

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux

Présenté par :

DJABI Ahmed & KHOBIZI Boubaker

Thème

**Etude de l'effet des extraits aqueux et éthanoliques de
Romarin sur la croissance de quelques champignons
phytopathogènes**

Soutenu le : 30/06/2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme BOUBEKKA Nabila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M^{elle} MEBDOUA Samira</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mr LAMINE Salim</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENT

AU DEBUT NOUS REMERCIERONS ALLAH *DE* NOUS
AVOIR AIDE POUR COMPLETES *NOTRE* TRAVAIL.

JE REMERCIE TOUTE L'EQUIPE DU LABORATOIRE
DE FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUE. DE
UNIVERSITES AKLI MOHAND OULHADJBOUIRA.

EST LES JURYS DE LEUR SETENUE MESIEU LE
PRESIDENT Mme BOUBEKKA Nabila ET LEUR
EXAMINATEUR Mr LAMINE Salim ET LEUR
PROMOTEUR M^{elle} MEBDOUA Samira

A TOUTE MES AMES DE MASTER IISPECIALITES
PROTECTION DES VEGETAUX.

A TOUTES LES GENT QUI DONNES LE PLUS A CE
TRAVAIL .

Dédicace

JE DEDIE CE TRAVAIL A MAN PERE EST A MA MERE.

A MES SŒUR :FAYZA .IMANE

A MON FRERE : AMINE .

A MA GRANDE MERE.

A MES FIDELES AMIES :DJAMELE. IMADE .

RABAH. ADELE.

A TOUTE MA FAMILLE .

DJABI AHMED.



Listeabréviation

PDA: Potato Dextrose Agar.

HE :huile essentielle.

HIV :le virus de l'immunodéficience humaine

GST :glutathion-S-transférase

Liste des figures

Figure 01: Structure chimique de d'isoprèn.....	6
Figure 02: Structure chimique de linalol	6
Figure 03: Structure chimique de phénol.....	7
Figure 04: Structure chimique de Phénol méthyle-éther.....	7
Figure 05 : Structure chimique de citronellal.....	7
Figure 06 : Structure chimique de salicylate de méthyle.....	7
Figure 07: structure chimique de acide ursolique	8
Figure 08: structure chimique de acide rosmarinique	9
Figure 09: plante de <i>Romarinus officinalis</i>	10
Figure 10: Poudre des feuilles de romarin.....	18
Figure 11: Filtration de l'extrait aqueux.....	19
Figure 12: l'extraction éthalonique par soxhlet.....	20
Figure 13: coulage des boites de pétri.....	21
Figure 14: l'inoculation du champignon <i>Aspergillus</i>	22
Figure 15: Colonie de <i>Penicillium sp</i>	23
Figure 16: Observation microscopique de <i>Penicillium sp</i> (Gx40).....	23

Figure 17: Colonie d' <i>Aspergillusniger</i> sur milieu PDA	24
Figure 18: <i>Aspergillusniger</i> sous microscope (Gx40).....	24
Figure 19: colonies <i>Aspergillus flavus</i> sur milieu PDA.	25
Figure 20: Observation sous microscope d' <i>Aspergillus flavus</i> (Gx40).....	25
Figure 21: Colonie de <i>Fusariumverticillioides</i>	26
Figure 22: Observation mirosopique <i>Fusariumverticillioides</i> (G x40).....	26
Figure 23: Colonie de <i>Fusariumsp.</i>	27
Figure 24: Observationmicroscopique de <i>Fusariumsp.</i>	27
Figure 25: effet des extrait sur la croissance radiale d' <i>A flavus</i>	29
Figure 26: Effet des extrait sur la croissance radiale d' <i>A niger</i>	30
Figure 27: Effet des extraits sur la croissance radiale de <i>Penicillium sp</i>	31
Figure 28: Effet des extraits sur la croissance radiale de <i>Fusariumverticilloides</i>	32
Figure 29: Effet des extraits sur la croissance radiale de <i>Fusariumsp</i>	33

listes des tableaux

Tableau 01 :Taux d'inhibition d' <i>A flavus</i>	29
Tableau 02 : Taux d'inhibition d' <i>Aniger</i>	30
Tableau 03 :Taux d'inhibition de <i>Penicilliumsp</i>	31
Tableau 04 :Effet de extrait aqueux sur le mycélium et la couleur	35
Tableau 05 :Effet de extrait éthalonique sur le mycélium et la couleur	36

Sommaire :

Listes de figure

Listes de tableaux

Listes abréviation

Introduction générale

Chapitre I : les bio pesticides.

I-1) Etymologie des Pesticides biologiques ou bio pesticides.....	1
I-2) Historique des bio pesticides.....	1
I-3) les avantages des bio pesticides	1
I-4) les inconvénients des bio pesticides	2
I-5) Type des bio pesticides	2

Chapitre II : les caractéristique de extrais et huiles essentielles de *Romarinus officinalis*.

II-1) les huiles essentielles	3
II-1-1) Historique des huiles essentielles	3
II-1-2) définition des huiles essentielles.....	3
II-1-3) répartition des huiles essentielles dans la plante.....	3
II-1-4) Localisation des huiles essentielles dans la plante	4
II-1-5) L'efficacité des huiles essentielles	4
II-1-5-1) Efficacité antifongique des huiles essentielles.....	4
II-1-5-2) Efficacité antivirale des huiles essentielles.....	4
II-1-5-3) Efficacité insecticide des huiles essentielles.....	4
II-1-5-4) Efficacité acaricide des huiles essentielles.....	4
II-1-7) le mode d'action des huiles essentielles.....	4
II-1-7) Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles.....	5
II-1-8) Caractéristique physique –chimique de huiles essentielles.....	5
II-1-9) Composition chimique des huiles essentielles.....	6

III-10)Caractéristique d'extrait de <i>Romarinusofficinalis</i>	8
---	---

Chapitre III : présentation d'espèce étudié *Romarinusofficinalis*.

III-1)Définition.....	10
III-2)Caractéristique botanique de <i>Romarinusofficinalis</i>	10
III -3)Systématique	10
III-4)L'utilisation de <i>Romarinusofficinalis</i>	11
III-5)Les variétés de <i>Romarinusofficinalis</i>	11
III-6) Ecologie	12
III-7) Répartition géographique.....	12
III -7-1)Dans le monde.....	12
III-8)Propriétés du romarin.....	12
III-9)Composition biochimique de romarin	13

ChapitreIV : materiae et méthode .

IV -1-1)Matériel biologique	15
IV -1-1-1)Matérielvégétal	15
IV -1-1-2) matérielles fongique	15
a) <i>Aspergillus niger</i>	15
b) <i>Aspergillusflavus</i>	16
c) <i>Penicilliumsp</i>	16
d) <i>FusariumVerticilloides</i>	17
e) <i>Fusariumsp</i>	18
IV -1-1-3) Autres matériels	18
IV -2) Méthodologie	18

IV -2-1)Séchage des plantes.....	18
IV -2-2)Broyage.....	18
IV -2-3)Méthode d'Extraction	18
IV -2-3-1) Préparation de l'extrait aqueux.....	18
IV -2-3-2) Préparation de extraitéthalonique.....	19
IV -2-3-3)Détermination du rendement.....	20
IV -2-4) Etude de l'activité antifongique de extrait de plante <i>Romarinusofficinalis</i>	20
IV -2-4-1) Caractérisation microscopique et macroscopique	20
IV -2-4-2) Méthode d'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait.....	20
IV -2-4-2-1) Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait aqueux.....	21
IV -2-4-2-2) Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait éthalonique.....	21
IV -2-4-2-3) Inoculation des milieux et incubation	21
IV -2-5) Expression des résultats.....	22

ChapitreV : résultat et discussion.

V-1)résultat

V-5-1) Caractérisation microscopique et macroscopique des champignons étudiés.....	23
V-1-1) <i>Penicillium sp</i>	23
V-1-2) <i>Aspergillusniger</i>	24
V-1-3) <i>Aspergillus flavus</i>	25
V-1-4) <i>Fusariumverticillioides</i>	26
V-1-5)caractéristique macroscopique et microscopique de <i>Fusariumsp</i>	27
V-2) Rendement en extrait	28

V-3) Effet de extrait aqueux et ethalonique de <i>Romarinus officinalis</i> sur la croissance radiale des champignons.....	28
V-3-1) <i>Aspergillus flavus</i>	28
V-3-2) <i>Aspergillus niger</i>	29
V-3-3) <i>Penicillium</i> sp.....	30
V-3-4) <i>Fusarium verticilloides</i>	32
V-3-5) <i>Fusarium</i> sp.....	32
V-4) Résultats des l'effet des extraits sur la couleur et l'aspect de mycélium.....	34
V-4) Discussion.....	36
Conclusion générale.....	39
Référence Bibliographie.....	40
Annexes.....	46

introduction

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. Elles étaient employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur (**BRAHMI, 2014**). le *Rosmarinus officinalis* est lune de ces plantes médicinales ,les plus utilises elle produite en grande quantité a l'échelle mondiale ,a titre d'exemple en 2004 environ 350 à 400 tonnes de romarin ont été produites .

Les pays méditerranéens constituent le bassin de production historique du romarin. La Tunisie, l'Espagne, le Maroc et la Turquie figurent parmi les principaux pays producteurs. D'autres zones du monde au climat adapte se sont également lancées dans la production de plantes aromatiques dont le romarin : Afrique du Sud, Zimbabwe, Italie, Albanie, Sud de la Chine, Californie, Mexique... Ces productions font pression sur les marchés (**CTERRY, Paul,2006**).en Algérie ,cette plantes est utilisée traditionnellement depuis l'antiquité, elle fait partie des remède mais les plus utilisé, elle est utilisé également comme épices. Dans de nombreux plats plusieurs travaux sont intéressé a l'effet antibiotique et antifongique de l'extrait de cette plantes et dans cet optique , notre travail vise à étudier l'activité antifongique de extraits et *Rosmarinus officinalis*, contre cinq champignon phytopathogène : *penicilium sp* , *Aspergillus niger* , *Aspergillus flavus* , *Fusarium sp* , *Fusarium verticiloid*.

Les bioinsecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie. Sous ce vocable, les biopesticides comprennent les agents de contrôle des insectes , les champignons , les bactéries (**ANONYME, 2003**).

