

MINISTRE 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/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

GOUIZI Hayat & GHELLAB Marwa

Thème

**Contribution à l'étude de l'activité fongicide des extraits
de thym (*Thymus vulgaris*).**

Soutenu le : 04 / 07 /2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme MAHDI Khadidja</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>M^{elle} MEBDOUA Samira</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme CHOUIH Sihem</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciements

Nous commençons par remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire. Nous tenons à remercier chaleureusement Mme. MEBDOUA notre promotrice de mémoire, pour avoir acceptée de nous encadrer et pour tous les conseils techniques, les encouragements, les orientations qu'elle nous a prodigués durant la préparation de notre mémoire.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers Mme CHOUIH Sihem qui a eu la gentillesse de lire et d'examiner ce travail.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait Mme MAHDI Khadidja n étant présidente du jury. Nous aimerions exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury.

N'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos remerciements à notre promotion, à tous nos proches et amies qui nous ont toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à toutes et à tous.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, qui n'a pas pu être accompli que

Grâce à Dieu Le tout-puissant à :

La mémoire de mon père, Le destin ne nous a pas laissé le temps pour partager ce moment et pour t'exprimer tout mon amour et mon affection. Tu étais toujours dans mon esprit et dans mon cœur durant ces 4 années, Je te dédie aujourd'hui ce mémoire, Puisse Dieu, le Tout-Puissant, t'accorder sa clémence, sa miséricorde et t'accueillir au paradis.

Ma mère MELKHIR, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mes précieux frères et sœur « Saïd, Yousef, Salah et Nadia » qui n'ont jamais cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité, aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour vous, je vous aime.

J'exprime mes profonds remerciements particuliers à mon grand père «ALI».a ma grande mère aussi, que dieu vous garde pour nous.

A ma belle-sœur « Myriam ».

Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes, cousins et cousines.

Une spéciale dédicace à mon magnifique et merveilleux binôme qui compte énormément pour moi «MARWA».

Je ne saurai terminer sans citer mes très chère amies : Fatima, Imane, widad et wiza.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Je vous dis merci.

HAYAT

Dédicaces

Avant tous, Grace à Dieu qui nous a aidé durant toutes les années de notre cursus universitaire.

Je dédie ce rapport du mémoire ma mère Fatiha et mon père Ali qui m'ont soutenu depuis toujours. C'est grâce à eux que je suis aujourd'hui au stade final de ma formation.

A mes frères et sœur : Kamal et mabrouk et Sonia vous êtes la lumière de ma vie sans votre présence je pourrai jamais avancer.

A toute ma famille, et ma belle famille, ma belle mère Nasira et mon beau père Hamid.

A mon marie Amirouche pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles.

Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes Nadia et warda, cousins et cousines, et grand- mère et grand -père.

A mes belles sœurs Amina, Amal, Asmaa.

A mon merveilleux binôme « Hayat » de tous les moments passés ensemble au laboratoire, de tes heures d'écoute, d'avoir supporté mes humours.

Je ne saurai terminer sans citer mes amis : khalida, ahlam, Fatima, soumia, Sara, mariem, chaima, randa.

A toute l'équipe du Laboratoire 9, j'ai passé avec vous les moments les plus agréables de ma vie.

Marwa

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie bibliographique

CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES PLANTES MEDECINALES

I- Généralités sur les plantes médicinale.....2

I.1.- Définition.....2

I-2- Utilisation des plantes médicinales en Phytothérapie.....3

I-2-1- Définition de la phytothérapie.....3

I.2.2-Les avantage de la phytothérapie.....3

I.3.Métabolismes secondaires.....3

I.3.1. Polyphénols.....4

I.3.2. Les terpènes.....5

I.3.3 Alcaloïdes.....6

I.4 - Huiles essentielles.....6

I.4.1- Définition.....6

I.4.2 Caractérisation d'huiles essentielles.....7

I-4-3- Localisation de l'huile essentielle dans la plante.....	7
I.4.4.Fonction Biologique.....	8
I.4.5.Propriétés physiques.....	8
I-4.6 .Propriétés chimiques des huiles essentielles.....	8

Chapitre II : Activité biologique des extraits et des huiles

I-Activité biologiques des extraits et des huiles essentielles.....	10
I.1.activité antioxydant.....	10
I.2.Activité antibactérienne.....	10
I.3.Activité antifongique.....	12
I. 4. Utilisation des extraits et des huiles essentielles comme bio pesticides.....	13
I.4.1. Activité insecticide des huiles essentielles	13

Chapitre III: Extraits et Huiles essentielles du Thym

I.1. Généralités sur le genre <i>Thymus</i>	14
I.1.1. Historique et botanique.....	14
I.1.2. Distribution géographique et classification de Thym.....	15
I.1.2.1. Dans le monde	15
I.1.2.2. En Algérie.....	16
I.1.3. Classification	16
I.1.4. Principale utilisations du Thym.....	17
I-1-5-Propriétés du Thym	17
I-1-6-Huiles essentielles du Thym.....	18
I.1.7.Principes actifs du Thym	18
I.2.Activités biologiques de l'huile essentielle de Thym	18

I.2.1. Activité antifongique	18
I.2. 2.Activité antibactérienne	19
I.2.3. Activité anti-inflammatoire.....	19
I.3. Activité biologique des Extraits de Thym.....	19
I.3.1.Les extraits aqueux	20

Partie expérimentale

Chapitre I : matériel et méthode

I-Matériel	22
I-1-Matériel biologique	22
I-1-1- Matériel végétal	22
I-1-1-1-Présentation de <i>Thymus vulgaris</i>	22
I-1-1-2 Classification Taxonomique	23
I-1-2- Matériel fongique.....	23
I-I-3 Autre matériel	26
II -Méthodologie	26
II-1 séchage de la plante.....	26
II-2 broyage	26
II-3- Détermination de l'humidité de la plante	27
II-4-Méthode d'extraction.....	28
II-4-1-Préparation de l'extrait aqueux.....	28
II-4-2-Préparation de l'extrait éthanolique	28
II-5-Etude de l'activité antifongique de l'extrait de plante de thym	29
II-5-1-Caractérisation microscopique et macroscopique	29
II-5-2-Méthode d'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait.....	29

II-5-2-1-Préparation des milieux gélosés à base d'extrait aqueux	30
II-5-2-2-Préparation des milieux gélosés a base de l'extrait éthanolique	30
II-5-2-3-Inoculation des milieux et incubation	31
II-5-2-3 lectures des résultats	31
II-6-Essai d'utilisation des extraits comme traitement de grains de blé	32
II-6-1-Choix et Nettoyage du grain de blé	32
II-6-2-Préparation des dilutions des extraits du Thym.....	32
II-6-3-Déroulement de l'essai	32
II-6-3- Incubation et expressions de résultats	33
II-7- Evaluation de l'activité antifongique des extraits par la méthode de diffusion ou des aromatogrammes	34
II-7-1-préparation de la suspension fongique.....	34
II-7-2 Dépôt des disques	34
II-7-3-expressions des résultats	35

Chapitre II : Résultats et discussions

I-Résultats	36
I-1- Caractérisation microscopique et macroscopique des champignons étudiés.....	36
I-1-1 <i>Penicillium sp</i>	36
I-1-2- <i>Aspergillus niger</i>	37
I-1-3- <i>Aspergillus flavus</i>	38
I-1-4- <i>Fusarium verticillioides</i>	39
I-1-5- <i>Fusarium graminearum</i>	40

I-2-Effet de l'extrait aqueux et éthanolique <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance radiale des champignons	41
I-2-1- <i>Penicillium sp</i>	41
I-2-3- <i>Aspergillus flavus</i>	44
I-2-4- <i>Fusarium verticillioides</i>	45
I-2-5- <i>Fusarium graminearum</i>	47
I-3- Effet des deux extraits sur le mycélium et sur la production des spores	48
I-3-1-Effet des extraits aqueux.....	48
I-3-2-Effet des extraits éthanoliques.....	50
I-4-Résultat d'utilisation des extraits comme traitement de grains de blé.....	52
I-5-Résultat de l'activité antifongique des extraits par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou des aromatoigrammes	54
I-5-1 Effet des extraits <i>Thymus vulgaris</i>	54
I-5-2-Effet des fongicides de synthèse.....	55
I-5-3 Comparaison de l'effet des extraits et l'effet des fongicides de synthèse	55
II-Discussion.....	57
Conclusion	60
Références bibliographies	61
Annexe.	

Liste des abréviations

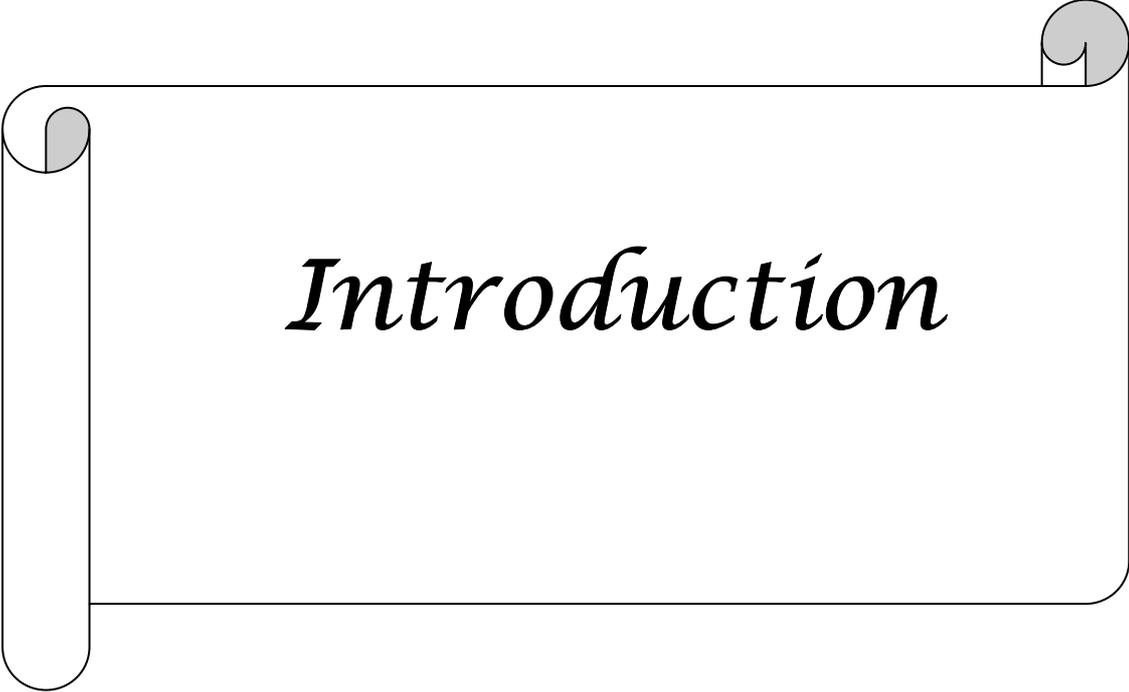
Abréviation	Signification
AFNOR – NF	Association Française de Normalisation - Norme Française.
ARN	Acide ribonucléique
<i>A. Niger</i>	<i>Aspergillus Niger</i>
<i>A.flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>F.verticilliodes</i>	<i>Fusarium verticilliod</i>
<i>F.graminearum</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
C°	Degré Celsius
Cm	Centimètre
CMI	Concentration minimal inhibitrice
CMB	Concentration minimale bactéricide
DCPA	Dichloran chloramphenicol peptone agar
DNA	Acide désoxyribonucléique
EA	Extrait aqueux
E.E	Extrait éthanolique
E. Coli	Escherichia coli
Fig	Figure
g	Gramme
HE	Huile essentielle
LDL	Low density lipoprotein
ml	Millilitre
mm	Millimètre
Min	Minute
PDA	Potato Dextrose Agar
SNA	Synthetic Nutrient-poor Agar
<i>T. vulgaris</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
<i>T. serpyllum</i>	<i>Thymus serpyllum</i>
UV	Ultraviolet
µl	Microlitre
V/V	Volume à Volume
%	pourcentage



Partie
Expérimentale

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
01	Classification de la famille des polyphénols	4
02	Localisation des principales espèces du Thym en Algérie	16
03	Utilisations traditionnelles du Thym	17
04	Classification taxonomique de <i>Thymus vulgaris</i>	23
05	Taux d'inhibition de <i>penicillium sp</i>	42
06	Taux d'inhibition d' <i>A.niger</i>	44
07	Taux d'inhibition d' <i>Aspergillus Flavus</i>	45
08	Taux d'inhibition de <i>Fusarium verticilliode</i>	46
09	Taux d'inhibition de <i>Fusarium graminearum</i>	48
10	Effet de l'extrait aqueux sur l'abondance du mycélium et sa couleur, et sur la production des spores	49
11	Effet de l'extrait éthanolique sur l'abondance du mycélium et sa couleur, et sur la production des spores	51
12	Diamètres de la zone d'inhibition observés avec les cinq champignons en présence de deux extraits	55
13	Effet des fongicides de synthèse sur l'inhibition des champignons	55



Introduction

Introduction

Introduction :

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. (Zeghad, 2008). Parmi les molécules intéressantes produites par les plantes, nous pouvons citer comme exemple les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes, les polyphénols, les huiles essentielles (Akroum, 2011). Ces molécules peuvent avoir des propriétés antibactériennes et antifongiques.

Le genre *Thymus* regroupe un grand nombre d'espèces, avec souvent à l'intérieur de celui-ci des chimio types très différents les uns des autres (Faleiro et al., 2003). Les espèces de ce genre possèdent une large gamme d'activités biologiques : antiseptiques, antibactériennes, antifongiques, et anti-oxydantes ce qui justifie le choix du sujet de notre travail.

En effet, l'objectif principal de ce travail est de mettre en évidence l'effet antifongique de l'extrait aqueux et éthanolique de *Thymus vulgaris* contre cinq champignons phytopathogènes: *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticilloides*, *Fusarium graminearum*.

Pour illustrer ces objectifs, notre étude sera structurée en deux grandes parties :

- Dans la première partie une étude bibliographique qui va mettre en exergue trois chapitres. Le premier chapitre abordera les plantes médicinales ainsi que une généralité sur les huiles essentielles, le deuxième sera consacré à l'activité biologique des extraits et des huiles essentielles des plantes médicinales. Et en fin, la description botanique et les propriétés biologiques de *Thymus vulgaris* feront l'objet du troisième chapitre.

- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : le premier chapitre est réservé pour les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail. Les résultats obtenus, suivis de la discussion feront l'objet du second.

Notre manuscrit est clôturé par une conclusion générale des perspectives.



Partie

BIBLIOGRAPHIE

**CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES PLANTES
MÉDICINALES****I- Généralités sur les plantes médicinales**

Depuis l'Antiquité, les plantes ont été la principale source de médicaments et toutes les sociétés humaines ont pratiquement utilisé les plantes non seulement comme sources de nutrition, mais aussi comme thérapie contre les maladies et les affections (**Wannes et Marzouk, 2016**). Les plantes produisent, en plus des métabolites primaires, un grand nombre de métabolites secondaires qui ne sont pas issus lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures (**Mohammedi et al., 2013**). Ces composés peuvent jouer un rôle important dans la réduction des occurrences de nombreuses maladies en stimulant diverses fonctions des organes du corps humain (**Wannes et Marzouk, 2016**).

Il est par ailleurs reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives qui présentent une large variété d'activités biologiques : anti tumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydante et antifongique (**Pothitirat et al., 2009**). En effet, l'action des plantes médicinales viennent de leurs métabolites primaires et secondaires, et sans doute, de la synergie entre les différents composés présents (**Reguieg, 2011**).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable d'espèces endémiques (15%), ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. (**Benkiki, 2006**).

I.1.- Définition

La plante médicinale est une plante utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

I-2- Utilisation des plantes médicinales

L'activité thérapeutique des plantes médicinales provient non seulement de la présence de substances actives organiques (alcaloïdes, flavones, saponines.....etc.). Mais aussi de bon nombre de vitamines et de minéraux, réel potentiel thérapeutique : potassium, calcium, manganèse, fer, cuivre, silice, zinc, fluor, phosphore, iode, nécessaires à un organisme sain et à plus forte raison à un organisme malade. Bon nombre de plantes sont susceptibles de contribuer à leur apport. Les minéraux ne se retrouvent pas en égale proportion au cours de la vie de la plantes. Certaines d'entre elles les sélectionnent pendant leur croissance et ont tendance à en concentrer quelques- uns. Certaines parties de la plante sont plus spécifiquement concernées. C'est l'apport de sa partie active sous forme de poudre qui apporte le potentiel minéral maximum : c'est le totum de la plante (**Picard, 2012**).

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria (**Korib , 2017**). Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Iserin et al., 2001**).

I.3.Métabolismes secondaires

Les métabolites secondaires constituent un ensemble de molécules qui ne sont pas strictement nécessaires à la survie d'une plante, d'une bactérie ou d'un champignon. Il s'agit majoritairement de molécules de taille et de masse faibles comparées aux molécules du métabolisme primaire (glucides, lipides et acides aminés). Elles sont majoritairement la source d'odeurs jouant le rôle à la fois de répulsif envers les prédateurs (concurrents écologiques) et d'attractif, de pigments permettant de capter le rayonnement solaire mais aussi de protéger la plante contre ce rayonnement. Parmi les métabolites secondaires, Les huiles essentielles (HE) sont les plus étudiées et présentent une grande importance commerciale. Il s'agit de mélanges naturels généralement dominés par des composés mono- ou sesquiterpéniques, plus rarement diterpéniques, et parfois par des phénylpropanoïdes.

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Abderrazak et Joël, 2007).

I.3.1. Polyphénols

Ou « Composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules (Bahorun, 1997 ; Garcia-Salas et al., 2010). Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques: celle du shikimate, et celle issue de l'acétate (Bruneton, 2009). L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels :Ester, Méthyle ester, Glycoside (Bruneton, 1999). Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Dacosta, 2003). Il existe plusieurs classes des polyphénols, principalement, les acides phénoliques simples, les phénols simples, stilbènes, coumarines, tanins, quinones, flavonoïdes, lignanes, lignines et xanthonnes (Tableau01).

Tableau n°01. Classification de la famille des polyphénols (Garcia-Salas et al., 2010).

Numéro de carbone	Classe	Structure de base
C ₆	Phénols simple	
C ₆	Benzoquinones	
C ₆ -C ₁	Acide benzoïque	
C ₆ -C ₂	Acétophénones	
C ₆ -C ₃	Acide phénylacétique	
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique	
C ₆ -C ₃	Phénylpropène	
C ₆ -C ₃	Coumarines	
C ₆ -C ₃	Chromones	
C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthonnes	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Anthraquinones	
C ₆ -C ₃ -C ₆	flavonoïdes	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes, neolignanes	
(C ₆ -C ₁) _n	Tannins hydrolysables	Polymère hétérogène composé d'acides phénoliques et sucres simples Aromatique hautement réticulé polymère
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	

I.3.2. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou de chaîne ouverte, largement répandus dans le règne végétal, provenant de la voie de l'acide mévalonique (**Bhat et al., 2005**). Leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (**figure 01**) dérivées du 2-méthylbutadiène (**Bakkali et al., 2008**). La famille des terpènes comprend des hormones (Gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (Carotène et xanthophylle), des stérols (Ergostérol, sitostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (Hétérosides digitaliques), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum ou leur goût (**Hopkins, 2003**).

