieu de culture, nous le laissons cuire dans une plaque chauffante avec une agitation continue à l'aide d'un barreau. Enfin, on remplit 13,5 ml du milieu de culture dans des tubes à essais en verre bien fermé et on les passe dans un autoclave (121°C pendant 20 min) pour les stériliser.

Pour la préparation de de solution d'agar (0.2 %), on dissout 2 grammes d'agar dans un litre d'eau distillée, puis on laisse le mélange sur la plaque chauffante jusqu'à ce qu'il devienne limpide. Finalement nous remplissons le mélange dans des flacons de 250ml et on les passe dans un autoclave (121 °C pendant 20 min) pour les stériliser.

II.2.3.3. Préparation des dilutions des extraits

Afin d'évaluer l'activité antifongique des différents extraits, la solution mère est préparée par le DMSO, ensuite les autres dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32) ont été préparées par la solution d'agar. Elles correspondent à des concentrations allant de 1 mg/ml à 130 mg/ml (Tableau 5). (Annexe 01).

Tableau 5 : Concentration des dilutions utilisées

| Dilutions | 1/1 | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 | 1/32 |
|-----------------|-----|-----|-----|-----|------|------|
| Hexane (mg/ml) | 90 | 45 | 23 | 11 | 6 | 3 |
| MeOH (mg/ml) | 130 | 65 | 33 | 16 | 8 | 4 |
| Ac-O-Et (mg/ml) | 50 | 25 | 13 | 6 | 3 | 2 |
| DCM (mg/ml) | 130 | 65 | 33 | 16 | 8 | 4 |

II.2.3.4. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de contact direct

La culture finale des souches fongiques a été réalisée sur le milieu potato dextrose Agar supplémenté d'extrait à différentes proportions. L'agar à 0,2% est choisi comme émulsifiant car il n'a aucun effet sur l'activité de l'extrait.

1,5 ml de chaque dilution (0.5ml d'extrait + 1ml solution d'agar 2%) sont ajoutés aux tubes à essais, contenant chacun 13,5 ml de milieu PDA gélosé, pour obtenir des volumes finals de 15 ml dans chaque tube. Ensuite, les tubes sont agités à l'aide d'un vortex afin de bien disperser l'extrait dans le milieu de culture avant de les verser dans les boites de Pétri. Des tubes, contenant le milieu de culture 13.5ml et 1.5 ml de la solution d'agar (0.2 %), sans extrait diluée, sont également préparés comme témoin (El Ajjouri *et al.*, 2008).

Ce procédé est réalisé dans une zone stérile : On y verse les tubes contenant (PDA + extrait dilué) dans des boites pétries. Immédiatement après refroidissement et

solidification du mélange sur la paille, des disques mycéliens de *Fusarium graminearum* de 5 mm de diamètre qui a été cultivé pendant 7 jours sont mis au centre de chaque boîte. Les boîtes ont été incubées dans l'autoclave à une température de 27 °C.

Les témoins ont été inoculés en suivant le même procédé. Un disque mycélien, prélevé de la culture âgée de 7 jours, a été inoculé aseptiquement au centre des boîtes de Pétri.

II.2.3.5. La cinétique de la croissance mycélienne

La Cinétique de la croissance mycélienne correspond aux variations dans le temps, du diamètre du disque irrigué par les quatre extraits bruts de champignons *Fusarium graminearum* avec différentes concentrations. La cinétique de croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures durant 6 jours.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone de croissance autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse en (mm). Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins dans les mêmes conditions.

Nous avons déterminé l'action antifongique on calcul le pourcentage d'inhibition de croissance I(%) qui est exprimé par la réduction du diamètre de la colonie fongique par rapport au témoin, selon la formule suivante (**Hsu et al., 2007**)

$$(I\%) = (1 - D_a/D_b) \times 100$$

Où :

- I(%):taux d'inhibition de la croissance du mycélium (en %).
- Da: diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience (en présence d'extrait brut)
- Db: diamètre de la colonie mycélienne témoin.

II.2.4. L'analyse statistique

Pour l'étude statistique, nous avons utilisé l'ogiciel MS-Exel 2007. Toutes les expériences ont été répétées trois fois et nous avons calculé la moyenne et l'écart type Pour chaque résultat.

Résultats et discussions

Partie III : Résultats et discussions

III.1. Rendement d'extraction

L'efficacité d'un procédé d'extraction s'évalue à travers le rendement en extrait, cela dépend de la nature chimique de la matière utilisée, de la durée de ce procédé, de la température et surtout du solvant et de sa polarité ; alors pour des mêmes conditions de temps et de température, la composition du végétal et le solvant sont les paramètres les plus importants qui influencent sur le rendement. (Do et al., 2014).

Les teneurs en extrait exprimées en pourcentage ont été calculées par rapport à la masse de la matière végétale (Racines), et les résultats obtenus après l'extraction sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Teneurs en extraits bruts (m/m %)

| Solvant d'extraction | La teneur (%) |
|----------------------|---------------|
| Dichlorométhane | 0.74 |
| Acétate d'éthyle | 0.21 |
| Méthanol | 4.27 |
| Hexane | 2,70 |

L'analyse des résultats, relatifs au rendement d'extraction, montre clairement que la quantité d'extrait obtenue varie d'un solvant à un autre. À cet effet, un ordre croissant des rendements nous a permis de classer les pouvoirs extracteurs des solvants comme suit :

Acétate d'éthyle < Dichlorométhane < Hexane < Méthanol.

Une différence nettement remarquable entre les différents extraits utilisés lors de l'extraction, où le meilleur rendement est enregistré pour le méthanol dont la teneur a atteint le 4.27%, par contre à l'acétate d'éthyle (Ac-O-Et) a enregistré le rendement le plus faible (0.21%).

Le rendement élevé obtenu par le méthanol montre la richesse de *Thapsia garganica* en métabolites polaires.

Résultats et discussion

Le dichlorométhane (DCM) est un solvant avec une polarité de 2,8, donc il a un pouvoir d'extraction importante pour les composés modérément polaires (Soczewiński *et al.*, 2004). L'acétate d'éthyle et le dichlorométhane ont des polarités similaires c'est pourquoi nous avons obtenu un faible rendement par l'acétate d'éthyle.

Une étude réalisée par Idir et Ouadir (2012) a montré qu'un extrait de Ac-O-Et des racines d'une *Thapsia garganica* L donne une teneur de 12,85% , cette valeur est supérieure à celle obtenue dans ce travail (2,70% pour Ac-O-Et), et ce peut être dû à l'utilisation de l'acétate éthyle avec d'autres solvants .

La teneur en extrait hexanique est plus élevée par rapport aux extraits d'Ac-O-Et et de DCM, et ça peut être due à la méthode d'extraction. En effet, l'extraction par Soxhlet donne des rendements élevés à cause de la durée d'extraction (24h), en plus l'hexane extrait les lipides qui sont des métabolites primaires.

Comparons-nous résultats avec ceux obtenus par Nebeg (2020), qui a fait la même méthode d'extraction sur la partie aérienne de *Thapsia garganica* (feuilles et graines), nous remarquons que les résultats obtenus dans ce travail sont très différents, surtout pour le rendement enregistré pour l'extrait hexanique des graines (16,90%) et l'extrait méthanolique des feuilles (10,08 %) (Figure 10).