Notre travail il devisé en :

- premier chapitre généralités sur les biopesticides , chapitre 2 les caractéristique de d'extrait et huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*. , chapitre 3 la présentation de l'espèce étudié *Rosmarinus officinalis*.
- chapitre 4 présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail chapitre 5 consacré à la présentation des résultats obtenus et la discussion.

Et a la fin , nous avants terminé notre travail par une conclusion générale et perspective

Chapitre I: synthèse bibliographique

I- 1) Etymologie des Pesticides biologiques ou bio pesticides :

Le bio pesticide est un mot formé de « pesticides » qui veut dire «tuer les pestes » et du préfixe «*bios*» qui signifie «vie » en grec. ce qui veut dire que les bio - pesticides s'inscrivent dans la lutte contre les organismes fléaux et sont, basés sur l'utilisation d'agents ou facteurs liés à la vie. Un bio pesticide se définit comme tout produit de protection des plantes à base d'organismes vivants ou substances extraits d'organismes vivants (IMPION, 2011).

I- 2) Historique des biopesticides :

Le développement des pesticides chimiques, dont la production était aisée et les coûts peu élevés, a constitué à la charnière de la moitié du 20^{ème} siècle, une révolution technologique dans le domaine de la protection des cultures. Mais les succès qu'ils rencontrèrent immédiatement dans le contrôle des espèces nuisibles aux cultures, ainsi qu'à la santé humaine et animale, ont conduit à leur utilisation intensive et souvent sans discernement. Cette utilisation abusive a conduit à des désordres écologiques à de multiples niveaux tels que la contamination des eaux par ces pesticides, leur effet toxique pour les organismes non cibles tels que les insectes auxiliaires, leur effet néfaste sur la santé humaine (cancers, troubles neurologiques) .

Par ailleurs, de nombreuses initiatives sont déployées depuis plusieurs années pour développer des méthodes alternatives à l'utilisation de ces pesticides chimiques. Il s'agit entre autre de bio pesticides (REGNAULT, 2005)

I- 3) Avantages des bio pesticides :

La nature des bio pesticides permet leur utilisation aussi bien en agriculture conventionnelle qu'en agriculture biologique.. Certains bio pesticides microbiens présentent des bénéfices supplémentaires à leur rôle de protection. Les champignons du genre *Trichoderma* ont la particularité de faciliter l'absorption d'éléments nutritifs du sol par les plantes . De même, il a été récemment mis en évidence que certains micro-organismes endophytes et certaines rhizobactéries favorisant la croissance des plantes peuvent conférer à certaines cultures une tolérance aux stress abiotiques comme la sécheresse. La plupart des bactéries commercialisées en tant que bio pesticides font partie du groupe des PGPR, comme *Bacillus subtilis* et sont connues pour leur capacité à favoriser la croissance des plantes. Dans certains produits commercialisés, les molécules bioactives emploient plusieurs modes d'action, ce qui les rend particulièrement intéressantes pour limiter l'apparition de bio-agresseurs résistants (LARBI ET RABAH , 2014).

I- 4)Inconvénients des bio pesticides :

Certains avantages écologiques tels que la faible rémanence et le fait que le bio pesticide soit actif contre un faible spectre de nuisibles, peuvent être considérés comme des inconvénients. Aussi leur activité souvent dépendante des conditions climatiques et environnementales est également considérée comme inconvénient.

Certains professionnels de l'agriculture estiment que les bio pesticides ne leur conviennent pas car ils ne sont pas assez efficaces. Ces derniers évaluent les résultats du bio pesticide à court terme, comme s'il s'agissait d'un substitut aux produits phytosanitaires chimiques. Cependant, la mise en place et l'efficacité d'un contrôle biologique doivent être évaluées sur une longue durée (**LARBI ET RABAH , 2014**).

I- 5)Type des bio pesticides :

Selon l'agence de protection environnementale des Etats - Unis (EPA), les bio - pesticides ou les pesticides biologiques sont des dérivés de matériels naturels tels que les plantes, les bactéries et certains animaux. L'EPA répartit ces bio - pesticides en trois types:

I- 5-1) Les pesticides microbiens dont l'ingrédient actif est un micro - organisme (bactérie, champignon, protozoaire, algue) ou un virus (**LEPOIVRE, 2003**)

I- 5-2) Les pesticides d'origine végétale y compris les molécules que les plantes transgéniques produisent après l'incorporation d'un transgène comme la protéine Bt du *Bacillus thuriangiensis* d'origine végétale (**LEPOIVRE, 2003**)

I- 5-3) Les pesticides biochimiques qui sont des substances naturelles ne présentant pas de toxicité directe vis - à - vis des ravageurs et agents phytopathogènes, mais qui interfèrent avec leur croissance ou leur reproduction ainsi qu'à la physiologie de plante(**LEPOIVRE, 2003**)

Chapitre II : Caractéristique de *d'extrait* et huiles essentielles de *Romarinus officinalis*.

II-1) Huiles essentielles :

II-1-1) Historique des huiles essentielles :

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique.

Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René- Maurice Gattefosse a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**BELKHIRI,2015**).

II-1-2) Définition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par pression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommes qui s'écoulent du tronc des arbres (**TOURE, 2015**).

II-1-3) Répartition des huiles essentielles dans famille des plantes :

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques. Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles (**BELKHIRI, 2015**).Exemple : Myrtaceae (Girofle), Lauraceae (Laurier), Rutaceae (Citron).

II-1-4) Localisation des huiles essentielles dans la plante :

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont: cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécréteurs des laminaceaes, poches sécrétrices des Myrtaceaes, des Rutaceaes, et les Laminaceaes , et les canaux sécréteurs qui existent dans des nombreuses familles(**BELKHIRI.F, 2015**).

II-1-5) Efficacités des huiles essentielles :

II-1-5-1) Efficacité antifongique des huiles essentielles :

La Majorité des HE présente une action antifongique a des concentrations facilement utilisables en clinique, de 0,002% pour l' huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur des dermatophytes jusqu'a 8% pour l' huiles essentielles de *Melaleuca alternifolia* sur *Aspergillus niger* .

II-1-5-2) Efficacité antivirale des huiles essentielles :

Plusieurs études prouvent l'action des huiles essentielles sur les virus, mais en pratique cette efficacité est peu retrouvée.

II-1-5-3) Efficacité insecticide et acaricide des huiles essentielles :

Les plantes doivent faire face à de nombreux prédateurs, nombre d'entre eux étant des insectes et des acariens. Elles produisent de nombreuses composés d'une huiles essentielles En effet, certains d'entre eux ont une toxicité qui va tuer le nuisible cherchant à se nourrir de la plante (**SOLENE, 2012**)

II-1-6) Mode d'action des huiles essentielles :

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺): ce mécanisme a été observé avec l'huile de *Melaleuca alternifolia* sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram à négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) *in vitro*. Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane

des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP .

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram à négatif est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram négatif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. **(TOURE, 2015).**

II-1-7) Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles :

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, . Les huiles essentielles possèdent des propriétés thérapeutiques variées :

- 1) Remédient aux problèmes respiratoires.
- 2) Diminuent la tension nerveuse.
- 3) Améliorent la circulation sanguine.
- 4) Aident le corps à se détoxifier .
- 5) Soulagent la nervosité et les douleurs rhumatismales **(BELKHIRI,2015).**

II-1-8) Caractéristique physique –chimique de huiles essentielles :

- Elles sont liquides à température ambiante. N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Elles sont volatiles et très rarement colorées.
- La densité faible des huiles essentielles est due à la forte teneur en mono terpènes
- L'indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en mono terpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité **(FROUHAT, 2013).**

II-1-9) Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux aromatiques très complexes et très concentrés. Elles peuvent contenir plus d'une centaine de molécules dans des proportions très variables. Les principaux composés rencontrés sont :

II-1-9-1) Les Terpènes :

Les terpènes sont une vaste classe de composés organiques d'origine naturelle; on les connaît également sous le nom d'isoprènes, car leur structure repose sur la répétition d'unités d'isoprène (C₅H₈)

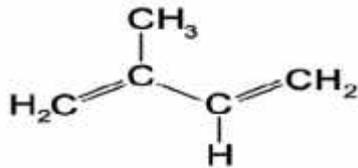


Figure 01 : Structure chimique de d'isoprène.

II-1-9-2) Les Alcools :

Les membres de ce groupe se forment lorsque des unités composées hydroxydes se rattachent à des atomes de carbone. Exemple : Le linalol résultants de la fixation d'un groupement hydroxyle sur un sesquiterpène

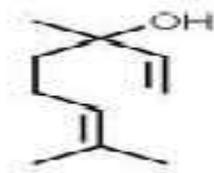


Figure 02 : Structure chimique de linalol.

II-1-9-3) Les Phénols :

Ce sont des alcools dans lesquels le groupement hydroxyle est fixe à un cycle d'atomes de carbone. Ce sont de puissants antibiotiques.

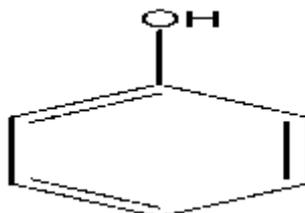


Figure 03 : Structure chimique de phénol.

II-1-9-4) Les Phénols méthyle-éthers :

Il s'agit des phénols qui ont subi une méthylation, ce sont des : antispasmodiques puissants des muscles lisses.

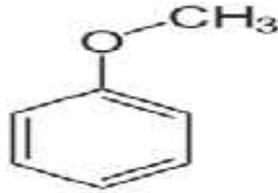


Figure 04 : Structure chimique de Phénol méthyle-éther.

II-1-9-5) Les Aldéhydes :

Ils sont formés par l'oxydation des alcools, ce sont des molécules très volatiles .

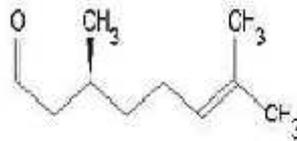


Figure 05 : Structure chimique de citronellal.

II-1-9-6) Les Esters :

Ils sont issus de la réaction d'un acide carboxylique avec un alcool. Ils sont spasmolytiques, anticonvulsivants, anti-inflammatoires.

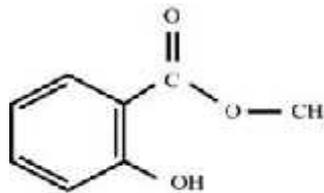


Figure 06 : Structure chimique de salicylate de méthyle.