Selon **Hernandez-ochoa, 2005**, Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en :

- Monoterpènes** : formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$).
- Sesquiterpènes** : formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$).
- Diterpènes** : formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$).
- Tétraterpènes** : formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.
- Polyterpènes** : formés de $(C_5H_8)_n$, ou, (n de 9 à 30).

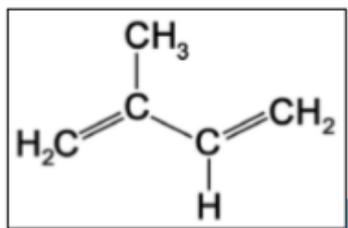


Figure n°01. Structure de l'unité isoprénique (C_5H_8) (**Solène, 2012**)

I.3.3 Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Korib, 2017**). Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (**Hopkins, 2003**). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (**Iserin et al., 2001**).

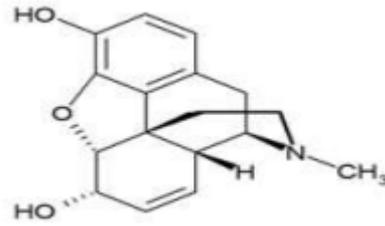


Figure n°02: Exemple d'alcaloïde la morphine (Korib ,2017)

I.4 - Huiles essentielles

I.4.1- Définition

Plusieurs définitions sont disponibles des huiles essentielles :

- Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (Bruneton, 1999). Se sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche.
- Les huiles essentielles (HE) sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (Yahyaoui, 2005).

Les HE trouvent des emplois dans des secteurs assez divers, principalement en parfumerie, en cosmétique et font aussi l'objet d'une consommation importante de la part de l'industrie agroalimentaire où elles sont appréciées pour leurs propriétés organoleptiques. Les méthodes d'extraction des HE obéissent à des normes comme celle de l'AFNOR NF T 75-006 qui précise que seul l'entraînement à la vapeur, les procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus* et la distillation à sec peuvent produire une huile essentielle (Sutour, 2010).

I.4.2 Caractérisation d'huiles essentielles

La caractérisation des huiles essentielles – et d'ailleurs de tout mélange naturel – peut prendre plusieurs aspects en fonction du besoin et de l'objectif assigné. Ainsi, dans la très grande majorité des huiles essentielles, les 15-25 composés majoritaires représentent 80-95% de la composition globale et sont donc suffisants pour caractériser cette huile essentielle. Il faut toutefois signaler que la connaissance des composés minoritaires est parfois un paramètre

important de la qualité biologique ou organoleptique du produit et qu'en conséquence une analyse fine est nécessaire. Il faut également signaler qu'une analyse peut être totalement faussée par la mauvaise identification d'un seul constituant (Sutour, 2010).

I-4-3- Localisation de l'huile essentielle dans la plante

Il arrive très fréquemment que la composition de l'huile essentielle d'une plante est très variable, selon qu'elle soit extraire de l'un ou l'autre organe de cette plante (Chemloul, 2014). Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres, elle se trouve en liaison glucosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante (Schauemberg et Paris, 2010). Les essences sont sécrétées dans différentes parties variant selon la plante aromatique. Elles peuvent être de minuscules cellule épidermique dans les pétales de la rose ou des poils sécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées(thym, sauge) ou de grosses cellules disposées au sein des tissus végétales : tiges, écorces, racines, feuilles, semences.(Scimeca et Tétou, 2005). Toutes les plantes de la famille des Labiées possèdent dans leurs tissus épidermiques et foliaires des glandes sécrétrices riches en huiles essentielles aromatiques (Chambon, 1984)

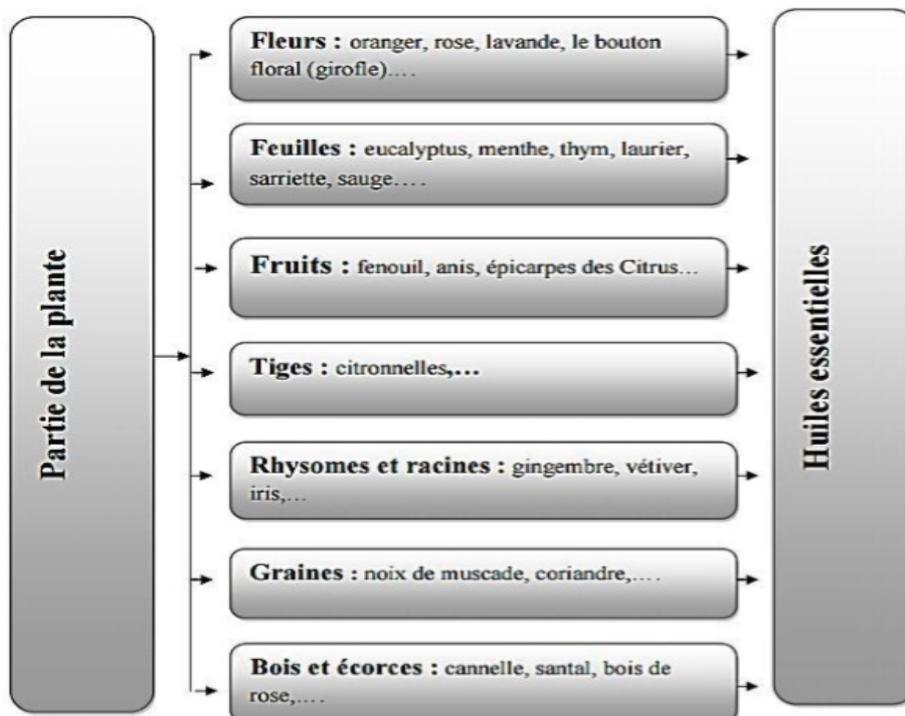


Figure n°03: Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes. (Mann, 1987).

I.4.4.Fonction Biologique

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques:

- Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance). i
- Interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs (**Ormeno, 2007; Fouché et al., 2008**).

I.4.5.Propriétés physiques

Ce sont des liquides à la température ordinaire. Volatiles, odorant, généralement incolores ou jaune pâle. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Leur indice de réfraction souvent élevé avec un pouvoir rotatoire. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool et solvant organique. (**Paris et Hurabielle, 1980**).

I-4.6 .Propriétés chimiques des huiles essentielles

Les plantes vertes sont de véritables petites usines chimiques (**Delaveau et al., 1985**). Les cellules végétales sont capables en dehors de la synthèse des composés fondamentaux de la matière vivante qui sont, les protéines, les lipides, les sucres de coordonner les multiples réactions chimiques conduisant à l'élaboration des essences (**Garnero, 1991**) . Dans le cas des huiles essentielles seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatils c'est-à-dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas élevé (**Belaiche, 1979**). Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable (**Belaiche, 1979**). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Pibiri, 2006**). Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- le groupe de terpénoïdes ;
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1999**).

D'après **Pibiri (2006)** la structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Chapitre II : Activité biologique des extraits et des huiles essentielles des plantes médicinales et aromatiques.**I-Activité biologiques des extraits et des huiles essentielles**

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

I.1.activité antioxydant

Les polyphénols jouent un rôle important comme système de défense contre les radicaux libres, leurs activité antioxydant se produit par plusieurs mécanismes:

➤ **Absorption des rayons UV:** la naringénine et la rutine ont un effet protecteur contre les UV, en empêchant ainsi la surproduction des radicaux libres (**Tripoli et al., 2007**).

➤ **Renforcement de l'activité des enzymes antioxydants :** les citroflavonoïdes jouent un rôle important dans l'augmentation de l'activité antioxydant du superoxyde-dismutase et de la catalase et par la modulation de l'expression de gène de su-peroxyde dismutase, catalase et de glutathion peroxydase (**Tripoli et al., 2007**).

➤ **Neutralisation des radicaux libres et chélation des métaux:** des études réalisées in vitro et in vivo ont montré la capacité des polyphénols d'agrumes à neutraliser les radicaux libres et à chélater les métaux principalement le fer (**Del-Rio et al., 2004**).

➤ **Inhibition de la lipopéroxidation :** diverses études expérimentales ont montré l'existence d'une relation importante entre les flavonoïdes de citrus limon et la diminution de l'oxydation de taux des lipoprotéines de faible densité LDL dans le sang (**Gonzalez-Molina et al., 2010**).

I.2.Activité antibactérienne

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptés par

l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**Kempf et Zeitouni, 2009**). Ces nouveaux agents antimicrobiens peuvent se trouver dans les HE et les extraits des plantes.

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HE et des extraits des végétaux, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HE sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**). Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al., 2000; Carson et al., 2002**). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**). Les HE peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer aux bactéries par fixation aux protéines et aux

Lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenouil (*Foeniculum vulgare*), le menthe poivrée (*Mentha piperita*), thym (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al., 2008**).

I.3. Activité antifongique

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

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae*: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou et al., 1988**). Ces mêmes auteurs concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6-diméthoxyphénol) sont plus antifongiques que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique: Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers Hydrocarbures.

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol> thymol> isoeugénol> eugénol) (**Utree et al., 2002**).

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de **Chao et al. (2000)**, ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

I. 4. Utilisation des extraits et des huiles essentielles comme bio pesticides

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (la résistance des insecticide, la toxicité sur la faune auxiliaire, les problèmes de résidu et la pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels (**Isman et Machial, 2006**).

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (**Kim et al., 2000**).

Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (**Shaaya et al., 1997**).

I.4.1. Activité insecticide des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (**Isman, 2000**).

L'objectif est d'améliorer les techniques traditionnelles basées sur l'utilisation des ressources végétales renouvelables pour une meilleure gestion des déprédateurs dans les stocks de niébé 'autres résultats indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*. Ces huiles essentielles agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. Selon (**Koumaglou, 1992**) la technologie de leur extraction est simple et accessible à tous les niveaux.

Chapitre III: Extraits et huile essentielle du Thym

I.1. Généralités sur le genre *Thymus*

I.1.1. Historique et botanique

Le nom *Thymus* vient probablement du latin "Thymus" qui signifie «parfumé» ou du grec "Thymos" qui signifie "courage" ou "force" (Stahl-Biskup et Saez, 2002). Les grecques brûlaient cette herbe pour chasser les insectes piquants de la maison. Le Thym représentait le style et l'élégance des premiers Grecs, et l'esprit républicain en France au moyen Age. A cette époque, les moines bénédictins apportaient du Thym en Europe centrale et en Angleterre car ils pensaient que les oreillers à Thym soulageaient l'épilepsie et la mélancolie. Au XVII^e siècle, le Thym a été utilisé au cours de la peste qui a balayé l'Europe .Il est utilisé aussi par les Egyptiens pour embaumer les morts. Les Romains, de leur part brûlaient le Thym pour éloigner les créatures venimeuses. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser le fromage (Charles, 2012).

Les plantes du genre *Thymus* sont des arbustes perpétuels herbacés avec des racines ligneuses, elles peuvent atteindre une hauteur de 45 cm (2 pieds). Les tiges sont verticales, les branches sont persistantes, les feuilles sont aromatiques et recouvertes de glandes et les fleurs sont colorées avec une couleur violette pâle à deux lèvres avec un calice glandulaire (Charles, 2012). Plusieurs dénominations ont été données aux espèces du genre *Thymus*; en Amazigh : Azukni, Tazuknite, en Arabe : Ziitra (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

Ce genre contient des propriétés aromatiques et médicinales et c'est le plus populaire dans le monde. La connaissance de la composition chimique et les effets pharmacologiques de ce genre permettent la classification des différents chémotype. Ces espèces de *Thymus*, se rencontrent, en plaine, en montagne, dans les rocailles, les garrigues, les pelouses et les broussailles (Bellakhdar, 1997).



Figure n°04 : Aspect Morphologique de *Thymus vulgaris* (Iserin, 2001).

I.1.2. Distribution géographique et classification de Thym

I.1.2.1. Dans le monde

Le genre *Thymus* de la famille de Lamiacée est largement retrouvé dans le monde (**figure 05**) tels que l'Europe, l'Afrique, l'Asie, le Groenland, le Canada, le Chili et la nouvelle Zélande, mais ce genre est principalement répandu dans la méditerranée. Aujourd'hui, environ 250 taxons qui se concentrent dans la méditerranée (214 espèces et 36 sous- espèces sont acceptées et sont divisées en huit sections) (Morales, 2002).

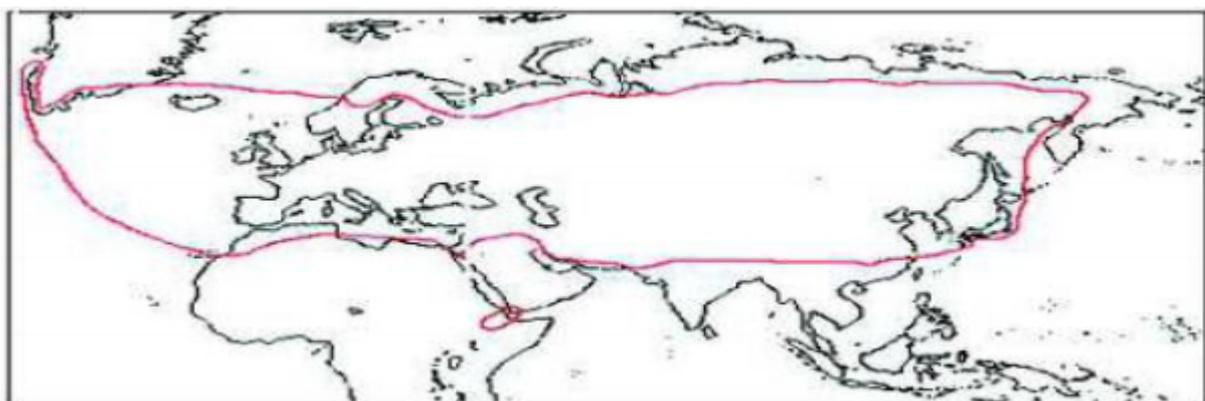


Figure n°05 : Distribution du genre *Thymus* dans le monde (Morales, 2002).

Le cercle rouge représente la zone de distribution du genre *Thymus* dans le monde.

I.1.2.2. En Algérie

Le genre *Thymus* a colonisé le territoire de l'Algérie avec 12 espèces (Dob et al., 2006). Parmi ces dernières, certaines sont endémiques de l'Algérie, telles que *Thymus pallescens* de Noé, *Thymus dreatensis* Batt., *Thymus guyonii* de Noé et *Thymus lanceolatus* Desf (Hazzit et al., 2009). Sa répartition géographique est représentée dans le « Tableau n°02».

Tableau n°02: Localisation des principales espèces du Thym en Algérie (Quézel, 1963).

Espèce	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois et oranais et constantinois.	-
<i>Thymus dreatensis</i>	Batt	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois et constantinois.	-
<i>Thymus lanceolatus</i>	Desfontaine	Le secteur de l'atlas tellien (terni de Médéa et Benchicao) et sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret).	Zaâteur
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur littoral.	Djertil Hamrya
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas saharien.	Zizerdite
<i>Thymus vulgaris</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais	-

I.1.3. Classification La classification botanique, selon Quézel, (1963) est la suivante

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Embranchement : *Magnoliophyta*
- Sous-embranchement : *Magnoliophytina*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Asteridae*
- Ordre : *Lamiales*
- Famille : *Lamiaceae*
- Genre : *Thymus*

I.1.4. Principale utilisations du Thym

Le Thym possède un large spectre d'utilisation (Tableau n°03), parmi lesquelles on peut citer: principalement son utilisation comme épice et aromatisant et surtout son utilisation pour soigner divers problèmes de santé

Tableau n°03 : Utilisations traditionnelles du Thym

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi	Références
Plante entière	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho-pulmonaires	De l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher.	Rasooli <i>et al.</i> , 2006.
Racines	Diarrhée	Décoction	Pina-Vaz <i>et al.</i> , 2004.
Feuilles	Fièvre La toux Les blessures Infection	Utilisées comme poudres ou en infusions.	El Bouzidi <i>et al.</i> , 2013.
Feuilles et fleurs	Condiment culinaire	Employée pour donner de saveur à la viande. Conserve plus longtemps les aliments et empêche la formation des moisissures.	Miura <i>et al.</i> , 2002.
Plante entière	Antiseptiques Antispasmodiques Antimicrobiennes	Décoction ou infusion	Nickavar <i>et al.</i> , 2005; Pirbalouti, 2013.

I-1-5-Propriétés du Thym

Le thym est souvent utilisé dans l'assaisonnement des aliments et des boissons; et aussi antiseptique, et comme désinfectant dermique et c'est un spasmolytique bronchique dont il est indiquée pour traiter les infections des voies respiratoire supérieur. Les principaux constituants du thym montrent également des propriétés vermifuges et vermicide (**Bazylko et Strzelecka, 2007**) et des propriétés antivirales, antifongique, anti-inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoïque et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *mycobacterium tuberculosis* ; (**Jiminer et al., 2006**) et aussi Propriétés anthelminthique ; (**Al-Bayati, 2008**) et des propriétés anti oxydantes qui lui permette d'être utilisé comme un conservateur afin de

prolonger la durée de conservation des poissons *Thymus vulgaris* durant leur stockage (Selmi et Sadok, 2008).

I-1-6-Huiles essentielles du thym

L'essence du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Naghdi, 2004). Elles sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure. Plusieurs espèces de thym possèdent de nombreuses activités biologiques tels que antispasmodique, antimicrobienne, antibactérienne, antiviral, antioxydant, anti-inflammatoire, antiseptique, carminatif (Rasooli et al., 2006). Une étude menée par Dob et al. (2006) sur les *Thymus* d'Afrique du nord a démontré que le composé majoritaire était le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

I.1.7.Principes actifs du thym

Le thym comporte plusieurs molécules intéressantes qui se retrouvent dans les différents organes de la plante. Ces molécules sont :

- Les acides phénoliques : acide caféique (Cowan, 1999), acide rosmarinique (Takeuchi et al, 2004).
- Les flavonoïdes : hespéridine, eriotrécine, narirutine (Takeuchi et al., 2004), lutéoline (Bazylko et Strzelecka, 2007).
- Les polyphénols : tanin (Cowan, 1999).

I.2.Activités biologiques de l'huile essentielle de thym

Plusieurs espèces de thym possèdent de nombreuses activités biologiques tels que analgésiques (Elhabazi et al., 2008), anti-inflammatoires (Ismaili et al., 2004), anti fongique (Haddef et al., 2004), anti- oxydantes (Dorman et al., 2000 ; Tepe et al., 2005), antibactériennes (Bouhdid et al., 2006 ; Amrouni et al., 2014) et antiseptiques (Pibiri, 2005). Les propriétés des HE de thym sont nombreuses et variées, et sont utilisées dans différents domaines :

I.2.1. Activité antifongique

Les HE des plantes aromatiques sont connus pour avoir des propriétés antifongiques (Pinto et al., 2007). Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium,

la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (Edris, 2007). L'activité antifongique des huiles du Thym sont attribuées au Thymol et au carvacrol. Ils provoquent une dégénérescence des hyphes des champignons qui semblent vider leur contenu cytoplasmique (Zambonelli et al., 1996)

I.2. 2.Activité antibactérienne

Plusieurs études sur les huiles essentielles ont été menées pour prouver leurs effets antimicrobiens (Peter, 2004). Ces études montrent qu'elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leur toxines (Edris, 2007). L'huile essentielle de Thym a montré une large gamme de l'activité antibactérienne contre les microorganismes qui avaient développé une résistance aux antibiotiques (Nelson, 1997). Juven et ses collaborateurs (1994) confirment que ce sont les phénols (Thymol, Carvacrol), qui donne à l'huile essentielle le caractère antibactérien. Ces terpènes se lient à l'aminé et aux groupes hydroxylamine des protéines de la membrane bactérienne modifiant leur perméabilité et entraînant la mort de la bactérie. Ainsi *Listeria monocytogene*, souche hautement pathogène, présente une sensibilité élevée à cette huile riche en phénols (Yakhlef, 2010).