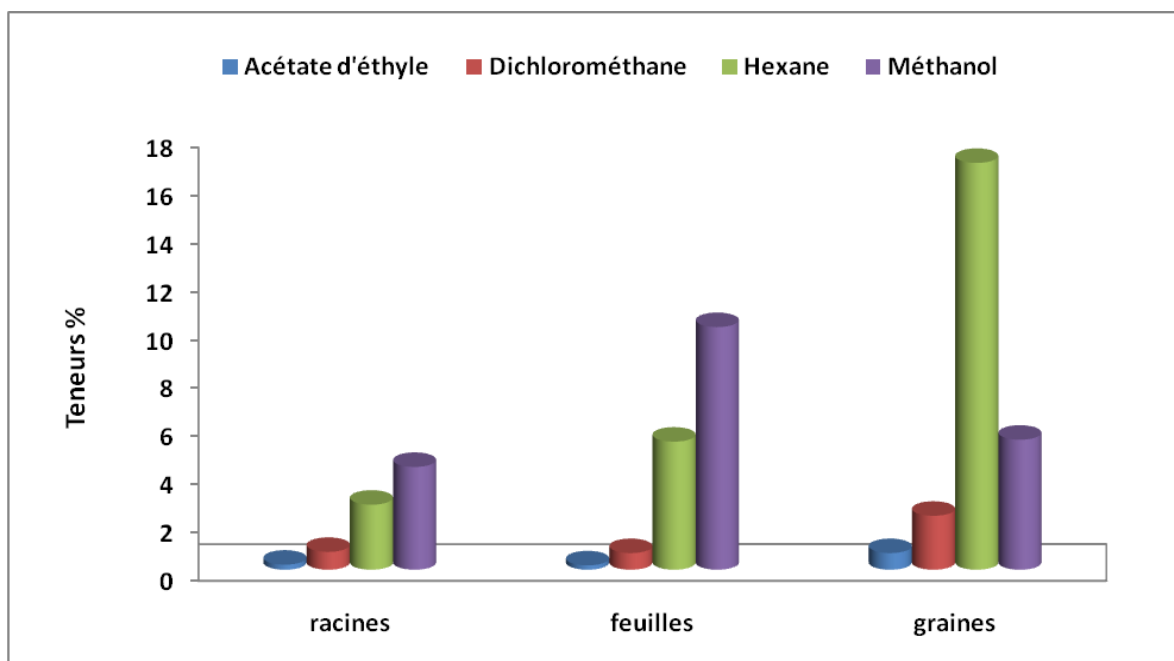


Figure 10: Teneurs en résidus secs des trois parties de la plante obtenus par les différents solvants

Sait et Smaoun (2013) ont constatés que le rendement d'extraction par le méthanol, à partir des racines de *Thapsia garganica*, est meilleur que celui obtenu par l'hexane et le dichlorométhane, et ce résultat est confirmé dans notre étude.

D'après cette étude et d'autres études similaires, nous constatons que les rendements obtenus par les différentes parties; aériennes (feuilles et graines) et souterraine (racines) de *Thapsia garganica*, sont variables. Cette variabilité est due à la plante elle-même (la partie de la plante utilisée, la période de récolte de chaque partie, les conditions extérieures), la méthode d'extraction employée, le solvant d'extraction et plusieurs d'autres facteurs intrinsèques et extrinsèques.

III.2. L'évaluation de l'activité antifongique

III.2.1. La cinétique de croissance mycélienne

L'étude de l'activité antifongique de témoin montre que la croissance mycélienne augmente en fonction du temps d'incubation. Cependant, les diamètres des mycéliums diminuent considérablement avec l'augmentation de la concentration en extrait.

Les graphes ci-après (figures 11, 12,13 et 14), résumant les résultats de la variation des diamètres de la croissance mycélienne (en mm) de la souche fongique *Fusarium graminearum*, en fonction du temps d'incubation et de la concentration des différents extraits des racines de *Thapsia garganica*.

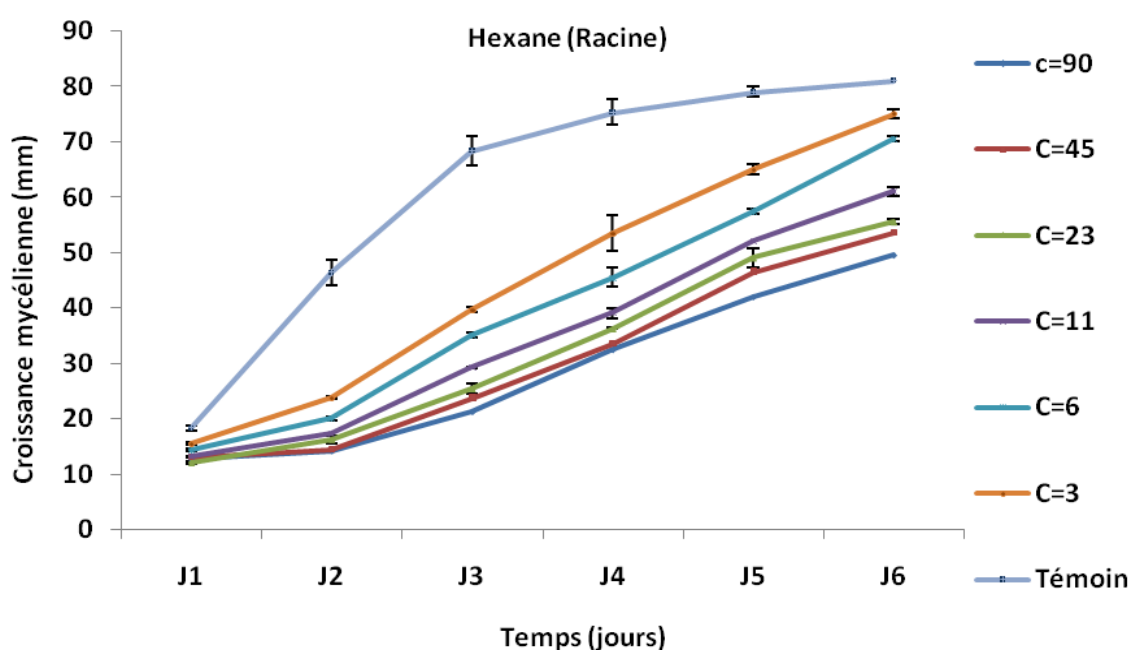


Figure 11: La cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait d'Hexane

La figure (11) représente la cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations d'extrait d'Hexane des racines de *Thapsia garganica*.

Une augmentation de la croissance mycélienne est observée dès le deuxième jour et jusqu'au sixième jour, cette croissance était maximale à une concentration de 3mg/ml avec un diamètre de 74 mm, à ce stade elle ressemblait presque à la croissance de témoin. À partir de cette concentration, la croissance mycélienne de la souche *Fusarium graminearum* est devenue clairement faible par rapport au témoin. , où nous avons noté pour les concentrations 6mg/ml, 11mg/ml ,23mg/ml et 45mg/ml des diamètres de 64mm, 58mm, 57mm, 56mm respectivement. Alors que l'extrait le plus concentré (90 mg/ml) a donné la croissance mycélienne la plus faible avec un diamètre de 45 mm.

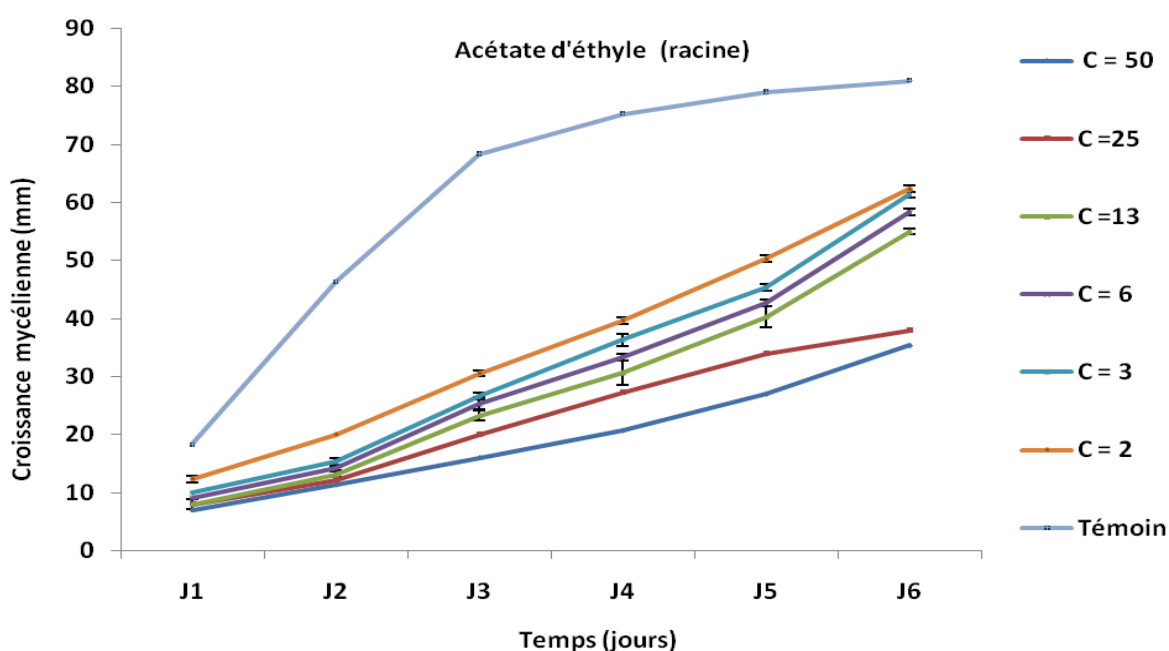


Figure 12 : La cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait d' d'acétate d'éthyle

La figure (12) représente la cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations d'extrait d'acétate d'éthyle des racines de *Thapsia garganica*.