II-1-9-7) Les Cétones :

Ce sont des molécules très actives, dont les propriétés s'inversent en fonction de la dose employée : à faible dose elles sont stimulantes du système nerveux central, tachycardisantes, et à doses plus élevées elles sont calmantes voire entraînant un état de stupéfaction.

II-1-9-8) Les Composés soufrés :

Relativement rares dans les huiles essentielles, ces composés sont l'apanage d'un petit nombre de familles botaniques : on les rencontre en quantité notable dans quelques *Apiaceae* .

II-1-9-9) Les Coumarines :

Les coumarines, fragiles, ne se retrouvent dans les huiles essentielles que de quelques familles botaniques, citons : les *Apiaceae*, les zestes des *Rutaceae*, les *Asteraceae*. Ce sont de puissantes sédatives nerveuses, anticonvulsivants, elles sont hypotensives et anticoagulantes (Solène, 2012).

II-2) Caractéristique d'extrait de *Rosmarinus officinalis* :

L'extrait de romarin est obtenu à partir des feuilles et des fleurs *Rosmarinus officinalis*, appartenant à la famille Lamiacée. Il contient une teneur élevée en dérivés phénoliques (acide rosmarinique 2-3%) alcaloïdes (de rosmaricina), les acides phénoliques et triterpène (acide ursolique 2-4%),
- l'extrait de *Rosmarinus officinalis* utilisé comme agent de guérison, vasodilatateur, comme un astringent dans la préparation de la pâte dentifrice, comme agent antimicrobienne et antifongique (KHORMAN, 2013).

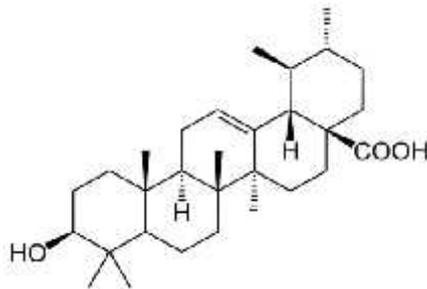


Figure 07 : structure chimique d'acide ursolique.

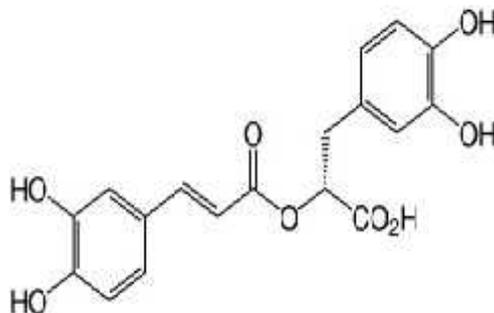


Figure08 : structure chimique d'acide rosmarinique.

Chapitre III : Présentation d'espèce étudié *Romarinus officinalis*.

III-1) Définition :Le Romarin est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens (**BENIKHLEF, 2014**).

III-2) Caractéristique botanique :

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs bleue pale, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (**BENIKHLEF, 2014**)

III-3) Systématique :

REGNE :Plante.

EMBRANCHEMENT :Spermaphytes.

CLASSE :Dicotyledones.

ORDRE :Lamiales.

FAMILLE :Lamiaceae.

GENRE : *Romarinus*

ESPECE: *Romarinus officinalis*



Figure09 : Plante de *Romarinus officinalis*.

III-4) Utilisation de l'espèce *Romarinus officinalis*:

III-4-1) Parfumerie et cosmétique:

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques (**BOUSBIA, 2011**). Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués aune dose de 1 à 2%. Il a des propriétés dermo-purifiantes qui lui permette l'utilisation dans la préparation de déodorants. En lotion et shampooing, à une dose de 0.5 à 1%, l'extrait de romarin stimule le cuir chevelu.

III-4-2) Industrie agro-alimentaire:

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (**MARTINI, 2011**)

III-4-3) Alimentation :

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisés en alimentation. L'épice est utilisée dans les aliments cuits, viande, condiment assaisonnement, les aliments industriels, casse-croûtes, sauces et autres, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0.41% (4.098 ppm) dans les aliments cuits.

L'huile est utilisée dans les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, gélamines et pouding, viande, condiments et assaisonnement, entre autres, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0,003%(26.2 ppm), en alimentation diététique et tisanes (**ZOUBEIDI , 2004**)

III-4-4) Médecine :

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL.

Le romarin est utilisé en infusions, sous forme de poudres, extraits sec ou autres préparations galéniques pour usage interne, principalement contre les douleurs d'estomac (**ZOUBEIDI , 2004**)

III-5) Les variétés de *Romarinus officinalis* .:

Il ya 150 variétés dans le monde et 25 variétés en Algérie. Elles se différencient par leur taille maximale (d'une dizaine de centimètres à 2 mètres), leur tenue (vertical ou rampant), la couleur de leurs fleurs (violette, bleues, blanches, roses) et de leur feuilles (**MOSTEFAL, 2012**).

III-6) Ecologie :

Le romarin est retrouvé à l'état sauvage. Il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen (**EMBERGER, 1960**) ; en Algérie, nous la trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles et les zones cultivées.

Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante. Les fleurs bleues s'épanouissent tout au long de l'année ce qui attire de nombreux insectes. Nous pouvons rencontrer le romarin à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques.

III-7) Répartition géographique :

III-7-1) Dans le monde :

Le romarin se répartit tout au long de la mer méditerranéenne et le reste de l'Europe d'où son nom « rose de la mer ». « Rose », « marinus » (**GUINOCHET, 1973**), elle est typiquement méditerranéenne qui n'existe pas à l'état sauvage en Belgique, (**ANGENO et al, 1981**).

D'après (**PERROT et PARIS., 1971**) cette plante existerait aussi en Corse et au Portugal. En France, elle pousserait abondamment dans les terrains calcaires du midi en particulier sur le littoral méditerranéen (aux faibles altitudes) d'où il remonte même jusqu'au massif central (Provence, Roussillon, Languedoc) (**GARNIER et al. ,1961**).

III-8) Propriétés du romarin il ya plusieurs propriétés de romarin :

III-8-1) Activité antibactérienne :

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du Romarin, sur la croissance du *Bactérie Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés, elle est importante dans elle est un effet antibactérien (**BENIKHLEF, 2014**).

III-8-2) Activité antifongique :

L'huile essentielle du Romarin cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre l'*Aspergillus parasiticus*. En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du Romarin, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowialypolitica*) (**BENIKHLEF, 2014**).

III-8-3) Activité antivirale :

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait du Romarin a indiqué qu'il y a une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basse. Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique (**BENIKHLEF, 2014**).

III-8-4) Activité ovicide :

L'huile essentielle du Romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedesa egypti* et *Culex quinquefasciatus* . Cette huile présente également une activité répulsive contre de nombreux moustiques **(BENIKHLEF, 2014)**

III-8-5) Activité anti-oxydante :

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du Romarin comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande **(BENIKHLEF, 2014)**

III-8-6) Effet anti-cancérogène :

Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le Romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer **(BENIKHLEF, 2014)**

III-8-7) Effet hypoglycémiant :

L'observation après l'administration oral de différentes dose de l'extrait éthanolique du Romarin à 3groupes de lapins (lapins ayant une glycémie normal, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration oral du glucose, lapins diabétiques d'alloxane ont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant remarquable à une dose de 200 mg /kg **(BENIKHLEF, 2014)**

III-8-8) Effet anti-hépatotoxique :

De nombreuses études ont été réalisées pour étudier l'effet anti hépatotoxique du Romarin, le travail a été concentré pour l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du Romarin pour normaliser certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone(CCL4). Les résultats ont indiqué que cet extrait a empêché la peroxydation lipidique, (l'information, la nécrose, normalisé les taux de la bilirubine, la glycogène et l'activité du l'alanine aminotransférase) et enfin il augmenté l'activité du glutathion-S-transférase (GST) **(BENIKHLEF, 2014).**

III-9) Composition biochimique:

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin varie d'une région à l'autre (L'huile essentielle du Romarin contient : de l'a pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène.

En plus de l'huile essentielle on trouve dans le Romarin: 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique , l'acide oléanolique ,l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol,romadial,des acides phénolique, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline , du mucilage et de la résine **(BELKHIRI F,2015).**

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département des sciences agronomiques de l'université d'Akli Mohan Oulhadj de Bouira pendant une durée de 2 mois .

Objectif du travail connaître la capacité des extraits d'une plante médicinale qui le Romarin à éliminer certains champignons (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp*, *Fusarium Verticilloides*, *Fusarium sp*).

IV-1-) Matériel biologique :

IV-1-1) Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de la plantes *Rosmarinus officinalis*L. collectée au niveau de pole universitaire de l'université de akli Mohand oulhadj de Bouira.La partie sur laquelle nous avons travaillé est la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis*L.et plus exactement les feuilles(**FROUHAT,2013**).

IV-1-2) Matériel fongiques :

Nous avons utilisé trois espèces de genre *Aspergillus* qui ont été fournies par le département des sciences biologiques de l'université de Boumerdes et deux espèces de genre *Fusarium* qui ont été isolés à partir de grains de céréales durant la campagne 2016-2017.

a) *Aspergillus niger* :

C'est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des *Eurotiales*C'est une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus*qui apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. Aucune forme sexuée n'est connue.Cette moisissure est un contaminant omniprésent qui est habituellement inoffensif pour la santé humaine. Mais dans des circonstances spéciales et rares, elle peut être toxique et pathogène car elle peut être responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme et les oiseaux (**MACHOUART, 2015**).

Systématique :

-REGNE :Fungi

-EMBRENCHEMENT :Ascomycota.

-CLASSE :Eurotiomycota.

-SOUS CLASSE :Eurotiomycetidae.

-ORDRE :Eurotiales.

-FAMILLE :Trichocomycea.

-GENRE : *Aspergillus*

-ESPECE : *Aspergillus niger*

b) *Aspergillus flavus*:

L'*Aspergillus flavus* est cosmopolite et passe la majeure partie de sa vie comme saprophyte dans le sol. Il est aussi un microbe pathogène opportuniste engendrant des infections envahissantes et non envahissantes chez l'homme ainsi que chez certains animaux et insectes; cet *Aspergillus* infecte également les récoltes et contamine les grains stockés : dans ces derniers substrats, il produit des métabolites cancérigènes des plus toxiques et des plus efficaces, telles les aflatoxines et les autres mycotoxines .

