



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE**

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : BELKEBIR Hakim

DOMAINE : Sciences de la nature et de la vie

FILIERE : AGRONOMIE

OPTION : PROTECTION DES PLANTES ET ENVIRONNEMENT

Thème

**ETUDE COMPARATIVE DE L'ACTIVITE
ANTIMICROBIENNE DE CERTAINS EXTRAITS DE
PLANTES ET HUILE ESSENTIELLES.**

Promotrice : Melle ABDELLAOUI K.

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Melle ZAZA M.	M.A.A.	Présidente
Mme TOUATI S.	M.A.A.	Examinatrice
M. AIT SALAH B.	M.A.A.	Co-promoteur

Promotion : Septembre 2015

RESUME

Face au risque sur la biodiversité et sur la santé humaine, que représente l'utilisation des pesticides de synthèse et à l'apparition constante de souches résistantes, les produits naturels paraissent présenter plusieurs avantages, et représentent une alternative intéressante à plus d'un titre. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à certaines plantes, dans une étude comparative de l'activité antimicrobienne, de leurs extraits et huiles essentielles, il s'agit de : cinq Asteraceae : *Artemisia herba alba*, *Inula viscosa*, *Chamaemelum fuscatum*, *Calendula arvensis* et *Saussurea lappa*. Une Fabaceae : *Retama raetam*. Une Myrtaceae : *Myrtus communis*. Et une Rhamnaceae : *Ziziphus jujuba*.

Mots clé : Plantes aromatiques et médicinales, huiles essentielles, extraits de plantes, activité antimicrobienne.

ABSTRACT

Given the risk to biodiversity and human health posed by the use of synthetic pesticides and the constant emergence of resistant strains, natural products appear to have several advantages, and represent an attractive alternative. It is in this light that we are interested in certain plants, in a comparative study of antimicrobial activity, their extracts and essential oils, it is: five Asteraceae: *Artemisia herba alba*, *Inula viscosa*, *Chamaemelum fuscatum*, *Calendula arvensis* and *Saussurea lappa*. A Fabaceae: *Retama raetam*. A Myrtaceae: *Myrtus communis*. And Rhamnaceae: *Ziziphus jujuba*.

Keywords: Aromatic and medicinal plants, essential oils, plant extracts, antimicrobial activity.

ملخص

بالنظر إلى المخاطر التي يتعرض لها التنوع البيولوجي وصحة الإنسان بسبب استخدام المبيدات الاصطناعية وظهور سلالات مقاومة، يبدو أن المنتجات الطبيعية لديها العديد من المزايا، وتمثل بديلا جذابا. وفي هكذا اهتمامنا ببعض النباتات، في دراسة مقارنة النشاط المضاد للجراثيم للمستخلصات والزيوت العطرية، و هي *Artemisia herba alba*, *Retama raetam*, *Chamaemelum fuscatum*, *Calendula arvensis*, *Saussurea lappa*, *Inula viscosa*, *Myrtus communis*, *Ziziphus jujuba*. كلمات البحث: النباتات الطبية و العطرية، الزيوت العطرية، المستخلصات النباتية، والنشاط المضادة للميكروبات.

Remerciements

Je remercie infiniment Mme ZAZA, pour avoir accepté de présider le jury, et Mme TOUATI, pour avoir accepté de juger ce travail, qu'elles trouvent ici l'expression de mon plus grand respect.

Je déclame mes vifs remerciements, à Mr. AIT SALAH B., pour tout ce qu'il a fait pour l'aboutissement de ce travail, son aide m'a été très précieuse, qu'il trouve ici l'expression de mes sentiments les meilleurs.

Je remercie infiniment Mr. AMROUCHE T., pour m'avoir ouvert les portes de la microbiologie, et pour avoir mis à ma disposition en dépit du manque de moyens, le nécessaire pour la réalisation de ce travail, sa disponibilité, son aide et ses orientations et ses corrections ont été très précieuses, qu'il trouve ici, l'expression de ma parfaite gratitude.

Mes vifs remerciements vont aussi à Mme TALEB K. pour m'avoir reçu dans son laboratoire et pour son aide lors des extractions, qu'elle trouve ici l'expression de mon plus grand respect.

J'exprime une grande gratitude à Mme DAHOUMENE K. pour son aide lors de l'identification des isolats fongiques, ainsi que pour sa disponibilité.

Je remercie également Madame CHAOUCHI D., ingénieur du laboratoire de microbiologie de l'université M. Mammeri de Tizi-Ouzou, ainsi que sa collègue Melle OUAHIOUNE T. pour leur aide et leur sympathie au niveau du laboratoire.

Mes remerciements sont aussi à l'attention de Mr. DIAF S. ainsi que son épouse, ingénieurs dévoués au sein de l'Agence Nationale de la Conservation de la Nature de Laghouat, pour leur aide lors de l'échantillonnage.

Liste des abréviations

C.M.I : concentration minimale inhibitrice

C.M.B. : concentration minimale bactéricide

C.M.F. : concentration minimale fongicide

C.M.Bs : concentration minimale bactériostatique

C.M.Fs : concentration minimale fongistatique

M.H. : Muller Hinton

P.C.A. : Plate Count Agar

H.E. : huile essentielle

Liste des figures

Fig. 01 : Place des métabolites secondaires dans les relations du végétal avec l'environnement	07
Fig. 02 : Aperçu général des métabolites secondaires	07
Fig. 03 : Structure de base des flavonoïdes (D'Archivio 2007)	09
Fig. 04 : Structure de l'isoprène	12
Fig. 05 : Exemples des appareils sécréteurs des H.E. d'après Guignard et al. 2004	16
Fig. 06 : Photo satellite des sites d'échantillonnage.....	29
Fig. 07 : Photos du site d'échantillonnage d' <i>Artemisia herba alba</i> (Chouabir).....	30
Fig. 08 : Partie aérienne d' <i>Artemisia herba alba</i>	30
Fig. 09 : Photo du site d'échantillonnage de <i>Retama raetam</i>	25
Fig. 10: Photo d'un pied de <i>Retama raaetam</i> prise sur le site d'échantillonnage.....	26
Fig. 11 : Observation microscopique des isolats fongiques testés : G. 400X.....	35
Fig. 12 : Dispositif de l'hydrodistillation	38
Fig. 13 : Libération de l'hydrolat	39
Fig. 14 : Récupération de l'huile essentielle	39
Fig. 15 : Dispositif de l'extraction par soxhlet	40
Fig. 16 : schéma descriptif de la technique des puits.....	43
Fig. 17 : schéma descriptif de la technique des spots.....	44
Fig. 18 : halos d'inhibition des extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30µl/puits.....	51
Fig. 19 : Photo du test en spot des CMI pour l'extrait de <i>M. communis</i> sur <i>F. o. albedinis</i>	58
Fig. 20 : Photo du test en spot des CMI pour l'extrait de <i>M. communis</i> sur <i>B. cereus</i>	58
Fig.21 : Photo de la matrice de la combinaison H.E. et extrait de <i>S. lappa</i> contre <i>Alternaria sp.</i>	59
Fig. 22 : Photo de la matrice de la combinaison extrait de <i>S. lappa</i> et extrait de <i>M. communis</i> contre <i>Alternaria sp.</i>	63

Liste des tableaux

Tableau 01. Les principales classes de composés phénoliques	09
Tableau 2. Brèves description des plantes testées :	32
Tableau 3. Les souches fongiques utilisées lors des tests microbiologiques	34
Tableau 4 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>thymus vulgaris</i> (seuls les composés de pourcentage supérieur à 0,05 % ont été rapportés)	37
Tableau 5. Effet inhibiteur sur la croissance fongique des huiles essentielles évalué sur milieu Saboureaud après 72h d'incubation à 25°C.	48
Tableau 6. Effet inhibiteur sur la croissance fongique des extraits végétaux évalué sur milieu Saboureaud après 72h d'incubation à 25°C.	49
Tableau 7. Inhibition de la croissance bactérienne par les huiles essentielles et les extraits végétaux évaluée sur milieu Muller Hinton après 24h d'incubation à 37°C.	50
Tableau 8. C.M.I. des huiles essentielles d' <i>A. herba alba</i> , <i>S. lappa</i> , <i>T. vulgaris</i> ainsi que des extraits de <i>M. communis</i> et <i>S. lappa</i> contre <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>Albidinis</i>	57
Tableau 9. C.M.I. des huiles essentielles de <i>Saussurea lappa</i> , <i>Thymus vulgaris</i> ainsi que des extraits de <i>Myrtus communis</i> et <i>Saussurea lappa</i> contre <i>Alternaria</i> sp.	57
Tableau 10. C.M.I. des huiles essentielles de <i>Saussurea lappa</i> , <i>Thymus vulgaris</i> et de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> contre <i>Aspergillus niger</i>	57
Tableau 11. C.M.I. des extraits de <i>Retama raetam</i> , <i>Myrtus communis</i> <i>Zyzyphus</i> , <i>Saussurea lappa</i> contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
Tableau 12. C.M.I. des extraits de <i>Myrtus communis</i> et <i>Zyzyphus</i> , contre <i>Bacillus cereus</i>	57
Tableau 13. Résultats de la combinaison des huiles essentielles d' <i>Artamisia herba alba</i> et de <i>Saussurea lappa</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	61
Tableau 14. Résultats de la combinaison des extraits de <i>Myrtus communis</i> et de <i>Saussurea lappa</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	61
Tableau 15. Résultats de la combinaison des extraits de <i>Myrtus communis</i> et de <i>Saussurea lappa</i> sur <i>Alternaria</i> sp.	62
Tableau 16. Résultats de la combinaison de l'huile essentielle de <i>Saussurea lappa</i> de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur <i>Alternaria</i> sp.	63

SOMMAIRE

Chapitre 01 : Revue bibliographique	01
Introduction générale	01
I- Les plantes aromatiques et médicinales :.....	04
II- Le métabolisme secondaire des plantes :.....	05
PLantes :.....	
II-1 Généralités :.....	05
II-2 Les métabolites secondaires	07
1- Les polyphénols	08
1-1 Les flavonoïdes	09
1-2 Les acides phénoliques	10
1-3 les alcools phénoliques	10
1-4 les stilbènes	11
1-5 les lignanes	11
1-6 Les Tanins	11
2- Les terpènes	12
2-1 Monoterpènes et sesquiterpènes	13
2-2 Diterpènes	13
2-3 Triterpènes et stéroïdes	13
2-4 Tétraterpènes (caroténoïdes)	14
2-5 Les polyterpènes	14
3- Les huiles essentielles	14
Définition	14
3-1 Composition chimique des huiles essentielles	15

3-2 Répartition, localisation et fonctions des huiles essentielles	15
3-3 Propriétés physiques et composition chimique	17
3-4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles	17
3-5 Notion de chémotypes	18
4- Les Alcaloïdes	19
5- Relation entre les métabolites secondaires et les organismes endophytes	20
6- Méthodes d'extractions des métabolites secondaires	22
6-1 Hydrodistillation	22
6-2 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	22
6-3 Hydrodiffusion	22
6-4 Extraction à froid	22
6-5 Extraction assistée par micro-ondes	23
6-6 Extraction par les solvants et les graisses	23
6-7 Extraction par fluides supercritique	23
III- Généralités sur les espèces fongiques testées :.....	
7-	24
1- Le genre <i>Fusarium</i>	23
.....	
2- Le genre <i>Aspergillus</i>	26
3- Le genre <i>Alternaria</i>	27
Chapitre 02 : Matériel et méthodes	29
A- Matériel	29

I-	Le matériel végétal	29
I-1	<i>Artemisia herba alba</i>	29
I-2	<i>Retama raetam</i>	29
II-	Matériel biologiques	34
II-1	isolats fongiques	34
II-2	Les souches bactériennes	36
II-3	Le témoin positif	36
II-4	Les milieux de culture	37
B-	Méthodes	38
I-	Méthodes d'extraction	38
I-1	Hydrodistillation	38
I-2	Séparation et conservation des huiles essentielles extraites	38
I-3	Calcul du rendement de l'hydrodistillation	39
I-4	Extraction au soxhlet par solvant hydro alcoolique	40
II-	Méthodes microbiologiques	41
II-1	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne	42
1-	Préparation des suspensions fongiques	42
2-	Préparation des suspensions bactériennes	42
	Méthode des puits	42
3-	Détermination des CMI, CMB et CMF	44
3-1	Détermination des CMI	44
	Méthode des spots	44
	Principe de la méthode	44
3-2	Détermination des CMB et CMF	45

4- Combinaisons des huiles essentielles et des extraits végétaux	45
Chapitre 03 : Résultats et discussion	47
I- Résultats et discussion	47
1-Rendement de l'extraction de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	47
2-Tests antimicrobiens	47
2.1 Evaluation comparative de l'activité antifongique des huiles essentielles	47
2.2 Evaluation comparative de l'activité antifongique des extraits végétaux	48
2.3 Evaluation comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits végétaux	49
3-Détermination des Concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.).....	56
4-Effet des combinaisons extraits et huiles essentielles	60
4.1 Association : HE <i>Artemisia herba alba</i> + HE <i>Saussurea lappa</i> vis-à-vis du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albidinis</i>	60
4.2 Association : extrait <i>Myrtus communis</i> + extrait <i>saussurea lappa</i> vis-à-vis du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	61
4.3 Association : HE <i>saussurea lappa</i> + extrait <i>saussurea lappa</i> vis-à-vis de <i>Alternaria sp.</i>	62
4.4 Association : extrait <i>saussurea lappa</i> + extrait <i>Myrtus communis</i> vis-à-vis d' <i>Alternaria sp.</i>	63
5-Discussion générale.....	64
Conclusion générale	71

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale :

Suite à l'augmentation de la population mondiale et face au dilemme de pouvoir nourrir un nombre d'habitants de plus en plus important, l'agriculture n'a cessé de s'intensifier, notamment dans les pays développés, amenant ainsi les agriculteurs à essayer de produire toujours davantage, ce qui a engendré une utilisation massive de pesticides de tous genres, tous azimuts, afin d'augmenter les rendements et protéger les cultures et les produits agricoles, contre les bio-agresseurs.

Cette omniprésence des pesticides n'a pas été sans conséquence, elle a fini par polluer, l'air, le sol, les eaux et menace la santé de ceux-là même dont ils étaient censés améliorer l'alimentation, sur un double plan, quantitatif et qualitatif, d'une part, et d'autre part, elle a contribué à appauvrir la biodiversité, de part leur effet non sélectif, en ayant un impact collatéral, sur la faune et la flore terrestre et marine « utile ». Pour preuve, nous pouvons citer l'exemple de la diminution dramatique des populations d'abeilles -causée notamment par les néonicotinoïdes- dont le manque à gagner du service qu'elles rendent dans la pollinisation, représente un coût difficile à supporter pour l'agriculture, si on venait à se passer de cet insecte butineur par excellence ; les exemples sont nombreux, le risque avéré.

Pour pallier à tous ces problèmes, les scientifiques se sont penchés sur des moyens de lutte, plus « respectueux » de l'environnement, la lutte biologique était née, mettant en jeu, les relations antagoniques entre différents organismes, l'agent de lutte est ainsi appelé « auxiliaire ».

Mais très vite, ces moyens pourtant très prometteurs, ont montré leurs limites sur le terrain, tant leurs applications étaient tributaires de plusieurs facteurs extrinsèques limitant, les résultats escomptés ont alors été moins spectaculaires et surtout moins rentables que ceux obtenus avec les moyens « conventionnels ».

Depuis quelques années, un nouvel axe de la lutte biologique s'est ouvert et semble plus à même de satisfaire les besoins, non encore atteints, qui résident dans l'utilisation de produits naturels, issus du métabolisme secondaire des plantes, notamment les plantes aromatiques et médicinales, ou encore de microorganismes endophytes ou mycorhiziens de ces dernières, qui produisent aussi des molécules bio-actives d'intérêt pour des domaines tels que la médecine,

l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, ainsi que l'agriculture ; ouvrant ainsi une nouvelle ère, notamment pour l'agriculture, l'ère des bio-pesticides.

C'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à quelques plantes, dont leurs extraits pourraient éventuellement, avoir des effets antagoniques, vis-à-vis de certains microorganismes phytopathogènes, d'importance économique avérée.

Cette étude comportera pour cela, quatre volets, à savoir :

- La production d'une huile essentielle et d'extraits hydroalcooliques de deux plantes steppiques d'importance écologique, l'une étant une plante pastorale par excellence, qui est l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*), l'autre étant une plante fixatrice de dunes (*Retama raetam*).
- L'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de ces extraits et huiles produits, ainsi que sept autres extraits et huiles, fournis dans le cadre d'autres études, touchant d'autres aspects de bio-activité.
- La sélection des meilleurs extraits et huiles essentielles et recherche des concentrations minimales inhibitrice de croissance microbienne.
- Des essais de quelques combinaisons d'extraits et d'huiles essentielles, en vue de l'optimisation de l'effet antimicrobien.

CHAPITRE 01
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Les plantes aromatiques et médicinales :

Les plantes aromatiques et médicinales (P.A.M.) est une appellation donnée aux plantes culinaires, ayant la faculté de servir de condiment, d'épice et de façon générale les aromates d'où le qualificatif, plantes aromatiques ; et aux plantes ayant un ou plusieurs principes actifs qui leur confèrent un pouvoir thérapeutique (plantes médicinales).

Les P.A.M. sont d'une importance considérable, notamment celles des zones désertiques. En effet, en raison des différents stress et perturbations qu'elles subissent dans leur environnement, ces plantes synthétisent différentes substances bioactives ayant des propriétés médicinales et un fort potentiel nutraceutique, elles constituent à cet effet une source précieuse de nouveaux composés fonctionnels. (Neffati et Sghaier, 2004).

De nos jours entre 20000 et 25000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale. (Adossides, 2003).

D'après ce même auteur, l'exploitation des ressources naturelle et notamment du monde végétal est encore capitale à l'heure actuelle, elle est réalisée par :

- L'étude chimiotaxonomique, qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance botanique.
- L'étude ethnopharmacologique qui consiste à recueillir des renseignements sur l'utilisation des plantes auprès des populations ayant gardé un savoir faire ancestral.
- L'étude pharmacologique caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement naturel, les interactions plantes-plantes (allélopathie), plantes-microorganismes, plantes-insectes, plantes-animaux, qui sont associées à des signaux chimiques ou à l'apanage du métabolisme secondaire des plantes.

II- Le métabolisme secondaire des plantes :

II-1 Généralités :

Nous connaissons actuellement plus 250 000 espèces végétales. Celles-ci produisent un large éventail de substances chimiques de structures variées. Parmi elles, nous distinguons classiquement les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Vu T.D., 2008)

Outre le métabolisme primaire, les végétaux ont donc cette particularité de présenter un important métabolisme secondaire, ils synthétisent une profusion de substances chimiques, qui sont souvent spécifiques d'un groupe taxonomique particulier. Ces métabolites secondaires, sont soit des produits terminaux ou de déchet du métabolisme, soit des substances de réserve manifestant une métabolisation réorientée ; ils trouvent leur origine dans des produits du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés (Richter, 1993)

Contrairement aux glucides, aux protéines, aux acides nucléiques et aux lipides, les métabolites secondaires ne sont pas essentiels à la croissance et au développement de base des plantes, mais ils jouent un rôle important dans leur survie en fournissant une protection contre les herbivores et contre les maladies ; il existe trois catégories principales de métabolites secondaires : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (Nabors, 2008 ; Abderrazak et Joël, 2007).

Cela dit, même si ces métabolites n'arborent pas un rôle « essentiel », ils permettent au végétal, d'après Meyer et al. 2008, d'être en relation constante avec son environnement, en recevant, émettant ou échangeant des signaux afin de moduler son développement vers une exploitation efficace des ressources de son milieu. Le végétal protège et défend ses surfaces d'échanges, vitales pour sa nutrition et sa reproduction, grâce aux métabolites secondaires ; il utilise aussi la mobilité des animaux au cours de sa reproduction, en attirant pollinisateurs et disséminateurs grâce aux métabolites secondaires, conférant couleur, parfum ou saveur. Enfin il augmente ses performances, en attirant des symbiotes ou en éliminant des concurrents à l'aide d'un dialogue chimique dont les répliques sont encore des métabolites secondaires.

D'après Guignard 2000, la distinction entre métabolites primaires et secondaires n'a rien d'absolue, car des composés appartenant à une même classe chimique comme les caroténoïdes se rangent à la fois parmi les premiers (caroténoïdes des « antennes » des chloroplastes) et les seconds (caroténoïdes à fonction de colorant des fleurs et des fruits) ; le

rôle d'écran anti UV B du noyau des flavonoïdes, lequel conditionne l'habitat terrestre, correspond à une fonction du métabolisme primaire, en revanche la variété des flavonoïdes, différentes d'une espèce à une autre, est bien un caractère de métabolites secondaires.