Résultats et discussion

Nous remarquons que l'extrait d'acétate d'éthyle ralentit la croissance mycélienne de la souche *F.graminearum* dès le premier jour et jusqu'au sixième jour, les diamètres pour les concentrations allons de 13 mg/ml à 2 mg/ml varient entre 55 et 62 mm, alors qu'à 25 et 50 mg/ml nous avons enregistré , au sixième jour, la croissance mycélienne la plus faible avec des diamètres similaires (39 et 35mm) sachant qu'au sixième jour la croissance de témoin atteint le 81mm.

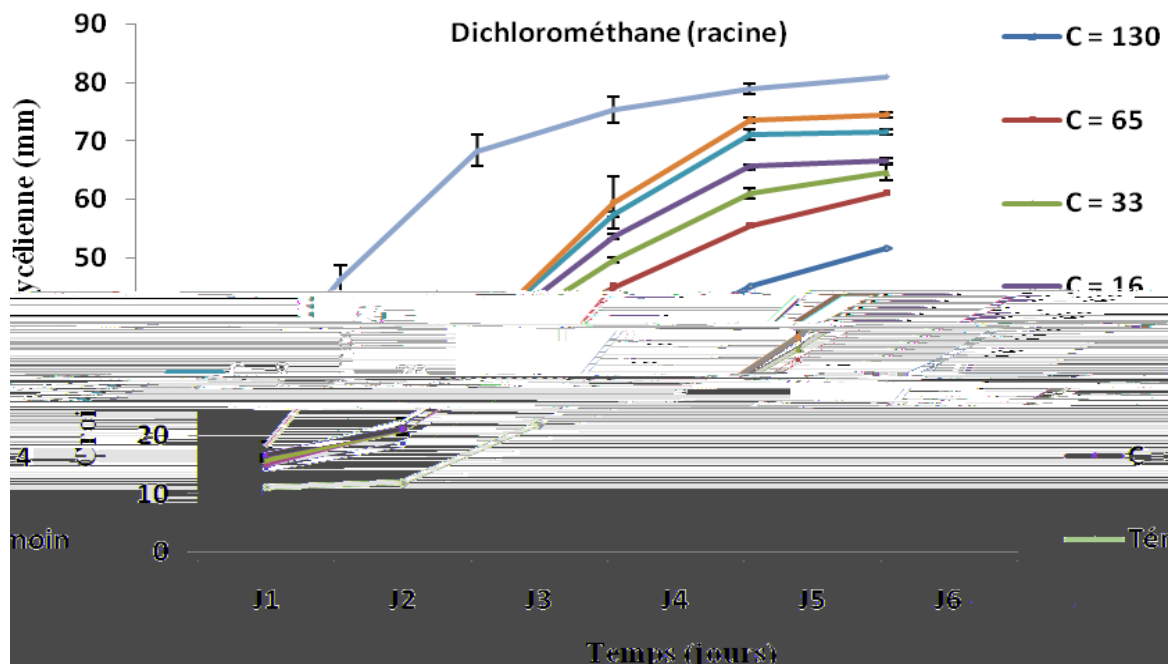


Figure 13: La cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait dichlorométhane

La figure (13) représente la cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations d'extrait de dichlorométhane des racines de *Thapsia garganica*.

Nous avons remarqué que l'extrait de dichlorométhane retarde faiblement la croissance mycélienne de la souche *Fusarium graminearum*. Ainsi pour ce extrait, les concentrations varient de 4 mg/ml à 65 mg/ml ont donné des diamètres de croissance allons de 75mm à 62mm respectivement , alors que la croissance mycélienne la plus faible a été observée à une concentration élevée de ce extrait (130) mg/ml avec un diamètre qui ne dépasse pas le 53 mm.

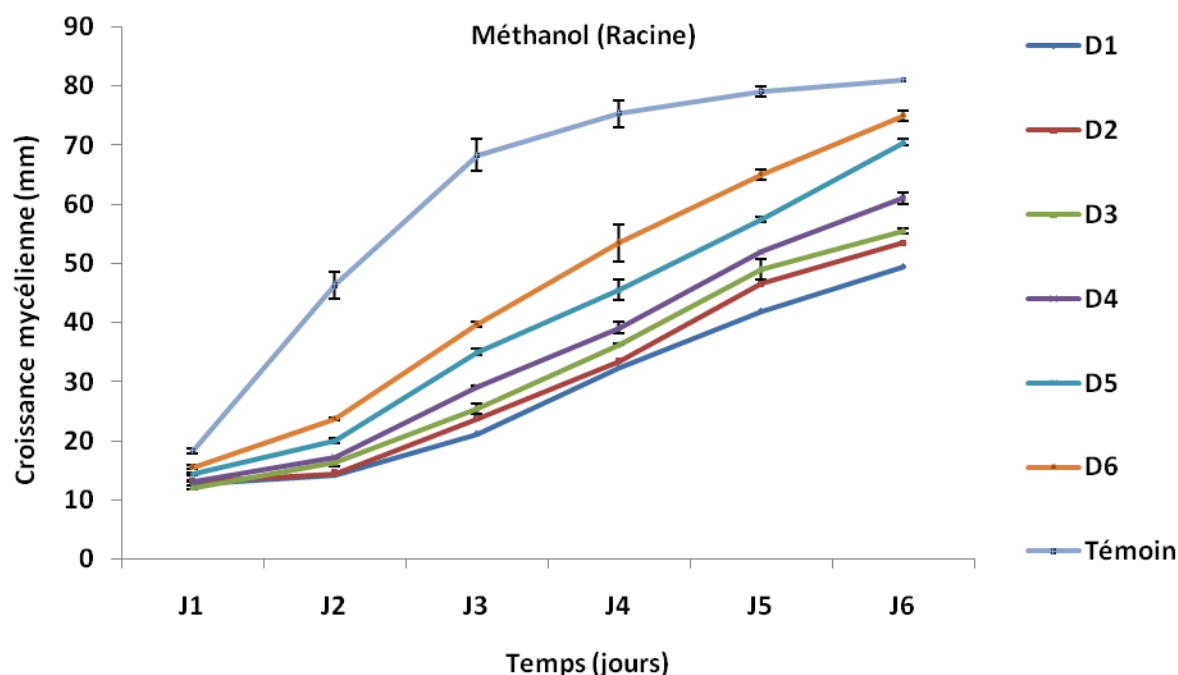


Figure 14 : La cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait méthanol

La figure (14) représente la cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* en fonction de temps et en présence de différentes concentrations de l'extrait méthanolique des racines de *Thapsia garganica*.

Nous avons remarqué une différence entre la cinétique de croissance mycélienne de *F. graminearum* de l'extrait méthanol et les autres extraits. Ainsi à une concentration de 4 mg/ml, nous avons enregistré le diamètre le plus élevé (75 mm).

Cependant, le méthanol a montré un pouvoir inhibitrice, vis-à-vis *F. graminearum*, légèrement supérieur à ce obtenu par l'extrait de dichlorométhane, vue que les même concertations des deux extraits ont donné des diamètres de mycélium un peu plus faibles pour l'extrait méthanolique.

Sachant que la croissance mycélienne de témoin atteint le 81 mm après 6 jours, on peut dire que la croissance mycélienne a diminué avec l'augmentation de la concentration de l'extrait méthanolique.

III.3. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats des pourcentages d'inhibition antifongique de chaque concentration pour les différents extraits testés au sixième jour d'incubation sont représentés dans les (figures 15, 16 et 17) ci-dessous.