I.2.3. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Bourkhiss et al., 2010). Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007). Dans un test de dépistage, in vitro, (test d'inhibition de la cycloxygénases) de plusieurs huiles essentielles, l'huile de Thym exerce un effet inhibiteur sur la biosynthèse des prostaglandines (Peter, 2004).

I.3. Activité biologique des Extraits de thym

Grace à un solvant, on obtient des formes galéniques qui contiennent des concentrations plus importantes en principes actifs. Les solvants utilisés sont en général l'eau, l'alcool, la glycérine et ils sont employés seuls ou en association. Il est à savoir que la chaleur a la capacité d'améliorer le produit d'extraction (korib, 2017).

I.3.1. Les extraits aqueux

Les extraits sont des préparations faites dans l'eau (extrait aqueux) ou dans des solvants (méthanol, éthanol, hexane, dichloromethaneect) à partir des plantes médicinales entières ou de parties de celles-ci, convenablement divisées pour être plus facilement pénétrées par l'eau ou les solvants (**Cheurfa, 2015**).

En Algérie, de nombreuses études se sont succédé s'intéressant à la composition chimique de l'extrait du thym ainsi qu'à ses propriétés antibactériennes, antimicrobiennes, antifongiques et antioxydants. En ce qui concerne l'activité insecticide, très peu d'investigations systématiques relatives aux Labiées et particulièrement au thym ont été développées et publiées durant cette dernière décennie.

Benmadi (2017), dans une étude faite récemment, a montré que L'effet des extraits de *Thymus vulgaris* récolté dans deux régions du pays (Mostaganem et Naama) sur la croissance du germe *Escherichia coli* responsable des infections uro-génitales chez la femme. L'extraction des principes actifs de la plante à été effectuée par macération du végétal dans les solvants aqueux à 80/20, (solvant/eau, v/v) à différentes polarités (hexane – méthanol – éthanol et eau). Les extraits de *Thymus vulgaris* obtenus après évaporation du solvant ont été dilués à 20, 40, 60, 80, 100%, respectivement. Plusieurs techniques de mesures on été effectuées en triples essais chez *Escherichia coli* dont : méthode de contact direct, méthode des disques, Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides (CMI et CMB). Il apparait, que tous les extraits à différents polarité de *Thymus vulgaris* ont présenté, notamment à l'état pur des activités antimicrobiennes intéressants et proche de la gentamicine vis -à- vis d'E. Coli.

Dans un autre travail fait par **Binata gaouso (2017)** qui a pour objectif de tester l'activité antibactérienne des extraits aqueux de *Thymus vulgaris* et de *Thymus serpyllum* sur neuf (09) souches de bactéries pathogènes, et d'évaluer l'effet prébiotique de ces extraits sur les bactéries lactique du yaourt. Les résultats obtenus ont montrés que l'extrait aqueux du *Thymus vulgaris* a une très forte activité bactéricide sur toutes les souches pathogènes avec des diamètres d'inhibition variant de 14.20 à 22.30 mm et des valeurs de 0.5 à 0.0009 % pour la concentration minimale inhibitrice. Pour l'extrait aqueux de *T. serpyllum*. Toutes les souches ont montrées des valeurs de CMI allant de 0.5 à 0.0625 % pour cet extrait. D'un autre côté, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*, le mélange des deux extraits aqueux a eu un effet synergétique modéré sur les six autres

souches avec des diamètres variant de 14.80 à 20 mm. Par comparaison aux extraits étudiés, les antibiotiques n'étaient pas tous actifs contre les souches testées (diamètres d'inhibition varient de 13 à 23 mm pour la gentamicine et de 00 à 20 mm pour la pénicilline et une résistance totale à l'amoxicilline).



Partie
Expérimentale

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département d'agronomie de l'université d'Akli Mohan Oulhadj de Bouira pendant une durée de 3 mois (février –avril 2019).

I-Matériel

I-1-Matériel biologique

I-1-1- Matériel végétal

Pour notre expérimentation nous avons utilisé une espèce de plante médicinale qui est *Thymus vulgaris*. La détermination de l'espèce a été faite par Mr Toumi du département des sciences agronomiques. Cette plante est nommée localement Zaitra, elle est récoltée le mois de février de la zone de Boufarik située dans la wilaya de Blida.

I-1-1-1-Présentation de *Thymus vulgaris*

Thymus vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (**figure 06**). Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille. Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes. Le calice est velu, hérissé de poils durs, vert, souvent avec des taches violettes, en forme de tube ventru à la base, mesurant de 3 à 4 mm de long. Il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée. La corolle est bilabée, blanchâtre à violet pâle et de taille variable. Le fruit est un tétramère brun clair à brun foncé qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm). La période de floraison de l'espèce a lieu, mai à août (**Prasanth et al., 2014**).



Figure n°06 : *Thymus vulgaris* (photo originale).

I-1-1-2 Classification Taxonomique

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée ci-dessous (Tableau. 04).

Tableau n°04 : Classification taxonomique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghédira, 2012)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

I-1-2- Matériel fongique

Nous avons utilisé deux espèces de genre *Aspergillus* et deux espèces de genre *Fusarium* et une espèce de *Penicillium*; la détermination de l'espèce a été faite par Mme Mebdoua du département des sciences agronomiques. Ces souches ont été isolées à partir de graines de céréales durant la campagne agricole 2015- 2016 et 2018-2019.

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 les 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 responsables de mycoses pulmonaires chez l'homme et les oiseaux (Machourt , 2015).

Systematique

- Règne : *Fungi*
 - Embranchement : *Ascomycota*
 - Classe : *Eurotiomycota*.
 - Sous-classe : *Eurotiomycetidae*.
 - Ordre : *Eurotiales*.
 - Famille : *Trichocomyaceae*
 - Genre : *Aspergillus*
 - Espèce : *Aspergillus Niger*

b) *Aspergillus flavus*

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 toxiques, telles que les aflatoxines et les autres mycotoxines.

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

Systematique

- Règne : *Fungi*
 - Embranchement : *Ascomycota*
 - Classe : *Eurotiomycota*.
 - Sous-classe : *Eurotiomycetidae*.
 - Ordre : *Eurotiales*.
 - Famille : *Trichocomyaceae*
 - Genre : *Aspergillus*
 - Espèce : *Aspergillus flavus*.

c) *Fusarium verticillioides*

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 étant associé aux récoltes de céréales et à la poussière de grains (seigle, orge, maïs, avoine, blé et sarrasin). L'espèce *Fusarium verticillioides* est l'une des principaux champignons responsables de la fusariose de l'épi sur blé, orge et autres céréales telles que le maïs (Chehri et al., 2010) et (EL-wakil, 2010).

Systematique

- Règne : *Fungi*
 - Embranchement : *Ascomycota*
 - Classe : *Sordariomycetes*.
 - Ordre : *Hypocreales*.
 - Famille : *Nectriaceae*.
 - Genre : *Fusarium*.
 - Espèce : *Fusarium verticillioides*

d) *Fusarium graminearum***Systematique**

- Règne : *Fungi*
 - Embranchement : *Ascomycota*
 - Classe : *Sordariomycetes*.
 - Sous-classe : *Eurotiomycetidae*.
 - Ordre : *Hypocreales*.
 - Famille : *Nectriaceae*.
 - Genre : *Fusarium*.
 - Espèce : *Fusarium graminearum*.

E) *Penicillium sp*

Les moisissures sont des champignons filamenteux hétérotrophes qui ont des actions bénéfique 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

- Règne : *Fungi*
 - Embranchement : *Ascomycota*
 - Classe : *Eurotiomycota*.
 - Sous-classe : *Eurotiomycetidae*.
 - Ordre : *Eurotiales*.
 - Famille : *Trichomyceae*.
 - Genre : *penicillium*
 - Espèce : *penicillium sp.*

I-I-3 Autre matériel

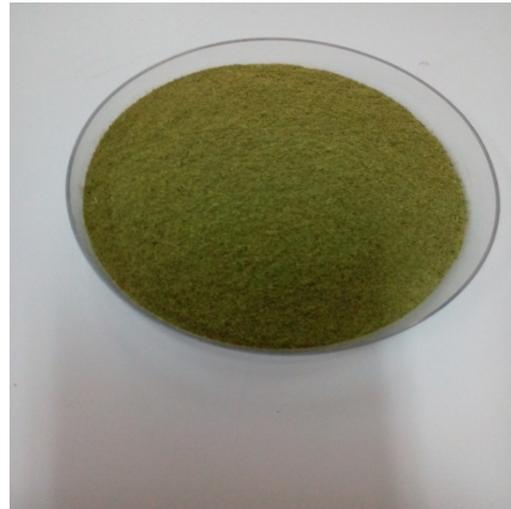
Autres que le matériel biologique cité auparavant, nous avons utilisés le matériel présenté dans le tableau (**annexe 1**).

II -Méthodologie**II-1 séchage de la plante**

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

II-2 broyage

Les feuilles des plants séchées (*T.vulgaris*) sont broyé a l'aide d'un moulin a café jusqu' a l'obtention d'une poudre fine (**Figure n°07**).



Feuilles séchées	Feuilles broyées
------------------	------------------

Figure n°07 : *Thymus vulgaris* séché puis finement broyé

II-3- Détermination de l'humidité de la plante

Le contenu en eau de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une masse de $5g \pm 0.01$ a été exposée à une température de $105^{\circ}C \pm 5$ dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Bourkhiss et al., 2009).

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H \% = (\text{poids } \alpha - \text{poids } \beta) \times 100 / \text{poids } \alpha$$

Considérons :

α : Poids de l'échantillon (plante fraîche) en gramme.

β : Poids de l'échantillon (plante sèche) en gramme.

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

II-4-Méthode d'extraction**II-4-1-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. Les extraits ainsi obtenus sont filtrés à l'aide d'un papier filtre, les filtrats sont conservés dans des flacons en verre à 4 °C (**Gbogbo et al ., 2013**).



Figure n°08: Filtration de l'extrait aqueux.

II-4-2-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 10 g de la poudre de thym est introduite dans une Cartouche soxhlet. Cette dernière est placée dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Le volume de l'éthanol 96° utilisé est 200 ml. (**Wilkinson et Traoré, 2006**).

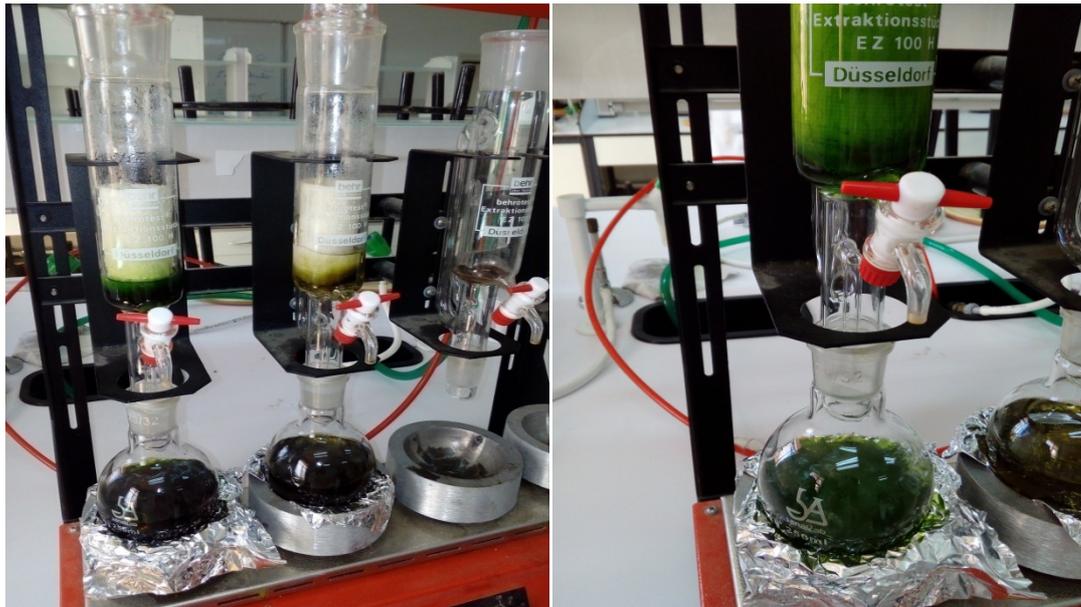


Figure n°09: l'extraction éthanolique par soxhlet

L'extrait est récupéré et conservé dans des flacons en verre jusqu'au moment de leur utilisation.

II-5-Etude de l'activité antifongique de l'extrait de plante de thym

II-5-1-Caractérisation microscopique et macroscopique

Après une culture de 7 jours à 26 °C sur milieu PDA, la pureté de la souche est vérifiée par examen microscopique après coloration avec le bleu de coton. La culture sur PDA est utilisée également pour l'appréciation de quelques critères macroscopiques telles que :

- La croissance radiale,
- Aspect du mycélium aérien,
- Couleur de l'envers de la colonie

II-5-2-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 incorporé dans le milieu gélosé. Puis un disque mycélien activement grandissant est placé au centre de la boîte de Pétri. La croissance radiale du mycète après un temps approprié, selon les caractéristiques de croissance du champignon, est alors mesurée et comparée aux échantillons témoins (**Wilkinson, 2006**).

II-5-2-1-Préparation des milieux gélosés à base d'extrait aqueux

Un volume 30ml de l'extrait aqueux est incorporé dans 300ml de milieu PDA (soit un milieu PDA à 10% d'extrait aqueux) ; Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120 C pendant 20 min. 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.

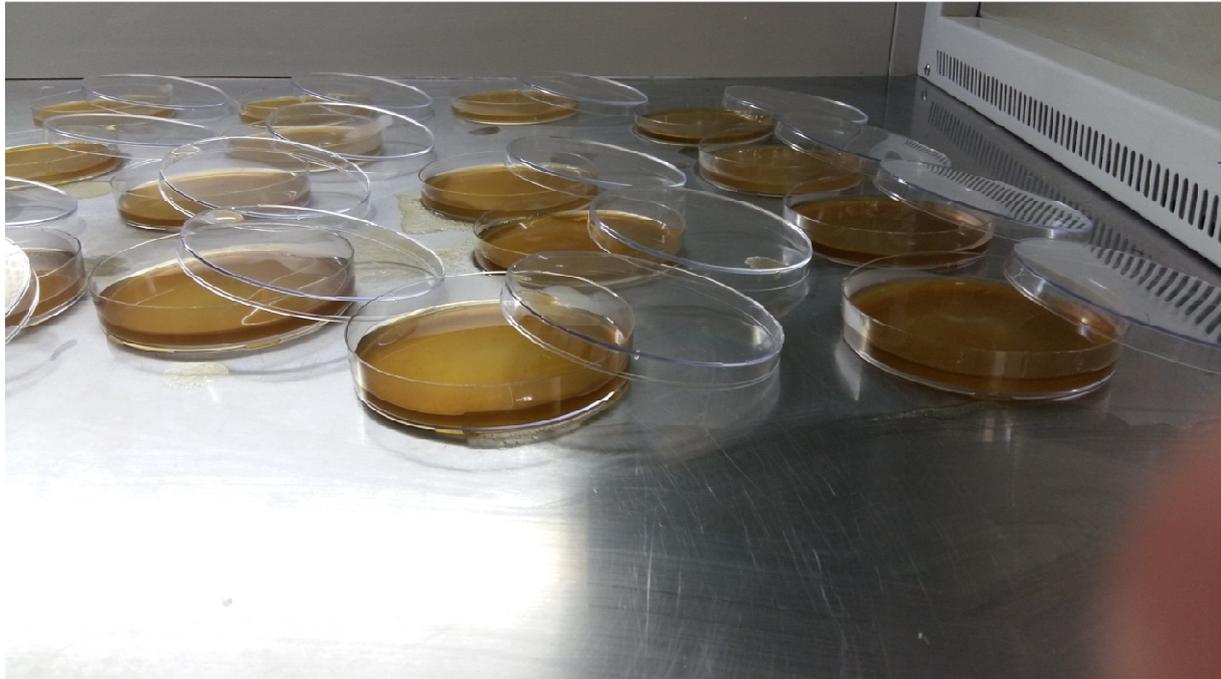


Figure n°10: collage de milieux gélosés a base de l'extrait aqueux du thym.

II5-2-2-Préparation des milieux gélosés a base de l'extrait éthanolique

Un volume 30ml de l'extrait éthanolique est incorporé dans 300ml de milieu PDA (soit un milieu PDA à 10% d'extrait éthanolique); Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120 C pendant 20 min. 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 est préparé de la même façon mais en ajoutant un volume de 20ml de l'éthanol a la place de l'extrait éthanolique.

II-5-2-3-Inoculation des milieux et incubation

La souche fongique à tester est cultivée sur un milieu PDA contenu dans des boîtes de pétri de 9cm de diamètre. Des disques de taille identique (5mm) 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 incubées dans un phytotron à 26°C.



Figure n°11 : l'inoculation du champignon *Aspergillus flavus*.

II-5-2-3 lectures des résultats

La croissance des champignons est appréciée par les mesures des diamètres des colonies (en cm) sur une période allant de 2j à 9jours. Un diamètre moyen des trois répétitions est calculé. A partir de ces diamètres, nous avons calculé le pourcentage d'inhibition de chaque extrait en utilisant la formule de **Greche et Hajjaji (2000)**.

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

DMT : Diamètre Moyen sur le milieu témoin,

DME : Diamètre Moyen sur le milieu avec extrait

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.

II-6-Essai d'utilisation des extraits comme traitement de grains de blé

II-6-1-Choix et Nettoyage du grain de blé

L'échantillon de grain de blé retenu pour cette étude est un lot de blé tendre importé, il a été fourni par la CCLS de Bouira. Ces grains présente un taux de contamination fongique de 100%, les principaux contaminants fongiques sont (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Rhizopus*). Les grains ont subi un nettoyage manuel pour les débarrasser de toutes impuretés étrangères (pierres, insectes....).

II-6-2-Préparation des dilutions des extraits du Thym

Les extraits utilisés dans cet essai sont dilués dans l'eau distillée stérile à raison de 10% : 01 ml l d'extraits (aqueux ou éthanolique) est introduite dans une éprouvette de 5ml, et on a complété avec de l'eau distillée stérile jusqu'à 5ml. Pour le témoin de l'extrait aqueux, on a utilisé de 10 ml de l'eau distillée stérile, et pour le témoin de l'extrait éthanolique, on a utilisé l'éthanol dilué dans l'eau distillée à raison de 10%.

.II-6-3-Déroulement de l'essai

Une quantité de 5g de grains de blé tendre est mise dans les solutions des extrait et les témoins précédemment préparées, le tous est homogénéisé. Les grains sont laissé trempé pendant 30 min. après cette période, les grains sont séchés avec du papier filtre stérile pendant 10 min pour être, ensuite, ensemencés à l'aide d'une pince stérile dans le milieu DCPA modifié à raison de 6 grains par boîtes de pétri, pour chaque extrait ou témoin trois répétitions (boîtes de Pétri) sont utilisés (**Pacin et al., 2002 ; Ghiasian et al., 2004**).