L'*A. flavus* est un phytopathogène s'attaquant à des récoltes économiquement importantes, telles les récoltes de maïs et d'arachides. Il est commun sur les arachides, les épices, les céréales et parfois sur les fruits secs. L'*Aspergillus flavus* est souvent étudié en tant que contaminant produisant des mycotoxines comme les aflatoxines(WARNOCK DW.1977).

Systématique :

-REGNE :Fungi.

-EMBRENCHEMENT :Ascomycota.

-CLASSE :Eurotiomycota.

-SOUS CLASSE :Eurotiomycetidae.

-ORDRE :Eurotiales.

-FAMILLE :Trichocomycea.

-GENRE :*Aspergillus*

- ESPECE : *Aspergillus flavus*.

c) *Penicillium sp*:

Les moisissures sont des champignons filamenteux hétérotrophes qui ont des actions bénéfiques mais aussi néfastes pour l'homme. Ils sont ubiquitaires. Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement. Plusieurs moisissures notamment les genres *Penicillium* sont

connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (**MEYER ET AL, 2004**).

Systematique :

- REGNE :Fungi.
- EMBRENCHEMENT :Ascomycota.
- CLASSE :Eurotiomycota.
- SOUS CLASSE :Eurotiomycetidae.
- ORDRE :Eurotiales.
- FAMILLE :Trichocomaceae.
- GENRE :*Penicillium* .
- ESPECE :*Penicillium sp.*

d)FusariumVerticilloides:

Les espèces de Fusarium sont omniprésentes et peuvent être trouvées dans le sol, dans l'air et sur les plantes . Le Fusarium est surtout connu comme étant associé aux récoltes de céréales et à la poussière de grains (seigle, orge, maïs, avoine, blé et sarrasin).

L'espèce*Fusariumverticilloides* est l'une des principaux champignons responsables de la fusariose de l'épi sur blé, orge et autres céréales telles que la maïs (**CHEHRI ET AL., ET EL-WAKIL(2010)**).

Systematique :

- REGNE :Fungi
- DIVISION :Ascomycota.
- CLASSES :Sordariomycetes.
- SOUS CLASSES :Hypocreomycetidae.
- ORDRE :Hypocreales
- FAMILLES :Nectriaceae.
- GENRE :*Fusarium* .
- ESPÈCES : *Fusariumverticilloides*.

e) *Fusarium* sp :

mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses). Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé, elles ont besoin d'une humidité élevée pour croître (HIBAR K., 2002).

IV-1-3) Autre matériels :

Dans cette partie du travail, nous avons utilisés le matériel présenté dans le tableau (annexe 1)

IV-2) Méthodologie :

IV-2-1) Séchage des plantes :

Les feuilles de romarin ont été séchées à l'air libre, sous l'ombre, pendant trois semaines

IV-2-2) Broyage :

Les feuilles des plantes séchées (*Romarinus officinalis*) sont broyées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.



Figure 10 : Poudre des feuilles de romarin.

IV-2-3) Méthode d'Extraction :

IV-2-3-1) Préparation de l'extrait aqueux :

L'extrait aqueux de la plante est obtenu en laissant macérer 15 g de la poudre dans 150 ml de l'eau distillée pendant 24 h sous agitation. L'extrait ainsi obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre, les filtrats sont conservés dans des flacons en verre à 4 °C. (GBOGBO ET AL, 2013).



Figure 11: Filtration de l'extrait aqueux.

IV-2-3-2) Préparation de l'extrait éthanolique :

L'extrait éthanolique est obtenu à l'aide d'un extracteur soxhlet à une température de 70°C. Une quantité de 5 g de la poudre de romarin est introduite dans une cartouche soxhlet. Cette dernière sera placée dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Le volume de l'éthanol 96° utilisé est 100 ml. Le extrait récupéré et conservé dans des flacons en verre jusqu'au moment de leur utilisation (WIKINSON, 2006)

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant (WIKINSON, 2006)



Figure12: l'extraction éthalonique par soxhlet.

IV-2-3-3) Détermination du rendement :

Le rendement est la quantité d'extraction obtenue à partir d'une matière végétale, il est exprimé en % par rapport à la matière initialement utilisée .

$$R (\%) = M1 / M0 \times 100$$

R (% MS) : Rendement en extraits en g/100 de matière sèche

M1 : Quantité d'extrait récupérée en g

M0 : Quantité utilisée pour l'extraction exprimée en g

IV-2-4) Etude de l'activité antifongique de extrait de plante *Romarinus officinalis* :

IV-2-4-1) Caractérisation microscopique et macroscopique :

Après une culture de à 26 °C sur milieu PDA la pureté de la souche est vérifiée par examen microscopique La culture sur PDA est utilisée également pour l'appréciation de quelques critères macroscopiques telles que :

-aspecte de mycélium aérien.

-couleurs du revers de la colonie.

IV-2-4-2) Méthode d'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait :

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antifongique des extraits est la méthode de dilution dans un milieu gélosé, l'extrait à tester est incorporée dans le milieu gélosé et alors un disque mycélien activement grandissant est placé au centre de la boîte de Pétri. La croissance radiale du mycète est alors mesurée et comparée aux échantillons témoins (WIKINSON, 2006).

IV-2-4-2-1) Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait aqueux :

Un volume de 20 ml d'extrait aqueux est incorporé dans 250 ml de milieu PDA (soit un milieu PDA à 8% d'extrait; Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120 C pendant 20 mn. Après refroidissement à 60 °C environ, le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire. Le témoin ici est constitué du milieu PDA seul sans extrait.

IV-2-4-2-2) Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait éthalonique :

Un volume de 20 ml d'extrait éthalonique est incorporé dans 250 ml de milieu PDA (soit un milieu PDA à 8% d'extrait éthalonique); Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120 C pendant 20 mn. Après refroidissement à 60 °C environ, le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire. Le témoin ici est préparé de la même façon mais en ajoutant un volume de 20 ml de l'éthanol à la place de l'extrait éthalonique.

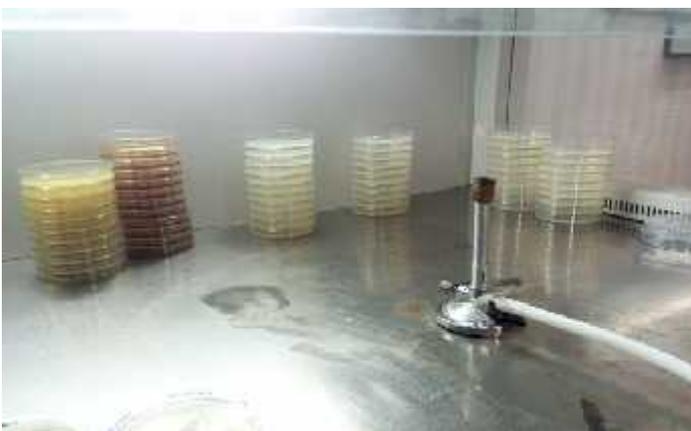


Figure 13: coulage des boites de pétri.

IV-2-4-2-3) Inoculation des milieux et incubation :

La souche fongiques à tester sont cultivées sur un milieu PDA contenu dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Des disques de taille identique (5 mm) sont délimités à l'aide d'un emporte-pièce. Chaque disque est ensuite déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant un des milieux de culture. Les boîtes ainsi inoculées sont incubées dans un phytotron à 26°C.



Figure14: l'inoculation du champignon *Aspergillus* .

IV-2-5) Expression des résultats :

L'évaluation de la croissance radiale a consisté à tracer sur le couvercle de la boîte de Pétri deux droites perpendiculaires passant par le centre de disque mycélien. Les diamètres des colonies mycéliennes (en cm) sont mesurés. Un diamètre moyen est calculé. A partir des diamètres moyens des colonies, nous avons calculé le pourcentage d'inhibition de chaque

extrait en utilisant la formule de (**GRECHE ET HAGGAGI ,2000**).

Pourcentage d'inhibition = $(DMT - DME / DMT) \times 100$

DMT : Diamètre Moyen sur le milieu témoin en mm,

DME : Diamètre Moyen sur le milieu avec extrait en mm

D'autre part, une évaluation de changement de la couleur de colonie (face et revers), et de l'abondance de mycélium aérien a été faite sur la base d'une appréciation visuelle

Chapitre V :Résultats et discussions.

V-1) Caractérisation microscopique et macroscopique des champignons étudiés :

V-1-1) *Penicillium sp* :

Les colonies de *Penicillium* cultivé sur le milieu PDA à 26° C sont à croissance relativement moyenne, les colonies sont de couleur vert-grisâtre avec une bordure blanche. Le centre de la colonie est couvert de poudre de couleur claire, le revers des colonies est beige à crème. Cette souche produit un pigment jaune sur le milieu PDA



Figure 15 : Colonie de *Penicillium sp.*

Sous microscope, les hyphes sont hyalins septés portent des conidiophores ramifiés. Les métules sont plus ou moins cylindriques, à parois lisses, portant de trois à six phialides ; Les phialides produisent de longues chaînes de petites spores rondes.



Figure16 : Observation microscopique de *Penicillium sp* (G x40).

V -1-2) *Aspergillus niger* :

Les hyphes sont septés et hyalins. Les têtes de conidies sont noires, globuleuse à radiale, Les conidies sont globuleuses à sous-globuleuses, brunâtres. Les conidiophores sont longs à paroi lisse, hyalins, et se terminant en une vésicule globuleuse à sous-globuleuse.

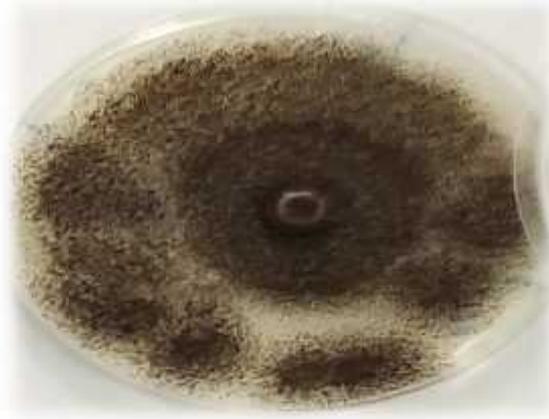


Figure 17: Colonie d' *Aspergillus niger* sur milieu PDA .

