

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 :

*OUAHI Hanane*

*Thème*

**L'étude de l'effet fongicide des extraits aqueux et  
éthaloniques de *Pistacia lentiscus L.***

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>Président</i>
<i>M<sup>elle</sup> MEBDOUA Samira</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme CHOUIH Sihem</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2018/2019

# Remerciements

Tout d'abord, je remercie le bon Dieu de m'avoir donné le courage et la volonté pour achever mes études supérieures.

Je tiens à remercier vivement, Ma promotrice, Madame **Mebdoua Samira** pour ses encouragements, ses conseils précieux et sa disponibilité. Je remercie **Mme Mahdi** pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury .Je remercie **Mme Chouih** pour avoir accepté d'examiner ce travail .Je souhaite remercier tous nos enseignants du Département des sciences de la nature et de vie.

Je présente mes chaleureux remerciements à mes parents, mon mari et mes amis pour leurs soutiens durant ma formation.

Et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Hanane



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A Ma très chère Mère et mon très cher Père  
qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse  
dans mes études*

*A ceux qui ont veillé pour mon bien être*

*A Mon frère « Ghilas » et mes très chères sœurs  
« Amel, Nino » pour leurs patiences et leurs  
confiances.*

*A mes amies Souhila et Amina*

*Sans oublié mon mari qui m'a encouragé et cru en  
moi ;*

**HANANE**



## Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux .....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Introduction générale .....	1

### **Partie théorique**

#### **Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales**

I.1. Définition des plantes médicinales .....	3
I.2. La phytothérapie .....	3
I.3. Métabolites secondaires .....	4
I.4. Les polyphénols .....	4
I.5. Térpénoïdes .....	4
I.6. Alcaloïdes.....	5
I.7. Utilisation des extraits comme bio pesticide .....	6

#### **Chapitre II : Méthodes d'extractions**

II.1 Méthodes d'extraction Traditionnelles .....	7
II.1.1. Infusion .....	7
II.1.2. Décoction .....	7
II.2.3. Macération .....	8
II.1.4 Distillation .....	8
II.2. Méthodes d'Extraction Modernes .....	9
II.2.1. Extraction soxhlet .....	10
II.2.2. Méthode d'hydrodiffusion.....	10
II.2.3. Extraction Assistée par Micro-ondes .....	11
II.2.4 Extraction par Détente Eclair (Flash-Détente).....	12

II.2.5.	Extraction par ultrasons .....	13
---------	--------------------------------	----

### **Chapitre 3 : Extrait de *Pistacia lentiscus***

III.1.	Généralité .....	14
III.2.	Description botanique de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	14
III.3.	Habitat .....	17
III.4.	La classification taxonomique de <i>P. lentiscus</i> .....	17
III.5.	Réparations géographiques .....	18
III.6.	Composition chimique de <i>P. lentiscus</i> .....	19
III.6.1.	Les feuilles .....	19
III.6.2.	Les fruits .....	20
III.6.3.	Le mastic .....	20
III.7.	Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de <i>P. lentiscus</i> .....	20
III.8.	Activité biologique des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	21

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre 1 : Matériels et méthodes**

I.1.	Matériels .....	23
I.1.1.	Matériels biologiques .....	23
I.1.1.1.	Matériel végétale .....	23
I.1.1.2.	Matériels fongiques .....	23
I.1.2.	Autre matériels .....	26
I.2	Méthodologie .....	26

I.2.1 Séchage des plantes .....	26
I.2.2. Broyage .....	27
I.2.3 Méthodes d'extraction .....	27
I.2.3.1. Préparation des extraits aqueux des plantes .....	27
I.2.3. 2. Préparation des extraits éthaloniques des plantes .....	28
I.2.4. Etudes de l'activité antifongique de l'extrait de plante <i>Pistacia lentiscus</i> .....	28
I.2.4.1. Caractérisation microscopique et macroscopique .....	28
I.2.5 Méthode d'évaluation de l'activité antifongique des extraits .....	29
I.2.5.1. Préparation des milieux gélosés à basse de l'extrait aqueux .....	29
I.2.5.2. Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait éthanolique .....	29
I.2.5.3. Inoculation des milieux et incubation .....	30
I.2.5.4. Expression des résultats .....	30
I.2.6. Essai de traitement de semences .....	31
I.2.7. Effet des fongicides et des extrait éthanolique sur les champignons .....	32