Figure n°12 : Traitement des graines du blé par les extraits du Thym.

II-6-3- Incubation et expressions de résultats

Les boîtes sont incubées dans un phytotron à 26°C pendant 10 jours, les lectures sont faites après 4 et 8 jours ; les observations concernent le taux de germination des grains et le taux de contamination fongique, le taux de germination et le taux de contamination est calculée suivant les formules suivantes

Taux de germination= Nombre de grains germés x 100/ Nombre de grains ensemencés

Taux de contamination=Nombre de grains contaminés x100/ Nombre de grains ensemencés



Figure n°13 : Ensemencement des grains

II-7- Evaluation de l'activité antifongique des extraits par la méthode de diffusion ou des aromatoigrammes

La méthode des aromatoigrammes est une technique qui a été également utilisée pour évaluer l'activité antifongique des extraits à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antifongique des deux 'extraits sur les cinq souches fongiques citées précédemment. La méthode de diffusion des disques appliquée est celle décrite par **Mayachiew et Devahastin (2008)**, **Gachkar et al. (2006)** et **Hussain et al. (2010)**. Dans cet essai on a utilisé également deux fongicides (Tebuconazole, Fludioxonil) afin de les comparer avec nos extraits.

II-7-1-préparation de la suspension fongique

A partir d'une culture de 7 jours sur le milieu PDA, une suspension fongique est préparée en ajoutant 1 ml de l'eau distillée à la surface de cette culture et en le récoltant à l'aide d'une pipette pasteur – étaloire. Ensuite, sur une boîte de Pétri contenant le milieu PDA neuf, on a ensemencé 1ml de cette suspension à l'aide d'une pipette pasteur- etaloire.

II-7-2 Dépôt des disques

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman sont déposés sur la surface de milieu PDA inoculé avec la suspension fongique, puis à l'aide d'une micropipette ces disques sont imbibés par 20µL de l'extrait du thym ou d'un fongicide. Les boîtes sont incubé à 26°C pendant 4 jours (**Rožman & Jeršek, 2009**).



Figure n°14 : les étapes de diffusion des disques (photos originale).

II-7-3-expressions des résultats

Après 4 jours, les observations sont faite .L'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque de 6mm). Les résultats sont exprimés en mm (**Rasooli *et al.*, 2008**).

I-Résultats

Dans cette partie nous avons détaillé l'effet de deux extraits éthanolique et aqueux obtenus à partir de poudre *Thymus vulgaris* (partie utilisée feuilles) dont sa teneur en eau est de $5.39 \pm 0.21\%$ sur la croissance de cinq champignons phytopathogènes *A.flavus*, *A. niger*, *Penicillium sp*, *F.verticillioides*, *F. graminearum*. Et nous avons essayé d'utiliser ces extraits comme traitements pour les grains de blé.

I-1- Caractérisation microscopique et macroscopique des champignons étudiés

I-1-1 *Penicillium sp*

Les colonies de cette espèce cultivées sur le milieu PDA à 26°C sont à croissance relativement moyenne, les colonies âgées 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 jaune pâle.



Figure n°15: Colonie de *Penicillium sp*.

Sous microscope, les hyphes sont hyalins septés portent des conidiophores ramifiés. Les métules sont plus ou moins cylindrique, à parois lisses, portant de trois à six phialides (organisation en pinceau) produisent de longues chaînes de petites spores rondes. Cette description correspond au genre *Penicillium* (Tabuc, 2007).

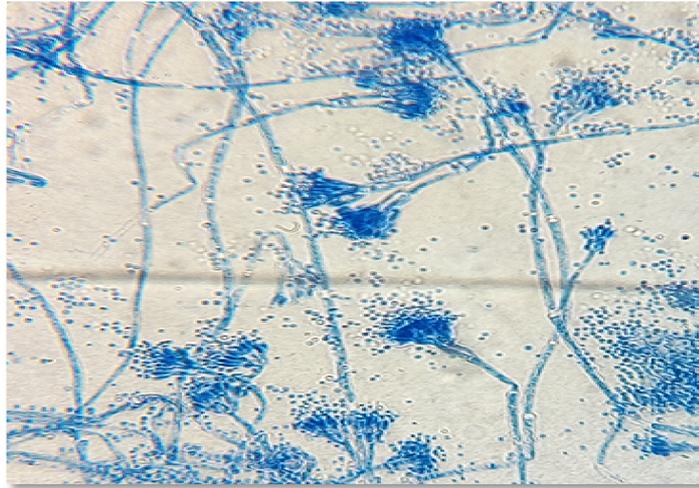


Figure n°16: Observation microscopique de *Penicillium sp.* (Gx40)

I-1-2-*Aspergillus niger*

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. Les revers de la colonie est jaune pâle et se plisse de façon radiale au cours de la croissance.



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

Les hyphes sont septés et hyalins et les conidiophores sont longs à paroi lisse, hyalins, et se terminant en une vésicule globuleuse à sous-globuleuse. Ces vésicules ou têtes sont noires, globuleuse à radiale produisant des conidies globuleuses à sous-globuleuses, brun foncé à noir et à paroi rugueuse. Ceci est en accord avec la description de **Nyongesa et al. (2015)**

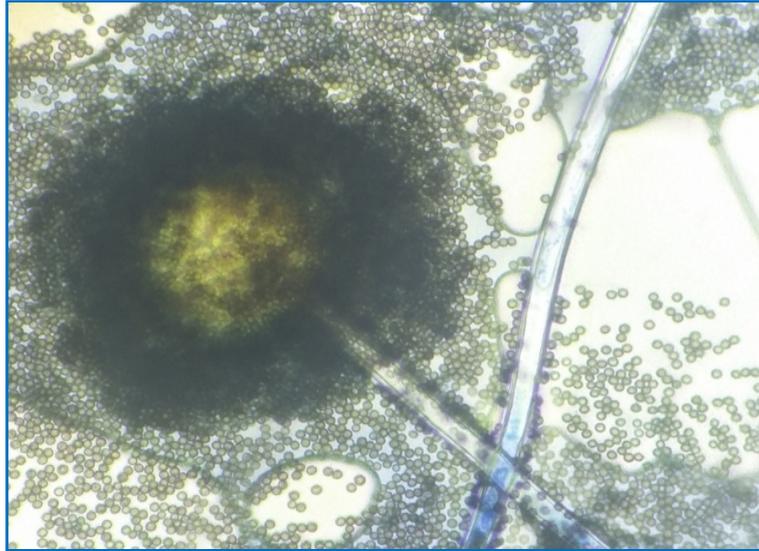


Figure n°18 : Observation microscopique d'*Aspergillus niger*. (Gx40)

I-1-3-*Aspergillus flavus*

Les colonies sur le milieu PDA incubée à 26°C se développent rapidement, elles sont duveteuses à poudreuses, plates, souvent avec des rainures radiales de couleur blanc à jaunes au début, mais deviennent rapidement jaune-vert foncé avec l'âge, le revers est de couleur crème.

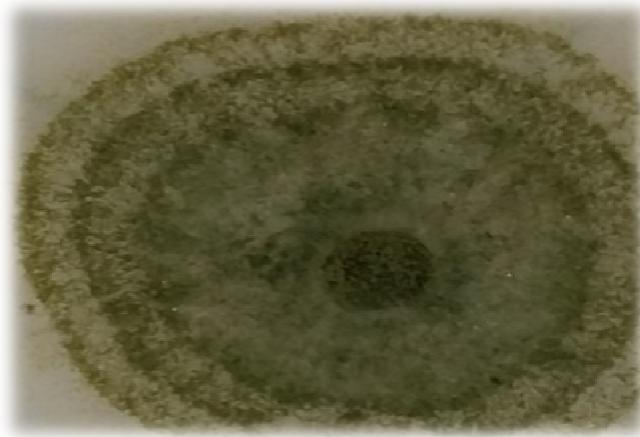


Figure n°19 : Colonie d'*Aspergillus flavus*.

Sous microscope, les hyphes sont septés et hyalins. Les conidiophores sont hyalins, et long. Les têtes conidiales sont généralement radiées, se divisant plus tard pour former des colonnes lâches, bisériées mais présentant certaines têtes avec des phialides directement sur la vésicule (têtes unisériées), les conidies sont vert pâle, globuleuses à sub globuleuses. Cette description est en accord avec celles rapportée par **Tabuc (2007)**.

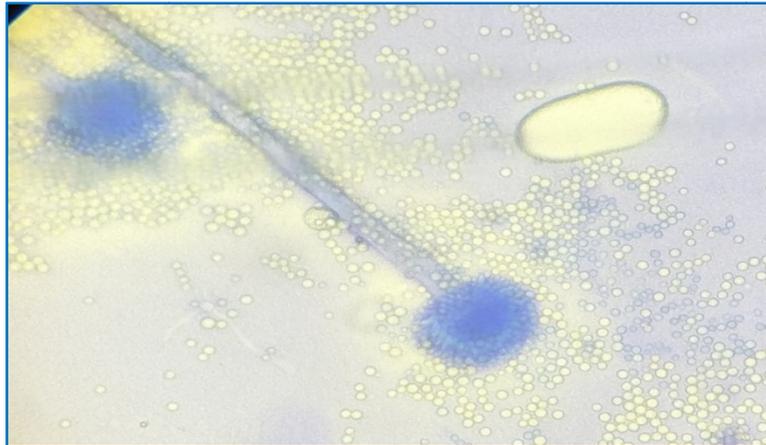


Figure n°20: Observation microscopique d'*Aspergillus flavus* (Gx40)

I-1-4-*Fusarium verticillioides*

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



Figure n°21: colonie de *Fusarium verticillioides*.

Les conidiophores sont peu ramifiés et produisent sur milieu PDA micro-conidies abondantes unicellulaire hyalines, ovales, unicellulaires et occasionnellement bicellulaires, sur le milieu SNA, les conidies sont regroupées en chaînette et en fausse tête ce qui en accord avec Nelson et al (1983).

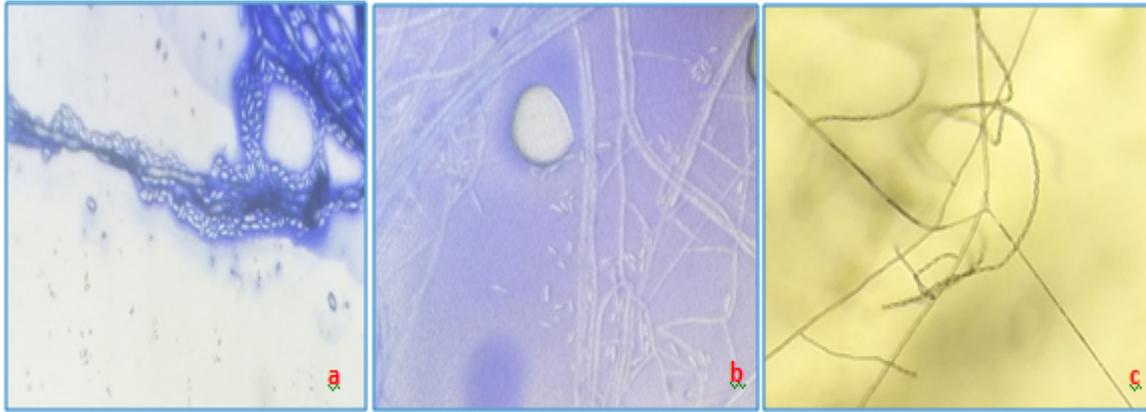


Figure n° 22 : Observation microscopique de *Fusarium verticilloides* cultivé sur le milieu SNA : Photo **a,b** : montage en lame après coloration par bleu de coton ; **c** : observation directe sur la culture.

I-1-5-*Fusarium graminearum*

Sur le milieu PDA, les *Fusarium graminearum* produisent un mycélium extensif et cotonneux blanc, qui se teint de roses et d'ocre, le revers est rose et devient rouge carmin avec l'âge.



Figure n°23: colonie de *Fusarium graminearum*

Les phialides peuvent s'agréger en sporodochies. Les microconidies sont absentes. Les macroconidies obtenues sur le milieu SNA sont fusiformes, courbées, et présentent 3 à 7 septum. La cellule terminale est longue et pointue en forme de bec alors que la culule basale est pédiforme. Cette description est en accord avec celle de **Leslie et Summerell (2006)**.

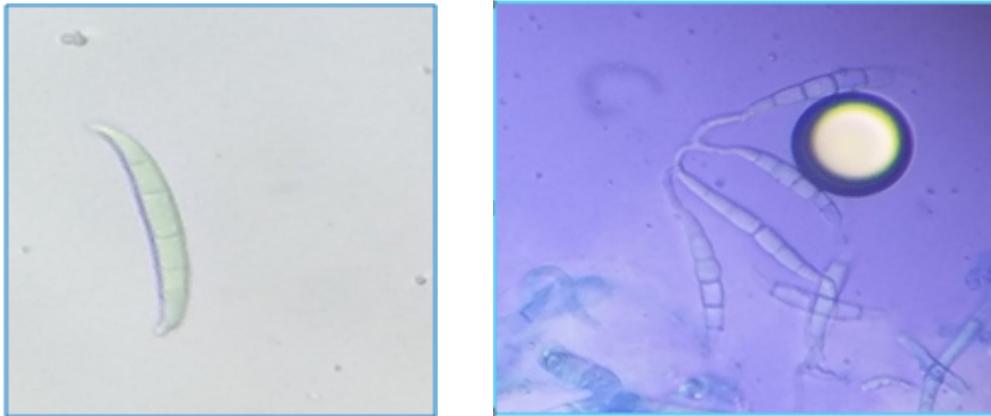


Figure n°24: Observation microscopique de *Fusarium graminearum*. Photo **a** : Macroconidie isolée, **b** :Macroconidies formé sur phialide .

I-2-Effet de l'extrait aqueux et éthanolique *Thymus vulgaris* sur la croissance radiale des champignons

I-2-1-*Penicillium sp*

Les résultats de l'effet des extraits aqueux et éthanolique sur la croissance de *Penicillium sp* sont résumés dans la figure n°25 et le tableau n°5 .

En absence de tout extrait (témoin aqueux), la colonie de *Penicillium sp* montre un diamètre de colonie de 1.3cm au bout de 3eme jour d'incubation et de 4 cm au 9eme jour, en présence de l'extrait aqueux la croissance semble s'arrêter au bout de 5eme jour d'incubation (diamètre de colonie =3.1cm) ; cet arrêt de croissance traduit une inhibition exercée par l'extrait à partir de cinquième jours d'incubation (taux d'inhibition entre 13.8 et 21.7%) ; le maximum d'inhibition est observé au 9eme jour.

. *Penicillium sp* présente une croissance limitée en présence de l'extrait éthanolique de thym, en effet le diamètre des colonies après 4eme jours d'incubation est seulement de 1.37cm, et il est de 1.5cm au bout de 9eme jours. Comparé avec sa croissance sur milieu contenant l'éthanol (le témoin éthanol). On constate une inhibition importante qui commence à s'exercer au delà de 3 eme jour d'incubation. Ceci correspond à des taux d'inhibition allant de 10.46 à 41.86%.

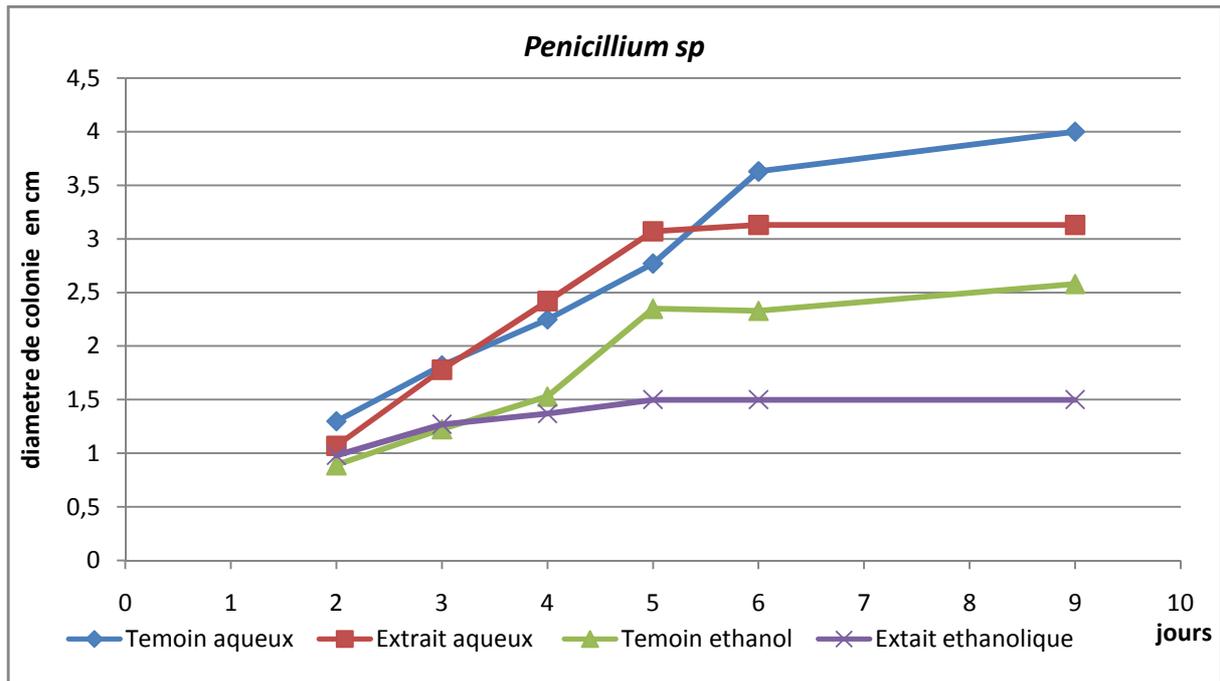


Figure n°25 : Effet des extraits sur la croissance radiale de *Penicillium sp.*

Il est noter également que l'éthanol dans le milieu Témoin éthanol présente une action inhibitrice de la croissance radiale de *Penicillium sp* et ceci pendant toute la période d'incubation ; le diamètre de colonie dans ce milieu est seulement de 2.58cm après 9 jours d'incubation.

Tableau n°05: Taux d'inhibition de *Penicillium sp.*

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition						
Extrait aqueux (%)	17.69	2.20	-7.56	-10.83	13.77	21.75
Extrait éthanolique (%)	-10.11	-3.67	10.46	36.17	35.62	41.86

I-2-2-*Aspergillus niger*

Les résultats de l'effet des extraits aqueux et éthanolique sur la croissance d'*Aspergillus niger* sont résumés dans la figure n°26 et le tableau n°06 .