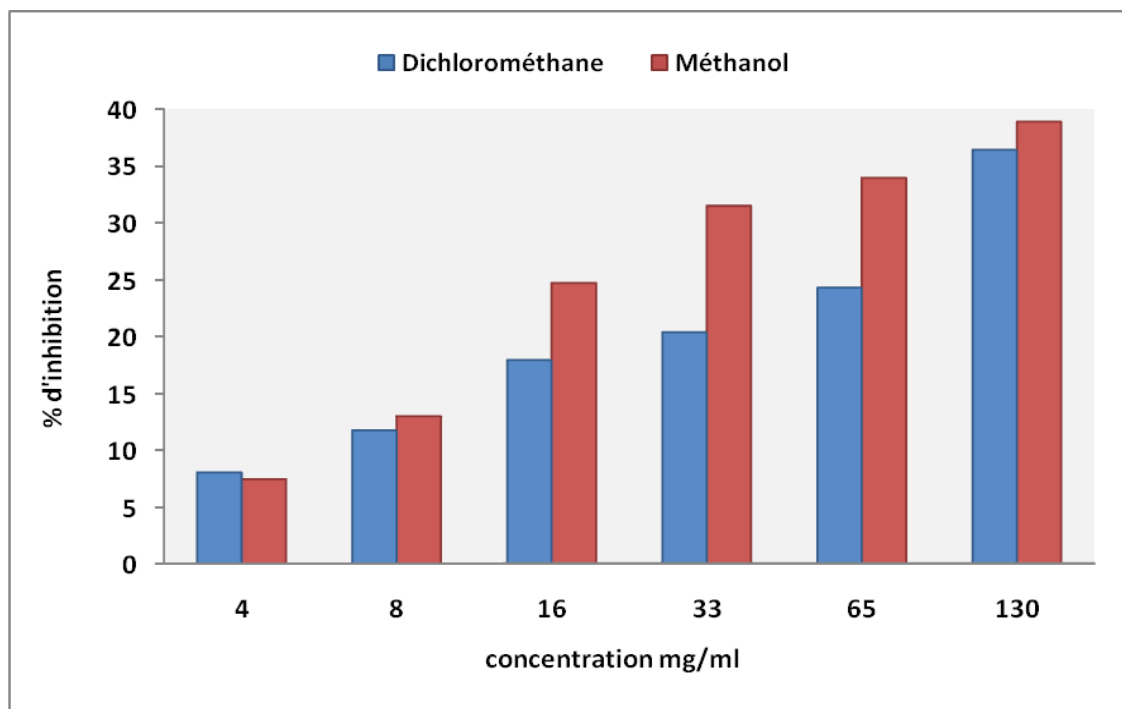


Figure 15 : % d'inhibition des deux extraits (dichlorométhane et méthanol) des racines de *Thapsia garganica*

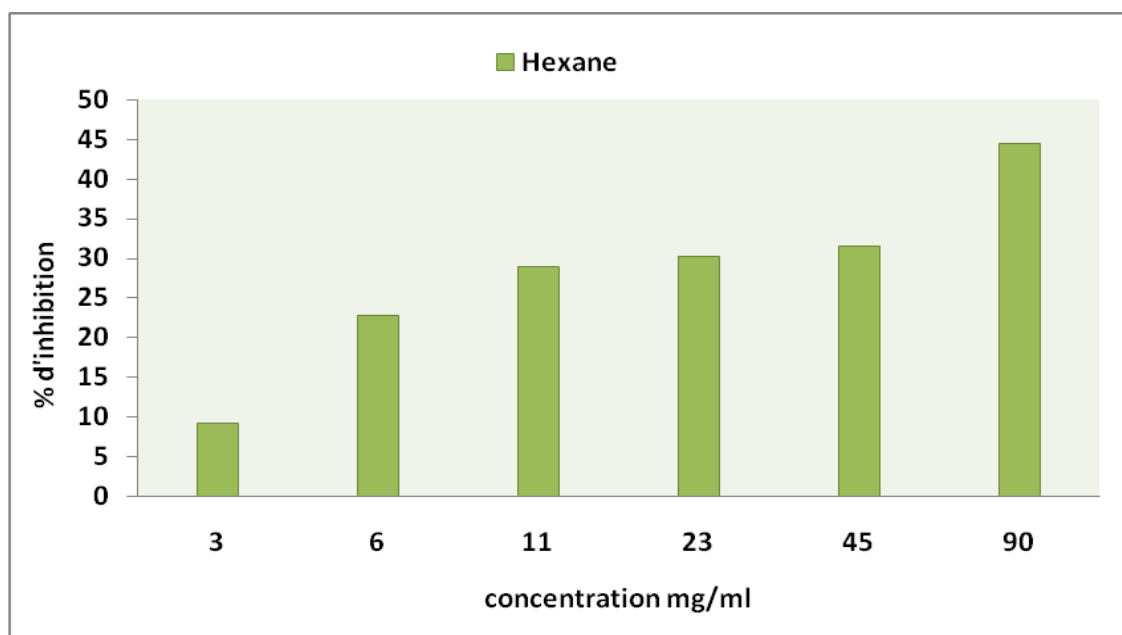


Figure 16 : % d'inhibition d'extraits hexanique des racines de *Thapsia garganica*

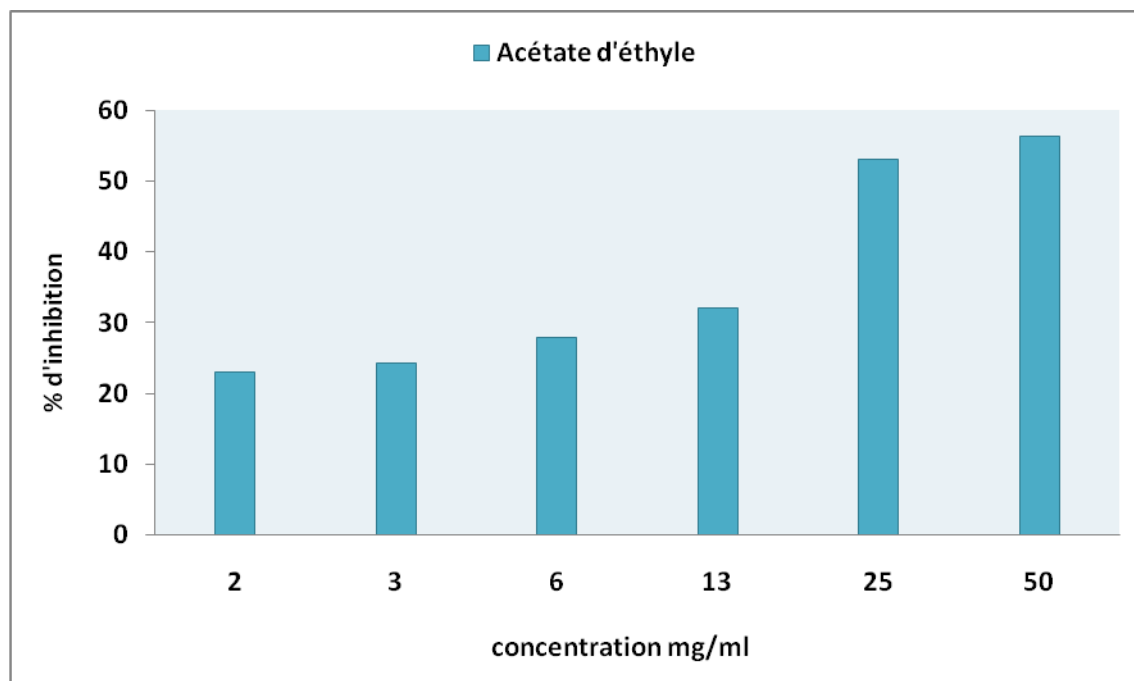


Figure 17 : % d'inhibition d'extraits d'acétate d'éthyle des racines de *Thapsia garganica*

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits avaient des effets inhibiteurs sur le champignon *Fusarium graminearum* mais avec des pourcentages distincts, et que le taux d'inhibition est proportionnel aux concentrations des extraits (Figure 18, 19, 20 et 21).

Pour les deux extraits dichlorométhane et le méthanol, l'inhibition maximale est obtenue par une concentration de 130 mg/ml. A cette dose, ils ont réduit le développement de *F.graminearum* avec des taux d'inhibition de 36.48 et 38.89 %.