## **Chapitre II : Résultats et discussions**

II.1. Caractérisation microscopique et macroscopique des champignons étudiés .....	33
II.1.1. <i>Aspergillus flavus</i> .....	33
II.1.2. <i>Aspergillus niger</i> .....	34
II.1.3. <i>Penicillium sp</i> .....	35
II.1.4. <i>Fusarium verticillioides</i> .....	36
II.1.5. <i>Fusarium graminearum</i> .....	37
II.2. Effet des extraits aqueux et éthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> sur la croissance radiale des champignons .....	38
II.2.1. Effet des extraits sur <i>Aspergillus flavus</i> .....	38
II.2.2. Effet des extraits sur <i>Aspergillus niger</i> .....	39
II.2.3. Effet des extraits sur <i>Penicillium sp</i> .....	40
II.2.4. Effet des extraits sur <i>Fusarium verticillioides</i> .....	41

II.2.5. Effet des extraits sur <i>Fusarium graminearum</i> .....	42
II.3. Essai de traitement de semences par l'extrait éthalonique de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	44
II.3.1. Effet de l'extrait éthanolique sur la germination des graines .....	44
II.3.2. Effet de l'extrait éthanolique sur la contamination fongique des graines .....	44
II.4. Evaluation de l'effet de l'extrait éthalonique sur la croissance des champignons par la méthode de diffusion sur milieu gélosé .....	45
II.4.1. Effet de l'extrait éthanolique sur la croissance des champignons .....	45
II.4.1. Effet des fongicides sur la croissance des champignons .....	46
II.5. Discussion générale .....	48
Conclusion .....	48
Référence bibliographique	
Annexes	

## Liste des figures

Fig.1. Aspect générale des plantes médicinales utilisée dans la phytothérapie .....	03
Fig.2. Exemple d'alcaloïdes la morphine .....	05
Fig.3. Schéma d'un appareil de distillation des huiles essentielles par l'entraînement à la vapeur d'eau .....	09
Fig.4. Extraction par Soxhlet.....	10
Fig.5. Schéma du procédé d'hydrodiffusion. ....	11
Fig. 6. Schéma du procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM). ....	12
Fig. 7. Schéma de l'extraction par Flash Détente. ....	13
Fig.8. Arbuste de pistachier lentisque. ....	15
Fig.9. Feuilles de pistachier lentisque .....	16
Fig.10. Fleurs mâles à droite et femelle a gauche de pistachier lentisque .....	16
Fig.11. Fruit de pistachier lentisque .....	16
Fig. 12. Résine de <i>Pistacia lentiscus</i> .....	17
Fig. 13. Aire de répartition du genre <i>Pistacia</i> .....	17
Fig.14. Distribution de <i>Pistacia lentiscus</i> dans le bassin méditerranéen .....	19
Fig. 15. Filtration des extraits aqueux .....	28
Fig.16. Extraction éthaloniques par soxhlet.....	28
Fig.17. Extraits aqueux et éthanolique récupérés sont conservés dans des flacons en verre étiquetés et recouverts de papier aluminium .....	28
Fig.18. Coulage des boites de pétri. ....	29
Fig. 19. Inoculation du champignon <i>Aspergillus</i> .....	30
Fig.20. Essai de traitement de semences .....	32
Fig.21. Colonies d' <i>Aspergillus flavus</i> sur milieu PDA. ....	33
Fig. 22. Observation microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	33
Fig.23. Colonies <i>Aspergillus niger</i> .....	34
Fig.24. Observation microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> G×40. ....	34

Fig. 25. Colonies de <i>Penicillium sp</i> .....	35
Fig.26. <i>Penicillium sp</i> sous microscope optique G ×40 .....	36
Fig.27. Colonies de <i>Fusarium verticillioides</i> . .....	36
Fig.28. Observation microscopique <i>Fusarium verticillioides</i> G ×40 (conidies en chainettes à gauche, conidies isolés et organisé en fausse tête à droite).....	36
Fig.29. Colonies de <i>Fusarium graminearum</i> .....	37
Fig.30. Observation microscopique de <i>macroconidies</i> du <i>Fusarium graminearum</i> G×40.....	37
Fig.31.Effet des extraits aqueux sur la croissance d' <i>Aspergillus flavus</i> . .....	38
Fig.32. Effet des extraits aqueux sur la croissance d' <i>Aspergillus niger</i> .....	39
Fig.33. Effet des extraits aqueux sur la croissance <i>Penicillium sp</i> .....	39
Fig. 34. Effet des extraits aqueux sur la croissance <i>Fusarium verticillioides</i> .....	40
Fig. 35. Effet des extraits aqueux sur la croissance <i>Fusarium graminearum</i> . .....	41
Fig. 36. Effet de l'extrait éthalonique sur la germination des graines .....	45
Fig. 37. Effet de l'extrait éthalonique sur la contamination des graines .....	45

## Liste des abréviations

ul : microlitre

EE : extrait éthanolique

EA : extrait aqueux

TE : témoin éthanolique

DCPA : Dichloran Chloramphénicol Peptone Agar

DPVCT : Direction de la Protection des Végétaux et Contrôles Techniques

## Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour s'alimenter, soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération en génération, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences simples. Ainsi, même actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développements (**Tabuti et al., 2003**).