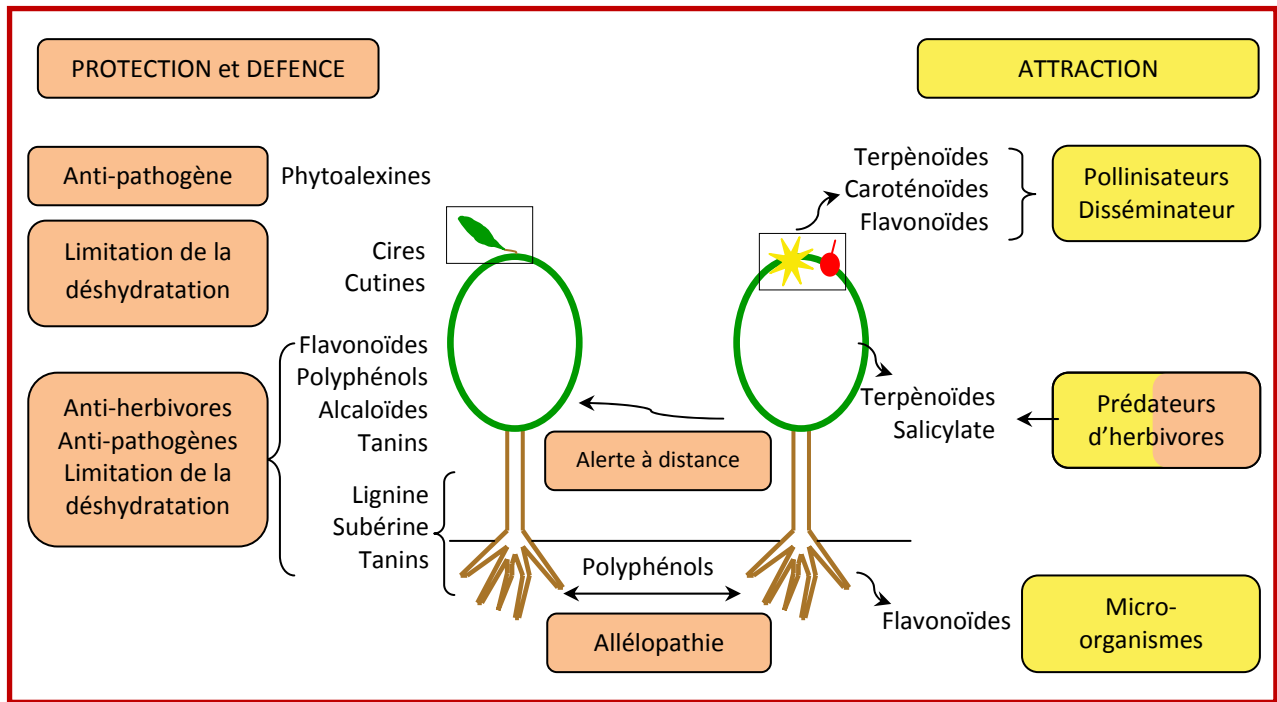
Dans le même ordre d'idée, Gravot 2008, cite la lignine comme un composé extrêmement fréquent chez les plantes et clairement indispensable pour la plupart à leur croissance et développement, elle est cependant considérée parmi les métabolites secondaires, les caroténoïdes sont aussi traités souvent en tant que tel, alors que certains sont notoirement impliqués dans la photosynthèse.

Il est à noter que les métabolites secondaires s'accumulent fréquemment à des emplacements différents de leur lieu de synthèse, par exemple la nicotine est synthétisée au niveau des racines, puis elle migre vers le feuillage (Guignard, 2000). Ce sont des molécules organiques complexes, synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Abderrazak et Joël, 2007).

Toutefois, certains métabolites secondaires sont solubles dans l'eau, tels que la plus part des alcaloïdes, les anthocyanes, ainsi que certains tanins faiblement polymérisés, ils s'accumulent dans les vacuoles, d'autres y sont insolubles, c'est le cas des dérivés phénoliques, des terpènes... etc., ils peuvent alors se fixer sur la paroi squelettique dont ils renforcent l'imputrescibilité, mais généralement la plante développe des organes spécialisés de synthèse et de stockage qui forment un appareil sécréteur (Guignard, 2000).

D'après le même auteur, les métabolites secondaires sont souvent capables d'être métabolisés à nouveau sous des formes dérivées, exemple de la caféine qui, lors de la maturation des fruits est en partie réutilisée dans la synthèse d'acides aminés.

La figure suivante, illustre les différentes relations qu'entretient une plante avec son environnement, grâce aux métabolites secondaires.

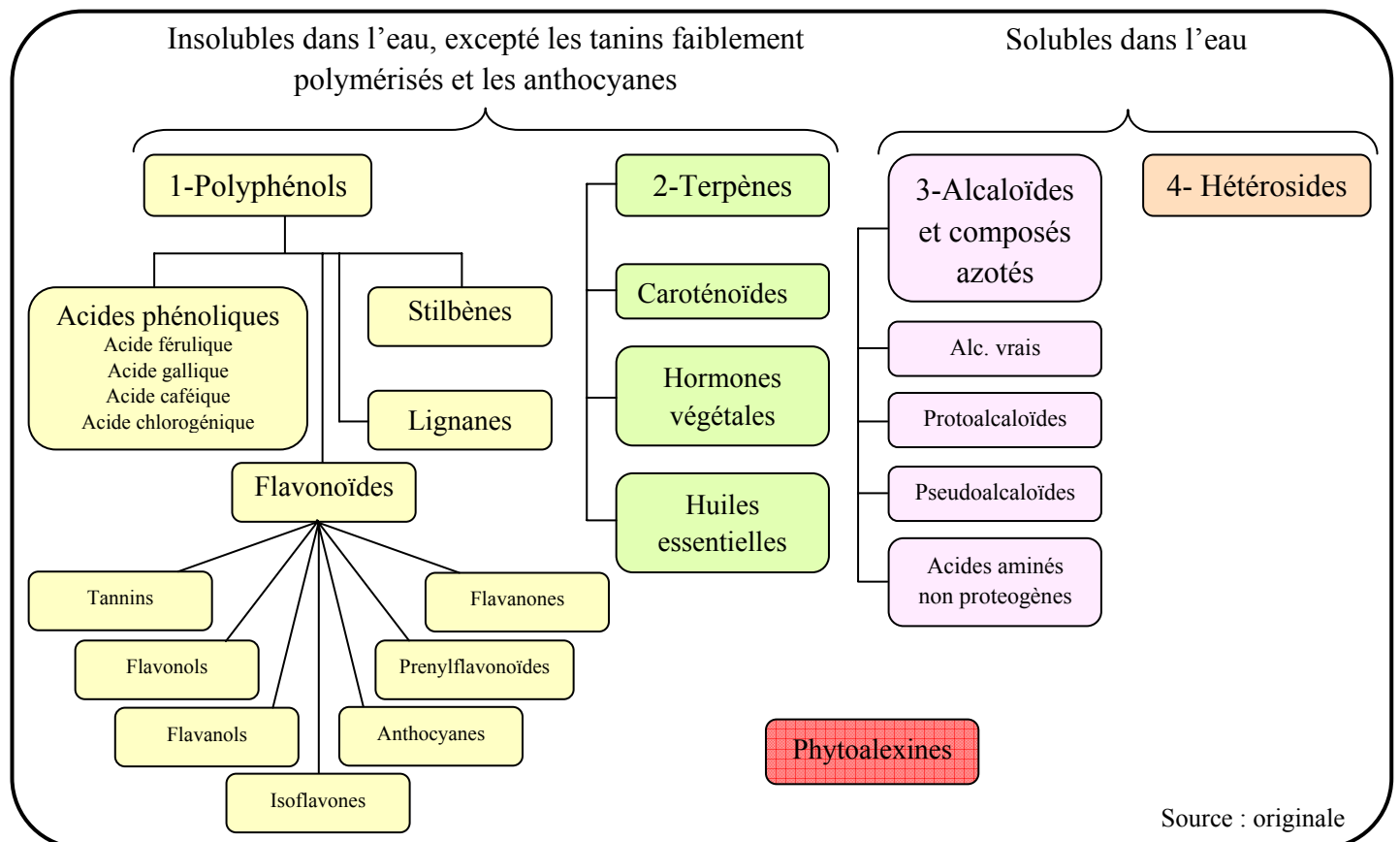


Source : Meyer et al., 2008

Fig. 01 : Place des métabolites secondaires dans les relations du végétal avec l'environnement

II-2 Les métabolites secondaires :

La figure suivante, tente un aperçu général et une classification non exhaustifs, des métabolites secondaires.



Source : originale

Fig. 02 : Aperçu général des métabolites secondaires

1- Les polyphénols :

Les polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique, portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide ; ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (Boizot et Charpentier, 2006).

C'est un groupe de nombreux composés carbonés cycliques dont la structure ne contient pas d'azote, ils sont produits principalement à partir des acides aminés, phénylalanine et tyrosine ; environ 40% du carbone circulant dans la biosphère, se présente sous forme de composés phénoliques, que l'on trouve dans les parois cellulaires et dans les vacuoles des cellules qui les produisent (Nabors, 2008).

Les polyphénols sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent, ainsi que des différentes structures formées par les liaisons de ces cycles les uns aux autres ; les principaux groupes sont : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les alcools phénoliques, les stilbènes et les lignanes (D'Archivio, 2007).

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues parmi lesquelles, 4000 flavonoïdes, qui représente le groupe le plus important en terme de nombre (Cheynier, 2005 ; Rong, 2010).

Les composés phénoliques sont responsables de la majeure partie des caractéristiques organoleptiques des aliments et boissons d'origine végétale ; ce sont des composés très réactifs et de bons substrats pour différentes enzymes, y compris les polyphénoloxydases, les peroxydases, les estérases et glycosidases. Ils subissent de nombreuses réactions enzymatiques et chimiques en post-récolte et durant le stockage de la nourriture et de la transformation (Cheynier, 2005).

Le tableau suivant illustre les principales classes de composés phénoliques.

Tableau 01. Les principales classes de composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénol simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydrobenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique,	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Antocyanes • Flavanols • Flavanones 	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzeine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tanins		Raisin rouge, Kaki

Source : Macheix et *al.*, 2005**1-1 Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux, on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état hétéroside ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guignard, 2000).

Ce sont des dérivés phenylpropanoïdes solubles dans l'eau, souvent incolores ou jaune (exception faite des anthocyanes) ; ils constituent une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants (interaction légumineuses / *Rhizobium*, filtre UV...) (Gravot, 2009).

Leur structure commune de base est le propane diphenylique, constitué de deux noyaux benzeniques (anneau A et B) reliés par une chaîne à trois carbones linéaires qui peut être fermée sous forme de pyrane (anneau C) avec l'un des noyaux benzeniques, il existe six classes : les flavonols, les flavones, les flavanones, les isoflavones, les anthocyanidines et les flavanols, (D'Archivio, 2007).

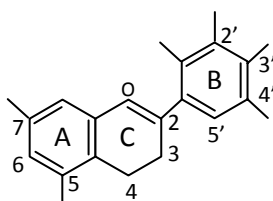


Fig. 03 : Structure de base des flavonoïdes (D'Archivio 2007)

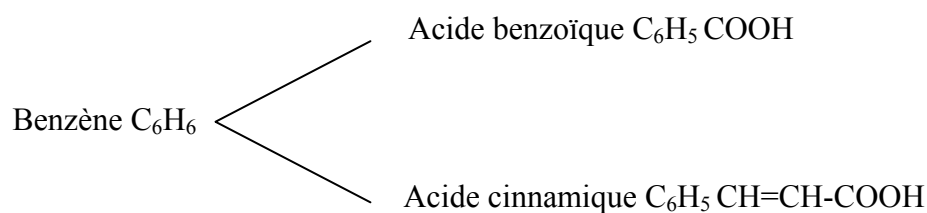
Les principales catégories de flavonoïdes sont définies par :

- 1- la présence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C, qui détermine la planéité de la molécule, les flavones, flavonols et dérivés, présentent une double liaison et sont des molécules planes, contrairement aux flavonones et dérivés.
- 2- La présence de fonctions cétones, alcools et méthoxy.

1-2 Les acides phénoliques :

Ces composés sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (D'Archivio, 2007).

La formule de l'acide benzoïque découle de celle du benzène, par la substitution d'un radical H à un radical COOH, tandis que dans l'acide cinnamique, un radical H du benzène est remplacé par un radical CH=CH-COOH (Dacosta, 2003).



La coumarine qui est un point de départ d'une famille de composés (les coumarines, notamment dans les racines intervenant dans la formation de nodules abritant les *Rhizibium*) se forme par une substitution sur un cycle aromatique, analogue à celle des dérivés de l'acide cinnamique (l'acide trans-cinnamique) par un glucoside (Richter, 1993).

Les acides phénoliques sont souvent cités comme composés à grand pouvoir antioxydant, néanmoins d'après Dacosta 2003, les dérivés de l'acide cinnamique, notamment l'acide caféique, ont des propriétés anti oxydantes supérieures à celles des dérivés de l'acide benzoïque, dont le plus actif est l'acide gallique.

1-3 les alcools phénoliques :

Les alcools phénoliques, dénommés aussi monolignols, représentent des précurseurs des lignines, il en existe trois, à savoir : les alcools, coumarylique, coniferylique et sinapique ; en effet la polymérisation de ces monolignols sous l'action des peroxydases et/ou des laccases

abouti à la formation de différentes formes de lignines, avec une relative complexité due au nombre et à la fréquence de ces trois monomères. (Macheix et *al.*2005 ; Wertz, 2010)

1-4 les stilbènes :

Le représentant principal est le resvératrol qui est une phytoalexine produite par des plantes en réponse à l'infection par des agents pathogènes ou à différentes conditions de stress. Il a été détecté dans plus de 70 espèces de plantes (D'Archivio, 2007).

1-5 les lignanes :

Les lignanes et néolignanes sont un groupe important de produits naturels, caractérisé par le couplage de deux unités de phénylpropanoïde C₆C₃, lorsque ces deux unités sont reliées par une liaison C-C entre les positions 8 et 8' le composé est appelé lignane. Le terme néolignane est employé pour définir tous les autres types de liaison entre ces deux unités. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/lignan/> page consultée le 21 mars 2015 à 23h.

Le nom de lignane vient du fait que chez les conifères ces composés se rencontrent surtout dans le bois, tandis que chez les plantes à fleurs leur répartition concerne tous les tissus soumis à la lignification. Les néolignanes se limitent pratiquement aux espèces ligneuses primitives (Guignard, 2000).

1-6 Les Tanins :

Les tanins ont une provenance chimique variée, ils ont toutefois un point commun qui est la propriété de tanner le cuir, car ayant une capacité à précipiter les protéines. Dans les plantes, les tanins ont, avec les composés phénoliques simples, une action protectrice contre l'attaque des micro-organismes, en particulier en se déposant dans les parois cellulaires, dont ils provoquent le brunissement (Richter, 1993).

En résumé les composés phénoliques participent à la défense de la plante contre les agressions d'origine biologique, soit en tant que barrière mécanique dans le cas des lignines, soit comme barrière chimique, en agissant comme antibiotiques ou antifongiques.

Outre les tanins, dont la toxicité vis-à-vis des microorganismes est un fait bien établi expérimentalement et qui concerne de nombreux domaines : la pathologie végétale, les sciences du bois, des aliments et du sol ; de très nombreux composés phénoliques simples (acides caféique, férulique, chlorogénique, coumarines, flavonoïdes, lignanes...) présentent également une activité antibactérienne et antifongique, soit dans leur état normal, soit après

qu'ils soient oxydés en quinones par les enzymes de la plante ou des microorganismes. (Macheix, 2005).

2- Les terpènes :

Le nom vient du mot allemand Terpen (1866) provenant de das Terpentin : (la térébenthine). L'emprunt francisé terpène date de la fin du XIX^{ème} siècle (1871). Au sens strict, les terpènes sont des hydrocarbures mais de nombreux dérivés (alcools, aldéhydes, cétones, acides), de structure apparentée, sont considérés comme des composés terpéniques. Ils sont présents, dans les végétaux, dont ils sont souvent les constituants "de senteur" (térébenthine, camphre, menthol, citronnelle). Certains d'entre eux ont un rôle biologique important (hormones, vitamines).

<http://webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA/ORGANIQUE.htm> Dernière mise à jour le 15/09/2014, page consultée le 20-04-2015 à 18h00.

La particularité structurale la plus importante des terpènes est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) reconnue par Wallach dès 1887. On les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes, nommées huiles essentielles (Lamarti et *al.*, 1994).

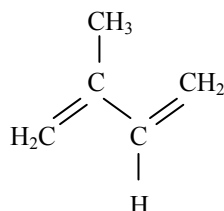


Fig. 04 : Structure de l'isoprène

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes proprement dit ou monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes en C₃₀, les tetraterpènes en C₄₀ (caroténoïdes), et les polyterpènes (Guignard, 2000).

les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc (polyterpène) (Gravot, 2009

http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:8Zo_h46uj14J:perso.univ-rennes1.fr/antoine.gravot/index.htm/L2Phytoressources/M%25C3%25A9tabolites%2520secondaires2009.doc+&cd=1&hl=fr&ct=clnk&gl=fr) page consultée le 25 mars 2015 à 21h.

Ce même auteur parle aussi de produits tels que certains arômes de la tomate et l'acide abscissique (une hormone en C15 de réponse au stress hydrique, très importante chez les plantes) comme étant des produits du catabolisme de caroténoïdes (C40).

2-1 Monoterpènes et sesquiterpènes :

Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les constituants les plus simples de la série des terpènes, issus du couplage de deux unités isopréniques, il en existe plus de mille, certains de structures « régulières », ce sont les éléments habituelles des huiles essentielles ; certaines possèdent des structures « irrégulières », ils participent à la formation des pyréthrine (substances neurotoxiques extraites de plantes de la famille des Astéracées, comme le pyrèthre (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), utilisés comme insecticides), et composent certaines huiles essentielles de cette même famille ; d'autres, cyclisés en methylcyclopentanes constituent les iridoïdes (monoterpènes comportant un hétérocycle oxygéné et un reste glucose, tel que le loganoside) (Bruneton, 2008 et Guignard 2000).

2-2 Diterpènes :

Les métabolites secondaires diterpéniques sont peu nombreux, nous pouvons citer les acides résiniques des conifères, le ginkgolides du ginkgo, la taxinine de l'if etc...(Guignard,2000).

Certains diterpènes tels que les gibbérélines sont unanimes au règne végétal, d'autres ont par contre une distribution plus restreinte. Ils sont particulièrement abondants chez les Astéraceae avec plus de 1200 produits repartis en une centaine de squelettes, ils sont néanmoins plus dispersés chez les Gentianales, les Géraniales et les Fabales. (Bruneton, 2008).

2-3 Triterpènes et stéroïdes :

Les triterpènes se rencontrent à l'état libre (squalène, phytosterols, triterpènes pentacycliques), ou sous forme d'hétérosides (saponosides). Le squalène représente le point

de départ de la biosynthèse des triterpènes qui abouti après oxydation et cyclisation, soit aux phytostérols , soit aux triterpènes pentacycliques.

Les phytostérols rencontrés le plus fréquemment sont le stigmastérol et les β et γ sitostérols, ils entrent dans la constitution des cires.

Les triterpènes pentacycliques interviennent dans la plante comme antifongiques et antimicrobiens, ils se substituent aux stérols membranaires et amènent leurs destructions (Guignard, 2000).

2-4 Tétraterpènes (caroténoïdes) :

Les caroténoïdes sont les seuls représentant de ce groupe, ce sont des substances colorée en jaune, orange ou rouge, responsables de la coloration de nombreux fruits et fleurs ; ils se constituent dans les plastes et se présentent souvent sous forme cristalline. Les caroténoïdes des pigments assimilateurs sont synthétisés par les chloroplastes, ceux des fleurs et fruits sont synthétisés par les chromoplastes.

Les caroténoïdes des chloroplastes sont assez semblables pour l'ensemble des plantes supérieures (β -carotène, luteine, violaxanthine, zeaxanthine), tandis qu'il existe une grande variété chez ceux des chromoplastes (lycopène de la tomate, violaxanthine de la violette, rhodaxanthine de l'if, crocetine du safran (Guignard 2000).

2-5 Les polyterpènes :

Les polyterpènes représentent des molécules à haut poids moléculaire, ils englobent des produits tels que les latex, les résines, les gommes ; nous pouvant citer à titre d'exemple le solanésol qui est un terpène alcool présent dans les tissus de nombreux végétaux, le caoutchouc aussi en est un exemple de polyterpène extrait à partir de l'hévéa (Euphorbiacées).