L'hexane a également montré des bons résultats. Ainsi avec une concentration de 90 mg/ml, nous avons obtenu le taux d'inhibition le plus élevé (44.44 %)., ce qui montre que l'extrait hexanique a un pouvoir inhibiteur supérieur à ceux des extraits méthanolique et dichlorométhane.

Bien que les concentrations de l'extrait d'acétate d'éthyle étaient les plus faibles, cet extrait a montré des valeurs d'inhibition les plus élevées, où nous avons noté, avec une concentration de 50 mg/ml, un taux d'inhibition de 56.38 %.

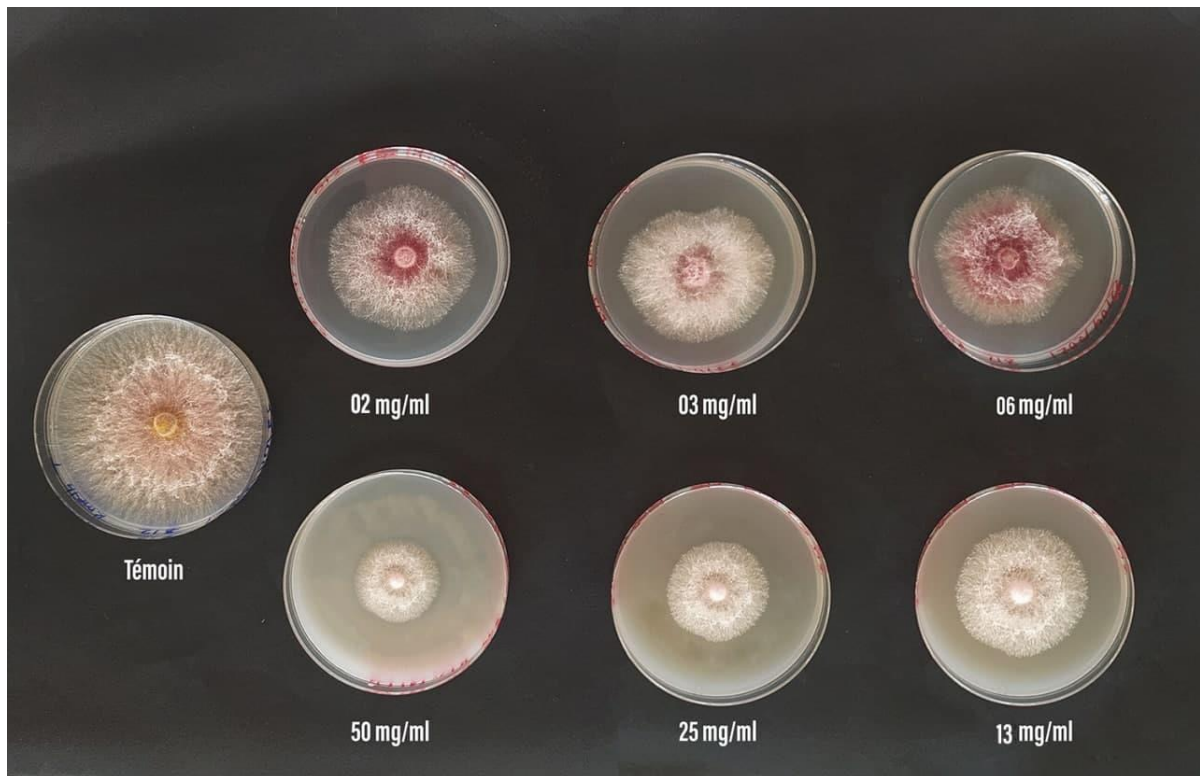


Figure 18 : Effet de l'extrait acétate d'éthyle de racines de *T.garganica* vis-à-vis *Fusarium graminearum*



Figure 19 : Effet de l'extrait méthanol de racines de *T.garganica* vis-à-vis *Fusarium graminearum*

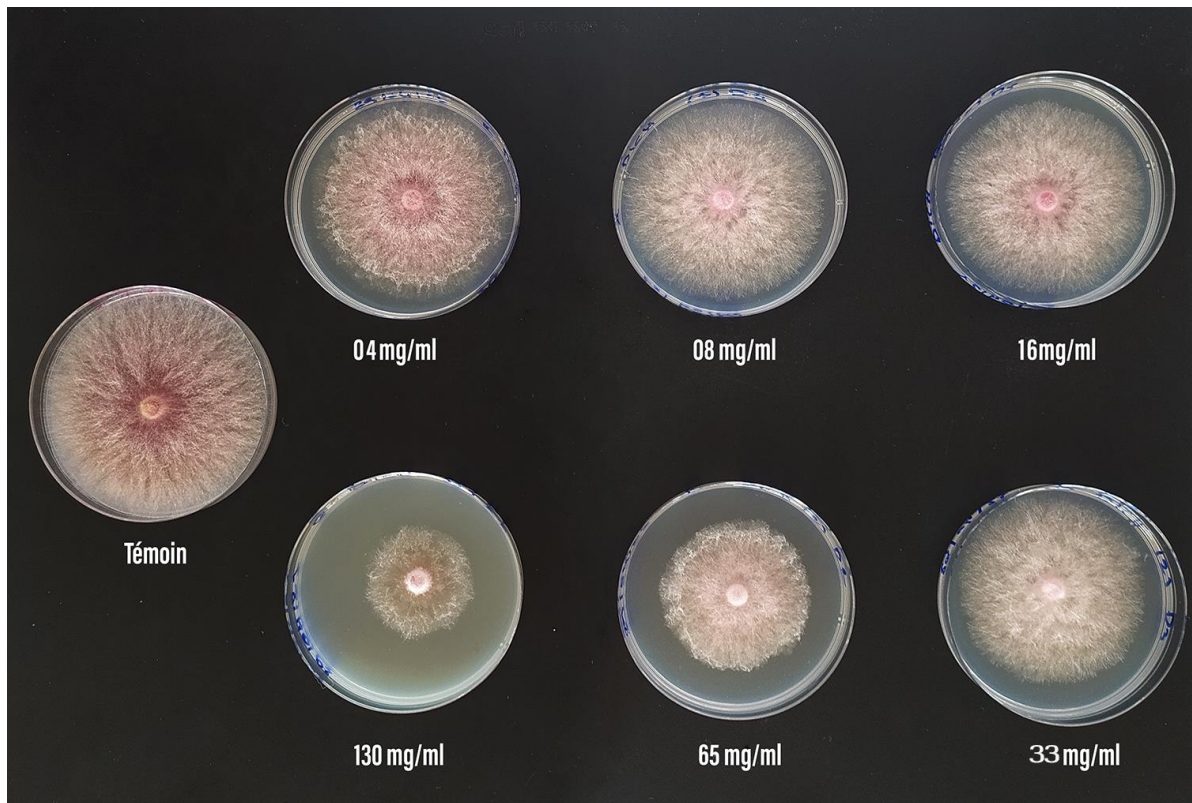


Figure 20 : Effet de l'extrait dichlorométhane de racines de *T.garganica* vis-à-vis *Fusarium graminearum*