Les colonies d'*Aspergillus niger* sont à croissance rapide sur le milieu PDA à 26° C. elles sont d'abord blanches, devenant rapidement noires au moment de la production de conidies. Le revers de la colonie est jaune pâle et se plisse de façon radiale au cours de la croissance

-

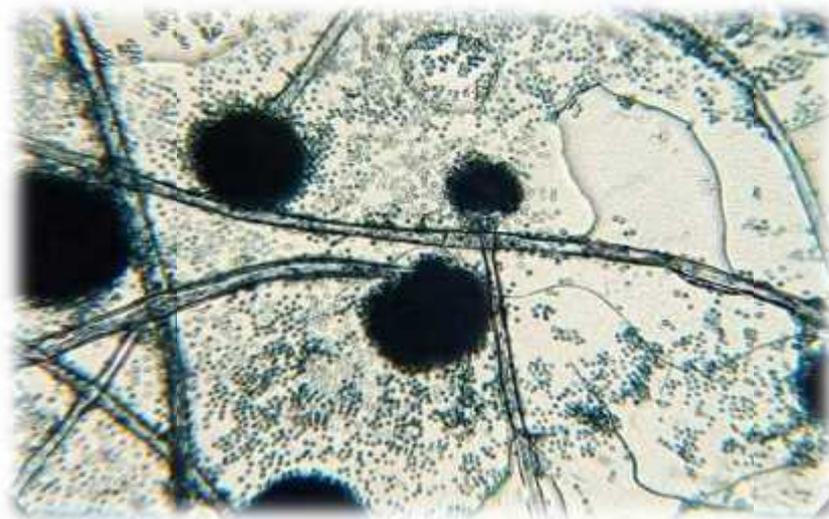


Figure 18 : *Aspergillus niger* sous microscope (G x40).

V-1-3) *Aspergillus flavus* :

Les colonies sur le milieu PDA incubée à 26 °C se développent rapidement, elles sont de couleur olive à vert lime avec un revers crème; leur texture est de laineuse à cotonneuse et quelque peu granulaire. Un exsudat clair est présent dans la région centrale des colonies

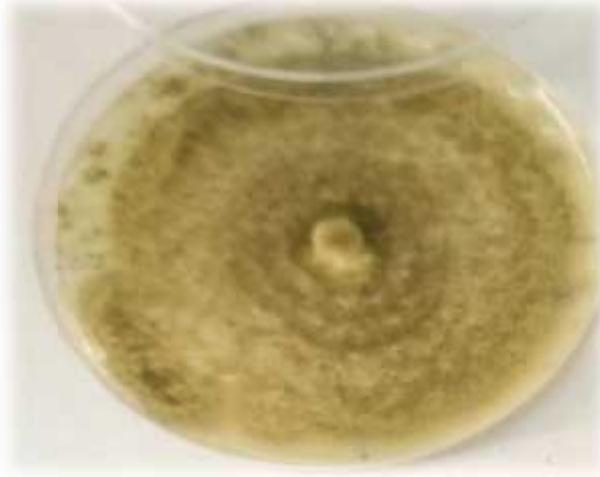


Figure19 : colonies *Aspergillus flavus* sur milieu PDA .

Sous microscope, Les hyphes sont septés et hyalins. Les conidiophores sont hyalins, et long,. Les vésicules sont globuleuses à sous-globuleuses, Les conidies sont vert pâle, globuleuses.

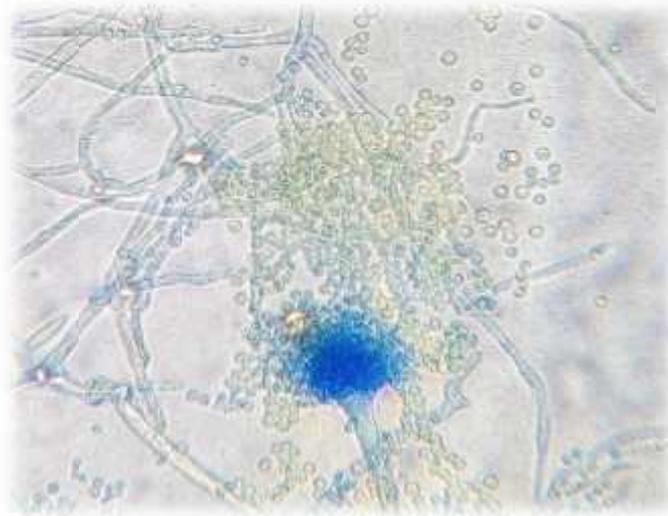


Figure 20 : Observation sous microscope d'*Aspergillus flavus* (G x40).

V-1-4) *Fusarium verticilloides* :

Fusarium verticilloides est un champignon microscopique imparfait, La colonie mycélienne présente généralement une coloration rose sur le milieu de culture PDA, le mycélium présente une couleur blanche rosée ; le revers de la colonie est de couleur rose à rose violée. Ce champignon présente une croissance rapide.



Figure 21 : Colonie de *Fusarium verticilloides* .

Les conidiophores sont peu ramifiés et produisent sur milieu PDA micro-conidies abondantes unicellulaires hyalines, ovales, unicellulaires et occasionnellement bicellulaires ce qui en accord avec **NELSON ET AL (1983)**

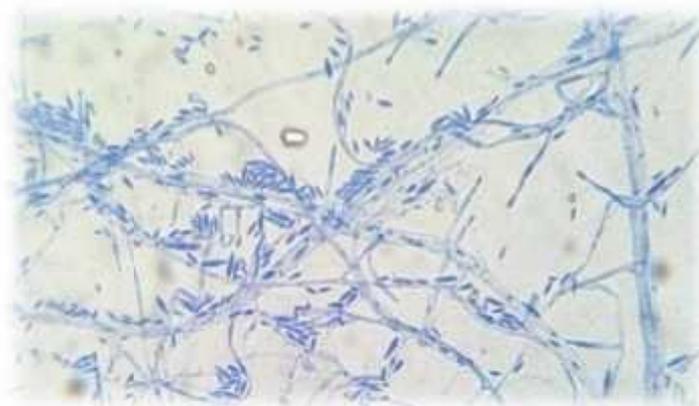


Figure 22 : Observation mirosocopique *Fusarium verticilloides* (G x40).

V-1-5) *Fusarium sp*

Les colonies de cette souche de *Fusarium* sont a croissance rapide sur PDA, de couleur rose pourpre à rouge pourpre, le revers des colonies est de couleur pourpre à brune.



Figure 23 : Colonie de *Fusarium sp*.

La souche de *Fusarium* étudié présente d'hyphes hyalins septés, de conidiophores, de phialides, de macroconidies et de microconidies. Les macroconidies sont multicellulaires, hyalines, fusiformes, qui comprennent une cellule pied (phialide) située à la base du conidiophore



Figure24 : Observation microscopique de *Fusarium sp*(G x40).

V-2) Rendement en extrait :

Les extraits éthaloniques et aqueux obtenus sont des solutions de couleur allant de au vert à vert marron avec des odeurs aromatiques.

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (MOHAMEDI, 2013)

Le rendement en extrait aqueux trouvé dans notre étude est de 14,26 % \pm 1,26% alors que celui en extrait éthalonique est de 21,03% \pm 0, 17%. Du même MOHAMEDI (2013) qui a étudié les extraits méthaloniques de six plantes spontanées en Algérie a trouvé des rendements allant de 6% à 48,8% selon la plante considérée.. Aussi, YEKHLEF, (2011) a obtenue des résultats similaires avec *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis* où les proportions des extraits polaires méthalonique et aqueux sont plus élevées par rapport à celles des extraits apolaires. L'extrait méthalonique de *Laurus nobilis* représente le rendement le plus élevé (21.94 %) suivi de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (20.05 %).

V-3) Effet de extrait aqueux et éthalonique de *Romarinus officinalis* sur la croissance radiale des champignons :

V-3-1) *Aspergillus flavus* :

Les résultats de l'effet de différents extraits aqueux sur la cinétique de la croissance mycélienne du *A. flavus* sont présentés dans la Figure n°29

En absence des extraits (Témoin EA), ce champignon présente une croissance radiale maximum au bout de 13eme jour avec un diamètre de 7 cm, au delà de cette période la croissance s'est arrêtée.

.En présence d'extrait aqueux cette cinétique se trouve modifiée. Ainsi, on observe une activité anti- fongique nulle à faible pendant les 4 premiers jours (les deux courbes se superposent) , ensuite cette activité antifongique devient importante, ainsi, la croissance radiale se trouve ralentie jusqu'au arrêt complet au bout de 21eme jours avec un diamètre de 5,6 cm ce qui correspond à des taux d'inhibition entre 20 et 23%.

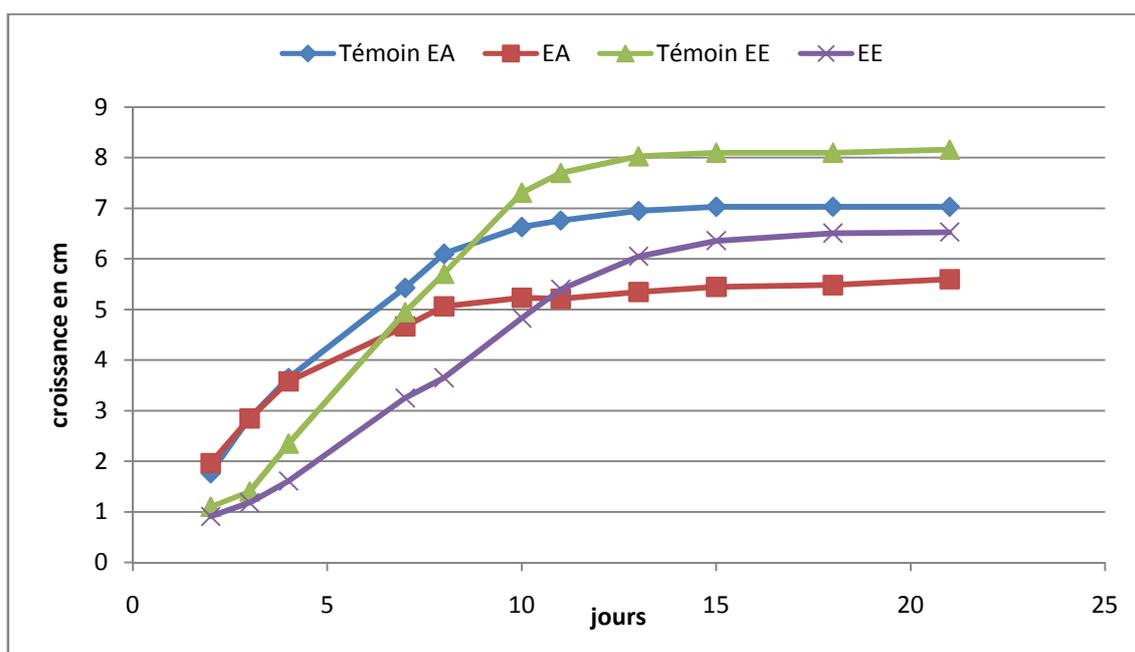


Figure 25 : effet des extrait sur la croissance radiale d'*A. flavus*

En ce qui concerne l'extrait éthalonique, on remarque que le témoin (milieu PDA contenant l'éthanol seul) présente un retard dans la croissance pendant les premiers jours par rapport au milieu PDA seul (Témoin EA), mais ensuite la croissance reprend avec un rythme rapide qui a dépassé le Témoin EA au bout de 8ème jour, le diamètre de *A. flavus* a atteint les 8cm au bout de 15ème jour ce qui est supérieur même au témoin PDA seul, la croissance d'*A. flavus* dans le milieu contenant l'EE de romarin est affectée, on observe des taux d'inhibition allant de 15 à 36 %, le maximum d'inhibition est enregistré entre le 7ème et 10ème jour (taux d'inhibition de 34% à 36%).