3- Les huiles essentielles :

Définition : la norme AFNOR NF T 75-006 de février 1998 définit l'huile essentielle comme ceci : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques, pour les deux premiers modes d'obtention, elle peut subir des traitements

physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple, redistillation, aération,...). Cette définition par procédé est restrictive : elle exclut aussi bien les produits obtenus par extraction à l'aide des solvants, que ceux obtenus par tout autre procédé (Bruneton, 2005).

3-1 Composition chimique des huiles essentielles :

Guenther, 1948 (in Perricone et *al.*, 2015) attribua ce concept à von Hohenheim qui dans le 16^{ème} siècle, a utilisé le terme "*Quinta Essentia*" ou composé actif essentielle.

Bien que le nom huile essentielle prête souvent à confusion, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras, le terme « huile » fait référence à leur liposolubilité et par leur caractère hydrophobe ; le terme « essentielle » est quant à lui, du aux parfums qu'elles confèrent aux plantes qui les produisent.

Les huiles essentielles sont en fait un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, de composition en général très complexe, plus de 3000 y ont été isolés jusqu'à présent ; la plupart d'entre eux sont des carbures monoterpéniques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques, des cétones et des epoxydes monoterpéniques. On rencontre également des hydrocarbures sesquiterpéniques, des alcools sesquiterpéniques, des cétones et des epoxydes sesquiterpéniques. (Teuscher et *al.*, 2005).

Cela dit sur ces 3000 huiles essentielles, seulement 300 d'entre eux sont utilisés dans les parfums et les produits de maquillage (crèmes, savons, etc.), produits d'hygiène, la dentisterie, l'agriculture, en tant que conservateurs, additifs aromatisants pour les aliments, désodorisants ménagers, produits et solvants industriels, etc. (Burt, 2004 in Perricone et *al.*, 2015).

3-2 Répartition, localisation et fonctions des huiles essentielles :

Selon Bruneton, 2005, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, cet auteur cite que selon Lawrence, il y aurait 17500 espèces aromatiques, il parle cependant de nombre limité de familles capables d'en produire, il en cite pour exemple : les Myrtaceae, les Lauraceae, les Rutaceae, les Lamiaceae, les Asteraceae, les Apiaceae, les Cupressaceae, les Poaceae, les Zingiberaceae, les Piperaceae.

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la

cellule et recouverte d'une cuticule ; elles sont ensuite stockées soit dans des cellules à essence, soit dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs ou encore dans des papilles (Teuscher et *al.*, 2005).

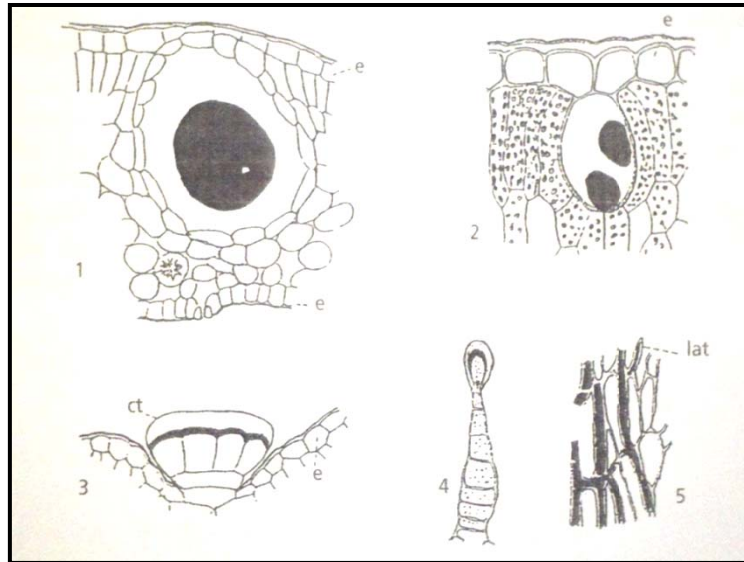


Fig. 05 : Exemples des appareils sécréteurs des H.E. d'après Guignard et *al.* 2004

1: Poche sécrétrice d'une feuille d'*Eucalyptus globulus* (Myrtacées) ; 2 : Cellule isolée située sous l'épiderme, e, de la feuille de *Sassafras officinale* (Lauracées) ; 3 : Poil de menthe poivrée *Mentha piperita* (Lamiacées) : l'essence (en noir) s'accumule sous la cuticule, ct, très épaisse 4 : Poil de patchouli *Pogostemon* (Lamiacées), 5 : laticifères, lat, dans la racine d'un Salsifis (Astéracées).

D'après Teuscher et *al.*, 2005, les gouttelettes d'huile essentielle ainsi produites, sont entourées de membranes spéciales, constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes qui leur confère des propriétés lipophiles et par voie de conséquence, une perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent donc fortement, l'évaporation de ces huiles essentielles, ainsi que leur oxydation à l'air.

En ce qui concerne la fonction biologique des huiles essentielles, elle demeure encore mal connue, il est toutefois établi qu'elles jouent un rôle écologique important, aussi bien dans le domaine des interactions végétales (agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de la germination) que dans celui des interactions avec d'autres organismes (protection contre les prédateurs et attraction des pollinisateurs (Bruneton, 2005).

3-3 Propriétés physiques et composition chimique :

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante et très volatiles, généralement non colorés. Leur densité est inférieure à celle de l'eau, avec cependant quelques exceptions (H.E. de girofle et de cannelle). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart devient la lumière polarisée ; elles sont solubles dans les solvants organiques usuels et liposolubles, mais très peu solubles dans l'eau, elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (Bruneton 2005).

Sur le plan chimique, et selon le même auteur, les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes : le groupe des terpénoïdes d'une part et celui des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus déprédatifs mettant en jeu des constituants non volatils.

D'après Pibiri 2006, l'activité biologique d'une huile essentielle est due, à ses groupes fonctionnels des composants majoritaires pris séparément (alcools, phénols, composés terpéniques) et les possibles effets synergiques entre eux, l'activité est donc déterminée par la nature des structures chimiques qu'elle contient ainsi qu'à leur proportions.

Il est cependant probable d'après Lahlou 2004, que les composés minoritaires puissent agir de manière synergique. A cet effet la valeur d'une huile essentielle peut provenir de l'intégralité de ses composants et non seulement de ses composés majoritaires.

Ceci dit, les composés chimiques de plus grande efficacité et à plus large spectre, sont des phénols (thymol, carvacrol et eugenol) des alcools (α -terpinol, terpinen-4-ol, Linalol), des aldéhydes, des cétones et plus rarement des terpènes (Dorman et Deans, 2000 in Pibiri, 2006)

3-4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles :

En raison de leur lipophilie, la plupart des huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes, plus ou moins prononcées. Leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes et inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique et à des concentrations élevées, les huiles essentielles entraînent la lyse membranaire et la dénaturation des protéines cytoplasmiques (Teuscher et *al.*, 2005).

Tian *et al.*, 2012 ont étudié les mécanismes d'action antifongique de l'huile essentielle de l'aneth (*Anethum graveolens* L.) sur *Aspergillus flavus* et ont mis en évidence des lésions dans la membrane plasmique, ainsi que l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, le dysfonctionnement mitochondrial par chute du potentiel de membrane mitochondrial et l'acidification du milieu externe, ainsi que l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (E.R.O.), ou dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène aboutissant à un stress oxydatif.

L'ergostérol est le stérol majoritaire qui constitue la membrane cellulaire des microorganismes ; il participe donc au maintien de l'intégrité cellulaire. Les travaux de Pinto *et al.* 2006 sur l'activité antifongique du thym de bergère, (*Tymus pulegioides*) ont montré une réduction du contenu en ergostérol de 80 à 100 % sur *Candida albicans*.

Les travaux de Zeng *et al.*, 2015 sur l'activité et les mécanismes antifongiques du fenouil commun (*Foeniculum vulgare* L.) ont mis en évidence l'endommagement de la membrane plasmique et des organites intracellulaires, ainsi que l'inhibition de l'activité de certaines enzymes mitochondriales tel que la succinate déshydrogénase, la malate déshydrogénase et l'ATPase.

3-5 Notion de chémotypes :

Au sein d'une même espèce de plante, la composition de l'huile essentielle des divers individus peut présenter des profils chimiques ou chémotypes différents. L'exemple le plus marquant est celui de l'espèce sauvage *Thymus vulgaris* présente dans le sud de la France. Il existe en effet six chémotypes différents pour cette seule espèce. Ces différences sont au niveau de la nature du monoterpène majoritaire de l'huile essentielle qui peut être soit le géraniol, l' α terpinéol, le thuyanol-4, le linalool, le carvacrol ou le thymol (Thompson *et al.*, 2003 in Piochon, 2008).

Ce polymorphisme chimique existe aussi pour bien d'autres espèces, à titre d'exemple, nous pouvons citer *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. (Thym d'Afrique du nord), qui présente selon Zouari *et al.* 2012, cinq chémotypes, à savoir : (α -pinène / 1,8-cinéole / cis-sabinène hydrate / camphre / viridiflorol), (1,8-cinéole / camphre / acétate de terpényle), (α -pinène / 1,8-cinéole / camphre), (1,8-cinéole / camphre / 4 terpinéol) et (α -pinène / 1,8-cinéole / cis-sabinène hydrate / camphre / 4-terpinéol).

Piochon 2008, note que des huiles essentielles à chémotypes différents présenteront non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables.

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques (Bruneton, 1999).

4- Les Alcaloïdes :

Les alcaloïdes forment une grande famille de molécules chimiquement hétérogènes, ils ont pour points communs, leur solubilité dans l'eau, leur forte activité biologique, souvent leur amertume, ainsi que la présence d'au moins un atome d'azote dans leurs structures, qui accepte souvent un proton et leur confère un caractère légèrement alcalin d'où leur nom d'alcaloïdes (Hopkins, 2003).

Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes, mais on les trouve également chez quelques animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles ; le premier alcaloïde identifié est la morphine à partir de l'opium en 1806, depuis, plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes. Ce sont des composés relativement stables ayant différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane. Quelques structures sont relativement simples, tandis que d'autres sont tout à fait complexes. (Mauro, 2006).

D'après Gravot 2009, on distingue généralement :

- **Les alcaloïdes vrais**, qui sont du point de vue de la biosynthèse, dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle, exemple : la strychnine dérivée du tryptophane.
- **Les proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques, exemple : la colchicine.
- **Les pseudo-alcaloïdes**, qui ne dérivent pas d'acides aminés, exemple : la caféine.

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce, ils s'accumulent uniquement selon les cas, dans les écorces, racines, feuilles ou dans

les fruits. A titre d'exemple les tubercules de pomme de terre ne contiennent pas d'alcaloïdes, tandis que les parties vertes contiennent la solanine toxique. Chez le tabac -un autre exemple- la nicotine est produite dans les racines, mais transférée ensuite vers les feuilles où elle est stockée. La partie dans laquelle les alcaloïdes s'accumulent n'est pas forcément celle où ils sont synthétisés (Mann *et al.*, 1994 ; Harborne *et al.*, 1995 ; Kutchan, 1995) in Mauro, 2006.

Les alcaloïdes représentent un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des microorganismes. La nicotine empêche la croissance des larves du tabac.

La solanine et la tomatine sont impliquées dans la résistance de la pomme de terre et de la tomate vis-à-vis des certains pathogènes. En outre, des alcaloïdes protègent aussi les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante mais parfois, ils n'ont pas de rôle précis et sont simplement des sous-produits du métabolisme végétal. (Mauro, 2006 et Gravot, 2009).

5- Relation entre les métabolites secondaires et les organismes endophytes :

Les endophytes sont des champignons ou des bactéries qui vivent à l'intérieur des plantes dans une relation symbiotique, cette colonisation des tissus végétaux, crée un effet de barrière contre les organismes pathogènes, par la production de métabolites secondaires qui inhibent la croissance des concurrents ou agents pathogènes. De cette façon, ils jouent un rôle très important dans les mécanismes de défense des plantes (Muna *et al.* 2014).

Les endophytes sont reconnus comme source potentielle de nouveaux produits bioactifs naturels pour l'exploitation en médecine, en agriculture et dans l'industrie (Bacon et Blanc, 2000; Strobel et Daisy, 2003; Kumar et Sagar, 2007) in Baby et Mini Priya 2011.

Ils sont omniprésents avec une riche biodiversité, ils ont été trouvés dans toutes les espèces de plantes étudiés à ce jour. Il est à noter que, parmi les quelques 300 000 plantes qui existent sur terre, chaque plante est l'hôte d'un ou de plusieurs endophytes (Strobel et Daisy, 2003) in Baby et Mini Priya 2011.

Les endophytes peuvent coopérer avec leur plante hôte en produisant des métabolites secondaires qui peuvent protéger la plante, en lui fournissant la capacité de se défendre contre les prédateurs, aider leurs hôtes à s'adapter dans différentes conditions de stress pour la survie. Il a été rapporté que la présence d'un mutualiste endophyte fonctionne comme un

« déclencheur biologique » pour stimuler le système de réponse au stress plus efficacement que les plantes qui en sont dépourvues. Ils encouragent la croissance des plantes de différentes façons, tels que la production de sidérophores comme l'entérobactine, ainsi que la production de régulateurs de croissance tel que l'acide indole acétique, ou encore, la fourniture de vitamines essentielles pour les plantes (Muna et al. 2014).

Des études récentes ont rapporté des centaines de produits naturels, tels que les alcaloïdes, les terpènes, les flavonoïdes, et les stéroïdes, etc., isolés à partir d'endophytes (Baby et Mini Priya 2011).

Il devient de plus en plus clair d'après Zhang et al. 2013, que la flore microbienne du sol, constituée d'une vaste gamme de bactérie, champignons, nématodes et autres organismes, n'est pas le fruit du hasard, mais plutôt le résultat d'une régulation active par les plantes.

Sugiyama et Yazaki, 2012, in Zhang et al. 2013, citent les exsudats racinaires ayant comme fonction, non seulement la nutrition des micro-organismes du sol, mais aussi le rôle de signal dans les interactions plantes micro-organismes, ils ont démontré à cet effet que les flavonoïdes et strigolactones dans les exsudats racinaires, servent de signales moléculaires « d'appel » à des interactions symbiotiques entre les légumineuses et les Rhizobium et/ou les champignons micorhiziens arbusculaires. Ils rapportent aussi que les endophytes peuvent changer la production de métabolites secondaires dans leurs plantes hôtes.

Dans le même ordre d'idée, Chen et al. 2006, ont constaté que la production d'alcaloïdes chez *Dendrobium candidum* (orchidée) peut être induite par un éliciteur fongique.

Waqas et al. 2013, ont émis l'hypothèse que la capacité des plantes à inhiber la croissance de plantes voisines « allélopathie » est due à des métabolites spécifiques produits par des organismes symbiotiques associés à la plante hôte. Ils ont isolé à cet effet un métabolite bioactif (acide benzoïque), produits par un champignon endophyte du tournesol, *Helianthus annuus*, en l'occurrence le *Cladosporium cladosporioides* qui c'est révélé avoir un effet inhibiteur significatif sur la germination et la croissance des graines de laitue.

Xuping et al. 2014 ont identifié un composé bioactif (trichodermine) isolé à partir d'un champignon endophyte de l'ail *Allium sativum*, en l'occurrence *Trichoderma brevicompactum*

qui s'est révélé avoir une activité inhibitrice marquée sur *Rhizoctonia solani* ainsi que sur *Botrytis cinerea*.

6- Méthodes d'extractions des métabolites secondaires :

6-1 Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans l'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'H.E se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'H.E étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolysate (Hellal, 2011).

6-2 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau mais placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau, qui endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'H.E en minimisant les altérations hydrolytiques (Hellal, 2011).

6-3 Hydrodiffusion

Cette technique est relativement récente, elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatils (Hellal, 2011).

6-4 Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

6-5 Extraction assistée par micro-ondes

C'est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Hemwimon et *al.*, 2007).

6-6 Extraction par les solvants et les graisses

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole etc.), mais aussi de graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par les corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables (Hernandez-Ochoa, 2005).

6-7 Extraction par fluides supercritique

Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction. En outre tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est réduit (Hellal, 2011). Au-delà du point critique ($P= 73,8$ bars, $T^{\circ}= 31,1^{\circ}\text{C}$), le CO_2 qui est le fluides le plus utilisé, possède les propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (Piochon, 2008).

III- Généralités sur les espèces fongiques testées :

Un grand nombre d'espèces fongiques, appartenant principalement aux genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium*, présents dans l'air ambiant, le sol et sur les cultures, sont connues pour être des contaminants des produits agricoles. Elles se développent sur les cultures avant ou après les récoltes, et notamment durant leur stockage avant transformation industrielle. Leur présence entraîne une altération des propriétés organoleptiques, une diminution des qualités nutritives et de la disponibilité en volume des grains récoltés. (Joubrane, 2011).

Outre cette dépréciation qualitative et quantitative induite par les champignons phytopathogènes, ces derniers ont la capacité de produire des mycotoxines, dangereuses pour l'alimentation humaine et animale, qui de ce fait peuvent rendre souvent les productions agricoles non commercialisables ce qui représente une perte sèche pour l'agriculteur.

A cet effet les principales mycotoxines peuvent être produites par 5 genres de champignons, à savoir : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. Compte tenu de leurs propriétés toxiques chez l'homme et l'animal et de leur fréquence de contamination des matières premières et des aliments, les mycotoxines les plus importantes sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, les trichothécènes et la zéaralénone. (Tabuc, 2007).

Nous nous sommes intéressés dans cette étude, à trois genres d'entre eux, à savoir :

Fusarium, *Alternaria* (champignons de champs) et *Aspergillus* (champignon de stockage).

1- Le genre *Fusarium*

Fusarium est un genre de champignons imparfaits (deutéromycètes), les formes parfaites (téléomorphes) de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes (ordre des Hypocreales, famille des Nectriacées, genres *Gibberella*, *Calonectria*, et *Nectria*). Pour plusieurs espèces le stade parfait demeure inconnu.

Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fusus* car ses spores sont en forme de fuseau, à cet effet, le principal caractère morphologique de ce genre, est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Il regroupe plusieurs espèces phytopathogènes susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes.

Ces champignons infectent de nombreuses céréales, graminées et autres plantes, ils survivent dans les graines, dans les résidus de culture et dans le sol. À l'automne, favorisé par les sols humides, ils envahissent le collet, les racines, ils provoquent la pourriture des semences et la brûlure des semis, les plantules meurent avant leur levée, tandis que la croissance des plantules qui lèvent, est stoppée et le collet, les racines ou la base de la tige présentent une pourriture allant du brun au brun rouge.

Le champignon se conserve dans le sol grâce à ses chlamydospores et au mycélium capable de survivre sur les débris. La dissémination se fait au niveau du sol par les eaux de ruissellement, le vent ou les éclaboussures ou sont introduit dans du terreau ou plants contaminés.

Certaines espèces saprophytes sont accessoirement capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents.

Les champignons de ce genre s'avèrent plus dangereux par leur caractère ubiquiste et peuvent poser de gros problèmes en agriculture et en horticulture. Les maladies causées par ces champignons sont difficiles à diagnostiquer et se répandent facilement, constituant ainsi l'origine d'une importante perte pour les cultivateurs. Dû à leurs facilités de dissémination et à leurs persistances dans le sol, la lutte contre ces maladies reste limitée à des mesures prophylactiques. (Rakotoarimanga 2014).

Pour ce qui est des espèces les plus importantes sur le plant phytopathologique nous pouvons citer, le *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. solani*, ainsi que *F. oxysporum* qui est un complexe d'espèces telluriques, comprenant de nombreuses formes spéciales (*formae speciales* notés *f. sp.*), qui infectent collectivement plus de 100 hôtes différents, responsables de diverses maladies, principalement des trachéomycoses causant le flétrissement vasculaire dû à l'envahissement des vaisseaux du xylème par le pathogène, dont la forme spéciale *albedinis* sur palmier dattier.

Pour exemple Cette maladie est destructive sur blé qui peut dévaster une culture en quelques semaines avant la récolte. Elle peut être associée à la fois à de fortes pertes de rendement (avortement et faible poids des grains) elle affecte la qualité technologique et sanitaire des farines de blé avec une dégradation de la force boulangère, une dégradation des téguments. Les grains infectés étant plus petits et décolorés, les lots de blé peuvent être

déclassés, les rendements sont fortement diminués et la qualité germinative des semences est altérée. (Siou, 2013).

Les qualités protéiques sont également altérées avec la perte de protéines comme l'albumine et le gluten (Brown et al., 2010).