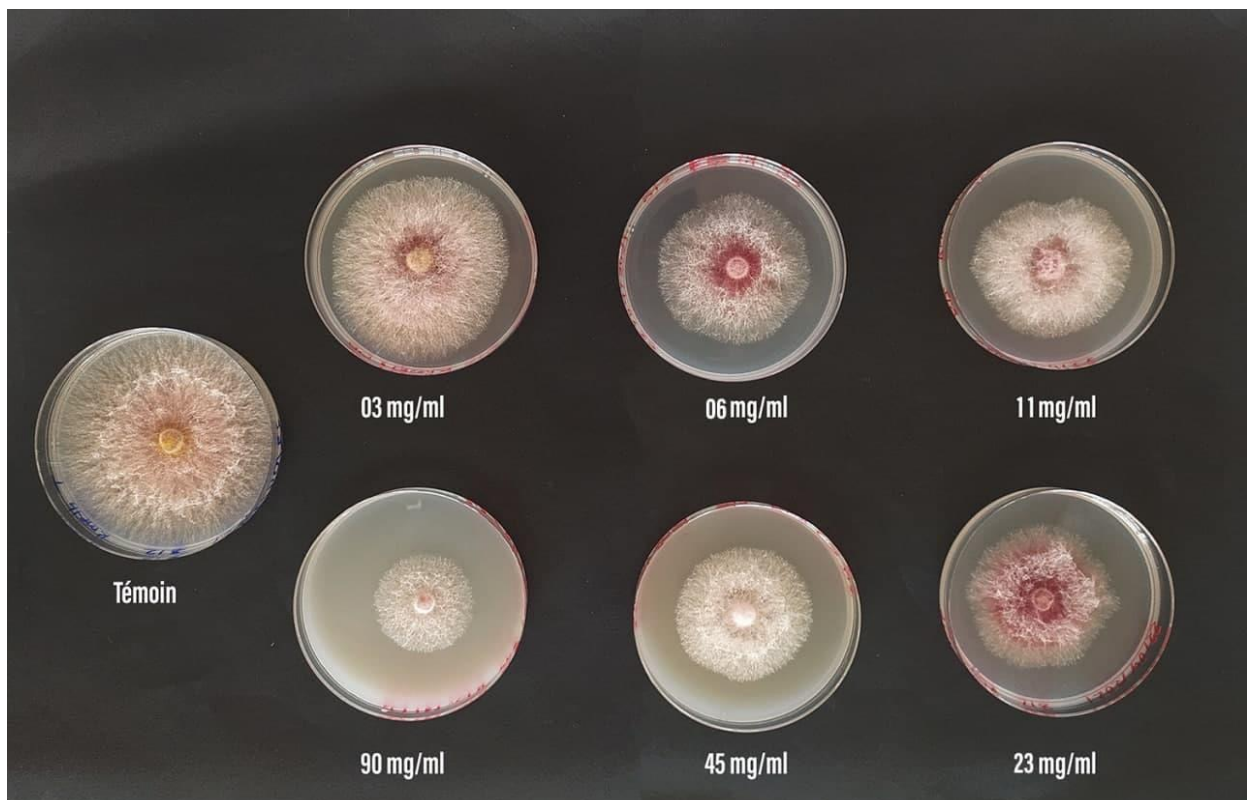


Figure 21 : Effet de l'extrait hexane de racines de *T.garganica* vis-à-vis *Fusarium graminearum*

Résultats et discussion

Comparons-nous résultats avec ceux obtenus par (Messaoudi *et al.*, 2021 et Bounama *et al.*, 2021), qui ont utilisés les même extraits mais le travail a été réaliser sur la partie aérienne de *Thapsia garganica* (feuilles et graines),

Nous remarquons que les résultats obtenus dans ce travail sont similaires à ces travaux. selon Messoudi *et al.*, 2021 l'extrait de l'acétate représente un niveau d'inhibition plus important, Il a réduit à 63.13 % la croissance mycélienne lorsqu'il est appliqué à une concentration de 100 mg/ml,

Bounama *et al.*, 2021 également ont révélé une activité antifongique importante pour l'Ac-O-Et ou un taux d'inhibition qui atteint 61.73 % à une concentration de 57 mg/ml.

Nous avons essayé de comparer les résultats de ce travail avec d'autres, mais malheureusement y a pas des études similaires, surtout que nous avons utilisé une méthode d'extraction spécifique, en plus la plus par des recherches sur l'activité antifongique sont faites sur les huiles essentiels.

D'après les résultats phytochimiques réaliser par Nebeg (2020) sur les mêmes extraits que nous avons utilisés, elle a trouvé que ces extraits sont riche en phénols totaux et des flavonoïdes pour les extrais de méthanol, acétate d'éthyle et dichlorométhane et riche en tocophérols et stérols pour l'extrait hexanique, on peut dire que les composés phénoliques et les lipides généralement peuvent avoir un effet fongistatique sur la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*.

Cet effet fongistatique est dû probablement au type de composé et à la structure moléculaire des composants actifs présents dans les extraits. Tels que les composés phénoliques.

La propriété lipophile et/ou la présence au moins d'un groupe acide d'hydroxyle sont donc considérés comme un dispositif structural essentiel pour une bonne activité antifongique. La propriété lipophile permet aux phénols de pénétrer à travers les membranes biologiques tandis que les groupes d'hydroxyle peuvent agir par l'inhibition de la phosphorylation oxydative (Tomás-Barberán *et al.*, 1990 in Zouaoui, 2012).

Conclusion

Conclusion

Un grand nombre de plantes médicinales contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antifongiques. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les extraits des plantes médicinales. *Thapsia garganica* L. est l'une des plantes spontanée, utilisée depuis longtemps à des fins thérapeutiques. Notre travail s'est orienté sur l'étude de l'effet antifongique de quelques extraits des racines de cette plante vis-à-vis la souche fongique phytopathogène *Fusarium graminearum*.

Des extractions successives de la partie souterraine de *Thapsia garganica*, par l'utilisation des solvants à polarités croissantes (hexane, dichlorométhane, méthanol, acétate d'éthyle), sont réalisées. Cette technique permet d'extraire le maximum de composés chimiques présents. Les résultats de cette extraction ont révélé des teneurs variables en extraits, ainsi le meilleur rendement est enregistré pour le méthanol qui atteint jusqu'au 4.27% suivie par hexane (2.7 %), par contre le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle qui ont enregistré les plus faibles rendements.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique des extraits vis-à-vis la souche testée. L'activité antifongique croît proportionnellement avec l'augmentation de la concentration des extraits, ce qui induit la régression de la vitesse de croissance mycélienne, ceci a été observé à l'œil nu par une diminution des diamètres de croissance.

D'après cette étude, l'extrait le plus efficace sur la souche étudiée est l'extrait d'acétate d'éthyle avec un taux d'inhibition de 56.38 %.

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur les extraits de *Thapsia garganica* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antifongique.

Elargir la gamme des microorganismes (plus d'espèces fongiques pathogènes de même genre ou d'autre genre).

D'étudier d'autres propriétés biologiques de cette plante, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et antibactérien et autres.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Abderrahim, O., Martin, G. J., & Abdelaziz, A. (2013). Botanical identification and ethno-medicinal uses of some underground part of medicinal plants collected and traded in Marrakech region. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(29), 2165-2169.

Andersen, T. B., López, C. Q., Manczak, T., Martinez, K., & Simonsen, H. T. (2015). Thapsigargin—from *Thapsia* L. to mipsagargin. *Molecules*, 20(4), 6113-6127.

Antonio JP. & Arregui LP. (2003). Studies on *Thapsia* (Apiaceae) from north-western Africa: a forgotten and a new species. *Bot. J of the Linnean Society*, 143 (4): 433-442.

Avato P, Rosito I. (2002). Essential oils from the roots of *Thapsia garganica*. *J Essent Oil Res.* 14:20–22.

Azouaoui- Ait Kettout T., Boucenna B., Amgoud M., Rahmania F. (2007). Essai de lutte *in vitro* par le glyphosate contre des champignons telluriques phytopathogènes : *Fusarium* et *Pythium*. *Sciences & Technologie.* 26 :75-80.

B

Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed Librairie moderne Rouiba, 46.

Bammi, J., & Douira, A. (2002). Les plantes médicinales dans la forêt de l'achach (plateau central, Maroc).

Barbié, O. (2007). Qu'est-ce qu'une plante cultivée?. note, ITAN.

Bonnaama F., Hadjadj S., Zerarka F., (2021). Evaluation de pouvoir antifongique de quelques extraits des feuilles de *Thapsia garganica*. (Mémoire de Master). Université Ammar Theledji. Laghouat.

Références bibliographiques

Bouhidel, S., Bouridane, M., Khellaf A., (2016).Évaluation de l'effet antioxydant d'un extrait éthanolique de la plante *Thapsia garganica* de la région de Jijel contre la toxicité hépatique du diclofénac chez les souris NMRI. (Mémoire de Master). Université Mohammed Seddik Ben Yahia, Jijel.p22

Bradai, B. M. (2014). Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. مجلة الواحات للبحوث والدراسات, 7(2).



Cambaza, E., Koseki, S., & Kawamura, S. (2019). *Fusarium graminearum* colors and Deoxynivalenol synthesis at different water activity. *Foods*, 8(1), 7.

Casiglia, S., Riccobono, L., Bruno, M., Rosselli, S., Senatore, F., & Senatore, F. (2016). Chemical composition of the essential oil from *Thapsia garganica* L.(Apiaceae) grown wild in Sicily and its antimicrobial activity. *Natural product research*, 30(9), 1042-1052.