Actuellement, plusieurs débats se sont soulevés concernant, l'efficacité et le coût et surtout l'effet sur l'environnement des produits chimiques utilisés en agriculture. En effet, en raison des effets secondaires des pesticides sur la santé humaine (résidus de pesticides) et sur la faune et la flore, qui peuvent être responsables des cancers chez l'humain, toxicité sur les organismes non cibles, et l'apparition de phénomènes de la résistances chez les organismes cible.

Le développement de nouvelles voies de recherche pour aboutir à des alternatives apparaît donc indispensable. Par ailleurs, les substances naturelles douées d'activité antimicrobienne présentent un intérêt socio-économique très important dans le domaine de la recherche phytopharmaceutique. Plusieurs chercheurs à travers le monde se sont orientés vers la recherche des substances bioactives et leur valorisation (**Lekahel, 2016 ;Koul et al ., 2008**).

Dans ce sens, un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres possèdent des propriétés biologiques très intéressent (**Bahorum, 1997**). Parmi les quelles on s'est intéressé à une plante caractéristique de la région méditerranéenne et qui est *Pistacia lentiscus* L.

*Pistacia lentiscus* L. appartenant à la famille des Anacardiaceae est l'une des plantes spontanées les plus répandus en Algérie. On le trouve sur tout type de sol, subhumide et semi-aride et dispersé tout au long du littoral et se développe dans divers habitats le long d'un gradient climatique qui varie suivant le rayonnement solaire, température et précipitation (**Saadoune, 2005 ; Ait Said et al., 2011**).

Plusieurs travaux se sont intéressés à l'effet antibiotique et antifongique des extraits et de l'huile essentiel de cette plante. Ces travaux ont montré que lentisque *Pistacia* possède une grand potentiel antimicrobien vis –à-vis des bactéries et des champignons à intérêt médical Dans cette optique, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antifongique des extraits

de *Pistacia lentiscus*, contre cinq champignon d'intérêt agricole : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*. Et d'étudier la possibilité d'utilisé ces extraits comme bio pesticides sur les grains de blé.

Afin d'aboutir à nos objectifs, nous avons partagé notre travail en deux parties :

- la première partie est la synthèse bibliographique composée de trois chapitre, le premier chapitre concerne des généralités sur les plantes médicinales, le deuxième s'intéresse aux méthodes d'extraction des extrait de *lentisque Pistacia*, le troisièmes chapitre est consacré à la présentation de *lentisque Pistacia* . ,

-la deuxième partie est la partie pratique composée elle-même de deux chapitres, le premier consacré à détailler les méthodes et les technique utilisées pour la réalisation de ce travail, Les résultats obtenus sont assemblés et discutés dans le deuxième chapitre.

Cette étude s'achève par une conclusion et les perspectives qui ont pu être dégagées.

## Chapitre 1 : Généralités sur les plantes médicinales

### I.1. Définition des plantes médicinales

Dans le code de la Santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France « une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médical. C'est-à-dire qu'elles sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines Ou animales (**Moreau, 2003 in Ghabrier, 2010**).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

### I.2. La phytothérapie

La phytothérapie, science de l'usage des plantes dans la médecine, est commune Toutes les civilisations (**Brunton, 2002 ; Bego, 2003**) Ce terme vient du grec : «phytos» = la plante et «therapiea » = la thérapie. La phytothérapie fait partie des médecines parallèles, ou médecines douces et c'est l'une des sciences médicales les plus anciennes (**Larousse Médical, 2006**) Cette thérapie se veut naturelle et respectueuse de la santé du patient. Elle adhère à une philosophie Caractérisée par la recherche du médicament le plus adapté au patient respectant son organisme, ainsi que par des conseils tant sur l'hygiène de vie que sur la nutrition. De plus le but recherché en phytothérapie est le retour à l'équilibre, en renforçant les défenses de l'individu (**Walker, 2006**).



**Fig.1.** Aspect générale des plantes médicinales utilisée dans la phytothérapie

### I.3. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (**Newman et Cragg, 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**). Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002 et Abderrazak et Joël, 2007**). Les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale. Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs sur les 30 dernières années, tel que le Taxotère ou la Vinorelbine, utilisés dans le traitement de certains cancers (**Bourgaud, 2013**).