En absence des extraits dans les milieux culture (Témoin aqueux), la colonie de ce champignon atteint un diamètre de 3.86cm après 4 jours d'incubation et de 4.79cm après 5 jours, elle arrive à son maximum de croissance 7.15cm après 9eme jours (**Figure n°26**). En présence de l'extrait aqueux, la croissance radiale est fortement inhibée, ainsi on observe un diamètre de colonies pratiquement fixe à partir du 3 eme jour égal à 1.47cm. Ceci traduit des taux d'inhibition élevés allant de 50.67 à 79.44%

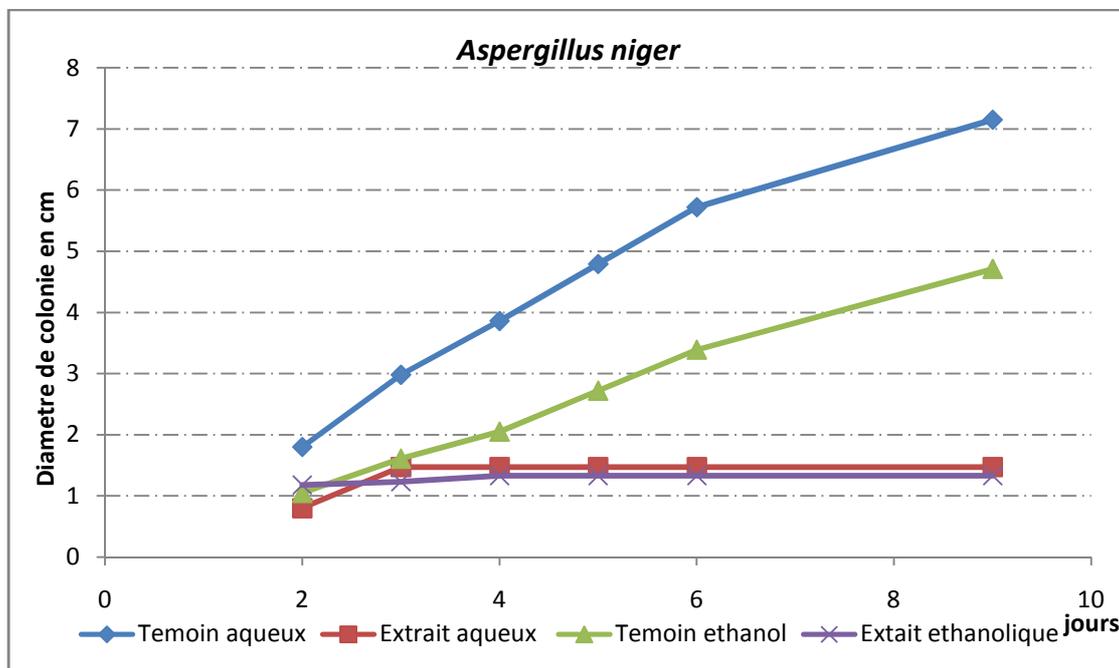


Figure n°26 : Effet des extraits sur la croissance radiale d'*A. niger*

En présence d'extrait éthanolique dans le milieu de culture, la croissance d'*A. niger* est également affectée, le diamètre des colonies est fixe et égale 1.33cm à partir de la 3eme jours d'incubation ; comparé au témoin éthanol où le diamètre des colonies est de 4.71cm au bout de 9ème jour, on constate une inhibition croissante dans le temps et qui commence avec 23.60 % au 3eme jour pour arriver à 71.76% au 9eme jour.

Tableau n°06 : Taux d'inhibition d'*A.niger*

Jours \ Taux d'inhibition	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Extrait aqueux (%)	55.56	50.67	61.92	69.31	74.30	79.44
Extrait éthanolique (%)	-12.38	23.60	35.12	51.10	60.77	71.76

Il est noté ici également que l'ajout de l'éthanol dans le milieu (à raison de 10%) exerce un fort effet inhibiteur sur la croissance d'*A. niger* pendant toute la période d'incubation.

I-2-3-*Aspergillus flavus*

Les résultats de l'effet de différents extraits sur la cinétique de la croissance mycélienne d'*A. flavus* sont présentés dans la figure n°28 et le tableau n°07.

En absence des extraits (Témoin EA), Les colonies de ce champignon présentent un diamètre de 6.1cm au bout de 9 jours. En présence de l'extrait aqueux dans le milieu, la croissance est stoppé au bout de 5 jours d'incubation, le diamètre maximum observé est de 2.68cm; cette altération de la cinétique de croissance traduit une activité inhibitrice exercée par l'extrait aqueux qui augmente durant la période d'incubation, les taux d'inhibition enregistrés sont entre 28.77 et 56.07% . ,

Dans le milieu contenant l'éthanol (Témoin éthanol), les colonies d'*A flavus* atteignent un diamètre de 5.71cm après 9 jours d'incubation. Alors que dans le milieu contenant l'extrait éthanolique le diamètre des colonies est seulement de 2.53cm après la même période d'incubation. Ceci correspond à des taux d'inhibition allant de 32.34 à 58.84%.

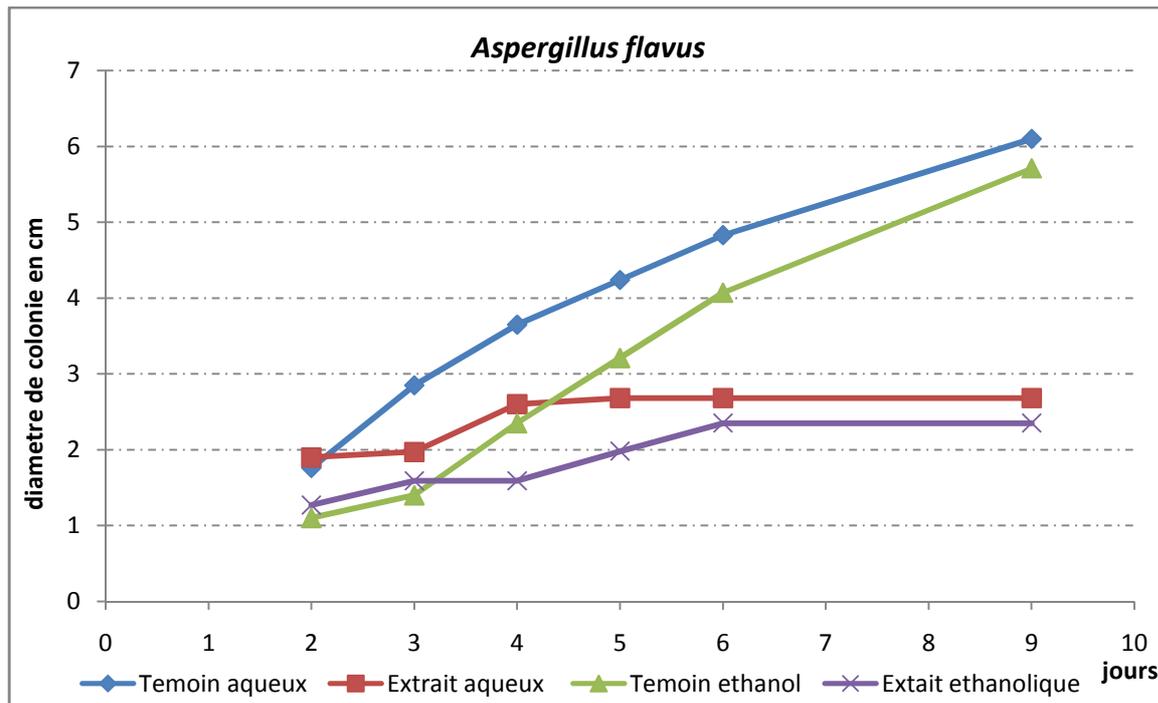


Figure n°27 : Effet des extraits sur la croissance radiale d'*A.flavus*.

Ici également on constate un effet inhibiteur de l'éthanol sur la croissance de ce champignon et qui persiste durant toute la période d'incubation.

Tableau n°07 : Taux d'inhibition d'*Aspergillus flavus*

Jours \ Taux d'inhibition	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Extrait aqueux (%)	-7.95	30.88	28.77	36.79	44.51	56.07
Extrait ethalonique (%)	-15.45	-13.57	32.34	38.32	42.26	58.84

I-2-4-*Fusarium verticillioides*

En absence de tout extrait, la colonie de *Fusarium verticillioides* montre un diamètre de croissance de 4,05cm au bout de 4eme jours d'incubation et de 9cm au 9eme jour (Figure n°28), en présence de l'extrait aqueux cette croissance est inhibée à des taux allant de 2.25% au bout de 3eme jour d'incubation à 40.77% au bout du 9eme jour (Tableau n°08).

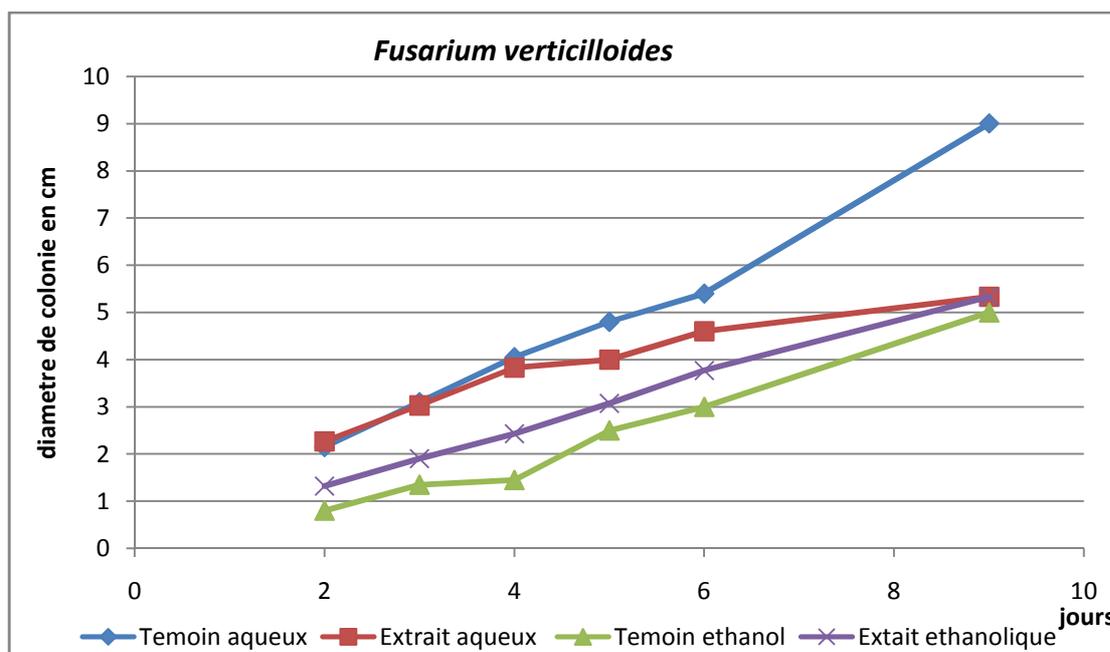


Figure n°28: Effet des extraits sur la croissance radiale de *Fusarium verticilloides*.

Dans le cas de milieu contenant l'éthanol (témoin éthanol), les colonies de *Fusarium verticilloides* présentent un diamètre de 5cm au bout de 9 jours d'incubation ; et en présence de l'extrait éthanolique, elles présentent un diamètre de 5.55cm au bout de la même période d'incubation. Donc l'extrait éthanolique a un effet positif sur la croissance, ce qui se traduit par des taux d'inhibition négatifs dans le tableau n° 8 pendant toute la période de d'incubation.

Il est à signaler ici aussi que l'éthanol exerce un effet inhibiteur sur la croissance de *Fusarium verticilloides* pendant toute la durée d'incubation. Cet effet inhibiteur est plus important que celui exercé par les deux extraits.

Tableau n°08 : Taux d'inhibition de *Fusarium verticilloides*

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition						
Extrait aqueux (%)	-5.58	2.25	5.43	16.66	14.81	40.77
Extrait éthanolique (%)	-65	-40.74	-67.58	-22.8	-25.66	-6.6

I-2-5-*Fusarium graminearum*

Les résultats de l'effet des extraits aqueux et éthanolique sur la croissance de *Fusarium graminearum* sont résumés dans la figure n°29 et le tableau n°09.

En présence de l'extrait aqueux dans le milieu, les colonies de ce champignon présentent des diamètres supérieurs à ceux observés dans le milieu témoin (témoin aqueux) pendant les cinq premiers jours d'incubation ; ce qui traduit un effet stimulateur de croissance exercé par cet extrait (taux d'inhibition négatif dans le tableau n°9). L'extrait exerce un faible effet ralentisseur de croissance au delà du 5ème jour.

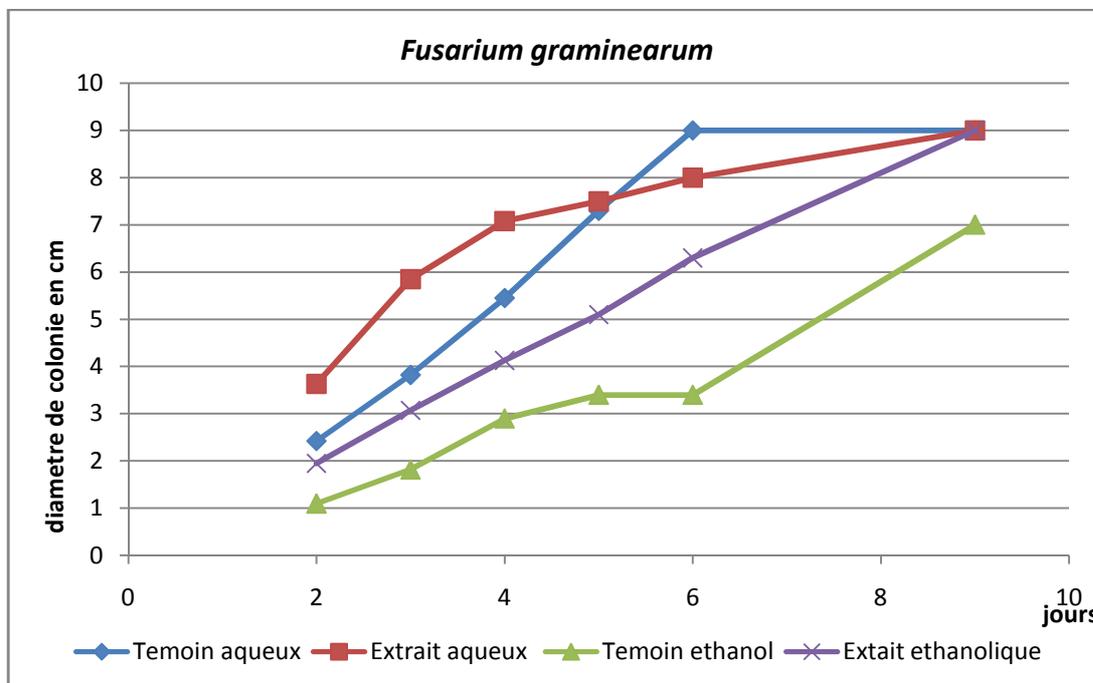


Figure n°29 : Effet des extraits sur la croissance radiale de *F.graminearum*

La croissance de *F.graminearum* dans le milieu contenant l'extrait éthanolique semble favorisée si on la compare avec le milieu Témoin éthanol. Ainsi le diamètre de colonies observé dans ce dernier milieu est de 7 cm au bout de 9 jours d'incubation alors que dans le milieu contenant l'extrait éthanolique, le diamètre est de 9 cm au bout de la même période. Cet effet positif sur la croissance s'observe durant toute la période d'incubation et se traduit par des valeurs de taux d'inhibitions négatifs dans le tableau n°9.

Ici également, on a observé l'effet inhibiteur de l'éthanol sur la croissance de ce champignon.

Tableau n°09 : Taux d'inhibition de *Fusarium graminearum*.

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition						
Extrait aqueux (%)	-50	-53.14	-29.90	-2.73	11.11	0
Extrait éthalonique (%)	-77.27	-68.68	-42.41	-50	-85.29	-28.57

I-3- Effet des deux extraits sur le mycélium et sur la production des spores

I-3-1-Effet des extraits aqueux

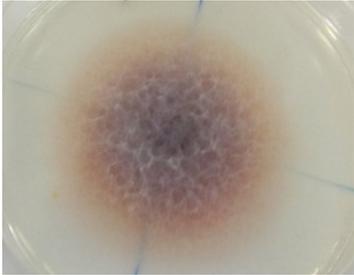
L'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* est étudié pour son effet sur la couleur et l'abondance de mycélium aérien des cinq champignons, les résultats sont résumés dans les Tableau n °10,11.

La couleur de la colonie (coté face) et l'abondance de mycélium des champignons étudiés semblent être affectés par l'extrait aqueux (tableau n° 10), ainsi il réduit l'abondance du mycélium aérien d'*A. niger* en faveur d'une sporulation plus importante traduite par une couleur plus foncée de la colonie. Contrairement aux autres champignons *A. flavus*, *Penicillium sp*, *F. verticillioides* où on remarque que l'extrait favorise la l'abondance de mycélium . La couleur de colonie de *F. graminearum* semble un peu affectée.

Les couleurs moins foncées observés dans le cas de *A. flavus* et *Penicillium sp* est peut être expliqué par une sporulation moins abondante.

Tableau n°10 : Effet de l'extrait aqueux sur l'abondance du mycélium et sa couleur, et sur la production des spores

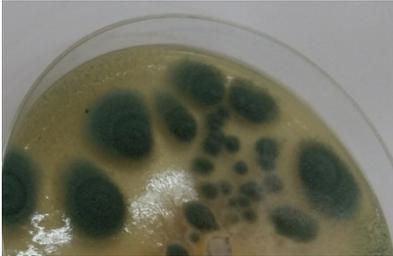
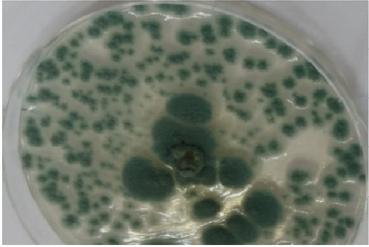
Champignons	EA	Témoin EA
<i>Penicillium sp</i>	 <p>Mycélium(++), couleur vert gris clair.</p>	 <p>Mycélium(+), couleur vert gris foncée.</p>
<i>A.niger</i>	 <p>Mycélium(++), couleur noir, spores(+++).</p>	 <p>Mycélium(+++), couleur noir, spores(++).</p>
<i>A.flavus</i>	 <p>Mycélium(+++), couleur vert olive foncé.</p>	 <p>Mycélium(++) ,couleur jaune vert foncée.</p>

<i>F.verticillioides</i>	 <p data-bbox="485 524 799 607">Mycélium (+++), Couleur blanche rosée.</p>	 <p data-bbox="920 510 1211 577">Mycélium (++), couleur blanche rosée.</p>
<i>F.graminearum</i>	 <p data-bbox="485 987 892 1070">Mycélium (+++), couleur blanche rosée.</p>	 <p data-bbox="920 981 1246 1111">Mycélium(+++),couleur blanche rosée, centre jaune ocre.</p>

I-3-2-Effet des extraits éthanoliques :

L'effet de l'extrait éthanolique sur la couleur et l'abondance de mycélium aérien est résumé dans le (Tableau n°11). L'extrait éthanolique comparé au témoin éthanolique provoque chez les cinq champignons une production abondante de mycélium accompagné dans le cas *A niger* d'une production abondante de spore (couleur noir), et de le cas d' *A. flavus* et *Penicillium sp* d'une couleur plus claire des colonies.