Tableau 01 : Taux d'inhibition d'*A. flavus*

Jours	2	3	4	7	8	10	11	13	15	18	21
Taux d'inhibition EE (%)	17,27	15,71	31,49	34,34	36,08	33,93	29,87	24,66	21,48	19,63	19,98
Taux d'inhibition EA (%)	0,00	0,00	1,83	14,06	16,94	21,07	22,83	23,02	22,48	22,00	20,34

V-3-2) *Aspergillus niger* :

En l'absence des extraits dans le milieu de culture (Témoin EA), la colonie de champignon atteint un diamètre de 3,86 cm après 4 jours d'incubation et 6,65 cm après 7 jours, elle arrive à son maximum de croissance (7,76 cm) après 13 jours (figure). En présence d'extrait aqueux, on observe une faible inhibition de croissance à partir du 7^{ème} jour mais qui ne dépasse pas les 11%.

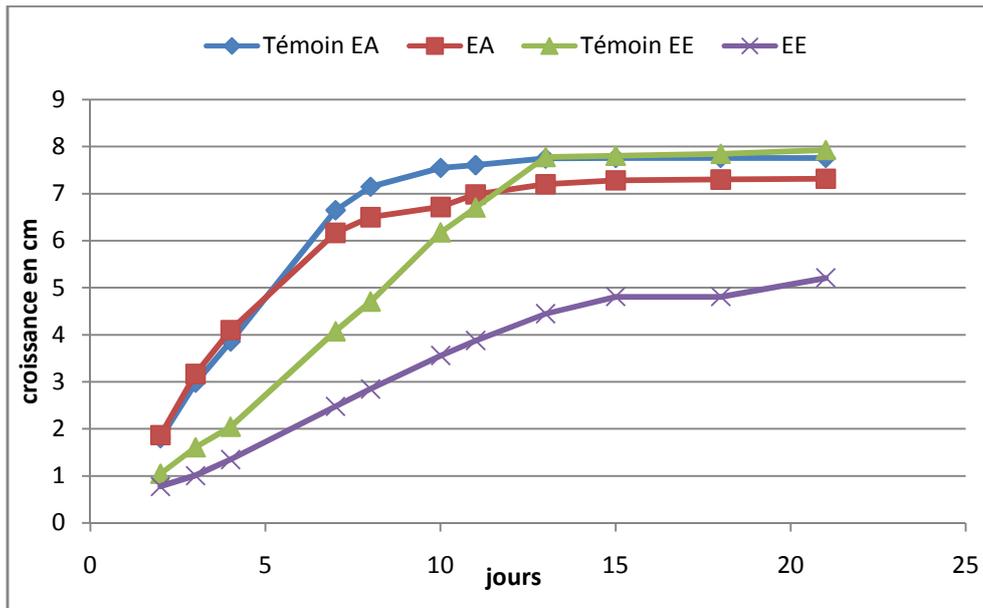


Figure 26 : Effet des extraits sur la croissance radiale d'*A niger*

En présence d'extrait ethalonique, la croissance de *A niger* se trouve fortement affectée, des taux d'inhibition allant de 26% à 43% sont enregistrés pendant toute la durée de croissance. Il est à noter que l'éthanol dans le milieu Témoin EE exerce un effet inhibiteur de croissance pendant les 13 premiers jours d'incubation.

Tableau 02 : Taux d'inhibition d'*A niger*

jours	2	3	4	7	8	10	11	13	15	18	21
Taux d'inhibition EE (%)	25,71	37,27	34,15	39,22	39,49	42,39	42,18	42,80	38,41	38,73	34,30
Taux d'inhibition EA (%)	00	00	00	7,27	9,09	11,04	8,23	7,10	6,14	5,93	5,71

V-3-3) *Penicillium sp* :

En l'absence de tout extrait, la colonie de *Penicillium sp* montre un diamètre de croissance de 4cm au bout de 8 eme jours d'incubation et de 7,55cm au 21eme jours, en présence de l'extrait aqueux, cette croissance est fortement inhibée après le 13eme jour (taux d'inhibition supérieur à 40%) Le diamètre maximum de croissance dans cet extrait est 4,4cm.

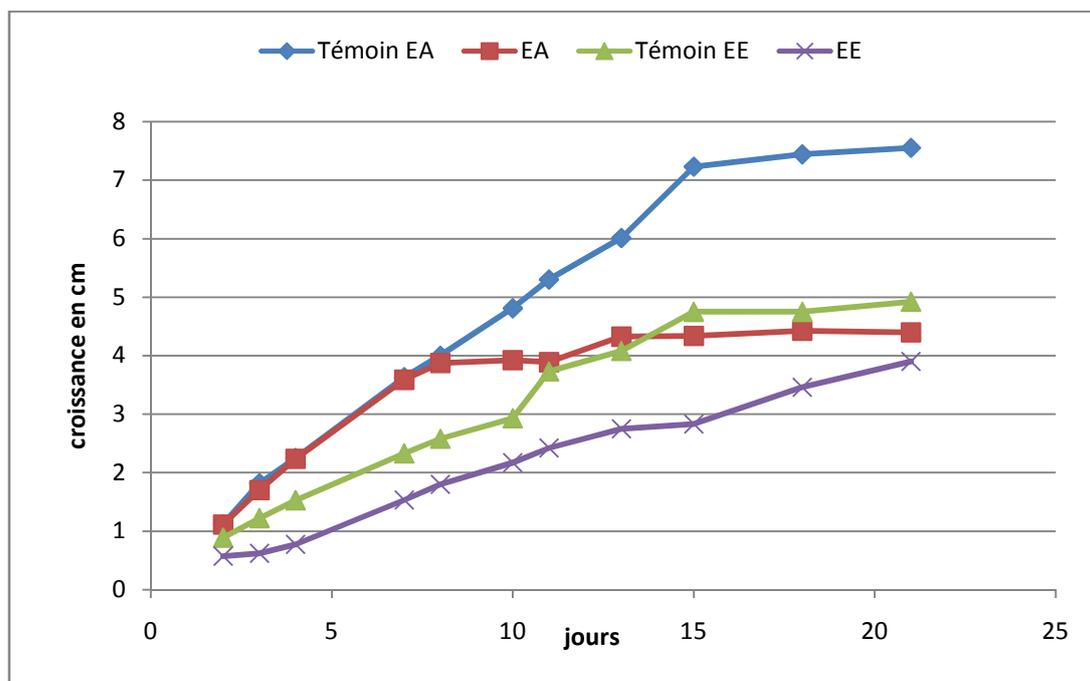


Figure 27 : Effet des extraits sur la croissance radiale de *Penicillium sp*

Tableau 03 : Taux d'inhibition de *Penicillium sp*

jours	2	3	4	7	8	10	11	13	15	18	21
Taux d'inhibition EE (%)	35,96	49,39	49,67	34,33	30,23	25,94	35,12	32,60	40,42	27,16	20,73
Taux d'inhibition EA (%)	0,67	6,59	0,56	1,17	3,13	18,40	26,65	28,04	40,01	40,52	41,72

Le *Penicillium sp* présente une croissance limitée en présence de l'extrait éthanolique de romarin, en effet le diamètre des colonies après 8 jours d'incubation est seulement de 1,8 cm, il est de 3,9 cm au bout de 21 jours. Ceci correspond à des taux d'inhibition allant de 21% à 49%. Il est à noter également que l'éthanol dans le milieu Témoin EE présente une action inhibitrice de la croissance radiale de *Penicillium sp* et ceci pendant toute la période d'incubation.

V-3-4) *Fusarium verticillioides*:

Le *Fusarium verticillioides* montre une croissance rapide dans le milieu témoin EA (PDA seul), le diamètre maximal atteint au bout de 12eme jour est de 8,2cm. L'extrait aqueux ne aucun effet inhibiteur sur la croissance radiale, au contraire, on remarque un effet positif sur la croissance pendant les 8 premiers jours.

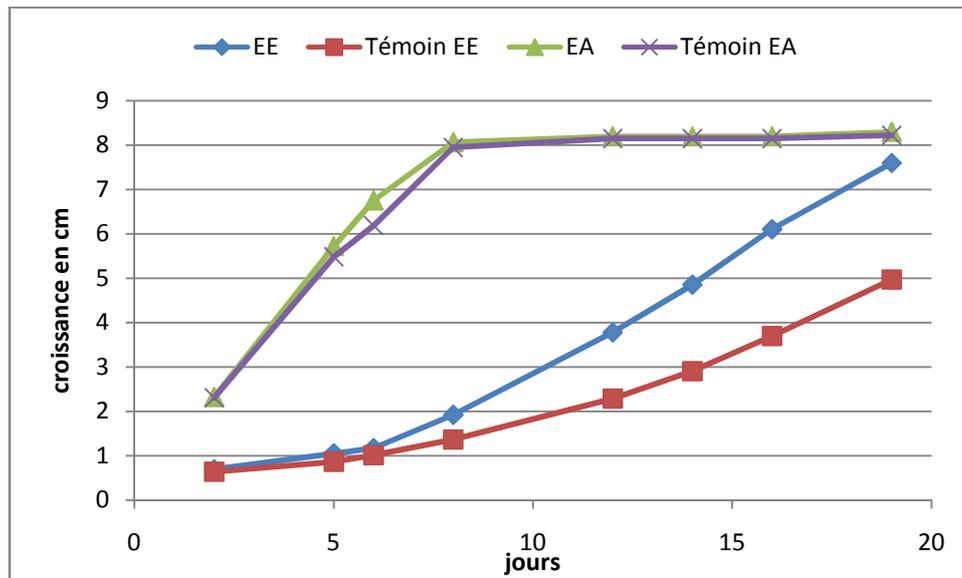


Figure 28 : Effet des extraits sur la croissance radiale de *Fusarium verticillioides*

En ce qui concerne l'extrait éthalonique, ce dernier exerce un effet positif sur la croissance radiale. Il est à noter que c'est l'éthanol seul qui a le plus d'effet inhibiteur sur la croissance de *Fusarium verticillioides*.