Catherine R., Roger C., (2005). Stratégies alternatives et agriculteur durable .in enjeux phytosanitaires pour l'agriculteur et l'environnement, Lavoisier, Paris, 644p.

Christensen, S. B.; Skytte, D. M.; Denmeade, S. R.; Dionne, C.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Isaacs, J. T. (2009). Anti-Cancer Agents *Med. Chem*, 9, 276-294.

Collin G.J., Lord D., Allaire J. et Gagnon D., 1989. Huiles essentielles et extraits 'micro-ondes'. *Parfums Cosmétiques Arômes*, 97, 105-112.



Denmeade SR, Jakobsen CM, Janssen S, Khan, S, Garrett E. S., Lilja H., Christensen S. B., Isaacs JT. (2003). Prostate-Specific Antigen-Activated Thapsigargin Prodrug as targeted therapy for prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 95: 13.

Deacon J. (2005). *Fungi as plant pathogens. Chapter 14.* Ed. Blackwell Publishing.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards JF. & Stocker P. (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compound and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*; 244(6): 801-809.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

Drew DP, Rasmussen SK, Avato P, Simonsen HT. (2012). A comparison of headspace solid-phase microextraction and classic hydrodistillation for the identification of volatile constituents from *Thapsia* spp. Provides insights into guaianolide biosynthesis in Apiaceae. *Phytochem Anal.* 23:44–51.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.



El Ajjouri, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., ... & Aberchane, M. (2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Base*.

El-Houiti, F. (2010). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum*. (*Mémoire de Magister*), Université Amar Telidji. Laghouat.p38

El-Houiti F. (2018). Valorisation des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* Goss. & Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités, Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah, Ouargla.



Frédéric, M. (2012). Approche efficace des thapsigargines (guaianolides) et synthèse d'azulènes rouges via un intermédiaire commun de type bicyclo [5.3. 0] décane. (Thèse de Doctorat). Chimie organique. Université de genoble, p66



Références bibliographiques

Garrido, C., Acero, F. G. F., Carbú, M., Rodriguez, V. E. G., Liniero, E., & Cantoral, J. M. (2012). Molecular microbiology applied to the study of phytopathogenic fungi. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. Rijeka, In Tech, 139-156.

Gargouri, S. (2003). Évaluation de l'incidence de la pourriture du pied du blé et de la structure des populations des espèces de *Fusarium* associées à la maladie. Thèse de Doctorat, Faculté des sciences de Tunis, Tunisie, p94.

Goswami, R. S., & Kistler, H. C. (2004). Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular plant pathology*, 5(6), 515-525.

Guehiliz N. (2016). Contribution à l'étude des plantes spontanées dans l'Oued de Biskra. (Mémoire de magister). Université Mohamed Khider. Biskra, p35.

Guignard J.L. (1989). Abrégé de biochimie végétale. 2^{eme} ed. Edition : Masson



Hammiche V., Merad R. & Azzouz M. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. *Springer-Verlag France, Paris*: 285-288.

Hopkins, William G. l'organisation des plantes et des cellules végétales. In *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, 2003.p 1-10.

Hsu F.L., Yen T.B., Chang T.H. et Chang S.T. (2007). Antifungal activity and synergistic effect of cinnam aldehyde combined with antioxidants against wood decay fungi. *The international research group on wood protection*. P 2,3.

Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2019). Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal Medicine*, 1, 13.



Iserin P. (2001). *Encyclopedie des Plantes Médicinales (identification, preparation, soin) 2nd Edition*. Larousse, Dorling Kindersiey Limited, Londres, 335p.

Ismaili, R., Lamiri, A., & Moustaid, K. (2014). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines [Study of the antifungal activity

Références bibliographiques

of essential oils of three moroccan aromatic plants]. *International Journal of Innovation Science and Research*, 12(2), 2351-8014.

Idir Nawel et Ouadir Kahina. (2012). Etude de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* (la thapsie). (Mémoire de master). Université Mira. Bejaïa

J

Jakobsen, C. M., Denmeade, S. R., Isaacs, J. T., Gady, A., Olsen, C. E., & Christensen, S. B. (2001). Design, synthesis, and pharmacological evaluation of thapsigargin analogues for targeting apoptosis to prostatic cancer cells. *Journal of medicinal chemistry*, 44(26), 4696-4703.

Jdidi I. (2015). Etude phytochimique et activités biologiques des extraits et des huiles essentielles de *Foeniculum vulgare*. Thèse d'ingénieur. Université Carthage.

Junio, H. A., Sy-Cordero, A. A., Ettefagh, K. A., Burns, J. T., Micko, K. T., Graf, T. N., ... & Cech, N. B. (2011). Synergy-directed fractionation of botanical medicines: a case study with goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *Journal of natural products*, 74(7), 1621-1629.

K

KADA S. 2018. Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. (Thèse de Doctorat). Université Sétif 1

Kanda, M. (2003). Diversité des cultures et utilisation des pesticides dans les périmètres.

Kant, P., Reinprecht, Y., Martin, C. J., Islam, R., & Pauls, K. P. (2017). Disease Resistance. In *Comprehensive Biotechnology* (Third Edition) (Vol. 4, pp. 789-805).

L

Lagarde, M. (2003). Métabolisme des lipides bio-actifs. *Pathologie Biologie*, 51(5), 241-243.

Lounaci, L. (2017). Essai de lutte biologique par l'utilisation de *Paenibacillus polymyxa* à l'égard de *fusarium graminearum*, *F.culmorum*, *F.verticilliodes* et *Microdochium nivale*

Références bibliographiques

agents pathogènes du blé dur en Algérie . Thèse de Doctorat.Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, p72.

Liu, H., Jensen, K. G., Tran, L. M., Chen, M., Zhai, L., Olsen, C. E., & Christensen, S. B. (2006). Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica*. *Phytochemistry*, 67(24), 2651-2658.



Maiza K., Brac De la Perrière.A. et Hammiche V., (1993). Pharmacopée traditionnelle

Makunga NP, Jager AK, Staden J. Micropropagation of *Thapsia garganica*: a medicinal plant. *Cell biology and morphogenesis* (2003) 21: 967-973.

Messaoudi H., Mihoubi A., Nibouche I., (2021). Evaluation de pouvoir antifongique de quelques extraits des graines de *Thapsia garganica*. (Mémoire de Master). Université Ammar Theledji, Laghouat.

Mohammedi, D., Mohammedi, S., & Keck, G. (2014). Principales intoxications végétales chez les ruminants en zone méditerranéenne. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 67(4), 163-171.

Muniz, M. N. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).



Naghibi, F., Mosadegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A. B. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology.

Nebeg, H. (2019). Contribution à l'étude des fractions polaire et apolaire de *Thapsia garganica* L (Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah Ouargla).

Ngamprasertsith, S. (1993). Extraction par solvant à partir de matières végétales en colonne pulsée à disques et couronnes (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).



Références bibliographiques

Ouarghidi, A., Powell, B., Martin, G. J., De Boer, H., & Abbad, A. (2012). Species substitution in medicinal roots and possible implications for toxicity of herbal remedies in Morocco. *Economic botany*, 66(4), 370-382.

Outroune, S., Ramini, Z., (2012). Détermination de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Thapsia garganica*L. (Mémoire de Master). Université Abdrrahmane Mira, Bejaia.p10



Parry. D., Jenkinson.P., Mcleod. L. « *Fusarium* Ear Blight (scab) in Small-Grain Cereals - a Review ». *Plant Pathology*. avril 1995. Vol. 44, n°2, p. 207-238.

Pauvert, P. (1984). Les fusarioses des céréales. *Phytoma*, 202: 15-16.

Pottier-Alapetite, G. (1981). Flore de la Tunisie: angiospermes, dicotylédones. Gamopétales. Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique et le Ministère de l'Agriculture.



Quezel, P., & Santa, S. (1962).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.



Rached W., Benamar H., Bennaceur M. &Marouf. A Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants. *J bio Scie* (2010); 10 (4): 316-324.

Rached Wahiba ., (2009). Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimiques. Thèse de Doctorat. Biochimie végétale appliquée .Université d'Oran Essénia.