2- Le genre *Aspergillus*

Aspergillus est un genre de champignons imparfaits (deutéromycètes). Les formes parfaites (téléomorphes) de quelques espèces d'*Aspergillus* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes (ordre des Eurotiales, famille des Trichocomacées). Pour plusieurs espèces d'*Aspergillus*, le stade parfait demeure inconnu

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) qui se terminent par une vésicule de forme variable sur la quelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petits structures insérés sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou stérigmates. Les conidies, sèches, disposées en chaînes divergentes ou associées en colonnes compactes, sont toujours unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées en jaune, vert, brun ou noir. L'ensemble **vésicule ± métules + phialides + conidies** constitue la tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus*. (Tabuc, 2007).

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques.

Sur le plan macroscopique, les *Aspergillus* forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. La couleur de colonies permet une orientation rapide dans l'identification d'espèces : gris-vert pour *A. fumigatus*, vert-jaune pour *A. flavus* et les espèces du groupe *A. glaucus*, vert foncé à chamois pour *A. nidulans*, brun cannelle pour *A. terreus*, chamois clair, jaune et rose pour *A. versicolor*, jaune puis noir pour *A. niger* et blanche pour *A. candidus*. Le revers de la colonie est incolore ou jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge (Chermette et Bussieras, 1993).

3- Le genre *Alternaria*

Le genre *Alternaria* est classé parmi les *Deuteromycetes Dematiaceae*, formant un mycélium cloisonné brun ne présentant aucun mode de reproduction sexuée connu. Les champignons appartenant à ce genre se multiplient de manière asexuée à partir de filaments spécialisés appelés conidiophores où vont être différenciées des conidies (ou spores), brunes également, très caractéristiques du genre, organisées en chaînette. Ce sont des dictyospores : conidies piriformes, à la base élargie avec des cloisons transversales, obliques et longitudinales en nombre variable dont l'aspect global rappelle la forme d'une massue. (Simmons 1992, in Calmes 2011). La taxonomie moléculaire basée sur la comparaison des séquences nucléotidiques, a abouti au classement de ce genre parmi les *Ascomycète*. (Calmes 2011).

Le genre *Alternaria* regroupe plus de 100 espèces ubiquitaires extrêmement répandues dans les sols, la végétation, l'air ou les aliments, ceci dit, la majorité des espèces de ce genre sont des champignons phytopathogènes inféodés à une famille de plantes ou à une plante spécifiquement. Ils sont généralement présents sur les semences provoquant des manques à la levée ou des fontes de semis. Les jeunes pousses atteintes constituent une source importante d'inoculum primaire pour les plantes matures où tous les organes aériens peuvent être affectés (Champion, 1997).

Selon Calmes, 2011, la gamme de plantes hôtes concernées par l'alternariose est très variée et certaines espèces peuvent provoquer d'importants dégâts sur des espèces cultivées occasionnant des pertes financières significatives. C'est le cas, par exemple d'*A. triticina* sur les céréales, *A. dauci* et *A. radicina* sur cultures maraîchères comme la carotte.

CHAPITRE 02
MATERIEL ET METHODES

A- Matériel :**I- Le matériel végétal :**

Pour les besoins des extractions d'huiles essentielles et d'extraits végétaux, nous avons opté pour deux plantes steppiques, connues pour leurs vertus thérapeutiques, il s'agit de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) et le retam (*Retama raetam*).

I-1 *Artemisia herba alba* :

La partie aérienne (tiges et feuilles) de l'armoise blanche a été échantillonnée à une vingtaine de kilomètres au sud ouest de la ville d'Aflou, au lieu dit Chouabir (33°58'30.78"N, 2° 2'3.59"E), sur un terrain mis en défend relativement plat, dans lequel l'armoise est dominante avec quelques touffes d'Alfa et une population éparse de genévrier.

Le prélèvement des échantillons a été effectué de manière aléatoire sur l'ensemble de la parcelle, le 15 mars 2015, entre 12h et 13h, par temps ensoleillé avec une température de 11°C. et absence de vent.

I-2 *Retama raetam* :

L'échantillonnage de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) de *Retama raetam* a été réalisé à la sortie nord de la ville de Laghouat, au pied d'une dune, à proximité de l'Agence Nationale de la Conservation de la Nature (33°51'47.35"N, 2°51'54.08"E) de manière aléatoire sur plusieurs pieds, le 15 mars 2015, entre 15h et 16h, par temps ensoleillé avec une température de 19°C. et absence de vent.

La figure suivante illustre la situation géographique des lieux d'échantillonnage.



Fig. 06 : Photo satellite des sites d'échantillonnage



Fig. 07 : Photos du site d'échantillonnage d'*Artemisia herba alba* (Chouabir)



Fig. 08 : Photo d'un pied d'*Artemisia herba alba* prise sur le site d'échantillonnage



Fig. 09 : Photo du site d'échantillonnage de *Retama raetam*






Fig. 10 : Photo d'un pied de *Retama raaetam* prise sur le site d'échantillonnage






En plus de ces deux espèces, nous avons utilisé des huiles essentielles et des extraits qui nous ont été aimablement fournis par M^{elle} Abdellaoui K., enseignante à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, fournis dans le cadre d'autres études, touchant d'autres aspects de bio-activité, à savoir :

- huiles essentielles de [*Chamaemelum fuscatum*, *Calendula arvensis*, (partie aérienne), *Saussurea lappa* (racines)].
- Extraits méthanoliques de : *Inula viscosa* et *Myrtus communis* (feuilles), *Ziziphus jujuba* (Fruits), *Saussurea lappa* (Racines).

Le tableau suivant résume quelques caractéristiques des plantes testées

Tableau 2. Brèves description des plantes testées :

Noms de l'espèce	systématique	Répartition géographique	Brève description	Photographie
Nom scientifique : <i>Artemisia herba alba</i> Nom commun : armoïse blanche Nom vernaculaire : Chiha, Ifsi ou zezzaré	Classe : Magnoliopsida Ordre: Asterales Famille : Asteraceae Genre : <i>Artemisia</i> Espèce: <i>A. herba alba</i> (Asso)	Espèce méditerranéenne s'étend de l'Espagne, des îles canaries à l'Egypte et à l'Asie occidentale, en Algérie elle est extrêmement rependue sur les hauts plateaux et au nord du Sahara et assez rare dans la zone littorale (Ait Youcef, 2006).	Plante vivace très tomenteuses à racines obliques nombreuses et rhizosphère peu profonde, tiges ligneuses, ramifiées pouvant atteindre 70 cm de haut, beige (Nègre 1962).	
Nom scientifique : <i>Retama raetam</i> Nom commun : Rotem Nom vernaculaire : R'tem, telit, telggit	Classe : Magnoliopsida Ordre : Fabales Famille : Fabacées Sous famille : Papilionacées Genre : <i>Rétama</i> Espèce : <i>Rétama raetam</i> (Forssk.) Webb	Plante originaire des sables maritimes de la région méditerranéenne et des sites de sable dans le Sahara	Plante pérenne, reconnus comme fixatrice de dunes arbuste monoïque, pouvant atteindre 3m de long, caractérisé par un tronc trapu et court, rameaux denses, arqués, flexibles et retombants. (Zohary, 1962). (Ozenda, 1958).	
Nom scientifique : <i>Myrtus communis</i> Nom commun : Myrte commun Nom vernaculaire : rihan, mersin	Classe : Magnoliopsida Ordre: Myrtales Famille : Mirtaceae Genre : <i>Myrtus</i> Espèce : <i>Myrtus communis</i> L.	Très commune dans le tell et dans le littoral Algérois et Constantinois (Aït Youcef, 2006).	Arbre de 2 à 3 mètre de haut, possède des feuilles opposées à très court pétiole, ovales à la base, pointues au sommet, elles sont entières, luisantes, fermes et persistantes à fleurs blanches, le fruit est une baie ovoïde, de couleur foncée, d'une odeur agréable. (Dellil, 2010).	

<p>Nom scientifique : <i>Inula viscosa</i> Nom commun : Inule visqueuse Nom vernaculaire : <i>amagramane</i> ou <i>mersitt</i></p>	<p>Classe : Magnoliopsida Sous-classe: Asteridae Ordre: Asterales Famille : Asteraceae Genre : <i>Inula</i> Espèce: <i>I. viscosa</i> L.</p>	<p>C'est une plante à répartition méditerranéenne, très commune en Algérie (Aït Youcef, 2006).</p>	<p>Il s'agit d'un sous arbrisseau vivace, de 40 cm à 1m de haut cette plante glanduleuse et visqueuse à odeur forte, pousse en buissons très denses (Aït Youcef, 2006).</p>	
<p>Nom scientifique : <i>Chaememelum fuscatum</i> Nom commun : artemis brunâtre, artemis précoce, camomille brunâtre</p>	<p>Classe : Magnoliopsida Sous-classe: Asteridae Ordre: Asterales Famille : Asteraceae Genre : <i>Chaememelum</i> Espèce : <i>C. fuscatum</i> (Brot.) Vasc., 1967</p>	<p>Plante commune du pourtour méditerranéen. (Réseau Tela botanica, 2011).</p>	<p>Plante Thérophyte annuelle de 1-3 dm, glabre à tiges ascendantes ou dressées, rameuses, les feuilles bipennatiséquées,</p>	
<p>Nom scientifique : <i>Calendula arvensis</i> Nom commun : Souci des champs Nom vernaculaire : Djemra</p>	<p>Classe : Magnoliopsida Sous-classe: Asteridae Ordre: Asterales Famille : Asteraceae Genre : <i>Calendula</i> Espèce : <i>C. arvensis</i> L.</p>	<p>plante subméditerranéenne subatlantique</p>	<p>Plante annuelle thérophyte de 10 à 40 cm de hauteur, pubescente, à odeur forte ; tige dressée ou ascendante, ramifiée, à rameaux étalés. (Lombard, 2002)</p>	
<p>Nom scientifique : <i>Saussurea lappa</i> Nom commun : Costus indien</p>	<p>Classe : Magnoliopsida Sous-classe: Asteridae Ordre: Asterales Famille : Asteraceae Genre : <i>Saussurea</i> Espèce : <i>S. lappa</i> ((Decne.)C.B.Clarke.)</p>	<p>Plante d'origine himalayenne poussant à des altitudes dépassants les 4000 mètres</p>	<p>Plante vivace atteignant 2 m de haut, à feuilles en forme de cœur, très grandes à la base, les feuilles supérieures sont ailés et plus petites. Les fleurs d'environ 2 centimètres de longueur sont de couleur bleu-violet ou presque noir ; les racines est généralement de la taille d'un doigt avec une partie ligneuse jaunâtre et une écorce sombre (Waly, 2009).</p>	
<p>Nom scientifique : <i>Ziziphus jujuba</i> Nom commun : jujubier commun Nom vernaculaire : El Aanab</p>	<p>Classe : Magnoliopsida Sous-classe: Rosidae Ordre: Rhamnales Famille : Rhamnaceae Genre : <i>Ziziphus</i> Espèce : <i>Z. jujuba</i> Mill.</p>	<p>répandu en Algérie, Tunisie, Italie, Espagne et partout dans l'Europe Méridionale et le Proche-Orient.</p>	<p>C'est un arbre ou arbuste de 6 à 10 m de haut à rameaux épineux (mais il existe des variétés inermes), à feuilles caduques oblongues, finement dentées, à stipules épineuses. Les fleurs petites, jaunâtres, apparaissent à l'aisselle des feuilles. Le fruit, ovoïde, est une drupe, d'abord jaune puis rouge à maturité</p>	

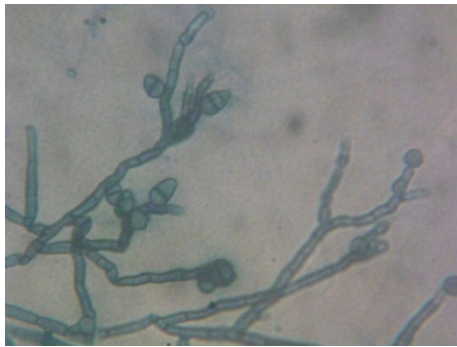
II- Matériel biologique :**II-1 Les isolats fongiques :**

Des isolats fongiques phytopathogènes ont été fournis par le laboratoire de mycologie du département de biologie de l'université Amar Telidji - Laghouat. Les noms des espèces, leurs références ainsi que leur origine, sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 3. Les isolats fongiques utilisés lors des tests microbiologiques :

N°	Code	Isolat	Organe d'isolement	variété	Année d'isolement
01	AP0114	<i>Aspergillus sp.</i>	Graine	MOHAMED BEN BACHIR	2014
02	A0214	<i>Alternaria sp.</i>	Graine	blé dur : vitron	2014
03	Pg0513	<i>Fusarium pseudograminearum</i>	Graine	Lignée de blé dur	2013
04		<i>Fusarium oxysporum f. sp lycopersici</i>	Non fournie	Non fournie	Non fournie
05	AN0614	<i>Aspergillus niger</i>	Graine	blé dur : Vitron	2014
06		<i>Fusarium oxysporum f. sp. albedinis</i>	Non fournie	Non fournie	Non fournie

La planche suivante illustre des observations microscopiques des isolats utilisés, dans les différents tests microbiologiques.



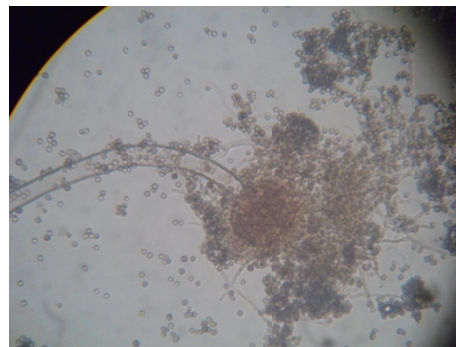
*Alternaria sp.*G. 400X



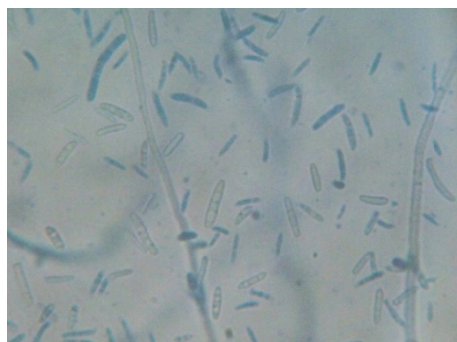
*Aspergillus sp.*G. 400X



F. pseudograminearum G. 400X



Aspergillus niger G. 400X



F. oxysporum f.sp. *albedinis* G. 400X

Fig 11: observation microscopique des isolats fongiques testés : G. 400X

II-2 Les souches bactériennes

A défaut de souches phytopathogènes, nous avons utilisé des souches microbiennes de référence, choisies en fonction de leur pathogénécité et leurs résistances aux antibiotiques et implication dans les intoxications alimentaires, il s'agit en l'occurrence :

Pseudomonas aeruginosa

Bacillus cereus

Ces souches ont été aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie de la société pharmaceutique (Aldaph-Novonordisk) sise à la zone industrielle Oued-Aissi de Tizi Ouzou, conservées dans du milieu P.C.A. à 4°C.

II-3 Le témoin positif

Le choix de l'huile essentielle de thym, comme témoin positif peut être justifié par deux raisons :

Ses propriétés antimicrobiennes avérées.

C'est un produit naturel, plus proche des extraits et huiles essentielles que nous avons testé, par rapport aux antibiotiques et antifongiques classiques.

C'est une huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*) commerciale 100% pure, référencée : THILL-S NR1, SDZ et certifiée par Ecocert SAS F 32600(ISO). Cette huile est naturelle, issue de l'agriculture biologique, achetée à la société française FLORAME. Elle a été conservée en position verticale, à l'obscurité et au frais (réfrigération).

Le profil chromatographique de l'huile essentielle de thym telle que déterminée par le fournisseur commercial est illustré dans le Tableau 03.

Tableau 4. Profil chromatographique de l'huile essentielle de *thymus vulgaris* (seuls les composés de pourcentage supérieur à 0,05 % ont été rapportés)

Temps de rétention (min)	Identification	Aire (%)
5.163	Tricyclène	0.05
5.277	α -Thuyène	1.08
5.473	α - Pinène	1.08
5.896	Camphène	0.78
6.758	\square -Pinène	0.40
7.068	3-Octanone	0.09
7.239	Myrcène	1.70
7.720	α - Phellandrène	0.22
8.196	α - Terpinène	1.85
8.611	<i>p</i> -Cymène	18.82
8.715	Limonène*	1.12
	1,8-Cinéole	
9.515	cis- \square - Ocimène	0.05
10.030	\square - Terpinène	9.52
10.354	trans -4-Thujanol	0.61
10.587	Oxyde de linalol	0.07
11.320	Terpinolène	0.38
11.825	Cis 4-Thujanol	0.13
12.049	Linalol*	5.68
14.106	Camphre	0.40
15.354	Bornéol	1.90
15.996	Terpinèn-4-ol	1.07
16.887	α - Terpinéol	0.11
18.801	Acétate de bornyle	0.12
19.906	Thymol méthyl éther	0.47
22.820	Carvacrol méthyl éther	0.24
23.554	Thymol	45.85
23.863	Isothymol (Carvacrol)	3.17
30.140	β -Caryophyllène	1.54
31.263	Alloaromadendrène	0.16
34.621	Lédène	0.12
36.368	γ -Cadinène	0.14
39.525	Oxyde de caryophyllène	0.25

II-4 Les milieux de culture :

Nous avons utilisé le milieu Sabouraud est pour la préculture des souches fongiques, la mise en évidence de l'activité antifongique des différents extraits et huiles essentielles testés, pour la détermination de la CMI et la CMF ainsi que les essais de combinaison.

En ce qui concerne les précultures bactériennes, la mise en évidence de l'activité antibactérienne des différents extraits et huiles essentielles testés, ainsi que pour la détermination de la CMI et la CMB, nous avons utilisé La Gélose Mueller Hinton (M.H.)

Il est à noter que par souci d'économie de milieu de culture, tous les tests ont été réalisés sur des boîtes de pétri de 55mm de diamètre.

B- Méthodes :

I- Méthodes d'extraction :

I-1 Hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle à partir de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* est réalisée à l'aide d'un hydrodistillateur simple (figure), cette technique consiste à porter à ébullition, 100g de matière végétale finement coupée, dans un ballon de 1L, contenant 600 ml d'eau distillée. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers un coude à 60°, puis par le réfrigérant qui permet la condensation de la vapeur contenant l'huile essentielle, dans une ampoule à décanter de 250 ml. La durée moyenne d'une extraction est de 4 heures

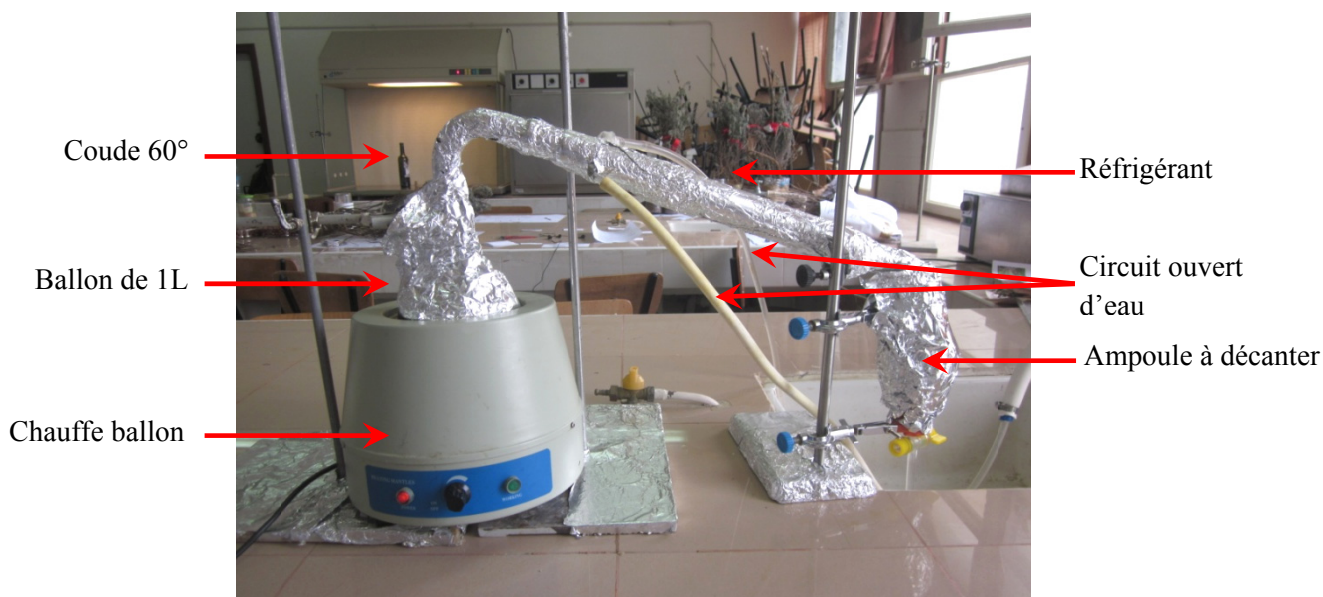


Fig. 12 : Dispositif de l'hydrodistillation

I-2 Séparation et conservation des huiles essentielles extraites

La séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse (hydrolat) est une extraction liquide-liquide, réalisée dans l'ampoule à décanter, par différence de densité, l'huile

essentielle étant moins dense remonte à la surface, il suffit alors de libérer l'hydrolat et de récupérer l'huile.