V-3-5) *Fusarium sp*

La courbe croissance optimale de *Fusarium sp* en absence de tout extrait est la même obtenue en présence de l'extrait aqueux de romarin, et la croissance radiale en présence de l'extrait éthanolique est meilleure que en présence d'éthanol seul, ce qui montre que les extraits de romarin n'ont aucune action antifongique sur cette souche de *Fusarium*. Et au contraire l'extrait éthalonique exerce un effet positif sur la croissance de cette dernière.

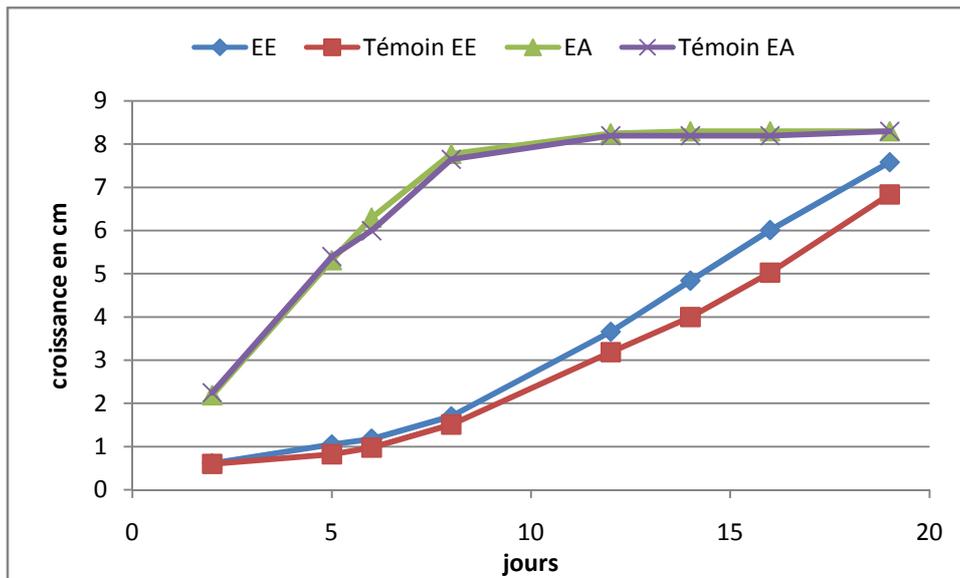


Figure 29 : Effet des extraits sur la croissance radiale de *Fusarium sp*

V-4) Résultats des l'effet des extraits sur la couleur et l'aspect de mycélium :

l'effet des extrait aqueux et éthalonique sur la couleur et l'abondance de mycélium aérien de *Penicillium sp* , *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* , est étudié , les résultats sont présentés dans le Tableau 04 et le Tableau 05

Tableau 04 : Effet de l'extrait aqueux sur le mycélium et la couleur

champignon	EA	Témoin EA
<i>Penicillium sp</i>		
	mycelium(+++) colonie vert brun	myceliumt(++), colonie vert
<i>Aspergillus niger</i>		
	Mycélium (++) , spores (+++)	Mycélium (+++), spores ++
<i>Aspergillus flavus</i>		
	Mycélium (++) , couleur vert olive foncé	Mycélium (+++), , couleur vert clair

Tableau 05 : Effet de extrait éthalonique sur le mycélium et la couleur

champignon	EE	Témoin EE
<i>Penicillium</i> <i>sp</i>		
	mycelium + Couleur blanche	mycélium (++), Couleur vert foncé
<i>Aspergillus</i> <i>niger</i>		
	mycélium (++),	mycélium (+++),
<i>Aspergillus</i> <i>flavus</i>		
	mycélium +++	Mycélium++

V-5) Discussion :

La recherche de composés naturels de source végétale, capables d'inhiber la croissance de champignons en plein champs ou pendant le stockage est considérée comme une aire de recherche très attractive dans la prévention de la contamination des cultures et des aliments par les résidus de fongicides de synthèse.

les substances bioactives des plantes sont considérées comme des composés non phytotoxiques et potentiellement efficaces contre les champignons pathogènes. Le développement de la sécurité des agents antifongiques pour le contrôle des phytopathogènes dans l'agriculture connaît une place importante dans la recherche (ALLECHE , 2017).

L'effet des extraits aqueux et éthanologiques de romarin sur la croissance de cinq champignons phytopathogènes *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticilloides*, *Fusarium sp* est étudié dans ce document.

A cet effet, l'extrait aqueux utilisé à une concentration équivalente à 7,5 g de poudre de romarin a montré un bon effet inhibiteur de croissance sur *Penicillium sp* (taux d'inhibition entre 2 et 40%) et sur *Aspergillus flavus* (taux d'inhibition entre 2 et 23%, et un faible sur *Aspergillus niger* (taux d'inhibition entre 6 et 11%). Cependant son effet est nul sur les deux espèces de *Fusarium*.

Pour l'extrait aqueux de romarin, plusieurs auteurs ont montré que cet extrait possède une faible activité antibactérienne et anti-levure comparé à l'extrait alcoolique et l'effet antifongique est dû à l'acide rosmarinique (MONERO ET AL., 2006). BELLILI & SLIMANI (2017) ont trouvé que l'extrait aqueux de romarin n'a pas d'effet sur la croissance radiale de *F. verticilloides*.

L'activité antifongique de l'extrait aqueux contre les champignons est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols) et les possibles effets synergiques entre les composants. Et (acide rosmarinique 2-3%) alcaloïdes (de rosmarinine), (LAIB, 2011). L'activité antifongique d'extrait aqueux peut être expliquée aussi par l'effet synergique entre les différents composés d'extrait. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cet extrait (GIORDANI ET AL., 2008).

Dans une étude de TAVASSOLI ET DJOMEH [2011], l'activité antimicrobienne de l'extrait de feuilles de romarin contre *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae* a été déterminée. Les résultats ont indiqué que l'extrait de romarin avait un effet inhibiteur plus fort contre les bactéries. Les valeurs de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) pour *Leuconostoc mesenteroides* et *Lactobacillus delbrueckii* se situaient entre 1,5 et 1,75 mg / ml.

L'effet de l'extrait éthanologique de romarin sur la croissance radiale des cinq champignons a été étudié. Trois champignons *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium sp* se sont révélés sensibles vis à vis de cet extrait avec des taux d'inhibition de 26 à 43% pour *Aspergillus niger*, de 16 à 36% pour *Aspergillus flavus* et de 21 à 49% pour *Penicillium sp*.

D'autre part, pour les deux espèces de *Fusarium*, cet extrait a exercé un effet positif sur la croissance radiale par comparaison au témoin contenant l'éthanol seul.

En effet, certains composants de *Romarinus officinalis* sont connus par leurs effets fongicides comme carvacrol, et linalol, ce qui explique l'effet fongicide de cet extrait éthalonique **(LAIB ,2011)**.

Les extraits éthaloniques montrent généralement plus d'activité antifongique et antibactériens que les extraits aqueux probablement à cause de sa propriété d'extraite des molécules polaire mais également celles qui sont peu polaire **(TEIXEIRA ET AL , 2013 ; MERCY ET AL 2014 ; SEPEHRI ET AL, 2016)**

Les extraits éthanoliques de feuilles de *E. platyloba* et *R. officinalis* ont montré une bonne activité contre les souches fongiques de *C. albicans*. Cependant, les extraits aqueux n'ont montré aucune activité majeure contre les souches de *C. albicans* testées **(SEPEHRI ET AL., 2016)**

Sachant que cette activité antifongique des extraits des plantes n'est pas générale pour tous les types des moisissures, certains d'entre eux peuvent même utiliser les terpènes en tant que source de carbone, les dégrader ou les transformer, ce qui peut expliquer l'inefficacité de certaines de ces molécules de extrais aqueuse et éthalonique c'est le cas de genre *Fusarium* sp, *Fusarium verticilloides* **(LAIB ,2011)**.

conclusion

Un grand nombre de plantes médicinales contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antifongiques. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les extraits aqueux et éthanolique des plantes.

Notre travail s'est orienté sur l'étude de l'effet antifongique des extraits aqueux et éthanoliques de romarin vis-à-vis du *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*. *Fusarium sp*.

La méthode de la dilution des extraits dans le milieu de culture solide nous a permis de mettre en évidence un effet antifongique important des extraits de romarin contre trois champignons seulement, il s'agit de *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

Les extraits aqueux et éthanolique ne possèdent pas d'effet inhibiteur sur la croissance radiale de *Fusarium verticillioides* et *Fusarium sp.*, et au contraire on a observé un effet positif dans le cas de l'extraire éthanolique.

Suite à ces résultats, nous pouvons conclure que les extraits de romarin sont intéressants et peuvent être expérimenté *in vivo* pour leur utilisation comme biopesticide contre les trois espèces de champignons.

Il serait intéressant de faire une identification des constituants de ces extraits responsables de cette activité antifongique, et par la suite faire une purification.

Pour trouver les composants responsables de l'effet antifongique de ces extraits et d'ouvrir la voie à la commercialisation de ces produits biologiques pour lutter les champs agricoles de façon biologique et non chimique.

-A :

-**ALLECHE N ,(2017)**. Activité antifongique de quelques extraits d'une plante endémique sur des moisissures du blé stocké. Mémoire de Master, Université de Constantine , 77p.