Tableau n°11 : Effet de l'extrait éthanolique sur l'abondance du mycélium et sa couleur, et sur la production des spores

Champignons	EE	Témoin EE
<i>Penicillium sp</i>	 <p>Mycélium (++), couleur vert gris</p>	 <p>Mycélium (+), couleur vert gris foncé.</p>
<i>A.niger</i>	 <p>Mycélium (++), couleur noire, spores +++</p>	 <p>Mycélium (+), couleur noire Spores ++</p>
<i>A.flavus</i>	 <p>Mycélium (++), couleur jaune vert foncée</p>	 <p>Mycélium (+), couleur jaune-vert foncée</p>

<i>F.verticillioides</i>	 <p data-bbox="485 528 818 611">Mycélium (+++), couleur blanche, pigment rose foncé</p>	 <p data-bbox="912 528 1259 611">Mycélium(++), couleur blanc rosée, pigment rose foncé</p>
<i>F.graminearum</i>	 <p data-bbox="485 1039 884 1122">Mycélium (++++), couleur blanc rosée.</p>	 <p data-bbox="912 1039 1311 1122">Mycélium (+++), couleur blanc rosée.</p>

I-4-Résultats d'utilisation des extraits comme traitement de grains de blé

Les grains de blé traités par l'extrait aqueux présentent un taux de germination plus élevé que celui observé avec le témoin non traité que ce soit après 4jours ou 8jours. . Donc, cet extrait exerce un effet positif sur le taux de germination

Pour les grains traités avec l'éthanol seul (témoin éthanol), le nombre de grains germés est de 12 (66.7%). En présence de extrait éthanolique, le taux de germination est de 83.3%. Donc ici aussi l'extrait éthanolique comparé à l'éthanol a un effet positif sur la germination des grains de blé. Il est à noter que l'éthanol à raison de 20% dans l'eau distillée un effet négatif sur la germination. (Figure n°30, 32,33).

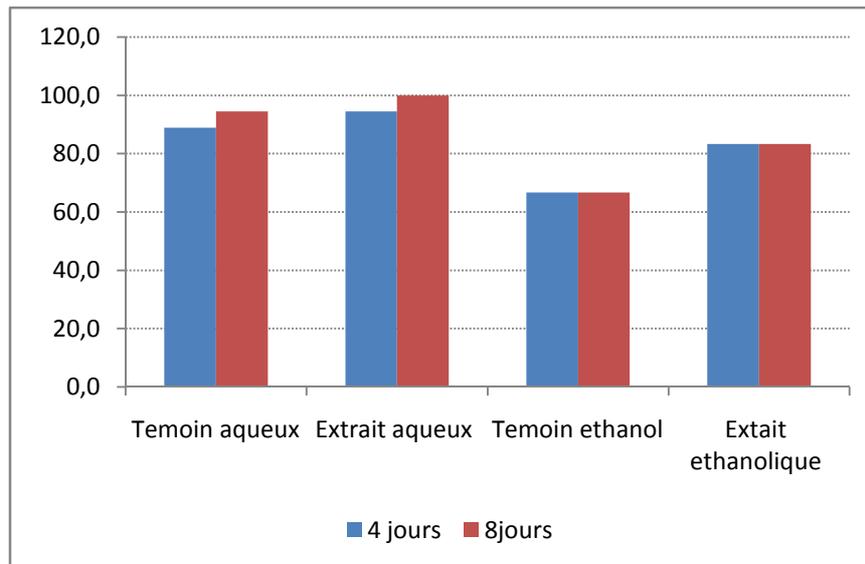


Figure n°30 : Taux de grains germés après 4 et 8 jours d'incubation en présence et absence des extraits

Les résultats de taux de contamination chez les grains de blé traités par les extraits aqueux et éthanolique de thym sont résumés dans la figure n°31 et figure n° 32 et 33;

Les grains non traité présentent un taux de contamination fongique de 100%, lorsqu'ils sont traités avec l'extrait aqueux, ce taux devient 11%, et lorsqu'ils sont traités avec l'extrait éthanolique, ce taux devient 55%. Il est à noter que l'éthanol exerce aussi un effet inhibiteur des contaminations fongiques (taux de contamination =72.2%).

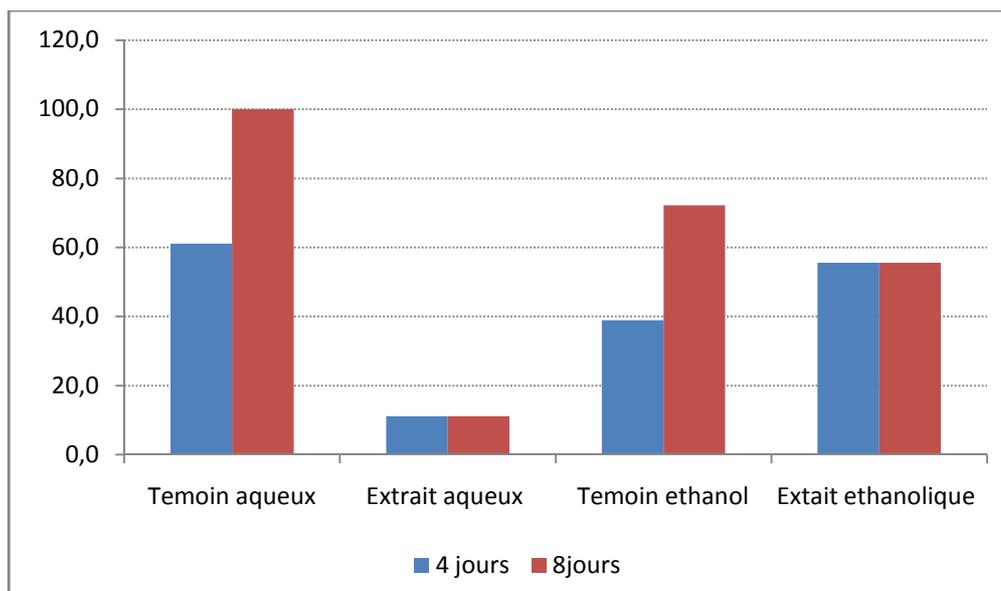


Figure n°31 : Taux des grains contaminés après 4 et 8 jours d'incubation en présence et absence des extraits

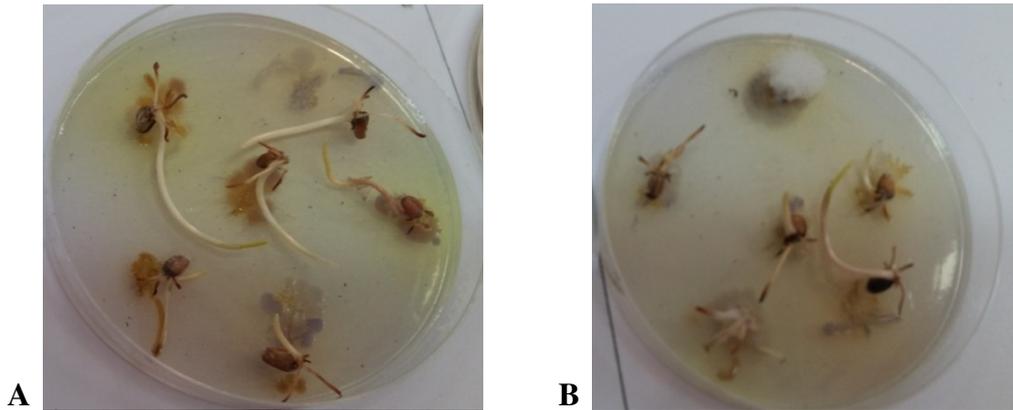


Figure n°32: observation de nombre de germination et de contamination pour l'extrait aqueux (A) et le Témoin aqueux (B).

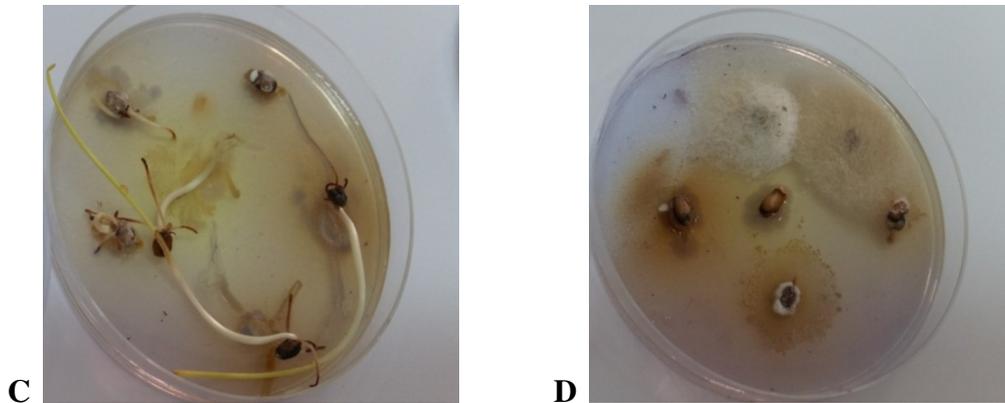


Figure n°33: observation de nombre de germination et de contamination pour l'extrait éthanolique (C) et le Témoin éthanolique (D).

I-5-Résultats de l'activité antifongique des extraits par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou des aromatoigrammes

I-5-1 Effet des extraits *Thymus vulgaris*

Les résultats de l'effets des extraits aqueux et éthanolique de *Thymus vulgaris* sur la croissance des Cinq champignons évalué par la méthode des aromatoigrammes sont représentés dans le (Tableau n°12).

Dans cette méthode 20ul de l'extrait est placé sur un disque en papier et laissé diffuser sur le milieu gélosé contenant la suspension fongique,

Les résultats montrent qu'avec ces 20ul, seulement l'extrait éthanolique possède un effet fongicide sur trois champignons *A. niger*, *A. flavus* et *Penicillium sp.* La zone d'inhibition le plus élevé est observé avec *A. niger* (21.6 mm).

Tableau n°12 : Diamètres de la zone d'inhibition observés avec les cinq champignons en présence de deux extraits

	<i>F.verticillioides</i>	<i>F.graminearum</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>	<i>Penicillium sp</i>
Extrait aqueux	0	0	0	0	0
Témoin aqueux	0	0	0	0	0
Extrait éthanolique	0	0	21,6	11,6	7,3
Témoin ethanol	0	0	0	0	0

I-5-2-Effet des fongicides de synthèse

Les résultats de l'étude de l'effet fongicide de deux matières actives sur les cinq champignons sont résumés dans le tableau 13. Ces résultats, révèlent une variation des valeurs d'inhibition d'un champignon à un autre

. Le fludioxonil est efficace sur tous les champignons testés, il a présenté des zones d'inhibition supérieures à 16 mm avec les cinq champignons. Le tebuconazole compte à lui, il est efficace contre trois champignons seulement avec des zones d'inhibition égale ou supérieures à 20mm dans le cas *F. graminearum*, *A. niger* et *A flavus*. Par contre, il est sans effet sur *F. verticillioides* et *Penicillium sp.*

Tableau n°13: Effet des fongicides de synthèse sur l'inhibition des champignons

	<i>F.verticillioides</i>	<i>F.graminearum</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>	<i>Penicillium sp</i>
Tebuconazole	0	35	24,2	20	0
Fludioxonil	16,2	22,5	36,2	27,2	29,2

1-5-3 Comparaison de l'effet des extraits et l'effet des fongicides de synthèse

Selon les tableaux n° 12 et 13, l'effet des extraits à la dose 20ul testé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé est très faible comparé avec l'effet des fongicides de synthèse. A

cette dose faible qui correspond à une concentration équivalente à 0.1% (20ul pour un volume de milieu dans la boîte de Petri égale à 20 ml) est inefficace sur ces souches fongiques mis à part le cas de l'extrait éthalonique avec *A. niger*.

Par ailleurs, le Fludioxonil est un fongicide qui ressemble à une substance naturelle : la pyrrolnitrine, synthétisée par des bactéries de sol. Il agit préventivement par contact et présente des propriétés légèrement pénétrantes. Il est efficace contre un grand nombre de champignons parasites des plantes cultivées tel que la pourriture grise *Botrytis cinerea*, Il est utilisé sur céréales pour lutter contre le Fusariose, carie de blé, septoriose, helminthosporiose, En Algérie, il est homologué sur céréales sous forme de FS pour le traitement de semences de céréales (DPVCT, 2015). D'autre part, le Tebuconazole est un fongicide qui fait partie des triazoles. Ces derniers agissent en perturbant la biosynthèse des membranes cellulaires du champignon. Ils agissent sur une enzyme appelée la 14 alpha-déméthylase. Ils empêchent ainsi la synthèse de l'ergostérol, un des principaux constituants des membranes cellulaires, spécifique des champignons. Résultat : la perméabilité des membranes augmente et les cellules se désagrègent, provoquant la mort prématurée de l'agent pathogène (Maumené, 2008). En Algérie, Le tebuconazole est un fongicides très utilisé en céréalicultures en plein champs et en traitement de semences (DPVCT, 2015).

II-Discussion

.Les maladies des plantes ont un impact négatif sur le bien-être humain en raison des pertes agricoles et économiques. Les champignons sont la cause la plus commune de nombreuses maladies des plantes. L'utilisation de fongicides pour lutter contre les maladies fongiques des plantes est limitée en raison de la possibilité de production de certaines populations d'agents pathogènes résistants aux fongicides. De plus, ces composés chimiques peuvent avoir des effets indésirables sur l'environnement en raison de leur lente biodégradation et de plusieurs effets secondaires graves sur la santé des mammifères associés à des résidus toxiques dans les produits agricoles(Ghalem, 2016). Il est donc nécessaire de développer des moyens alternatifs pour la protection des plantes contre ces maladies. Les extraits des plantes médicinales et aromatiques sont connus pour posséder de nombreuses activités biologiques telles que les propriétés antifongiques.

Dans ce travail, nous sommes intéressés, en premier lieu, à la mise en évidence d'un éventuel effet antifongique des extraits aqueux et éthanolique d'une plante locale qui est le thym :*Thymus vulgaris*. Pour cela, on a utilisé cinq champignons phytopathogènes et qui sont *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum*

A cet effet, l'extrait aqueux utilisé à une concentration équivalente à 15g de poudre de thym par 1 litre de milieu de culture (Méthode de dilution dans un milieu gélosé) a montré un bon effet inhibiteur de croissancesur *A. flavus* (Taux d'inhibition entre 28% et 56%), *A. niger* (Taux d'inhibition entre 50% et 79%), et aussi sur *F. verticillioides* (Taux d'inhibition entre 2% et 40%). et un faible effet sur *Penicillium sp* avec (Taux d'inhibition entre 13% à 21%). Cet extrait est sans effet sur *F. graminearum*.

En effet, les extraits aqueux de certaines plantes sont connus pour leurs effets antifongiques. Ainsi, Djabi et Khobizi (2018). Ont montré que l'extrait aqueux utilisé à une concentration équivalente à 7.5g de poudre de romarin par litre de milieu de culture possède un effet inhibiteur de la croissance radiales de *Penicillium sp* (taux d'inhibition entre 2 et 40%) et sur *A. flavus* (taux d'inhibition entre 2 et 23%), et un faible effet sur *A. niger* (taux d'inhibition entre 6 et 11%) cependant il est sans effet sur deux espèces de *Fusarium*.

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer des conclusions sur propriétés physicochimiques des bios molécules responsables de cet effet antifongique que contenait l'extrait aqueux de notre plante :

- Il s'agit des molécules polaires puisque elles sont extraites par l'eau seulement
- Il s'agit des molécules stables dans les températures élevées puisqu'elles ont résisté à l'autoclavage.

L'activité antifongique d'extrait aqueux peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés de l'extrait. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cet extrait (**Giordani et al., 2008**).

L'effet de l'extrait éthanolique utilisé à une concentration équivalente de 5g de poudre de thym par litre de milieu de culture sur la croissance radiale des cinq champignons a été étudié. Trois champignons *A.flavus*, *A.niger* et *Penicillium sp* se sont révélés sensibles vis-à-vis de cet extrait avec des taux d'inhibition de 10 à 41.8% pour *Penicillium sp*, de 32 à 58% pour *A. flavus*, et de 23 à 71% pour *A.niger*. Cet extrait a montré un effet positif sur la croissance radiale de *F.graminearum* et *F.verticilliodes*.

Des résultats similaires ont été obtenus avec l'extrait éthanolique provenant d'autres plantes. Ainsi, **Bellili et Slimani(2017)** ont évalué in vitro l'activité antifongique des extraits des plantes (eucalyptus, romarin, gingembre, l'ail, l'origan) Et on a montré que les extraits éthanoliques de l'*Origanum vulgare*, d'*Eucalyptus globulus* et de *Rosmarinus officinalis* inhibent efficacement la croissance mycélienne de *Fusarium verticillioides* (Taux d'inhibition > à 50%). Les autres extraits ont une activité antifongique faible à nulle.

Les extraits éthanoliques montrent généralement plus d'activité antifongique et antibactérienne que les extraits aqueux probablement à cause de sa propriété d'extraire des molécules polaires mais également celles qui sont peu polaires (**Teixeira et al., 2013 et Mercy et al., 2014 et Sepehri et al., 2016**).

Les HEs de thym révèlent également une forte capacité inhibitrice contre divers microorganismes pathogènes et d'altération dans différents aliments (**Conner, 1993**). L'activité inhibitrice des extraits d'herbes est attribuée fondamentalement à sa richesse en composés phénoliques, le genre *Thymus* possède une grande importance pharmacologique, son huile essentielle est dotée d'activité antibactérienne et antifongique (**Kulvanova et al., 2002**).

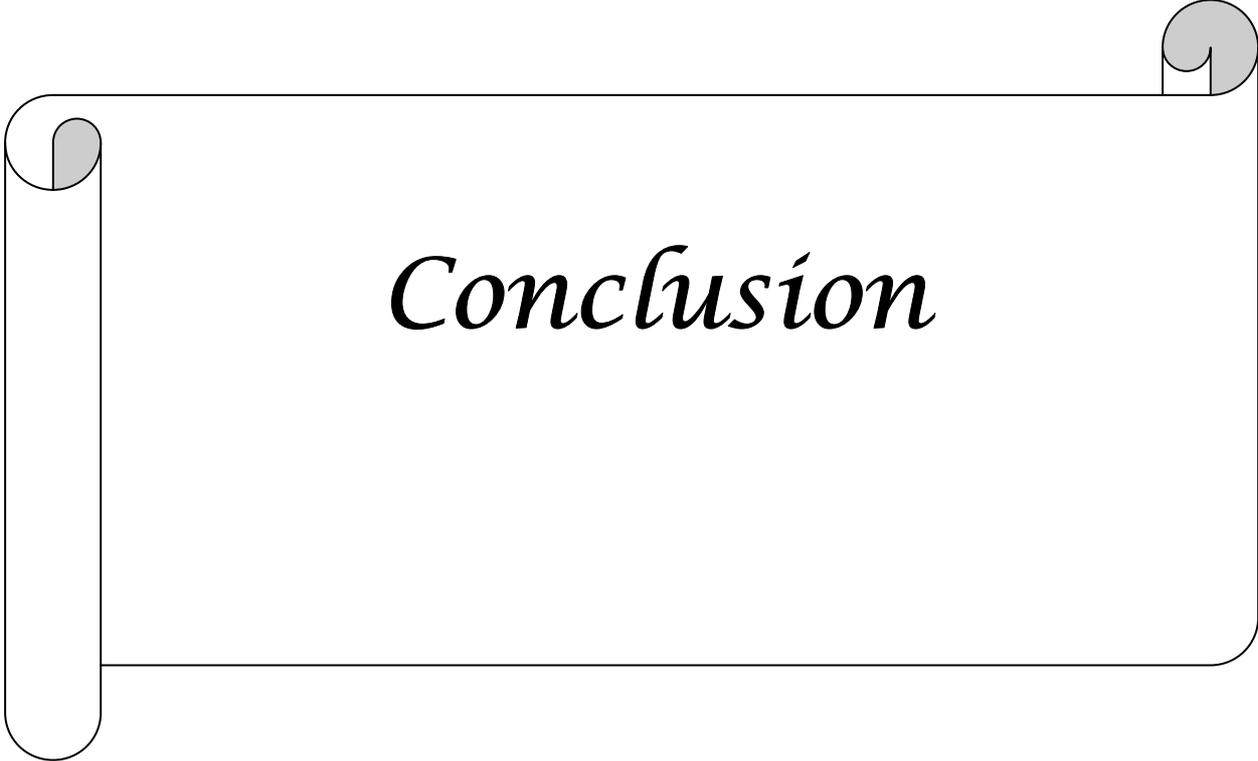
Des études de l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 1999**) et d'autres auteurs (**Dorman et Deans, 2000 ; El Ouali Lalami et al., 2013**) ont montré que les composés

phénoliques de *Thymus vulgaris* possède une forte activité antibactérienne et antifongique contre de nombreuses espèces microbiennes, dont *S. aureus*, *E. coli* et *Aspergillus sp.* .