L'huile essentielle obtenue est pesée pour chaque extraction, pour le calcul du rendement, elles sont ensuite conservées dans des flacons en verre brun hermétiquement fermés et couverts de feuilles d'aluminium et conservées au réfrigérateur à une température de 5-6 °C., en vue des tests microbiologiques.



Fig. 13 : Libération de l'hydrolat

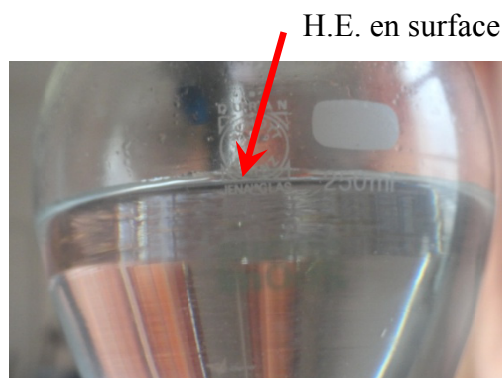


Fig. 14 : Récupération de l'huile essentielle

1-3 Calcul du rendement de l'hydrodistillation

Le rendement d'une extraction est le rapport de la masse de l'huile extraite, à la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement est exprimé en pourcentage calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{MHE}{MMV} \times 100$$

Avec : R= rendement de l'extraction en %

MHE : moyenne de la masse de l'huile essentielle des différentes extractions en (g).

MMV : masse de la matière végétale séchée (g)

Il est à noter qu'une hydrodistillation de la partie aérienne (Tiges, feuilles, fleurs) de *Retama raetam*, à été réalisée, mais que cette dernière avait un rendement infiniment réduit,

c'est la raison pour laquelle nous n'avons pas continué l'extraction de l'huile essentielle pour cette plante.

I-4 Extraction au soxhlet par solvant hydro alcoolique

Le Schéma du montage utilisé pour l'extraction par soxhlet est présenté dans la **figure** 9. Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction continue par solvant d'un solide (figure 9). Il se compose d'un corps en verre (4) dans lequel est placé une cartouche en papier filtre épais (5), d'un tube siphon (6/7) et d'un tube d'adduction (3). Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon (2) contenant le solvant d'extraction. Les résidus à extraire sont placés dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant (9).

L'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute (Feknous, et *al.*,2014)

Plusieurs cycles sont nécessaires en fonction du solvant, de la plante utilisée, l'extraction est arrêtée lorsque le solvant dans le siphon devient clair.

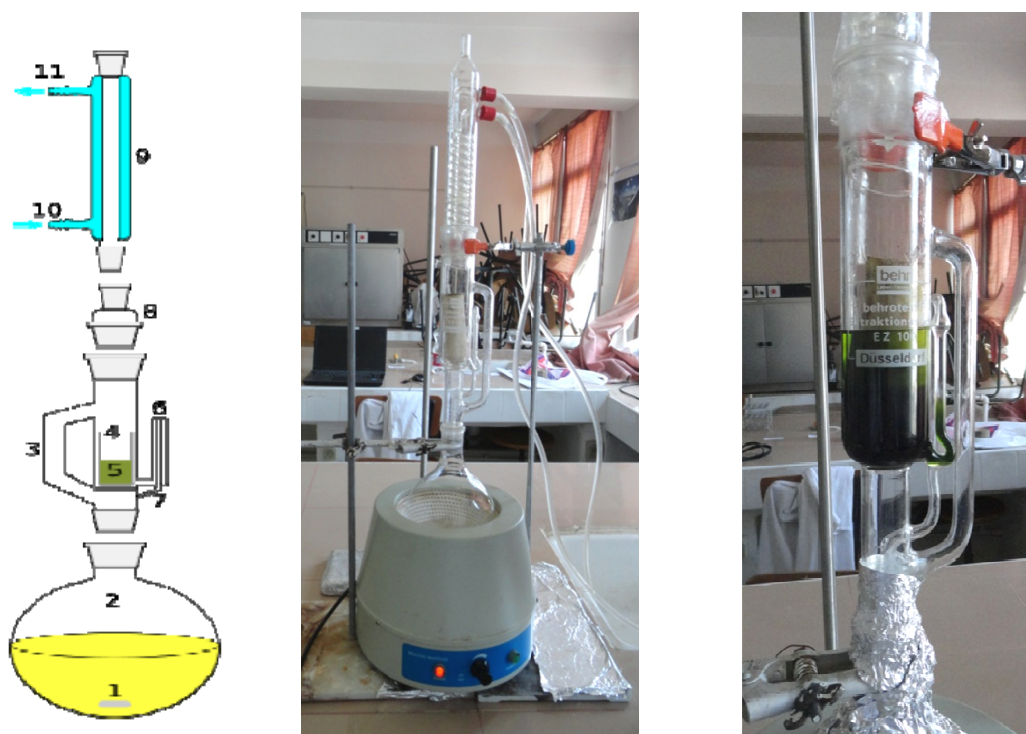


Fig. 15 : Dispositif de l'extraction par soxhlet

Pour une meilleure affinité entre le solvant et les composés susceptibles d'être extraits, nous avons utilisé un mélange d'éthanol et d'eau distillée, avec un rapport de 70/30.

Les deux espèces échantillonnées, en l'occurrence *Artemisia herba alba* et *Retama raetam*, ont subi l'extraction au soxhlet selon le mode opératoire suivant.

Mode opératoire :

- ✓ 15g de la matière végétale broyée sont placés dans une cartouche en papier filtre.

Dans un ballon de 1l à fond plat, on introduit 150 ml du mélange éthanol eau distillée (70/30).

- ✓ La cartouche est ensuite placée dans l'extracteur d'un soxhlet de 250ml.
- ✓ Le corps de l'extracteur muni d'un réfrigérant est placé sur le ballon contenant le solvant et maintenu par une pince fixée sur un statif.
- ✓ Suite à l'ébullition, la vapeur du solvant se condense dans le réfrigérant et s'écoule au travers de la cartouche et immerge progressivement le broyat végétal.
- ✓ En atteignant le sommet du tube siphon, le solvant retourne dans le ballon, cela représente un cycle.
- ✓ Le cycle d'extraction recommence, et la couleur du solvant s'éclaircit progressivement jusqu'à ce qu'il devienne pratiquement transparent.
- ✓ L'extrait est alors récupéré dans le ballon et filtré.
- ✓ Afin d'éviter l'interaction de solvant utilisé avec les souches à tester, il est éliminé au rotavapor.

II- Méthodes microbiologiques :

Ce travail expérimental a été réalisé pendant une durée de trois mois et demi au sein du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques – Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

L'objectif de cette étude est :

L'évaluation du pouvoir inhibiteur de la croissance fongique et bactérienne de quatre huiles essentielles à savoir : *Artemisia herba alba*, *Calendula*, *Chamaemelum fuscum* et *Saussurea lappa*. ; Ainsi que six extraits, en l'occurrence, *Artemisia herba alba*, *Retama raetam*, *Inula viscosa*, *Myrtus communis*, *Saussurea lappa* ainsi que *Zizyphus jujuba*.

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), ainsi que l'effet obtenu à ces concentrations (effet statique ou létal).

Tester certaines interactions entre les huiles essentielles et les extraits par le biais de combinaisons deux à deux et détermination des concentrations sub-inhibitrices.

II-1 Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne

1- Préparation des suspensions fongiques :

À partir des boîtes de Pétri conservées contenant les souches fongiques, trois disques mycéliens d'environ 4mm de diamètre pour chaque souche ont été prélevés, puis déposés en forme de triangle dans des boîtes de Pétri préalablement coulées de milieu Sabouraud, puis incubé à 25°C jusqu'à ce que la croissance mycélienne soit bien caractérisée (trois à six jours).

Les spores sont récupérées par lavage de la boîte de Pétri avec un volume de 5ml d'eau physiologique stérile à 0.9%. Après homogénéisation, les suspensions sont standardisées à 10^6 UFC/ml en effectuant des dénombrements sur la cellule de Thoma et des dilutions, si nécessaire.

2- Préparation des suspensions bactériennes

Les tests antibactériens sont réalisés à partir de cultures jeunes en phase exponentielle de croissance (culture de 15 à 18 heures). Pour ce faire, les souches bactériennes sont repiquées sur le milieu MH gélosé, puis les boîtes sont incubées à 37°C

Nous prélevons à partir de cultures pures de 16 heures, à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées de chacune des souches à tester, que nous déchargeons dans 10ml de l'eau physiologique stérile à 0,9%. Les suspensions bactériennes, ainsi obtenues, sont standardisées, à l'aide d'un spectrophotomètre, à une DO de 0,08 à 0,10 à une longueur d'onde de 620nm. Cette absorbance correspond à une concentration de 10^7 UFC/ml. Nous avons, ensuite, réalisé une dilution au 1/10 afin d'obtenir une suspension standardisée à 10^6 UFC/ml.

Méthode des puits :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode des puits décrite par Ismail *et al.* (2008).

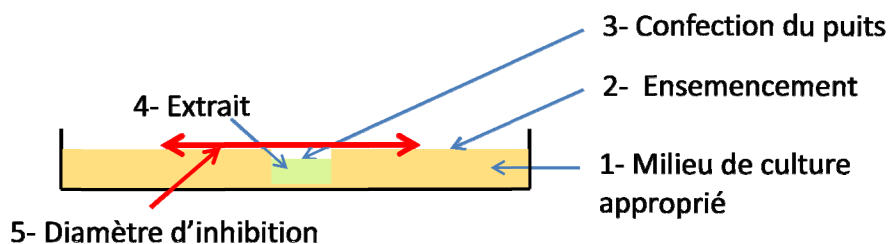


Fig. 16 : schéma descriptif de la technique des puits

Cette méthode consiste à estimer l'inhibition de la croissance des germes testés au contact des extraits et huiles essentielles testés.

Pour ce qui concerne les isolats fongiques, à partir d'une suspension standardisée à 10^6 UFC/ml, nous avons effectué un ensemencement en surface de $50\mu\text{l}$ dans des boîtes (55mm) contenant du milieu Sabouraud préalablement coulé et solidifié, puis étalement à l'aide d'un râteau.

Pour ce qui est des souches bactériennes, l'ensemencement de la suspension standardisée à 10^6 UFC/ml, se fait en masse, en déposant $500\mu\text{l}$ au fond des boîtes de Pétri stériles (55mm), puis la gélose M.H. est coulée en surfusion (45°C environ) les boîtes sont agitées doucement afin d'obtenir un ensemencement homogène.

Après solidification des milieux de culture, des puits d'environ 6mm de diamètre ont été confectionnés à l'aide d'une pipette Pasteur retournée et flambée à son extrémité large. À l'intérieur de ces puits sont déposés $30\mu\text{l}$ d'huile essentielle ou d'extrait à tester pur.

La lecture est faite après 72 heures d'incubation à 25°C pour les isolats fongiques et 24 heures à 37°C . pour les souches bactériennes. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle et exprimés en millimètre (mm).

3- Détermination des CMI, CMB et CMF

3-1 Détermination des CMI

Méthode des spots

Principe de la méthode

Ce test non quantitatif a pour objectif d'estimer la concentration minimale inhibitrice des souches testées au contact de différentes concentrations des agents antimicrobiens étudiés (Sokmen *et al.*, 2004).

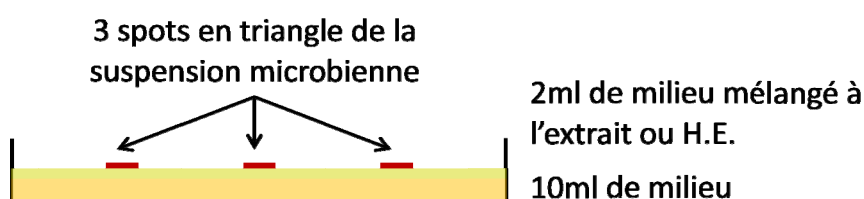


Fig. 17 : schéma descriptif de la technique des spots

Cette technique est réalisée en trois étapes :

- Dans des boîtes de Pétri stériles, nous avons fait couler 10ml de milieu (MH pour les bactéries et Sabouraud pour les souches fongiques) qui va servir d'apport en nutriments pour les microorganismes ;
- Après solidification de cette première couche, nous mélangeons dans 2ml du milieu de culture, des volumes variables de l'agent antimicrobien à tester. Puis, la dilution obtenue est versée et étalée d'une façon homogène dans les boîtes de Pétri préalablement coulées ;
- Après solidification, de la deuxième couche, nous avons déposé 3 spots de 5 μ l de la suspension microbienne à 10⁶ UFC/ml en forme de triangle.

Les boîtes sont, ensuite, incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 72h pour les moisissures.

La plus petite concentration pour laquelle il n'y'a aucun développement visible de la souche est considérée comme étant la CMI.

3-2 Détermination des CMB et CMF

La détermination des concentrations minimales fongicide (CMF) et bactéricide (CMB) est réalisée par un prélèvement, à l'aide d'une pipette Pasteur, dans les zones d'inhibition (ne présentant aucune culture visible). Chaque prélèvement est, ensuite, déposé en stries sur le milieu de culture approprié (MH pour les bactéries et Sabouraud pour les souches fongiques) ne contenant aucun agent susceptible d'être inhibiteur de la croissance de la souche en question. Les boîtesensemencées sont incubées à 25°C pendant 72h pour les souches fongiques et à 37°C pendant 24h pour les souches bactériennes.

4- Combinaisons des huiles essentielles et des extraits végétaux

Pour essayer d'optimiser l'activité antimicrobienne et d'abaisser les CMI des huiles essentielles et des extraits étudiés, certaines associations ont été réalisées par la méthode des spots, à cet effet les huiles essentielles et/ou les extraits sont associés deux à deux avec des concentrations différentes décroissantes de manière graduelle.

CHAPITRE 03
RESULTATS ET DISCUSSION

I- Résultats et discussion

1. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Le rendement de l'extraction de l'huile essentielle de l'armoise blanche est de 0,59%, ce qui est bas par rapport à ce qui est rapporté dans la bibliographie, à titre d'exemple, Ghanmi et *al.*, parlent d'un rendement estimé entre 0,56 et 1,23%, Salido et *al.*, citent des rendements entre 0,41 et 2,30%, Akrouf, 2004 fait état d'un rendement de 0,65%, Khebri, 2011, parle d'un rendement de 1,7%.

Cela pourrait s'expliquer par la période d'échantillonnage relativement précoce (mi mars) qui correspond à la période de reprise de végétation de l'armoise blanche.

2. Tests antimicrobiens

L'ensemble des résultats obtenus lors des tests d'activité antifongique et antibactérienne effectués sur les huiles essentielles et les extraits végétaux étudiés sont présentés dans des tableaux permettant des comparaisons entre les agents antimicrobiens et les souches bactériennes et fongiques testées. A la lecture de ces tableaux, nous considérons les réactions comme étant positives lorsque le diamètre d'inhibition observée est supérieur ou égal à 10 mm (Souza et al., 2007).

2.1 Evaluation comparative de l'activité antifongique des huiles essentielles

L'évaluation de l'activité antifongique réalisée sur quatre huiles essentielles (extraites au laboratoire) issues de différentes plantes et une huile essentielle commerciale (huile essentielle de thym) testées sur six espèces de moisissures a conduit à l'obtention des résultats rapportés dans le Tableau 5.

Tableau 5. Effet inhibiteur sur la croissance fongique des huiles essentielles évalué sur milieu Saboureaud après 72h d'incubation à 25°C.

Huile essentielle	<i>Alternaria sp.</i>	<i>F. pseudograminearum</i>	<i>F. oxysporum f.sp. albedinis</i>	<i>F. oxysporum f.sp. lycopersici</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
<i>Artemisia herba alba</i>	Abs. halo	Abs. halo	+ 11mm	Ralent. Dvp. 30mm	Abs. halo	+ 7mm
<i>Calendula arvensis</i>	Abs. halo	+ inhibition totale 55mm	+ 11mm	Abs. halo	+ inhibition totale 55mm	Ralent. Dvp. 15mm
<i>Chamaemelum fuscatum</i>	Abs. halo	+ inhibition totale 55mm	Abs. halo	Ralent. Dvp. 26mm	+ inhibition totale 55mm	Ralent. Dvp. 16mm
<i>Saussurea lappa</i>	+ 32mm	+ inhibition totale 55mm	+ 12 mm	+ 19 mm	+ inhibition totale 55mm	+ 17 mm
<i>Thymus vulgaris commercial</i>	+ 31mm	+ inhibition totale 55mm	+ inhibition totale 55mm	+ inhibition totale 55mm	+ 34mm	+ inhibition totale 55mm

L'examen des résultats du Tableau 5 permet de relever l'effet antifongique exercé par certaines des huiles essentielles testées. A cet effet, l'huile essentielle de *Calendula arvensis* a montré une activité antifongique au même titre que l'huile essentielle de *Chamaemelum fuscatum* avec un spectre légèrement plus large pour la première.

L'huile essentielle d'*A. herba alba* a exhibé une activité antifongique relativement faible vis-à-vis d'une seule souche, en l'occurrence *F. oxysporum f.sp. Albedinis*.

L'huile essentielle de *S. lappa* est celle qui s'est montrée la plus active, avec des effets inhibiteurs appréciables sur toutes les souches fongiques testées.

2.2 Evaluation comparative de l'activité antifongique des extraits végétaux

Le Tableau 6 indique les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique réalisée sur six extraits issus de différentes plantes testées sur six espèces de moisissures.

Tableau 6. Effet inhibiteur sur la croissance fongique des extraits végétaux évalué sur milieu Saboureaud après 72h d'incubation à 25°C.

Extrait végétal	<i>Alternaria sp.</i>	<i>F. pseudograminearum</i>	<i>F. oxysporum f.sp. albidinis</i>	<i>F. oxysporum f.sp. lycopersici</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
<i>Artemisia herba alba</i>	Abs. halo	Abs. halo	Ralentissement sur 11mm	+ 13mm	Abs. halo	+9 mm
<i>Retama raetam</i>	Abs. halo	Abs. halo	Ralentissement sur 12mm	Abs. halo	± (pas de sporulation) sur 25mm	+8 mm
<i>Inula viscosa</i>	Abs. halo	Abs. halo	+ 12 mm	+ 10mm	± (pas de sporulation) sur 28mm	+ 12 mm
<i>Myrtus communis</i>	+ 15mm	+ 12mm	+ 17 mm	Abs. halo	± (pas de sporulation) sur 30 mm	Ralent. Dvp. 12 mm
<i>Zyziphus jujuba</i>	Abs. halo	Abs. halo	Abs. halo	Abs. halo	Abs. halo	+ 10 mm
<i>Saussurea lappa</i>	+ 32 mm	+ 25 mm	+ 15 mm	+ 17mm	+ inhibition totale 55mm	+ 22 mm à 25 mm

L'extrait d'*I. viscosa* s'est montré légèrement actif contre *Aspergillus sp.* et le *F. oxysporum f. sp. albidinis*. ainsi que sur le *F. oxysporum f. sp. lycopersici*.

De même, les résultats obtenus ont révélé l'action inhibitrice de l'extrait de *M. communis* sur *Alternaria sp.* *F. pseudograminearum* ainsi que sur *F. oxysporum f. sp. albidinis*

Quant à l'extrait de *S. lappa*, à l'instar de son huile essentielle, il s'est montré plus actif, en inhibant remarquablement la croissance de toutes les souches fongiques testées.

2.3 Evaluation comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits végétaux

Les résultats de l'évaluation de l'effet inhibiteur de la croissance des souches bactériennes par les huiles essentiels et les extraits végétaux sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7. Inhibition de la croissance bactérienne par les huiles essentielles et les extraits végétaux évaluée sur milieu Muller Hinton après 24h d'incubation à 37°C.