-**ANGENOT M, CAPRASSE M, COUNE C, TITS M, (1981)**. Se soigner par les plantes.Ed. De association des consommateurs. Bruxelles .7P.

-**ANONYME,(2003)**. Can biological control thrips work in a spring bedding plant crop .20p.
Adresse URL : <http://www.agnr.umd.edu/ipmnet/thrsprng.htm>

- B:

- **BENIKHLEF A,(2014)**. Comparaissant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla . Thèse de master , Universités DE Tlemcen,27p.

-**BELKHIRI F,(2015)**. Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* . Mémoire de master ,Universites DE Biskra ,45p.

-**BELLILI Y, SLIMANI F ,(2017)**. Etudes de l'effet de quelques plantes médicinales sur *Fusarium verticilloides*. Mémoire de Master, Université de Bouira, , 73p.

- **BOUSBIA N ,(2011)** .Extraction des huiles essentielles riche en antioxydants a partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires .Thèse de doctorat , Universites d'Avignon et des pays de Vaucluse ,84p.

- **BRAHMI I,(2014).**Etude in vitro de l'effet allelotoxique des extraits aqueux des quelque plantes spontanées sur la croissance des quelque moisissures associe aux céréales. Universités DE Ouargla . Mémoire master ,43p.

-C:

-**CHEHRI K,GAHROMI S T,REDDY KRN,ABBASI S,SALAH B,(2010).**Occurrence of *Fusarium sp.* and fumonisins in stored wheat grains marketed in Iran .Toxin 2,2816-2823.

-**CTERRY PAUL ,(2006).** Toute la nature méditerranéenne. Les guides du naturaliste. Paris : DELACHAUX et NIESTLE S.A, 382 p.

-E:

-**EMBERGER L, (1960)** .Traite botanique .Fascicule II maison.p335.

-F:

-**FROUHAT Z,(2013).**Lutte biologique par *Rosmarinus officinalis*. Mémoire de master. Université Ouargla ,46p.

-G:

-**GARNIER G, BEZANGER, BEAUQUESNE L, DEBRAUX G, (1961).** Ressources médicinales de la flore française .Ed .Vigit frères .Tome I , Paris.3p.

-GBOGBO K A,DOURMA M,AKPAVI S,BATAWILA K,AKPAGANA K,(2013). Evaluation de l'activités antifongique de ficus platyphylla del(*moraceae*).Européen scientifique journal,9 (33),252- 260.

-GUINOCHE M, (1973). Phytosociologie .ParisMasson.Ed.p227.

-GIORDANI, HADEF, KALOUSTIAN,(2008). Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia,79.199.203p.

-GRECHE H, HAGGAGI N ,(2000).Chimécal composition and anti fungale propertes of the essentiel oïl of algérien aromatique plants .Filotérapie,79.199-203p.

-H:

-HIBAR K, (2002). La fusariose du collet et des racines de la tomate. Pathogénicité et moyens de lutte. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement, 54 p.

-I:

-IMPION M, (2011). Etude de l'efficacité des extraits de *Curcuma longa*, *Tiihonia diversifolia* et *Zingiber officinale* sur les micro-organismes de l'air . Cas de *laspergilus* et *aspergilus figer* , p 53.

-K:

-KILANCIK A, GUZEJ B, KOLAR MH, ABRAMOVIC H, MOZINA SS,(2009). In Vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. J Food Protect; 72(8):1744-52.

-KHORMAN A, (2013). La contribution a l'optimisation de la production de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*. Mémoire de master, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, 26p.

-L:

- **LAIB I,(2011).** Etude des activités antioxydant et antifongique de huiles essentielles des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. Thèse de magister. Université Constantine, 82P.

-LARBI S,RABAH S, (2014). Etude de l'efficacité des huiles essentielles de *Curcuma longa*, comme un bio pesticides cas antifongique. Mémoire de master, Université Tlemcen, 52p.

-LEPOIVRE P, (2003). Phytopathologie, Edition de Boeck. Universités Bruxelles Belgique. 41p.

-M:

-MACHOUART M ,(2015). Les aspergilloses. Service de parasitologie –mycologie. <http://www.uvp5.univ-paris5.fr/campusparasitologie>, 26p.

- **MARTINI M C ,(2011).** Introduction a la dermatopharmacie et a la cosmétologie; Edition Lavoisier, p 358.

-MERCY K A, IJEOMA I, EMMANUEL K E ,(2014). Anti-dermatophytic Activity of garlic (*Allium sativum*) extracts on some Dermatophytic fungi International Letters of Natural Sciences 19 (2014) 34-40.

-MEYER A, DEIANA J, BERNARD A, (2004). Cour de microbiologie générale. Doin. France. 3p.

-MORINO S, SCHEYER T, ROMANO C S, VOGNOV AA ,(2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free radical res 40 (2), 223–231

-MOSTEFAI A,(2012). Contribution a une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L. (*lamiacées*). Mémoire de master, Université Tlemcen, 106p.

-MOHAMED Z, (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Université de Tlemcen, Thèse de Doctorat, 170p.

-N:

-NELSON PE , TOUSSOUN TA , MARASAS W F O , (1983). *Fusarium species –an illustrated manual for identification* .the Pennsylvania state university press .University Park Pennsylvania .USA.193p.

-p :

-PERROT E, PARIS P, (1971) .Les plantes médicinales ,Thèse de doctorat ,Universitaires DE LIYON ,65p.

-R:

-REGNAULT C, (2005) .Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement ,Lavoisier(cachan),LIYON ,p1013.

-S:

-SEPEHRI Z, JAVADIAN F, KHAMMARI D, HASSANSHAHIAN M.(2016). Antifungal effects of the aqueous and ethanolic leaf extracts of *Echinophora platyloba* and *Rosmarinus officinalis*. *Curr Med Mycol*, 2016 Mar, 2(1):30-35

-SOLENE G ,(2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité . Université De Lorraine. Thèse doctorat .137p.

-T :

-TAVASSOLI S, DJOMEH ZE (2011). Total phenols, Antioxidant potential and antimicrobial activity of methanol extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Glob Veterin.; 7(4):337-41

-TEIXEIRA B, MARQUESA, RAMOS C, SERRANO C, MATOS O, NENG N R , NOGUEIRA J, SARAIVAB J A, NUNESA M L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 93(11) : 2707–2714

-TOURE D,(2015).Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire . Thèse de doctorat .Universite Felix Houphouët-Boigny .94p.

-TEIXEIRA B , MARQUESA, RAMOS C, SERRANO C, MATOS O, NENG N R , NOGUEIRA J, SARAIVAB J A, NUNESA M L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 93(11) : 2707–2714

y:

- YEKHLEF GHANIA, (2011). L'étude des activités biologiques des extraits des feuilles de Laurus nobilis, Thymus vulgaris. Université de Batna , Thèse de magistère, 170p.

-W:

-WILKINSON G M,(2006).Méthode fortesting antimicrobial activity of chapitre4.p157-165.andowais m.moden phytomedicine,Turningmedicinal plant into drugs.Ed.wiley-ycherlag gmbh .Weinheim.405p.

ANNEXE 01 :

Les matériels utilisés pour extraction par soxhlet:

Verreries	Les appareils utilisés	Les produits
- Entonnoir - Bécher - Éprouvette graduée - Flacons en verre - Erlenmeyer - Pissette - Boîtes de Pétrie	- Balance de précision - Extracteur Soxhlet - Agitateur - Bec benzène - Hotte - Phytotron	- Eau distillée - Ethanol - Eau de javel - milieu PDA - bleu de coton

Résumé

Le romarin est une plante épice et médicinale largement utilisée et disponible pour une utilisation comme antioxydant naturel dans les différentes industries. Cette plante contient aussi des principes actifs antibiotiques et antifongiques.

L'objectif de notre travail est l'étude de l'effet antifongique des extraits aqueux et éthanoliques de romarin vis-à-vis de cinq champignons phytopathogènes *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium sp*.

La méthode de la dilution des extraits dans le milieu de culture solide nous a permis de mettre en évidence des taux d'inhibition élevés de ces extraits contre trois champignons seulement, il s'agit de *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

Les extraits aqueux et éthanolique ne montrent faible d'effet inhibiteur sur la croissance radiale de *Fusarium verticillioides* et *Fusarium sp.*, et au contraire, un effet positif a été mis en évidence dans le cas de l'extrait éthanolique.

Mots clés : Romarin, activité antifongique, extrait éthanolique, extrait aqueux, champignons phytopathogènes.

Abstract:

Rosemary is a widely used as spice and medicinal plant and is available for use as a natural antioxidant in various industries. This plant also contains antibiotic and antifungal active ingredients.

The aim of our work is the study of the antifungal effect of aqueous and ethanolic extracts of rosemary on five phytopathogenic fungi *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides* and *Fusarium sp*.

The method of dilution of the extracts in the solid culture medium allowed us to demonstrate high inhibition levels of these extracts against only three fungi, namely *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*.

The aqueous and ethanolic extracts do not show a fable inhibitory effect on the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium sp.*, And on the contrary, a positive effect has been demonstrated in the case of the éthanolique extait.

Key words: Rosemary, antifungal activity, ethalonic extract, aqueous extract, champignons.phytopathogènes.

المخلص

الكليل هو نبات طبي و من التوابل المستخدمة في اطق اوسع و متاح للاستدخما كمضاد الألكدسة اطيبيعية في مختلف الصناعات. هذا النبات يحتوي أيضا على الكموناا تالمنطشة للمضات ااحليوية او لمضادة رطفاليات.

الهدف من عملنا هو اارسة التأثير المضاد رطفاليات لمستلخصات الملية اوايثانلوية من إكليل اجليل على خمسة رطفيات نباتية.

نإ طريقة فختيف المستلخصات في وطس الاستزعار الصلب سمحت لنا ابيبات مستويات تثبيط لاعية لهذه المستلخصات ضد لاثثة رطفيات طقفهو ، في *Aspergillus niger* , *Penicillium* و *Aspergillus flavus*.

ظأهت المستلخصات المائية اوالإلتكرونية أثير مبثط على المنو اشلعاعي رطفلا *Fusarium verticillioides* ! *Fusarium sp* و ، على الكعس من ذلكاظر اثير اياجي في لاحة المستلخصا ايثلاي.

الكلمات المفتاحية: إكليل اجلبا ، لناشا طلمضاد رطفاليا ، تلمستلخصا ايثلاي ، سمتلخصا مائي ، البكتيريا النباتية