Sait L., Smaoun N. (2003). Activité antibactérienne des extraits de *Thapsia garganica* L. (Mémoire de Master). Université Abderrahmane Mira, Bejaia

Références bibliographiques

Sanogo, R. (2006). Rôle des plantes médicinales et médecine traditionnelle.

Siou, D. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

Soczewiński, E., Wojciak-kosior, M., et Matysik, G. (2004). Analysis of glycosides and aglycones of flavonoid compounds by double-development thin-layer chromatography. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, vol. 17, no 4, p. 261-263.

Soubeiran E. (1870). Traité de pharmacie théorique et pratique, Volume 2 , Edition Victor Masson & fils, Paris, pp :861.



Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S. S., & Vijayakumar, R. (2018). An introductory chapter: secondary metabolites. *Second metab—sources Appl*, 1-21.

Tomás-Barberán F., Iniesta-Sanmartin E., Tomas-Lorente F. and Rumbero A., (1990). Antimicrobial phenolic compounds from three Spanish *Helichrysum* species. *Phytochemistry*, vol. 29, pp 1093- 1095.

Touitou. Y. (2005). Structure des glucides et lipides



Veillet, S. (2010). *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive: Entre Tradition et Innovation* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2007). Phenolic compound biochemistry. Springer Science & Business Media.

Vigan, M. (2010). Essential oils: renewal of interest and toxicity. *European Journal of Dermatology*, 20(6), 685-692.



Wani, A. R., Yadav, K., Khursheed, A., & Rather, M. A. (2020). An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical

Références bibliographiques

constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microbial Pathogenesis*, 104620.

Weitzel, C.; Rønsted, N.; Simonsen, H.T. Towards a revision of *Thapsia* L. (Apiaceae) based on phylogenetic analysis of nrIT Ssequences and chemical profiles *Bot. J. Linn. Soc.* 2014, 174, 620–636.



Zaynab, M., Fatima, M., Sharif, Y., Zafar, M. H., Ali, H., & Khan, K. A. (2019). Role of primary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial pathogenesis*, 137, 103728.

ZOUAOUI N., (2012). Effet des polyphénols sur la résistance à l'infestation fongique dans le grain de blé dur. (Mémoire de Magister). Université Mentouri. Constantine. 79p

Sites internet

(Plants of the World online) <http://www.plantsoftheworldonline.org/> consulté le 5 mai 2021.

(Adama France) <http://campaigns.adama.com/france/fr/info-fusariose/> consulté le 15 mai 2021.

(Université de Bretagne Occidentale)
(<https://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/fusagramin/>) /
consulté le 12 mai 2021.

Annexes

Annexes

Annexe1: Illustration présenter la préparation de dilutions de l'extrait hexanique

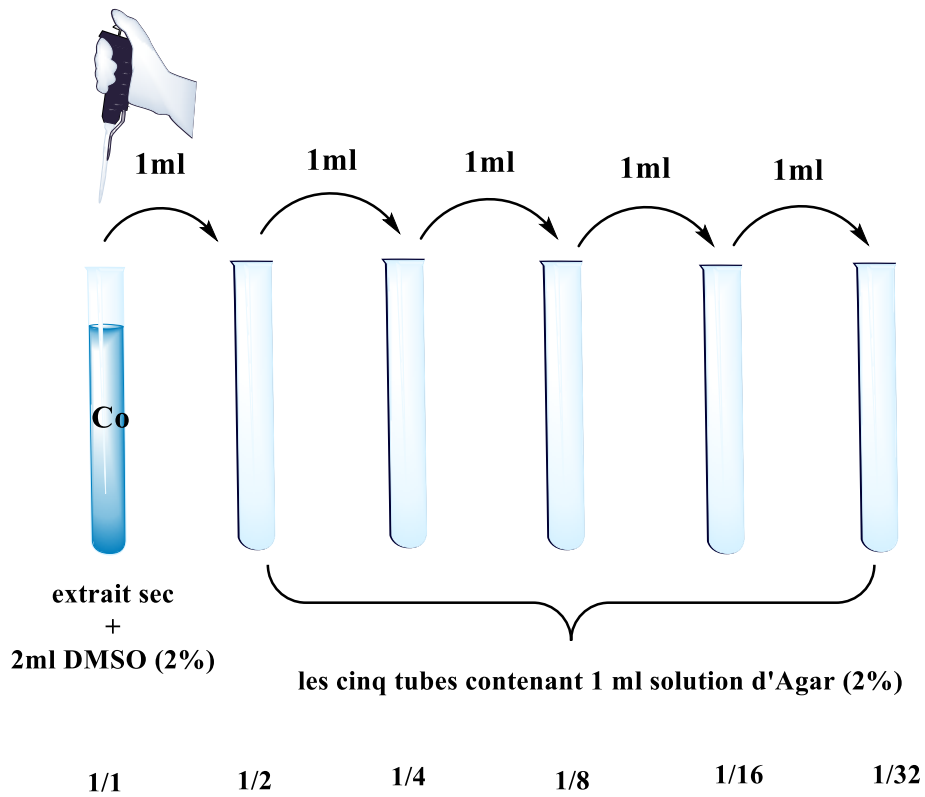
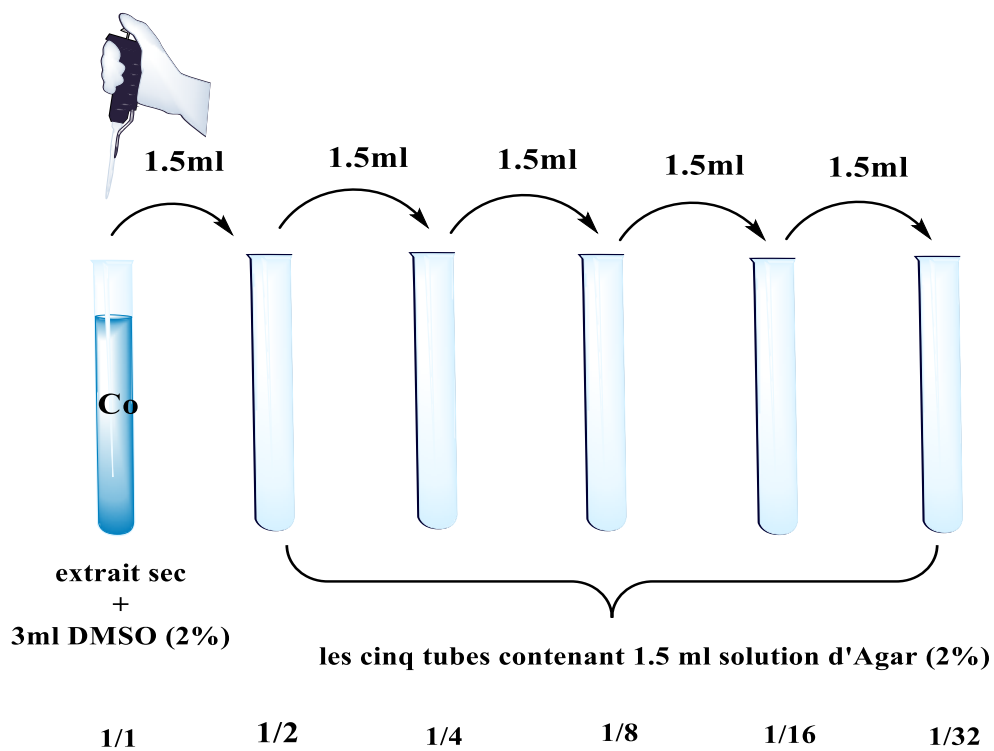


Illustration présenter la préparation de dilutions des extraits : MeOH, Ac-O-Et, DCM



Annexe 2 : matériels et produits chimiques utilisées

| La verrerie | L'appareillage | Autres |
|---|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Tubes à essais - Becher - Flacons - Erlenmeyer - Eprouvette graduée - Verre de montre - Fiole jaugée - Pissette - Entonnoir | <ul style="list-style-type: none"> - balance - bec benzène - bain marie - agitateur magnétique - vortex - autoclave - four pasteur - sonication - évaporateur rotatif - soxhlet - étuve | <ul style="list-style-type: none"> - Micropipette - Spatule - Papier aluminium - Papier filtre - Papier absorbant - Para film - Boite pétri |