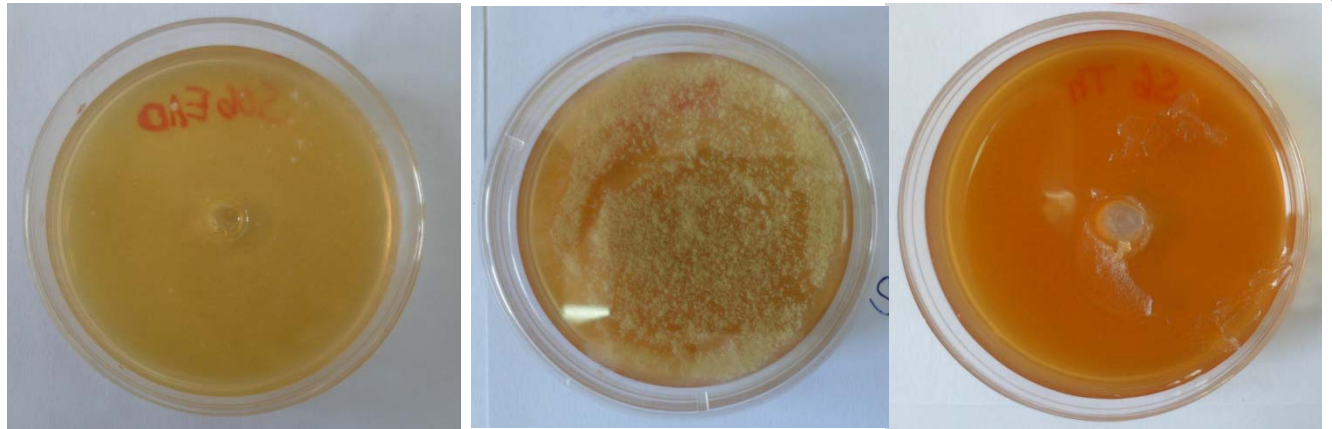
Huiles essentielles	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Gram -	<i>Bacillus cereus</i> Gram +	Extrait végétal	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Gram -	<i>Bacillus cereus</i> Gram +
<i>Artemisia herba alba</i>	Abs. halo	Abs. halo	<i>Artemisia herba alba</i>	Abs. halo	Abs. halo
<i>Calendula arvensis</i>	Abs. halo	Abs. halo	<i>Retama raetam</i>	+ 17 mm	Abs. halo
<i>Chamaemelum fuscatum</i>	Abs. halo	Abs. halo	<i>Inula viscosa</i>	+ 13 mm	Abs. halo
<i>Saussurea lappa</i>	+ 16 mm	Abs. halo	<i>Myrthus communis</i>	+ 23 mm	+ 23 mm
<i>Thymus vulgaris</i>	+ 31 mm	+ 25 mm	<i>Ziziphus jujuba</i>	+ 18 mm	+ 16 mm
			<i>Saussurea lappa</i>	+ 17 mm	Abs. halo

La seule huile essentielle qui s'est révélée active contre les souches bactériennes utilisées est celle de *Saussurea lappa*, elle a inhibé la croissance de *P. aeruginosa*

Par contre, les extraits de *Retama raetam*, *Inula viscosa* ainsi que *Saussurea lappa* ont montré une activité antibactérienne, sur *Pseudomonas aeruginosa*

Les extraits de *M. communis* et *Z. jujuba*, ont exhibé une activité antibactérienne vis-à-vis des deux souches bactérienne *P. aeruginosa* et *B.cereus*.

Les planches suivantes illustrent les halos d'inhibitions des tests les plus probants obtenus avec les extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30µl/puits.



H.E. *Saussurea lappa* sur
Aspergillus sp.

Aspergillus sp.
Témoin négatif

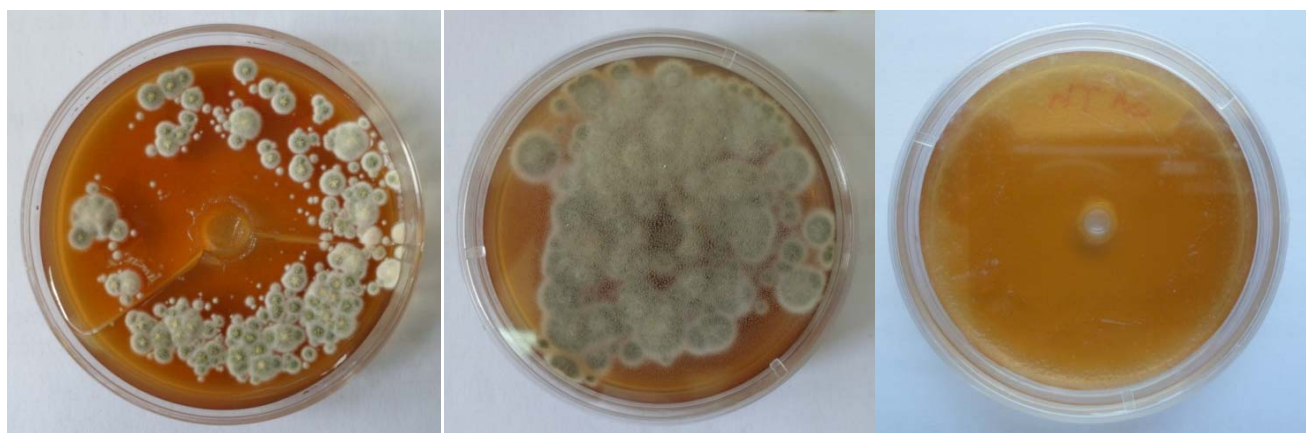
Aspergillus sp.
Témoin positif



H.E. *Saussurea lappa* sur
Aspergillus niger

Aspergillus niger
Témoin négatif

Aspergillus niger
Témoin positif

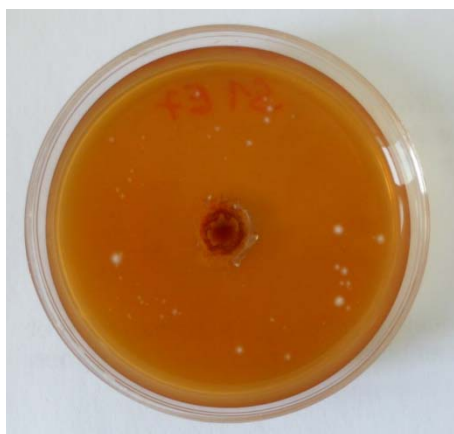


H.E. *Saussurea lappa* sur
Alternaria sp.

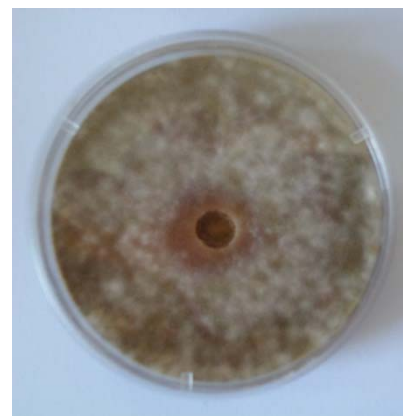
Alternaria sp.
Témoin négatif

Alternaria sp.
Témoin positif

Fig. 18 : halos d'inhibition des extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30 μ l/puits.

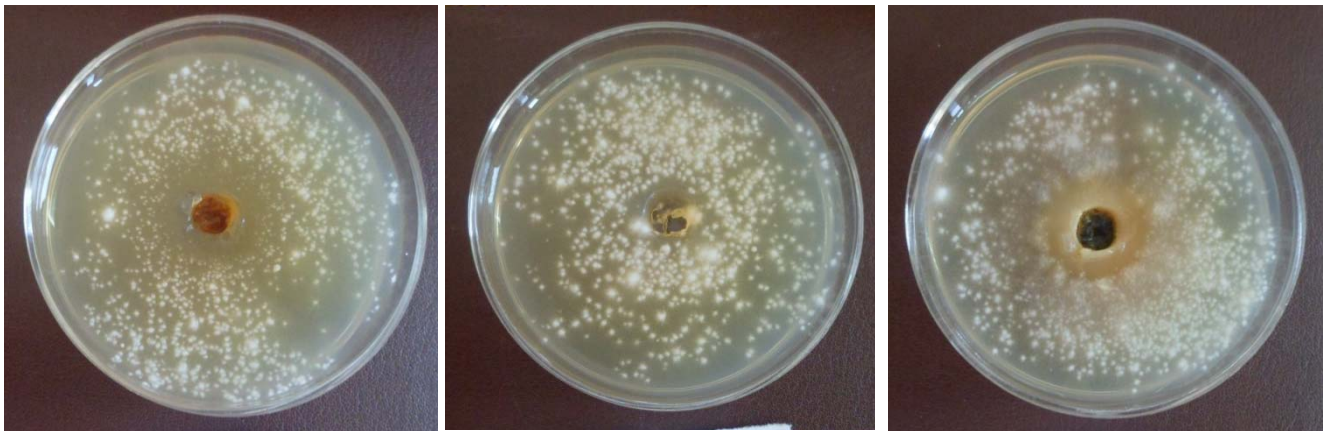


Ext. *S. lappa* sur *Alternaria sp.*



Ext. *M. communis* sur
Alternaria sp.

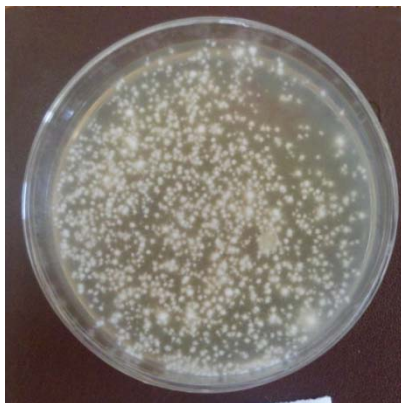
Fig. 18 suite: halos d'inhibition des extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30 μ l/puits.



H.E. *Artemisia herba alba*
sur *F.o. albedinis*

Ext. *S. lappa* sur *F. o.*
albedinis

Ext. *M. communis* sur *F. o.*
albedinis



F.o. albedinis témoin
négatif



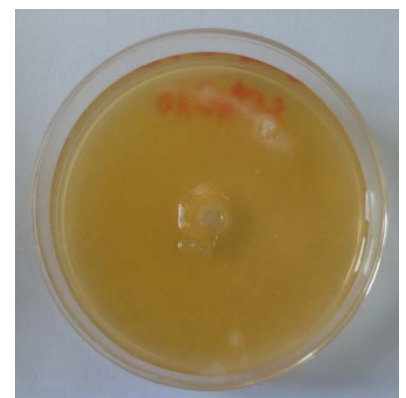
F.o. albedinis témoin
positif



Ext. *S. lappa* sur
Aspergillus sp.

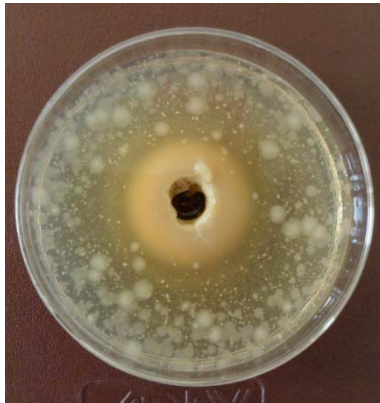


Ext. *S. lappa* sur *F. o.*
lycopersici

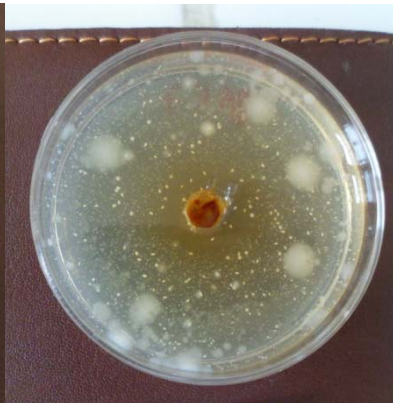


H.E. *S. lappa* sur *F. o.*
lycopersici

Fig. 18 suite : halos d'inhibition des extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30µl/puits.



Ext. *M. communis* sur *P. aeruginosa*



Ext. *S. lappa* sur *P. aeruginosa*



H.E. *S. lappa* sur *P. aeruginosa*



Ext. *Z.jujuba* sur *P. aeruginosa*



Ext. *R. retam* sur *P. aeruginosa*



P. aeruginosa témoin négatif



P. aeruginosa témoin positif

Fig. 18 suite : halos d'inhibition des extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30µl/puits.



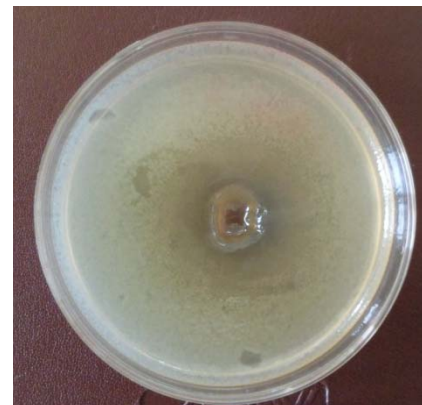
Ext. *M. communis* sur *B. cereus*



Ext. *Z. jujuba* sur *B. cereus*



B. cereus témoin négatif



B. cereus témoin positif

Fig. 18 suite : halos d'inhibition des extraits et huiles essentielles testés purs à raison de 30 μ l/puits.

3. Détermination des Concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.)

La détermination des C.M.I. a été réalisée avec la méthode des spots, nous avons également vérifié la nature de l'action des huiles et des extraits testés (fongistatique ou fongicide pour les champignons et Bactériostatique ou bactéricide pour les bactéries).

Pour des problèmes de faisabilité, nous avons réduit le nombre d'huiles essentielles et d'extraits pour lesquels nous avons déterminé les C.M.I., pour cela nous avons retenu les extraits et les huiles qui ont montré le plus large spectre, et nous nous sommes limité à une souche par genre pour les souches fongiques, à savoir : *F. oxysporum* f sp. *albidinis*, *Alternaria* sp. et *A. niger*

Pour les souches fongiques, nous avons retenu :

- l'huile essentielle et l'extrait de *Saussurea lappa*, ainsi que l'extrait de *Myrtus communis*, testés sur *F. oxysporum* f. sp. *albidinis*, *Alternaria* sp. ainsi que *A. niger*.
- l'huile essentielle de l'armoise blanche a été retenue en dépit du fait qu'elle ait montré une activité antifongique limitée à une seule souche, en l'occurrence le *F. oxysporum* f. sp. *Albidinis*. Ceci peut aussi être justifié par la nécessité de rechercher des produits à spectre réduit, dans une optique de lutte biologique.

Pour les souches bactériennes, nous avons déterminé les C.M.I. pour :

- les extraits de : *Retama raetam*, *Myrtus vulgaris*, *Zyzyphus jujuba*, ainsi que *Saussurea lappa*

Les résultats de ces tests sont résumés dans les Tableaux 08, 09, 10 pour les souches fongiques et 11 et 12 pour les souches bactériennes.

Tableau 8. C.M.I. des huiles essentielles d'*A. herba alba*, *S. lappa*, *T. vulgaris* ainsi que des extraits de *M. communis* et *S. lappa* contre *F. oxysporum* f.sp. *Albidinis*

	Extrait ou huile	C.M.I. (%)	C.M.F./C.M.Fs.
Huile essentielle	<i>Artemisia herba alba</i>	0,125	CMFs.
	<i>Saussurea lappa</i>	0,025	C.M.F.
	<i>Thymus vulgaris</i> (commerciale)	0,005	C.M.F.
Extrait végétal	<i>Saussurea lappa</i>	0,025	C.M.F.
	<i>Myrtus communis</i>	0,075	C.M.F.

Tableau 9. C.M.I. des huiles essentielles de *Saussurea lappa*, *Thymus vulgaris* ainsi que des extraits de *Myrtus communis* et *Saussurea lappa* contre *Alternaria sp.*

Extrait ou huile		C.M.I. (%)	C.M.F./C.M.Fs.
Huile essentielle	H.E. <i>Saussurea lappa</i>	0,02	C.M.F.
	H.E. <i>Thymus vulgaris</i> (commerciale)	0,005	C.M.F.
Extrait végétal	Ext. <i>Myrtus communis</i>	0,15	C.M.F.
	Ext. <i>Saussurea lappa</i>	0,0125	C.M.F.

Tableau 10. C.M.I. des huiles essentielles de *Saussurea lappa*, *Thymus vulgaris* et de l'extrait de *Myrtus communis* contre *Aspergillus niger*

Extrait ou huile		C.M.I. (%)	C.M.F./C.M.Fs.
Huile essentielle	H.E. <i>Saussurea lappa</i>	0,01	C.M.F.
	H.E. <i>Thymus vulgaris</i> (commerciale)	0,0025	C.M.F.
Extrait végétal	Ext. <i>Saussurea lappa</i>	0,025	C.M.F.

Tableau 11. C.M.I. des extraits de *Retama raetam*, *Myrtus communis*, *Zyzyphus*, *Saussurea lappa* contre *Pseudomonas aeruginosa*

Extrait	C.M.I. (%)	C.M.B./C.M.Bs.
Ext. <i>Retama raetam</i>	0,15	C.M.B.
Ext. <i>Myrtus communis</i>	0,025	C.M.Bs.
Ext. <i>Zyzyphus jujuba</i>	0,05	C.M.B.
Ext. <i>Saussurea lappa</i>	0,025	C.M.B.

Tableau 12. C.M.I. des extraits de *Myrtus communis* et *Zyzyphus*, contre *Bacillus cereus*

Extrait	C.M.I. (%)	C.M.B./C.M.Bs.
Ext. <i>Myrtus communis</i>	0,075	C.M.B.
Ext. <i>Zyzyphus jujuba</i>	Pas d'inhibition jusqu'à 0,125	

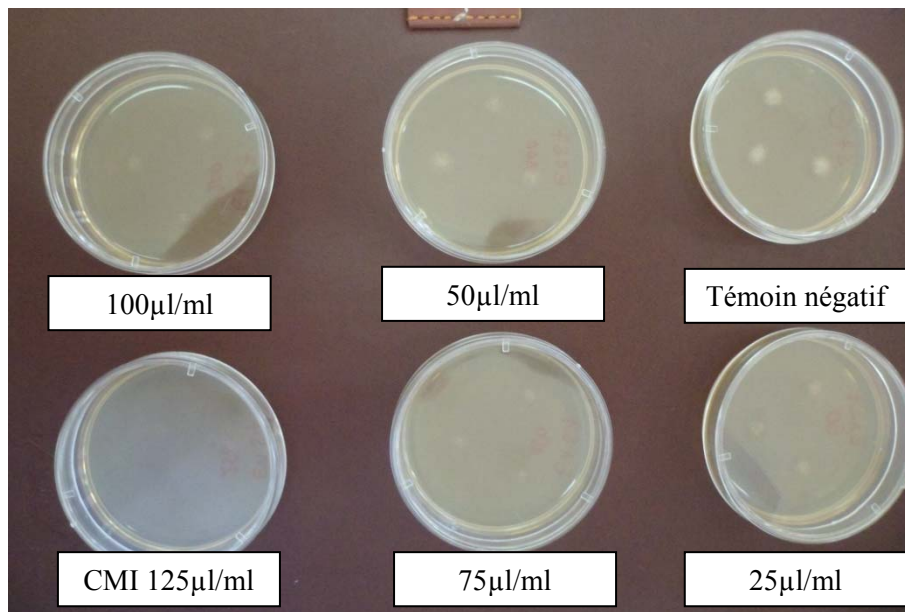


Fig. 19 : Photo du test en spot des CMI pour l'H.E. d'A. *herba alba* sur *F. o. albedinis*

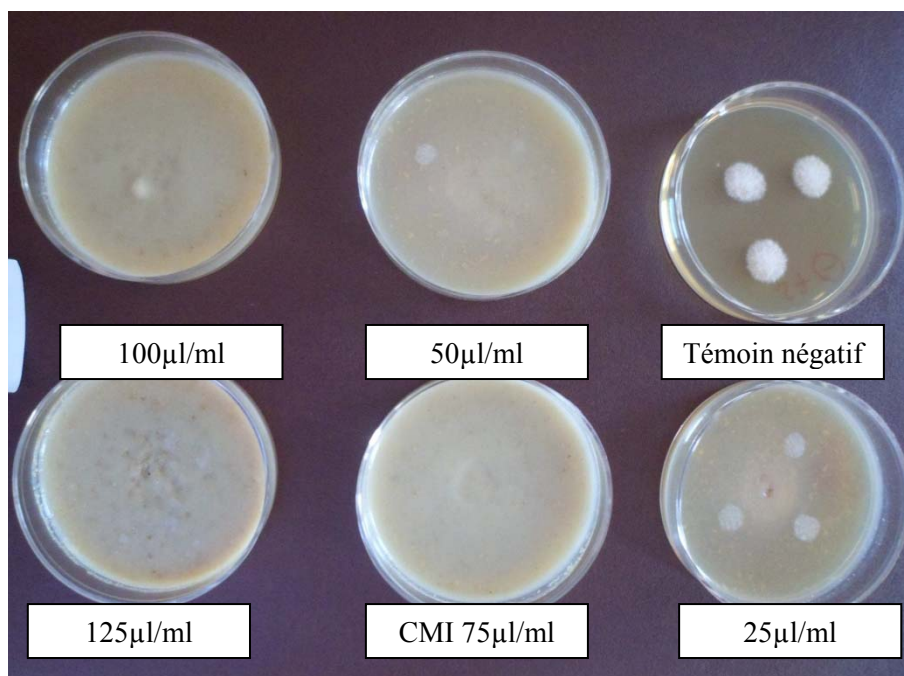


Fig. 20 : Photo du test en spot des CMI pour l'extrait de *M. communis* sur *F. o. albedinis*

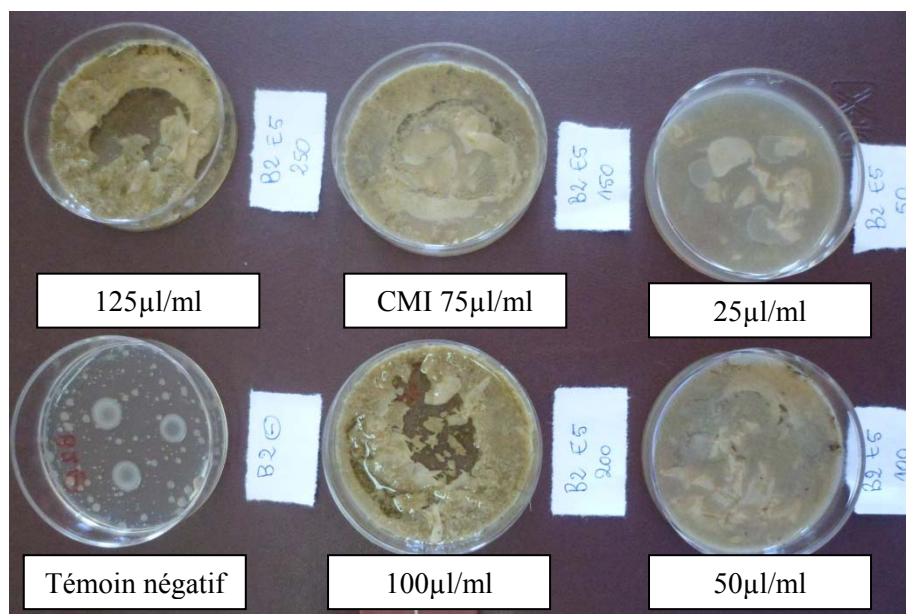


Fig. 21 : Photo du test en spot des CMI pour l'extrait de *M. communis* sur *B. cereus*

Le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles vis-à-vis d'une souche microbienne est classé en: excellent pour des CMI < 50µl/ml (0,05%), intéressant pour des CMI entre 50µl/ml (0,05%) et 250µl/ml (0,25%), faible pour des CMI entre 250µl/ml (0,25%) et 500µl/ml (0,5%) et médiocre ou nul pour des CMI > 500µl/ml (0,5%) (Koba et *al.*, 2004).