Les résultats d'utilisation des extraits comme traitement de grains de blé ont montré que l'extrait aqueux et éthanolique exercent un effet positif sur le taux de germination. Ces extraits réduisent le taux de contamination (extrait aqueux, le taux de contamination= 11%, extrait éthanolique : le taux de contamination= 55%)

Une étude similaire menée par **Valizadegan (2013)** afin d'évaluer les effets antifongiques de l'extrait aqueux de thym (*Thymus vulgaris*) sur les semences de blé, de maïs, de soja et de cumin au cours de la germination. Le résultat a montré que l'extrait de thym avait des propriétés antifongiques. Ainsi avec l'augmentation de concentration de l'extrait, l'activité des champignons saprophytes était significativement réduite pendant la germination des graines. Cependant, à de fortes concentrations d'extrait (plus de 40%) cet auteur a observé une diminution significative du pourcentage de germination

Les résultats de la méthode de diffusion sur milieu gélosé (disques à 20ul d'extrait), montrent que seulement l'extrait éthanolique possède un effet fongicide à cette dose sur trois champignons *A. niger*, *A. flavus* et *Penicillium sp.* La zone d'inhibition la plus élevée est observée avec *A. niger* (21.6 mm). Les résultats de l'étude de l'effet des deux fongicides de synthèse sur les cinq champignons par la même méthode montrent que le fludioxonil est efficace sur tous les champignons testés, il a présenté des zones d'inhibition supérieures à 16 mm avec les cinq champignons. Le tebuconazole compte à lui, il est efficace contre trois champignons seulement avec des zones d'inhibition égale ou supérieures à 20mm dans le cas *F. graminearum*, *A. niger* et *A. flavus*. Par contre il est sans effet sur *F. verticillioides* et *Penicillium sp.*



Conclusion

CONCLUSION

Conclusion

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

Dans le cadre de la recherche des produits naturels qui peuvent substituer les produits chimiques utilisés dans le traitement des plantes à cause de leurs effets néfastes sur l'environnement et la santé de l'homme. Notre étude s'est portée d'une sur l'effet antifongique des extraits aqueux et éthanolique de *Thymus vulgaris* vis-à-vis du *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*.

La méthode de la dilution des extraits dans le milieu de culture solide nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique des extraits végétaux vis-à-vis les cinq champignons. Nous avons noté que l'extrait aqueux est très efficace contre toutes les souches fongiques testées.

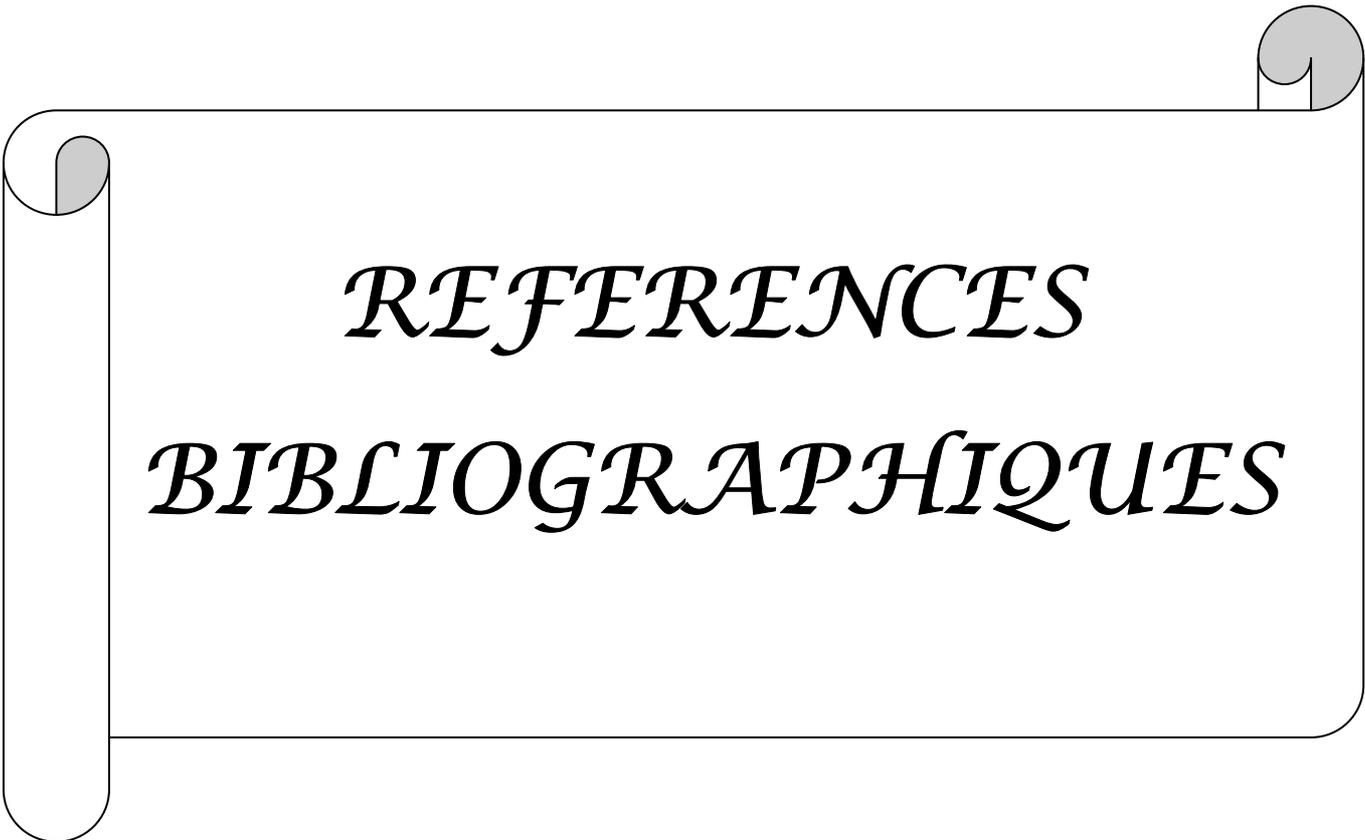
L'extrait éthanolique ne possède pas d'effet inhibiteur sur la croissance radiale de *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum*, et au contraire on a observé un effet positif.

L'essai d'utilisation des extraits aqueux et éthanolique de thym pour le traitement des grains de blé tendre a révélé que les deux extraits possèdent un bon effet sur la germination et une diminution de la contamination de ces graines

Donc, Suite à ces résultats positifs au laboratoire, nous pouvons conclure que les extraits de thym sont intéressants et peuvent être expérimenté in vivo pour leur utilisation dans la lutte contre les champignons phytopathogènes.

En perspective, il serait intéressant de pousser les études pour :

- ❖ Faire une analyse chromatographique pour identifier les constituants de ces extraits responsables de cette activité antifongique. Et par la suite les purifier dans le but de leurs utilisations comme produits antifongiques purs.
- ❖ Evaluer l'effet de ces extraits sur la production des mycotoxines par les champignons de genre *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* dans le cas des grains de céréales en stock.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top. The scroll is outlined in black and has a light gray shadow on the left side. The text is centered within the scroll.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. **Abderrazak M., Joël R. ,2007.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. pp. 177.
2. **Akroum S., 2011** - étude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse doctorat physio-toxicologie univ Mentouri de Constantine. p1.
3. **Al-Bayati F. A. 2008.** Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, 166 (3) : 403-406p.

B

4. **Bahorun T. ,1997.** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'**approvisionnement potentielle.** **Food and agricultural resarch council**, Réduit, Mauritius. 83-94.
5. **Bakkali F., Averbeck S. and Averbeck D., Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils- A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
6. **Bazylo A. et Strzelecka H. 2007.** A HPTLC densitometry determination of lutéoline in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia.*, 78 : 391-395p.
7. **Belaïche P., 1979.** L'aromatogramme, *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*, M.S.A. Editeur, Paris, Tome 1, p :20.
8. **Bellakhdar J. ,1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Paris : Ibis Press. p.358.
9. **Bellili Y., Slimani F., 2017.** Etude de l'effet de quelques plantes médicinales sur *Fusarium verticillioides*. *Memoire de master. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA.* 70 p.
10. **Benkiki N., 2006.** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. These de doctorat ;Université El-Hadj-Lakhdar-Batna.198 p.
11. **Benmadi Z., Abida H., 2018.** Effet des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Escherichia coli* Responsable des infections uro-génitales. *Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.* 77p.
12. **Bhat S.V., Nagasampagi B.A. and Sivakumar M., 2005.** Chemistry of natural products. Ed. Narosa, New Delhi, India, p. 237.
13. **Binate G., Dikes L., 2018.** Etude de l'effet antibacterienne et prébiotique des extraits de *thymus vulgaris* et de *thymus speryllum*. *Mémoire de master. Université Djilali Bounaama de khemis Miliana.* 74p.
14. **Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J., (2006).** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Congrès International de Biochimie.* Agadir, 09 : 12.
15. **Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B., 2010.** Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la société royale des sciences de liège.*

16. **Bruneton J. ,1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier, P. 207-211.
17. **Bruneton J. ,2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier

C

18. **Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F., 2002.** Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. Journal of Applied Bacteriology 78, p:264-269.
19. **Chambon L., 1984,** La menthe : Etude génétique et recherche des critères de sélection : Mémoire de D.E.A. Université Claud Bernard- Lyon.248p.
20. **Charles, D. J., 2012.**Antioxi-dant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media. New York Heidelberg Dordrecht London p588.
21. **Chao S.C, Young D.G. &Oberg G.J., 2000,** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. Journal of Essential oil Research. 12, p: 639-649.
22. **Chemloul F., 2014.** Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Lavandulaofficinalis de la région de Tlemcen. Mémoire de master. Université de Tlemcen, 34p.
23. **Chourfa M., (2015).** Intérêt des biomolécules d'origine végétale sur la santé. Thèse de doctorat, Université Hassiba Ben bouali – Chlef, 121p.
24. **Cox S.D.,Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G.,1991.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. Journal of Applied Microbiology.88, p:170-175.
25. **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R.&Wyllie S.G., 2000.**The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). Journal of Applied Microbiology.88, p:170-175.
26. **Conner D.E. (1993).** Naturally occurring compounds. IN: Antimicrobials in food. DAVIDSON P, BRANEN AL, MARCEL DEKKER publishing company New York p, 468.
27. **Cowan M. M. 1999.** Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews., 12 (4) : 564-570.

D

28. **Dacosta Y. ,2003.** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
29. **Davidson P.M., 1997.** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. Food Technology.43, p: 148-155.

30. Deleveau P., Lorrain M., Mortier F., Rivolier C., Rivolier J., Sche Weitzer A.R., 1985. Secrets et vertus des plantes médicinales, Ed. Sélection du Reader's Digest, Paris.
31. Del Rio, J.A., Fuster, M. D., Gomez, P., Porras, I., Garcia-Lidon, A., ET Ortuno, A.(2004). Citrus limon : a source of flavonoid of pharmaceutical interest. Food chem, 457-p.
32. Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., Chelghoum, C., 2006. Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. ET Reut. International Journal of Aromatherapy, 16(2), 95-100.
33. Dorman H. J. D. & Deans S. G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial Activity of plant volatile oils. 88, p: 308-316.
34. Djabi, A., Khobizi B., 2018. Etude de l'effet des extraits aqueux et éthanolique de romarin sur la croissance de quelques champignons phytopathogènes. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA 47p.
35. [DPVCT] Direction de la Protection des Végétaux et Contrôles Techniques. 2015. Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Alger : Ministère de l'agriculture et du développement rural. [Internet]. Available from: http://www.inpv.edu.dz/institut/wp-content/uploads/2016/03/INDEX_PRODUIITS_PHYTO_2015.pdf .Consulté le 20 janvier 2019.

E

36. Edris, A. E., 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. Phytotherapy research, 21(4), 308-323
37. El Amrani, A., Sánchez, J. A. C., & Eddine, J. J., 2015. Chemical Composition of Moroccan *Argania spinosa* leaf Essential Oils Isolated by Supercritical CO₂, Microwave and Hydrodistillation. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(5), 1138-1147.
38. El Bouzidi, L., Jamali, C. A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. Industrial Crops and Products, 43, 450-456.
39. Elhabazi K., Ouacherif A., Laroubi A., Aboufatima R., Abbad A., Benharref A., Zyad A., Chait A. & Dalal A., 2008. Analgesic activity of three thyme species, *Thymus satureioides*, *Thymus maroccanus* and *Thymus leptobotrys*. Afr. J. Microbiol. Res. 2 : 262267.
40. Elqaj, M., Ahami, A., Belghyti, D., 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc. 20p.
41. El Ouali Lalami. A , El-Akhal .F , Ouedrhiri .W , Ouazzani C.F. Guemmouh R. Greche H. 2013. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgaris* p212.

F

42. **Faleiro M; Miguel M.G ; Ladeiro F; Venancio F; Travares R; Brito J.C; Figueiredo A; Barroso J.G et. Perdo L.G.(2003).**Antimicrobial activity of essential oils isolated from portuguese endemic species of thymus. *lett. appl. microbiol.* 36: 35-40.
43. **Farnsworth, N. R., Akerele ,O., Bingel ,A.S., Soejarto,D. D.,Guo, Z.,1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, 64 (2),159-164.
44. **Fouché J.G; Marquet A; .Hambuckers A. 2008.** Les plantes médicinales de la plante Au médicament conception et Réalisation, Observatoire du monde des plantes sart-tilman.19p.

G

45. **Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2006.** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.
46. **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A., 2010.** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 88138826.
47. **Garnéro J., 1991.** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation, Ed. *Encyclopédie des médecines naturelles*, Paris, France, p. 2-20.
48. **Ghalem B.R.2016.** Essential Oils as Antimicrobial Agents against Some Important Plant Pathogenic Bacteria and Fungi. *In Choudhary D.K. et al. (eds.), Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture.* 271-296.
49. **Ghiasian S.A., Bacheh P. K., Rezayat S. M., Maghsood A. H., Taherkhani H. (2004).** Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia* 158: 113–121.
50. **Giordani, HadeF, Kaloustian.(2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79. 199-203p.
51. **Gonzalez-molina, E., Dominguez-perles, R., Moreno, D.A. ET Garcia-viguera. (2010).**Natural bioactive compounds of citrus limon for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51: 327-345.
52. **Greche ,H.,Hajjaji ,N.(2000).** ChimiCal Composition and Antifungal Properties of the Essential ail of *Tanacetum annun.* *Journal of Essential Oil Research*, 12,122-124.

H

53. **Haddef Y.,2004.** composition chimique et activité antifangique des huiles essentielles de *thymus vulgaris L* et *thymus numidicus (Poiret)* de l'Algérie, 5, 12.
54. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A. R., Faleiro, M. L., & Miguel, M. G. , 2009.** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry*, 116(3), 714-721.

55. **Hernandez-Ochoa L.R. ,2005.** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combine «Solvant/ Actif». D'origine végétale. Thèse de Doctorat : Institut National Polytechniques de Toulouse.p225.
56. **Hopkins W.G., 2003.**Physiologie végétale. Ed. De Boeck Université. Bruxelles, 514P.
57. **Hossain M.A., Ismail Z., Rahman A. and Kang S.C., 2010.** Chemical composition and antifungal properties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Industrial Crops And Products* 2, 7 : pp. 328–334
58. **Huang Guangrong., Jiang Jiaxin., and Dai Dehui. (2008).** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.*7 (9):1335-1338.

1. I

59. **Iserin P ., Masson M ., Restellini J.P ., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F ., Zha E ., De la Roque R ., De la Roque O ., Vican P ., Deesalle- Feat T., Biaujeaud M., et al., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse. Paris, 335p.
60. **Ismaili H., Milella L., Fkih-Tetouani S., Ildrissi A., Camporese A., Sosa S., Altinier G., Della Loggia R. Aquino R.,2004.** In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. *J. Ethnopharmacol.* 91(1):31-6.
61. **Isman M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection.* N° 19. pp 603- 608.
62. **Isman M B., Machial C M. 2006.** Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In: Rai, M., Carpinella, M.C. (Eds.),

J

63. **Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna–Herrera J., Molina – Salinas G. et Saïd-Fernández S. 2006.** *Thymus vulgaris* as a potential source of anti tuberculosis compounds. *Pharmacology online*, 3 : 569-574p.
64. **Jürgen R.,Paul.s.,Ultriike S.,and Reinhard S.(2009).**Essential oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal,Antiviral,and Cytotoxic Properties-an Overview:Forsch Komplemented.16,79,90 P.
65. **Juven B.J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H.,(1994).**Factors That Interact with the Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents. *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 626-631.

K

66. **Kempf S. Zeitouni. (2009).** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences *Pathologie Biologie* : article in press Kim KS., Chung BJ., Kim HK. 2000. DBI- 3204: A new benzoylphenyl urea insecticide

with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference, Pests and Diseases, (1): 41- 46.

67. **Korib G., 2017.** Activités antioxydante de extrait méthanolique de *Thymus ciliatus* ssp-eu-ciliatus .Memoire de master TIAA. Université de Tlemcen, 73p.
68. **Koumagalou B. 1992.** Le stockage des produits agricoles et tropicaux.4 emeED.Fondation A gromisa, Wageningen. PP 8- 18.
69. **Kulevanova S; Panovska Tk. (2002)** .Inhibition of thermal autooxidation of lard by antioxidative action of Thymus extracts. acta pharm.52 :29-35

L

70. **Lahlou M., 2004,** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils, Phytotherapy Research, p. 435-448.
71. **LESLIE J.F., SUMMERELL B.A., 2006.** The *Fusarium* laboratory Manual. Blackwell publishing, Ames, USA.388 p.
72. **Lis-Balchin M., 2002.** Lavender: the genus *Lavandula*. Medicinal and aromatic plants- Industrial Profiles. Edition CRC Press; 296p.