A cet effet, nous pouvons considérer le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle de *S. lappa* ainsi que son extrait comme excellent contre *F. oxysporum* f.sp. *Albidinis*, *Alternaria* sp, ainsi que *A. niger*. De même, celui de l'extrait de *S. lappa*, est jugé excellent contre *P. aeruginosa*.

L'extrait de *M. communis* a un pouvoir inhibiteur jugé intéressant vis-à-vis de *F. oxysporum* f.sp. *Albidinis*, *Alternaria* sp et *B. cereus* ainsi qu'une activité excellente vis-à-vis de *P. aeruginosa*.

Quant à l'extrait de *R. raetam*, ainsi que l'huile essentielle d'*A. herba alba* leur pouvoir inhibiteur est intéressant, celui de *Retama* contre *P. aeruginosa*, et l'huile d'armoise contre *F. oxysporum* f. sp. *Albidinis*.

S'agissant de l'extrait de *Z. jujuba*, son pouvoir inhibiteur est jugé intéressant contre *P. aeruginosa* et moyen contre *B. cereus*.

D'après les résultats obtenus, les huiles et les extraits testés exercent un effet fongicide et bactéricide vis-à-vis de l'ensemble des souches testées, excepté l'huile d'armoise testée sur le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Quant à l'extrait de *M. communis* son effet est fongistatique et bactériostatique.

4. Effet des combinaisons des extraits et huiles essentielles:

Les combinaisons d'agents antimicrobiens ont un triple objectif :

- L'optimisation de l'effet antimicrobien, avec une possibilité de diminuer les concentrations minimales inhibitrices.
- La diminution du risque d'apparition de souches résistantes, par la diminution des concentrations, ainsi que la multiplicité des produits auxquelles sont confrontés ces microorganismes.
- Réduire l'impact négatif des composés végétaux sur les propriétés sensorielles des produits alimentaires

L'interaction entre les composés bioactifs peut produire quatre types d'effets: indifférents, additif, antagoniste, ou des effets synergiques. L'effet additif est observé lorsque l'effet combiné est égale à la somme des effets individuels. L'antagonisme est observé lorsque l'effet de l'un ou des deux composés est moins quand ils sont appliqués en même temps que lorsqu'ils sont individuellement appliqués. La synergie est observée lorsque l'effet des substances combinées est supérieur à la somme des effets individuels, tandis que l'absence d'interaction est définie comme de l'indifférence. (Imaël et Rodolfo Juliani, 2012).

A cet effet, nous avons tenté quelques essais de combinaison des huiles essentielles et des extraits contre deux souches fongiques, à savoir, le *F. oxysporum* Fsp. *albedinis* et *Alternaria* sp.

4.1 Association : HE *Artemisia herba alba* + HE *Saussurea lappa* vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* Fsp. *albedinis* :

En raison de l'épuisement de la quantité d'huile essentielle de *S. lappa*, nous n'avons pas pu faire une large gamme de combinaisons. Ainsi, nous avons juste essayé de baisser les CMI respectives, en réduisant les concentrations de manière graduelle, à raison de 20% à chaque fois :

Les résultats des combinaisons sont rapportés dans le Tableau 13

Tableau 13. Résultats de la combinaison des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Saussurea lappa* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

HE <i>Artemisia herba alba</i>	125µl/ml	100µl/ml	75µl/ml
HE <i>Saussurea lappa</i>	25µl/ml	20µl/ml	15µl/ml
Résultat	Inhibition totale	Inhibition totale	Inhibition totale

L'examen des résultats du tableau 13, nous permet de constater que les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Saussurea lappa* combinées, et testées sur *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*., ont un effet additif, les valeurs des C.M.I. respectives ont été réduites par rapport à celles obtenues individuellement.

4.2 Association : extrait *Myrtus communis* + extrait *saussurea lappa* vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* Fsp. *albedinis* :

Nous avons réalisé pour ce test une matrice (gamme), à partir des deux CMI respectives, en réduisant les concentrations de manière graduelle, à raison de 20% à chaque fois. Les résultats obtenus et les différentes concentrations utilisées sont illustrés dans le Tableau 14.

Tableau 14. Résultats de la combinaison des extraits de *Myrtus communis* et de *Saussurea lappa* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

Ext. <i>Saussurea</i> Ext. <i>Myrtus</i>	25µl/ml	20µl/ml	16µl/ml	13µl/ml
75µl/ml	-	-	-	-
60µl/ml	-	-	-	-
48µl/ml	-	+	+	+
38,5µl/ml	+	+	+	+

A la lecture des résultats du Tableau 14, nous pouvons remarquer que les extraits de *Saussurea lappa* associés à ceux de *Myrtus communis*, ont un léger effet synergique, lorsqu'ils sont testés sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. L'extrait de *Saussurea lappa*, a permis de réduire la C.M.I de *Myrtus communis* de 75µl/ml à 48µl/ml.

4.3 Association : HE *Saussurea lappa* + extrait *Saussurea lappa* vis-à-vis de *Alternaria sp.* :

Les combinaisons ont été réalisées à partir des deux CMI respectives, en réduisant les concentrations de manière graduelle, à raison de 20% à chaque fois. Les résultats et les différentes concentrations utilisées sont indiqués dans le Tableau 15.

Tableau 15. Résultats de la combinaison des extraits de *Myrtus communis* et de *Saussurea lappa* sur *Alternaria sp.*

HE. <i>Saussurea</i> Ext. <i>Saussurea</i>	12,5µl/ml	10µl/ml	8µl/ml
20µl/ml	-	-	-
15µl/ml	-	+	+
10µl/ml	-	+	+

La photo suivante illustre les résultats de la matrice résumés dans le tableau 11, il est à noté que les boîtes sont disposés dans le même ordre que dans le tableau

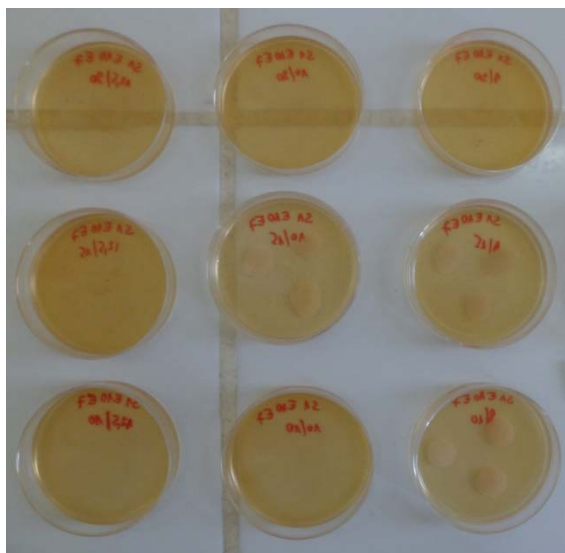


Fig.21 : Photo de la matrice de la combinaison H.E. et extrait de *S. lappa* contre *Alternaria sp.*

Les résultats du Tableau 14 permettent de constater que l'huile essentielle et l'extrait de *Saussurea lappa* combinés et testés sur *Alternaria sp.* produisent un effet inhibiteur additif.

En effet, lorsque l'une ou l'autre des C.M.I. ne change pas, cela fait baisser l'autre, l'effet inhibiteur étant maintenu.

4.4 Association : extrait *Saussurea lappa* + extrait *Myrtus communis* vis-à-vis d'*Alternaria sp.* :

Les combinaisons sont réalisées par réduction des concentrations de manière graduelle, à raison de 20% à chaque fois. Ceci a conduit à l'obtention des résultats indiqués dans le Tableau 16.

Tableau 16. Résultats de la combinaison de l'huile essentielle de *Saussurea lappa* de l'extrait de *Myrtus communis* sur *Alternaria sp.*

HE. <i>Saussurea</i> Ext. <i>Myrtus</i>	12,5µl/ml	10µl/ml	8µl/ml	6,5 µl/ml
150µl/ml	-	-	-	-
120µl/ml	-	-	-	+
96µl/ml	N.D.	-	-	+
77µl/ml	+	+	+	+

La photo suivante illustre les résultats de la matrice résumés dans le tableau 16, il est à noté que les boîtes sont disposés dans le même ordre que dans le tableau

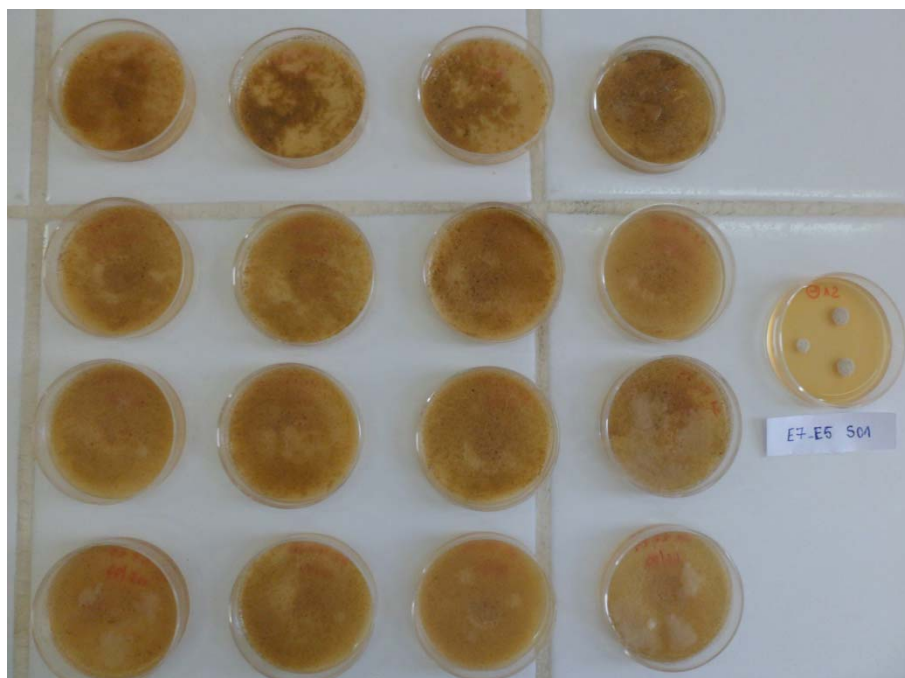


Fig. 22 : Photo de la matrice de la combinaison extrait de *S. lappa* et extrait de *M. communis* contre *Alternaria sp.*

Selon les résultats du Tableau 16, l'huile essentielle de *Saussurea lappa* combinée à l'extrait de *Myrtus communis*, puis testé sur *Alternaria sp.* produit un net effet synergique. Lorsque la concentration de l'un et celle de l'autre diminue leurs C.M.I. respectives sont réduites jusqu'à une concentration sub inhibitrice de l'ordre de 8µl/ml pour l'huile essentielle de *Saussurea lappa* et de 96µl/ml pour l'extrait de *Myrtus communis*.

5. Discussion générale

La différence de réaction observée entre les bactéries à Gram+ et les bactéries à Gram – pourrait être attribuée à la différence dans la structure pariétale. En effet, il est généralement admis que les bactéries à Gram – sont plus résistantes que celles à Gram +. Mais, ce n'est pas le cas pour les résultats que nous avons obtenus, puisque *B. cereus* (Gram+) a montré une sensibilité relativement proche de celle de *P. aeruginosa* (Gram-). Ces résultats pourraient être dus à des erreurs de mesure de diamètres d'inhibition.

En effet, plusieurs travaux ont démontré cette différence dans sensibilité des bactéries aux huiles essentielles (Falleh *et al.*, 2008 ; Hayouni *et al.*, 2007 ; Kone *et al.*, 2004 ; Shan *et al.*, 2007 ; Turkmen *et al.*, 2007). La résistance, généralement, élevée chez les Gram-, est attribuée à la présence d'une membrane externe imperméable aux composés lipophiles. L'absence de cette barrière chez les Gram+ permet le contact direct des constituants hydrophobes des huiles essentielles avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne (Wendakoon et Sakaguchi, 1995).

D'après Haouari et Ferchichi (2009), ayant travaillé sur la composition de l'huile essentielle de l'armoise blanche du sud de la Tunisie, cette espèce aurait un haut niveau de polymorphisme chimique. Ces auteurs ont décrit une centaine de composants dont dix majoritaires (pourcentage >10%) qui sont le : cinéol, thuyone, chrysanthène, camphre, bornéol, acétate de chrysanthényle, acétate de sabinyle, éthers de danova et davanone. Selon Vernin *et al.* (1995) et Dob *et al.* (2006), les principaux constituants de l'armoise d'Algérie sont camphre, α- et β- thuyone, 1-8 cinéol et chrysanthényle.

Houmani *et al.* (2004) ont aussi déterminé les principaux composants de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de la région de Djelfa, ce sont le camphre (39,16%), le 1-8 cinéol (12,38%) la chrysanthène (7,06%), l'α- thuyone (6,85%), le camphre (6,0%), la β- thuyone (4,78%), le bornéol (3,55%), la pinocavone (2,92%) et le spathuléol (1,31%).

Cette forte variabilité intra-spécifique de l'armoise blanche peut être d'origine géographique, génétique (Karousou et al., 2005 ; El Ajjouri et al., 2008), saisonnière (Ghanmi et al., 2010) ou même écologique (sol, humidité etc.) (Zaïm, 2010).

Les travaux de Boudjelal, 2013 ont démontré une activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de l'armoise blanche contre quatre souches bactériennes, en l'occurrence, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, ainsi que sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Pitarokili et al. (2003) cité par Ghrib (2009) ont attribué l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'armoise blanche observée sur *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer* à la présence de composés majoritaires tels que l' α - et β - thuyone.

Kolai et al. (2012) ont également signalé une action antifongique de l'huile essentielle de l'armoise blanche de la région de Naama, exercée sur deux formes spéciales de *Fusarium oxysporum* f sp. *radicis-lycopersici*. Ces auteurs ont rapporté une CMI de 0,2% pour les deux souches fongiques, une valeur relativement proche de notre valeur obtenue avec la forme spéciale *albidinis* (0,125%).

Ghrib (2009) a noté une activité considérable de cette huile sur *Rhizopus stolonifère*, *F. oxysporum*, faible sur *A. flavus* et moyenne sur *A. niger*, ce dernier résultat est différent du notre obtenu avec ce même champignon n'ayant produit aucune réaction,

Ghanmi et al. (2012) ont constaté des différences importantes dans le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle de l'armoise blanche en fonction de la date de récolte, à savoir : avril, juin, et septembre, dont les rendements étaient respectivement de 0,86, 1,23 et 0,56%. Les analyses chromatographiques ont révélé l'existence de deux composés majoritaires, le chrysanthénone et le camphre, pour les échantillons des mois d'avril et juin, par contre ceux du moi de septembre se distinguent par la présence du camphre et de l' α -terpin-7-al.

De même, Cherchari et al. (1996) ont révélé une forte activité de l'huile essentielle d'armoise blanche d'Algérie vis-à-vis de *Staphylococcus* et un effet réduit contre les entérobactéries. Par contre, les travaux de Yashphe et al. (1979) ont révélé une action inhibitrice sur des bactéries à Gram+ (*Hemolyticus*, *Streptococcus* et *staphylococcus aureus*) et des bactéries à Gram – (*E. coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*), due à la fraction la

plus active, en l'occurrence l'alcool de santoline, composé qui n'est pas signalé dans l'armoise blanche d'Algérie.

A la lecture de cette rétrospective succincte des travaux menés sur l'activité antimicrobienne de l'armoise blanche, il est clair que cette espèce recèle des activités relatives sur une gamme assez étendue, mais la question qui en découle est alors pourquoi notre huile essentielle et notre extrait n'ont eu d'effet que sur le *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albidinis*. Cela est aussi intrigant qu'intéressant, si l'on considère que les produits naturels à spectre réduit aptes à remplacer les pesticides de synthèse à large spectre, offrent des opportunités prometteuses dans une perspective de lutte biologique, puisqu'ils auraient probablement moins d'impact sur les organismes auxiliaires.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons suggérer que la date de récolte assez précoce (mars, quelques jours après la reprise de végétation) confirmée par un rendement à l'extraction très bas, aurait influencé la composition chimique dans la mesure où tous les composés n'auraient peut-être pas encore été synthétisés (métabolisme secondaire moins intense), ce qui a limité son action.

Il est aussi à supposer qu'un chémotype particulier dans lequel le package chimique aurait un effet sur une gamme réduite (composé (és) qui aurait (aient) une action antagonique et limiterait l'expression de l'activité des autres composés et par conséquent une action limitée à certains microorganismes seulement)? À cet effet une étude de la composition chimique serait intéressante.

S'agissant de *Saussurea lappa*, cette plante s'est montrée la plus active vis-à-vis de la gamme microbienne testée, en ayant le spectre le plus large, avec toutefois une inactivité contre *Bacillus cereus* (Gram+) aussi bien pour l'huile que pour l'extrait.

D'après Garima et al. (2013), l'huile essentielle de *S. lappa* est riche en quelques 41 composants, parmi lesquels des aldéhydes (25,5%) des alcools et surtout des composés terpéniques, notamment l'élémol (5,84%) qui est un sesquiterpène connu pour ses propriétés antimicrobiennes. Il serait donc probable que ce composé soit présent dans notre huile et qui a causé l'activité antimicrobienne observée.

Boulogne 2011, attribue l'activité antifongique de l'huile essentielle de *S. lappa* à un autre composé terpénique, en l'occurrence le caryophyllène oxide qu'elle contient. Ce composé est aussi cité par Mohamed Saleem et al., 2012.

En ce qui concerne l'extrait de *S. lappa*, d'après Mohamed Saleem 2012, il est riche en alcaloïdes tel que la saussurine, qui est à l'origine de son activité antifongique, il parle aussi de l'aspect astringent de cette plante, probablement du à la présence de forte teneurs en tannins. Cette astringence pourrait être à l'origine de sa forte activité antimicrobienne.

Les travaux de Kolisetty et *al.*, 2007, ont isolé de l'extrait de racines de *S. lappa* quatre flavonoïdes glucidiques et ont démontré que ces derniers avaient tous les quatre des effets antimicrobiens, mais moins prononcées que celle obtenue avec le mélange des quatre, c'est un exemple de synergie.