M

73. **Mann,J.,1987.** Secondary metabolism. Second Edition.oxford science publication.p352.
74. **Maumené C., 2008.** Un fongicide à la loupe : le mode d'action des triazole. Perspectives agricoles n° 345 :60-61.
75. **Mayachiew P. & Devahastin S., 2008.** Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Science and Technology 41; pp. 1153-1159
76. **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.
77. **Miura, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N. , 2002.** Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. Journal of agricultural and food chemistry,50(7), 1845-1851.
78. **Mohammedi K, Patente TA, Bellili-Muñoz N, Driss F, Monteiro MB, Roussel R, Pavin EJ, Seta N, Fumeron F, Azevedo MJ, Canani LH, et al ., 2013.** Catalase activity, allelic variations in the catalase gene and risk of kidney complications in patients with type 1 diabetes. Diabetologia 56:2733-2742.
79. **Morales, R. ,2002.** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*.Thyme: the genus Thymus, 1-43.

N

80. **Nelson, R. R., 1997.** In-vitro activities of five plant essential oils against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 40(2), 305-306.

81. **Nickavar, B., Mojab, F., Dolat-Abadi, R., 2005.** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*,90(4), 609-611.
82. **Nyongesa B.,W., Okoth S., Ayugi V.,2015.** Identification Key for *Aspergillus* Species Isolated from Maize and Soil of Nandi County, Kenya. *Advances in Microbiology*, 2015, 5, 205-229.

O

83. **Ormeno E, Fernandez C, Mévy J.P. 2007.** Plant coexistence Alters terpene emission and content of Mediterranean Species-*Phytochemistry*.68 p: 840-852.

P

84. **Pacin A.M., González H.H.L., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S.(2002).** Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 156: 87–92.
85. **Paris R.R et Moyse. H. ,1980.** Abrégé de matière médicale, Pharmacognosie, Tome 1, Maison éd, Paris.**Peter, K. V. (Ed.), 2004.** Handbook of herbs and spices (Vol. 2). Woodhead publishing.p360.
86. **Pinto, E., Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Palmeira, A., Gonçalves, M. J., 2007.** In vitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Industrial Crops and Products*,26(2), 135-141.
87. **Pibiri, M.C., 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de doctorat. Ecole polytechniques Fédérale de Lausanne. 177p.
88. **Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p.77.
89. **Picard H., 2012.** Intérêt et limites des oligo-éléments en médecine humaine. 65 p.
90. **Pothitirat W, Chomnawang MT, Supabphol R and Gritsanapan W., 2009.** Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. . *Fitoterapia* 80:141-164.

Q

91. **Quezel, P., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales p 565.

R

92. **Rasooli I. and Abyaneh M.R., 2004.** Inhibitory effect of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 15, pp. 479-483.
93. **Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A., 2006.** Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International journal of infectious diseases*, 10(3), 236-241
94. **Reguieg L., 2011.** Using medicinal plants in Algeria. *American journal of food and nutrition*, 1 (3), 126-127.
95. **Rožman T. and Jeršek B., 2009.** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta agriculturae Slovenica*, Vol. 93 ; N° 1, pp.51-58.

S

96. **Selmi S. et Sadok S. 2008.** The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus* Linnaeus) during chilled storage. Pan-American Journal of aquatic sciences. 3 (1) : 36-45p.
97. **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.
98. **Scimeca D. et Tétau M., 2005.** Votre santé par les huiles essentielles, Guide pratique pour prévenir et guérir tout les maux quotidien, Ed. Alpen, p. 12,13.
99. **Schauenberg P. et Paris F., 2010.** Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396.
100. **Solène J., 2012.** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat : Université de Lorraine. p146.
101. **Shaaya E., Kostjukovski, M., Eilberg J., Sukprakan C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored - product insects. *Journal of Stored Products Research* 33, 7- 15
102. **Stahl-Biskup E., 2002.** Essential oil chemistry of the genus *Thymus*: a global view. In: *Thyme D the Genus Thymus* (Stahl-Biskup E. and Saez F., eds.). Francis & Taylor, London, p.124.
103. **Sutour S., 2010.** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de Corse et de kumquats. Thèse de doctorat : Université de Corse, page 222

T

104. **Tabuc, 2007).** Flore Fongique De Différents Substrats Et Conditions Optimales De Production Des Mycotoxines. Thèse de doctorat : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 190p.
105. **Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. 2004.** New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, 68 (5) : 1113-1134.
106. **Teixeira B. Marques A, Ramos C, Serrano C, Matos O, Neng N.R, Nogueira J, Saraiva J A, Nunes 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.
107. **Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A., 2005.** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of food engineering*, 66(4), 447-454.
108. **Tripoli, E., Guardia, M., Gimmanco, S., DiMajo, D. ET Giammanco, M. (2007).** *Citrus* flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry*, 104: 466-479.

U

109. **Utree A., Slump R.A, Steging G. & Smid E.J., 2002.** Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection*.63, p:620-624.

V

110. **Valizadegan O.,2013** Study the influence of Thyme (*Thymus vulgaris*) extract on fungal infection control of some crop seeds during germination stage .*Advances in Environmental Biology*, 7(1): 109-112
111. **Vokou D., Kokkini S. & Bressiere J.M., 1988.** *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece Distribution, volatile oil yield, and composition. *Economy botanic*.42, p:407-412.

W

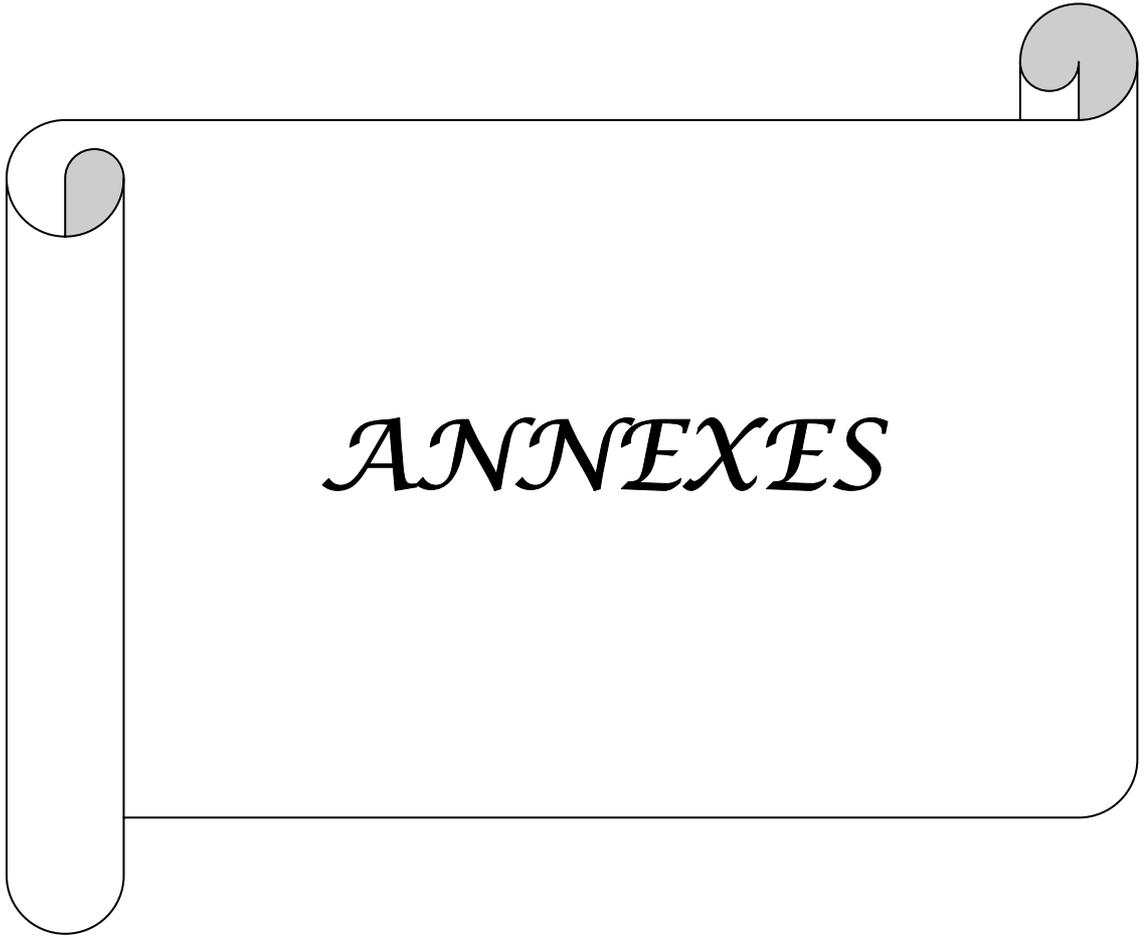
112. **Wannes WA et Marzouk B ., 2016.** Characterization of myrtle seed (*Myrtus communis* var. *baetica*) as a source of lipids, phenolics, and antioxidant activities. *Journal of Food and Drug Analysis* 24:316-323.
113. **Wendakoon K.et Saguchi N.A., 1995.** Methods of asses' quality and stability of oils and fat-containing foods .AOCS. Press, champaign.

Y

114. **Yahyaoui N. ,2005.** Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe Spicata* L sur *Rhyzoperlhu dominicu* (F .) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister : Institut National d'Agronomie, El-Harrach.270p.
115. **Yakhlef G., 2010.**Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L et *Laurus nobilis* L thèse de magister, université el hadj llakhdar batna.p 125.

Z

116. **Zambonelli, A., d'Aulerio, A. Z., Bianchi, A., Albasini, A., 1996.** Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. *Journal of Phytopathology*, 144(9-10), 491-494.
117. **Zeghad N., 2008.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur
- Activité antibactérienne. Mémoire de magister (Ecole doctorale).Université Mentouri Constantine, 130p.



ANNEXES

ANNEXE

Annexes N°1 : Matériel non biologique

Verreries et autre	A appareillages	Produits
<ul style="list-style-type: none">- Entonnoir- Bécher- Mortier- Éprouvette graduée- Flacons en verre- Erlenmeyer- Pissette- Boîtes de pétrie- Pipette de pasteur- Eppendorf- Disques en papier- Fiole- Pince de laboratoire- Papier filtre- Micro pipette- Coine- desecateur	<ul style="list-style-type: none">- Etuve d'incubation- Hôte- Balance de précision- Extracteur Soxhlet- Agitateur- Bec benzène- Autoclave- Silicagal- Plaque chauffante-	<ul style="list-style-type: none">- Eau de javel- Eau distillée- Ethanol 96- Bleu de méthyle- Acide acétique glaciale- SDS- Mgso4- Crystal violet- K2HpO4- Peptone Bactériologique- Glucose- Agar Bactériologique

Annexes N°2

Les Milieux de culture :

Composition du milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar)

- 200 g de pomme de terre
- 20 g de glucose
- 20g d'agar-agar
- 1 L de l'eau distillée

ANNEXE

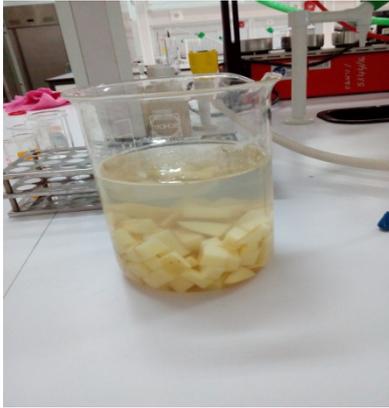


Figure n°01: Pomme de terre



Figure n°02: Agar-agar



Figure n°03: Glucose

-Étapes de la préparation du milieu PDA

Les tubercules de pommes de terre ont été pelés, lavés et coupés en tranches minces. Ensuite, ils ont été cuits dans 1L de l'eau pendant 15 à 20mn (Fig. 04). Le mélange obtenu a été filtré, puis le filtrat était versé dans un Erlenmeyer d'un litre placé sur un agitateur chauffant. Le glucose et l'agar-agar ont été ajoutés au filtrat et le volume a été ajusté à 1L.

L'Erlenmeyer a été retiré de la plaque lorsque le milieu devenait homogène et clair. Ce dernier a été versé dans des flacons pour être stérilisé à l'autoclave à une température de 120°C pendant 20 minutes (Fig.04). Toutes ces manipulations ont été faites entre deux becs bunsens.



Figure n°04: Préparation du milieu PDA (Originale).

ANNEXE

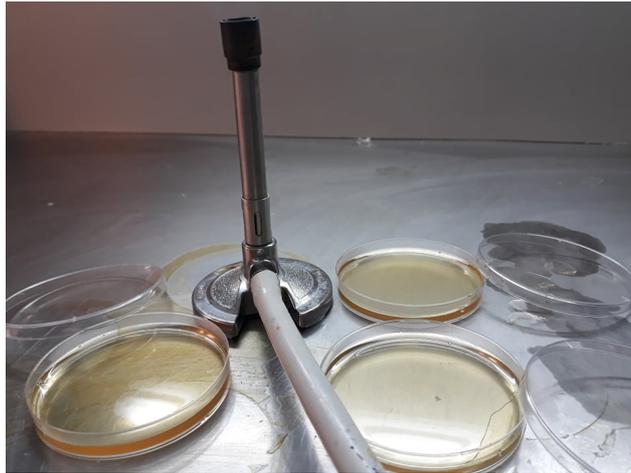


Figure n°05: collage de milieu gélosé PDA (originale).

Composition du milieu DCPA (Dichloran chloramphénicol peptone agar) (modifier).

- 15g de Peptone Bactériologique
- 1g de K_2HPO_4
- 0,5g de $MgSO_4$
- 1ml de Crystal violet
- 15g d'agar-agar
- 1 L de l'eau distillée



Figure n°06 : Composants du milieu DCPA (Originale).

ANNEXE

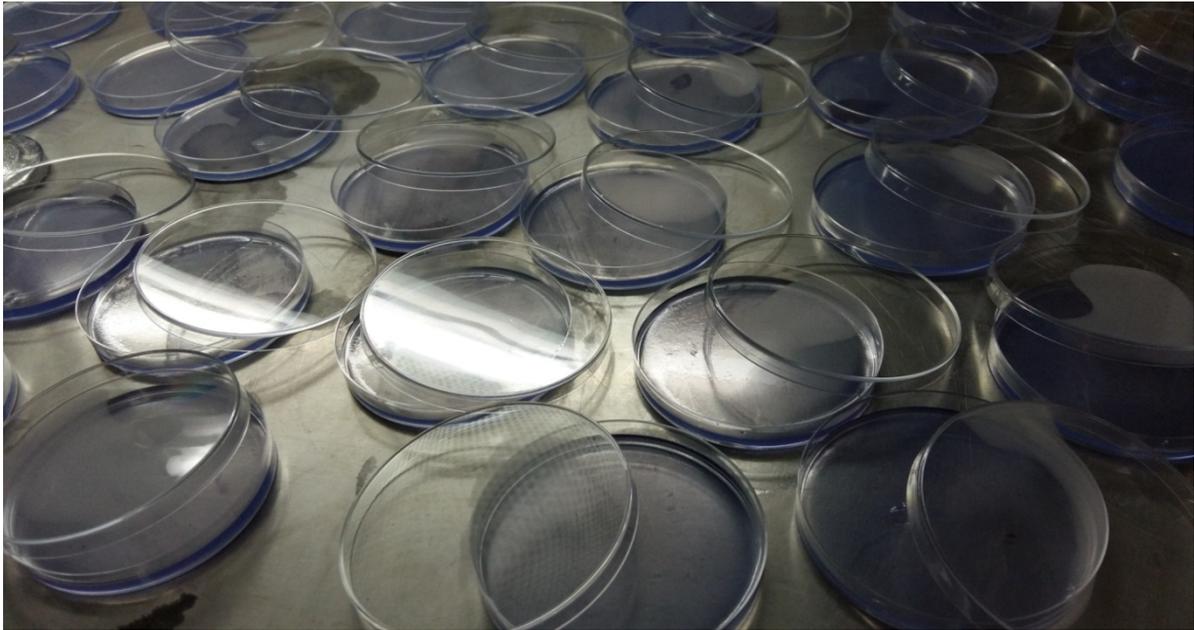


Figure n°07 : collage de milieux gélosés DCPA. (Originale).

Annexe N°3 : Préparation du bleu coton au lactophénol

Composition du réactif :

Bleu de méthyle.....1 g
Eau distillée100 ml
Acide acétique glaciale..... 2ml
SDS 0.5g

Préparation :

Dissoudre 1 g de bleu de méthyle dans 2ml d'acide acétique glaciale puis ajouter les 100 ml d'eau.



Figure n°08: Composants du belu de coton(originale)

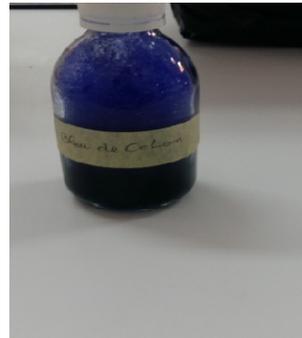


Figure n°09: préparation du bleu de coton (Originale).

Résumé

Le Thym, est une plante médicinale et aromatique qui appartient à la famille des lamiaceae. Utilisée et reconnue pour ses vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle et pour sa richesse en polyphénols. Dans le cadre de la valorisation de cette plante, deux extraits (aqueux et éthanolique) ont été testés pour leur activité antifongique. Notre extrait aqueux est préparé par la méthode de macération alors que l'extrait éthanolique est préparé par soxhlet. 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*, *Aspergillus flavus*. Les extraits aqueux et éthanolique montrent un faible effet inhibiteur sur la croissance radiale de *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum*, un effet stimulateur de la croissance a été mis en évidence dans le cas de l'extrait éthanolique vis à vis de ces deux champignons.

Mots clés: Thym, Extrait aqueux, Extrait éthanolique, activité antifongique, plantes médicinales, champignons phytopathogène

Abstract

Thyme is a medicinal and aromatic plant that belongs to the family Lamiaceae. Used and recognized for its therapeutic virtues in traditional medicine and for its richness in polyphenols. As part of the valorization of this plant, two extracts (aqueous and ethanolic) have been tested for their antifungal activity. The aqueous extract is prepared by the maceration method and the éthanolic extract is prepared by soxhlet. 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*, *Aspergillus flavus*. The aqueous and ethanolic extracts show a weak inhibitory effect on the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum*. On the contrary, a positive effect has been demonstrated in the case of the ethanolic extract.

Key words: thyme, aqueous extract, ethanolic extract, antifungal activity, medicinal plants, phytopathogenic fungi.

الملخص

الزعتر هو نبات طبي وعطري ينتمي إلى عائلة Lamiaceae. مستخدم ومعترف به لفضائله العلاجية في الطب التقليدي وغناه في البوليفينول. كجزء من تثمين هذا النبات، تم اختبار مستخلصين (مائي وإيثانولي) لنشاطهما البيولوجي.

يتم تحضير المستخلص المائي بواسطة طريقة Macération وخالصة الإيثانوليك بواسطة Soxhlet

سمحت لنا طريقة التخفيف من المستخلصات في وسط الاستزراع الصلب بإظهار مستويات تثبيط عالية لهذه المستخلصات ضد ثلاث فطريات فقط، وهي *Penicillium sp*، و *Aspergillus niger*، و *Aspergillus flavus* تُظهر المستخلصات المائية والإيثانولية تأثيرًا مثبتًا ضعيفًا على النمو الشعاعي لـ *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum*، وعلى العكس، فقد ظهر تأثير إيجابي في حالة المستخلص الإيثانولي.

الكلمات المفتاحية: الزعتر، المستخلص المائي، المستخلص الإيثانولي، النشاط المضاد للفطريات، النباتات الطبية، الفطريات المسببة للأمراض النباتية.