Quant à l'extrait de *Myrtus communis*, nos résultats concordent en partie avec ceux d'Amensour (2010), qui a observé une activité antifongique élevée, notamment vis-à-vis de *P. aeruginosa*, contre laquelle, l'auteur a noté que l'extrait méthanolique de *M. communis* avait une forte activité ce qui va dans le même sens que nos résultats. De plus, l'auteur a noté une activité antibactérienne plus importante contre les souches Gram positives que contre les Gram négatives, chose que nous ne pouvons confirmer, vu que les deux souches que nous avons testé, en l'occurrence, *P. aeruginosa* (Gram -) et *B. cereus* (Gram +) ont semblé avoir la même sensibilité à notre extrait.

Des observations similaires ont été aussi rapportées par El Harchli et *al.* (2015).

Pour ce qui est de l'effet de l'extrait de *Retama raetam*, Edziri et *al.* (2012), ayant évalué les activités antibactériennes, antifongiques et cytotoxiques de deux flavonoïdes isolés des fleurs de *Retama raetam*, ont constaté que les deux composés licoflavone et dorrone, avaient une importante activité contre *Escherichia coli* ainsi que *Pseudomonas aeruginosa* (C.M.I. estimées à respectivement à 7,81 µg/ml et 15,62µg/ml). Ces résultats son en accord avec notre résultat obtenu avec *P. aeruginosa*, dont la C.M.I. est faible le halo d'inhibition similaire. Ils ont aussi noté une activité antifongique sur des levures du genre *Candida*.

Il est admis que les flavonoïdes servent de produits de défense des plantes contre les microorganismes pathogènes, et selon ce même auteur, l'emplacement et le nombre de groupe hydroxyles, détermine la toxicité contre les microorganismes en formant des complexes avec des protéines extracellulaires solubles et avec la paroi cellulaire, ils peuvent agir ainsi en altérant la fonction de la membrane et/ou la paroi cellulaire.

Zerroug (2011) a démontré que les métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes de *Retama raetam* sont doués d'activités antimicrobiennes, notamment sur

Bacillus sp, *Streptococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc... et d'activités antifongiques, notamment sur *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albiginis*, *Phytophthora infestans* etc...

A cet effet, sachant que nous avons utilisé aussi bien les tiges, les feuilles et les fleurs, serait-ce les flavonoïdes contenus dans les fleurs qui auraient eu cette réaction ; la faible quantité de fleurs utilisée à l'extraction par rapport à la masse végétale, serait à l'origine de la réaction « timide » sur la gamme de microorganismes que nous avons utilisé, ou alors serait-ce peut être dû à la qualité de la flore endphyte.

Concernant *Ziziphus jujuba*, les travaux de Al Reza et *al.*, 2009 ont révélés une grande activité antibactérienne, de l'extrait méthanolique du fruit de *Z. jujuba*, contre cinq souches de *Listeria monocytogene*, cela va dans le même sens que nos résultats, dans la mesure où notre extrait a exhibé une bonne activité antimicrobienne sur les deux souches bactériennes testées.

En ce qui concerne l'activité antifongique, Ahmad et *al.*, 2011, ont établis que l'extrait méthanolique, de *Z. jujuba*, exhibait une faible activité antifongique contre *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum* et s'est montré inactif contre *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer* ; cela concorde avec nos résultats, en effet notre extrait s'est montré inactif contre pratiquement toutes les souches fongiques testées.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Au terme de ce travail, certaines conclusions peuvent être tirées :

L'huile essentielle de *Calendula arvensis* a montré une activité antifongique moyenne au même titre que l'huile essentielle de *Chamaemelum. fuscatum*, de même que pour l'extrait d'*I. viscosa* ainsi que *Retama raetam* avec un spectre limité.

L'huile essentielle d'*A. herba alba* a exhibé une activité antifongique relativement faible, ce qui nous laisse supposer comparativement à son potentiel connu, que cette huile essentielle a un chémotype particulier avec un spectre réduit, qu'il serait nécessaire de caractériser dans la perspective de recherche de produits naturels dont le spectre réduit serait intéressant dans le cadre d'une lutte biologique, puisqu'ils auraient probablement moins d'impact sur les organismes auxiliaires.

L'extrait de *Z. jujuba*, pourrait être exploité comme produits naturel antibactérien vu qu'il a exhibé une activité antibactérienne vis-à-vis des deux souches bactérienne Gram + et Gram- (*P. aeruginosa* et *B.cereus*) avec un pouvoir inhibiteur moyen à excellent.

L'extrait de *M. communis* peut être considéré comme un bon produit naturel avec un pouvoir inhibiteur intéressant à excellent sur un large spectre.

L'extrait de *S. lappa*, à l'instar de son huile essentielle, se sont montré les plus actifs, en inhibant remarquablement la croissance de toutes les souches fongiques testées, ainsi qu'une souche bactérienne, ils représentent pour cela les meilleurs produits de notre étude, à même d'être exploité dans des études ultérieures, dans la perspective de recherche de produits naturels capable d'agir sur une large gamme et à long terme, pourraient remplacer les produits de synthèse actuellement sur-utilisés.

Dans le cadre des combinaisons de substances, l'huile de *S. lappa* représenterait peut être un bon allié pour l'huile d'*A. herba alba*, afin de réduire les concentrations utilisées.

Les extraits de *S. lappa* et *M. communis*, se combinent relativement bien avec un léger effet synergique.

La combinaison ayant exhibé le meilleur potentiel est l'huile de *S. lappa* associée à l'extrait de *M. communis*, avec un net effet synergique. A cet effet cette combinaison, mériterait d'être reprise dans d'autres études plus approfondies afin d'élucider et d'exploiter

l'origine de cette synergie, dans l'optique de l'établissement de mixture a haut pouvoir antimicrobien.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

Abderrazak M. et Joël R., 2007. La botanique de A à Z., ed. Dunod. Paris. 177p.

Adossides Anthoula, 2003. La filière “Plantes Aromatiques & Médicinales” STRATEGIE ET POLITIQUE AGRICOLE, République Libanaise, Ministère de l’Agriculture, Direction des Etudes et de La Coordination, F.A.O. Projet “Assistance au Recensement Agricole”.

Ahmad B. , Khan I., Bashir S., Azam S., Ali N. 2011 : The antifungal, cytotoxic, antitermite and insecticidal activities of Zizyphus jujube. Pak J Pharm Sci. 24(4):489-93.

Ait Youcef M., 2006 : Plantes médicinales de Kabylie, Ibis press, Paris, 349p.

Ali-Delille L., 2010 : Les plantes médicinales d’Algérie, 2^{ème} édition, Berti édition, Alger, 240p.

Al-Reza S.M., Bajpai V.K., Kang S.C. 2009 : Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from Zizyphus jujuba. Food Chem Toxicol. 47(9):2374-80. doi: 10.1016/j.fct.2009.06.033. Epub 2009 Jun 27.

Amensour M., (2010) : Thèse de Doctorat, Étude de l’activité antimicrobienne et antioxydante des extraits des plantes médicinales d’origine marocaine. Application biotechnologique à l’amélioration de la qualité des produits alimentaires.

-B-

Baby Joseph and R. Mini Priya, 2011 ; bioactive compounds from Endophytes and their Potential in pharmaceutical Effect : A Review. American Journal of Biochemistry and Molecuar Biology 1(3) : 291-309.

Benabid A., 2000 : Flore et écosystèmes du Maroc, évaluation et présentation de la biodiversité. Ed. Ibis press, 359p.

Boizot N. et Charpentier J.P., 2006. Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre forestier. Le cahier des techniques de L’INRA. pp. 79-82.

Boulogne I. 2011 : Evaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reéché) d'une sélection de plantes à usages ethno pharmacologiques TRAMIL ; Th Doctorat, Université des Antilles et de la Guyane 169p.

Brown NA, Urban M, Van De Meene AML, Hammond-Kosack KE, 2010. The infection biology of *Fusarium graminearum*: Defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat spikes. *Fungal biology* **114**, 555-571.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie des plantes médicinales, 2^{ème} édition. Techniques et documentations. Lavoisier. Paris. 915p.

-C-

Calmes Benoit, 2011. Réponses adaptatives *D'alternaria brassicicola* au stress oxydatif lors de l'interaction avec les *brassicacees* rôle du métabolisme du mannitol et des glutathion-s-transferases, thèse de doctorat spécialité : biologie cellulaire et moléculaire végétale, université d'Angers, 71P.

Champion R., 1997. Identifier les Champignons Transmis par les Semences. Paris, France: INRA.

Chermette R., Bussieras J., 1993. Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.

Cheynies V., 2005. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.* ; 81(suppl) : 223S-9S.

-D-

D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R. Gargiulo R., Giovannini C., Masella R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability, *Ann Ist super sanità* Vol. 43, N° 4 : 348-361.

Dacosta Y., 2003. Les phyto nutriments bioactifs, ed. Yves Dacosta. Paris. 317p.

-E-

Edziri Hayet, Mastouri Moha, Ali Mahdjoub Mohamed, Mighri zine, Mahdjoub Aouni, Verschaeve Luc, 2012 : antimicrobial, antifungal and cytotoxic activities of two flavonoids from *Retama raetam* flowers. *Molecules*, **17**, 7284-7293.

El Harchli E.H., NECAHD I., Bendjelloum M., El Ghardraoui L., 2015 : contribution à l'étude du pouvoir antibactérien et antifongique de *zyzyphus lotus* et *Myrtus communis* ; Science Lib Editions Mersene 7, n° 150101.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C.R. Biologies*, **331**, 372-379.

-F-

Feknous S., Saidi F., Mohamed Said R., 2014. Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). « Nature & Technology » Science fondamentales et engineering, n°11. p.07 à 13.

-G-

Garima Gwari, Ujjwal Bhandari, Harish Chandra andola, Hema Lohani, Nirpendra Chauhan, 2013 : Volatile constituents of *Saussurea costus* roots cultivated in Uttarakhand Himalayas, india, pharmacognosy Res. 5(3) : 179-182.

Ghanmi M, Satrani B, Aafi A, Isamili M.R, Houti H., El mounfalouti H., Benchakroun K.H, Aberchane M., Harki L., Boukir A., Chaouche A., Charrouf Z., 2010 : Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique de la bio activité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) de la région de guercif (Maroc oriental); phytothérapie, Volume8, issue 5, pp 295-301.

Ghrib M., 2009 : Etude des activités antimicrobiennes et anti oxydantes des huiles essentielles et des flavanoides d'*Artemisia herba alba* Asso ; *Artemisia judaica*. L.esp.*Sahariensis* ; *Artemisia campestris* L ; *Hernanria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Coll. Mémoire Magister, université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, département biologie médical et cellulaire. 111p.

Gilly G., 2005 : Les plantes aromatiques et huiles essentielles et grasses – Botanique- culture- chimie-production et marché, L'harmattan, Paris. 414p.

Gravot A., 2009. Support de cours sur le métabolisme secondaire (Equipe pédagogique physiologie végétale, 4MR 118 APBV). Université de Rennes1. L2UE PHR.

-H-

Hayouni E.A., Abderabba M., Bouix M. and Hamdi M. (2007). The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*.

Hellal Z., 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et anti oxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) Mémoire Magistère, Biochimie appliquée et biotechnologie. Université Mouloud Mammeri – Tizi-Ouzou. 78p.

Hemwimon S., Pavasant P. & Shotiprux A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, 44-50.

Hopkins W.G., 2003. Physiologie végétale Traduction de la 2^{ème} édition américaine par Serge Rambour, Révision scientifique de Charles-Marie Evrard, ed. De boeck, 514p.

Houmani M., Houmani Z., Skoula M., 2004 : Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes. *Acta Bot. Gallica*, 151 (2), 165-172.

-I-

Imaël Henri Nestor Bassolé, and Rodolfo Juliani H. 2012 : Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties *Molecules*, 17, 3989-4006.

Ismail H., Lemriss S., Ben Aoun Z., Mhadhebi L., Dellai A., Kacem Y., Boiron P. and Bouraoui A. (2008). . Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean Sea cucumber. *Holothuria polii*. *18 (1)*, p: 23-26.

-J-

Joubrane Karine, 2011. Evaluation du risque lié aux Champignons Pathogènes producteurs d'Ochratoxine A et d'Aflatoxine B1 au niveau de la production du Blé au Liban, Thèse de doctorat de la faculté des sciences de l'université Saint Joseph de Beyrouth, 224P.

-K-

Khebri S. 2011 : Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois *Artemisia*, mémoire de magister, dep. Chimie, université El Hadj Lakhdar – Batna, 110p.

Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y. A., Millet J et Chaumont J. P. (2004). Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. Annales de Médecine Vétérinaire. 148, 202-206.

Kola N., Saiah F., Boudia A., 2012 : effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporium* f. sp. *Radicis-lycopersici*. Algerian journal of arid environment, vol2, n°1 : 71-76.

Kolisetty Sambasiva Rao, Goriparthi Venu Babu and Yemireddy Venkata Ramnareddy, 2007 : Acylated Flavone Glycosides from the Roots of *Saussurea lappa* and Their Antifungal Activity *Molecules*, 12, 328-344

Kone W.M., Kamanzi Atindehou K., Terraux C., Hostettmann K., Traore D. and Dosso M. (2004). Traditional medicine in North Côte-D'ivoire : screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol*, **93**, 43-49.

-L-

Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils ; phytoterapy research 18-(435-448).

Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Caede J-R., 1994. Biogenèses des monoterpènes, II La chaîne isoprenique. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 133,79-99.

Lombard A., février 2002. *Calendula arvensis* L., 1763. In Muséum national d'Histoire naturelle [Ed]. 2006. Conservatoire botanique national du Bassin parisien, site Web. <http://www.mnhn.fr/cbnbp>.

-M-

Macheix Jean Jacques, Fleuri et Annie, Jay-Allemand Christian, 2005 : les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presse polytechniques et universitaires romande CH-1015 Lausanne. 192p.

Mauro N.M., 2006. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : (+) – Anatoxine- a et la (±) Campotothécine, thèse de doctorat université Joseph Fourier, Grenoble1.

Meyer S. Reeb C. Bosdeveix R., 2008. Botanique. Biologie et physiologie végétales, ed Maloine 2 ed. 490 p.

Mohamed A.E.H.H., El-Sayed M.A., Hegazy M.E., Helaly S.E., Esmail A.M., Mohamed N.S., 2010 : chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba alba* from southern Tunisia ; *Molecules*, 14, 1585-1594.

Muna Ali Abdella, Josphat C. Matasyoh, 2004. Endophytes as Producers of peptides : An overview about the recently discovered Peptides from Endophytic Microbes ; *Nat. Prod. Bioproject.* 4 : 257-270.

-N-

Nabore M., 2008. Biologie végétale, structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies, ed. Pearson. Paris. 614p.

Neffati M. et Sghaier M., 2014. Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie), rapport principal de l'observatoire du Sahara et du Sahel.

Négre prénom., 1962 : Petite flore des régions arides du Maroc occidental, Tome II, ed centre national de la recherche scientifique, 566p.

-O-

Ozenda P., 1958. Flore du Sahara septentrional et centrale. CNRS., Paris. 486p.

Ozenda P., 2004 : Flore et végétation du Sahara, 3^{ème} édition, CNRS édition, Paris. 660p.

-P-

Perricone M., Arace E., Carbo MR., Sinigaglia M., Bevilacqua A., 2015 : Bioactivity of essential oils : a review on their interaction with food components *frontiers in microbiology* n° 76 volume 6.

Pibiri M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechniques Fédérale de Lausanne.

Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiria L., Gonzales MJ., Costa-de-Oliviera S., Cavaleico C., Palmeica A., Rodrigez A., Martinez-de-Oliveira J., 2006. Antifungal activity of the essential oil of thymus pulegioides on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical microbiology*, 55 : 1367-1373.

Piochon M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada. 200p.

-Q-

Quezel et Santa, 1962. Nouvelle flore de l'Algérie. Tome I. p156-162.

-R-

Rakotoarimanga Nirina, Zananirina Jefferson, Ramamonjisoa Daniel et Ramanankierana Heriniaina, 2014. Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri. *Afrique SCIENCE* 10(3) 243 – 255.

Réseau Tela botanica, 2011 : Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela botanica, 2011, www.tela-botanica.org fiche eFlore de *Chamaemelum fuscatum*. Version du 16 février 2015.

Richter G., 1999 : Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie, ed. Presse polytechnique et universitaire romandes, Lausanne. 526p.

Rong Tsao, 2010 : Chemistry and Biochemistry of dietary polyphenols, nutrients, 2, 1231-1246 do : 10.3390/ nu 21 21 231.

Roux D. (2008) : Conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition, Pro-Officina., 187.

-S-

Salido S., Valenzuela L.R., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A. & Cano E. 2004. Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba alba* from southern Spain. *Biochem. Systematics and Ecol.*, 32, 265-277.

Shan B., Cai Y.Z., Brooks J.D. and Corke H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 112-119.

Siou Dorothée, 2013. Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien, thèse de doctorat en biologie, de l'université PARIS-SUD 11, 182P.

Sokmen A., Gulluce M., Askin Akpulat H., Daferera D., Tepe B., Pollisiou M., Sokmen M. and Sahin F. (2004). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15, 627-634.

Souza E.L., Stamford T.L.M., Lima E.O., Trajano V.N., 2007 : effectiveness of *Origanum vulgare* L. Essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Cont.*, 18, 409-413.

-T-

Teuscher E., Auton R., Lobstein A., 2005 : Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles, ed. Tee et doc, Lavoisier, 522p.

Tabuc Cristina, 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest spécialité : pathologie, mycologie, génétique et nutrition, 190 P.

-V-

Vu Thi Dao, 2008 : Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. Cultivé en condition hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques. Thèse doctorat institut national Polytechnique de Lorraine. 237p.

-W-

Waly N.M., 2009 : Verifying the Scientific Name of Costus [Saussurea lappa ((Decne.) C.B.Clarke.) Asteraceae], JKAU: Sci., Vol. 21 No. 2, pp: 327-334.

Waqas Muhammad, Khan Abdul Latif, Liaqat Ali, Kang Sang- Mo, Kim Yoon-Ha, Lee In-Jung, 2013 : Seed Germination – Influencing bioactive secondary metabolites secreted by the Endophyte *Cladosporium cladaspoides* LWL5. *Molecules* 18, 15519-15530.

Wendakoon C. and Sakaguchi M., 1995:Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of food Products*, **58**, 280-283.

Wertz jean-Luc, 2010 : La Lignine, note de synthèse Document ValBiom-Gembloux Agro-Biotech document FARR-Wal- avec le soutien de la région Wallone-DG03/4623p.

White F. 1986 : La végétation de l’Afrique, Mémoire accompagnant la carte de vegetation de l’Afrique UNESCO/AETFAT/UNCO, 353p.

-X-

Xuping Shentu, Xiaohuan Zhan, Then Ma, Xiaoping Yu, Chuanxi Zhang, 2014 : Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus *Trichoderma brevicompactum* from garlic. *Brazilian Journal of microbiology* 45, 1, 248-254.

-Z-

Zaim A. El Ghadraoui L., Farah A., 2012 : Effet des huiles essentielles d’*Artemisia herba alba* sur la survie des criquets adultes d’*Euchorthippus albolineatus* (Lucos, 1849) ; Bulletin de l’institut scientifique, Rabat, section science de la vie n°34, p. 127-133.

Zeng H., Chen X., Liang J., 2015 : In vitro antifungal activity and mecanisme of essential oil from fennel (*Foeniculum vulgare* L.) on dermatophyte species. *J. med. Microbiology* 64 (Pt1) 93-103.

Zerroug A., 2011 : Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retoma raetam* (foresk). Mémoire de magister, Dep. Microbiologie, université Ferhat Abbas – Sétif. 77p.

Zhang Fu-sheng, LV Ya-Li, Zhao Yue, Guo Shun-Xing, 2013 : Journal of Zhejiang university SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology) ; 14 (9) : 785-792.

Zohary, 1962 : Plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald, New York, 1962. Science 11 may 1962: Vol. 163. no.3515, p.523 .

Zouari N., Ayadi I., Fakhfakh N., Rebai A., Zouari S., 2012 : Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut., a North African endemic species ; lipids in health and disease, 11 :28.

ANNEXE

Composition des milieux de culture utilisés.

Composition en g/l :

➤ **Gélose Mueller Hinton**

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7,4

Stérilisation à 120°C pendant 15 mn.

➤ **Gélose Sabouraud**

Peptone pepsique.....	10g
Glucose.....	20g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH=5,8

Stérilisation à 120°C pendant 15 mn.

➤ **Eau physiologique stérile**

Chlorure de sodium (NaCl).....	9g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7

Stérilisation : autoclavage à 120°C pendant 20 mn.