### I.4. Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement (**Bruneton, 1993**). Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus (**Boubekri, 2014**). La qualité et la quantité des polyphénols dans les plantes peuvent varier considérablement en fonction de différents facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le génotype des plantes, la composition du sol, le degré de maturité et l'état des cultures (**Faller et Fialho, 2010**).

Elles ont un rôle principal à la vie de plante, à la défense contre Les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (**Sarni-manchado et Cheynier, 2006**).

### I.5. Térpénoïdes

Les térpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux et constituent le principe odoriférant des végétaux (**Bruneton,**

1999). Les terpènes sont des substances généralement lipophiles et hydrophobes. De nombreux groupes chimiques sont présents comme aldéhydes, cétones, éthers, esters et alcools et peuvent présenter une structure acyclique ou bien cyclique (**Kesselmeier et Staudt, 1999**) Ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unité iso-préniques, constituant leurs structures carbonées, selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka. Ainsi, avons-nous successivement : Monoterpènes ; Sesquiterpène ; Diterpènes ; triterpène et Saponosides (**whichl et Anton, 2003**). Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).

### I.6. Alcaloïdes

Nom générique de substances organiques azotées à propriétés basiques. Extraites de nombreux végétaux, et de manière spéciale de certaines familles ou de genres surtout chez les dicotylédones (**Marouf et Reynaud, 2007**)

Les alcaloïdes sont donc des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe (**Hemingway et Phillipson, 1980 ; Bruneton, 2009**). Ils peuvent être présents dans tous organes (**Ziegler et Facchini, 2008**). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3% du poids sec de la drogue (**Roux et Catier, 2007**). Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. L'intérêt qu'on leur porte reposait traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique et particulièrement violente chez l'homme (**William, 2003**). 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**).

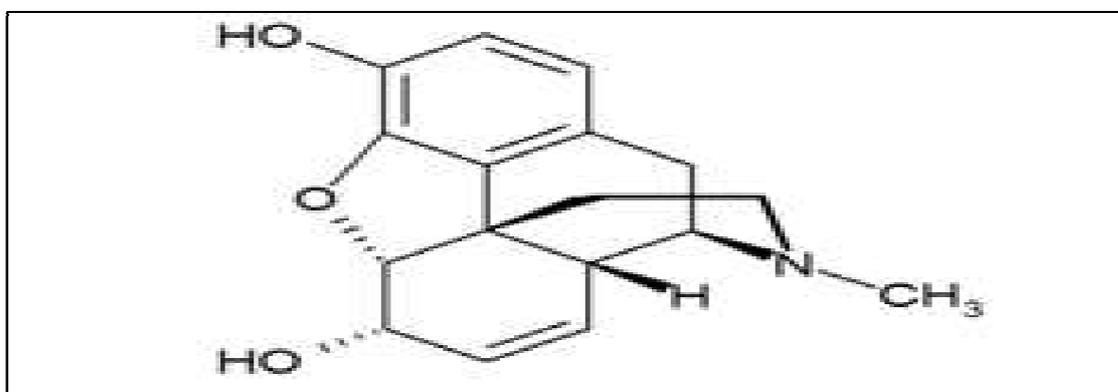


Fig.2. Exemple d'alcaloïdes la morphine (Osbourn et Lawzotti, 2009).

## I.7. Utilisation des extraits comme bio pesticide

La plante constitue un grand potentiel pour nos sociétés. Outre le rôle alimentaire, médicinal, social, culturel et socio-économique, la plante ou les produits dérivés de plantes sont utilisés pour la conservation ou pour la protection des récoltes et des plantes (**Bonzi, 2007**). En outre, beaucoup d'autres plantes ont des effets insectifuges (basilic, carotte citronnelle, écorce de citrus, eucalyptus, oignon, tagète et même les feuilles de tomate), fongicides (ail, amarante, manioc amer, oignon, papayer, piment rouge, ricin,...), nématocides (crotalaire, lilas de Perse, ricin, tagète,...). Leur efficacité dépend de l'organe de la plante utilisé (graines, écorce, feuilles, tiges, bulbes,...) et du moment de prélèvement de celui-ci (**Bouras et Benhamza, 2013**). Les substances actives contenues dans ces plantes agissent de différentes manières sur les insectes et les maladies:

· Sur les insectes, elles ont un :

- Effet répulsif : les insectes sont repoussés par le goût et l'odeur de ces substances
- Effet insecticide : par ingestion des feuilles traitées, certains insectes meurent.
- Effet sur le comportement sexuel : après traitement avec certaines plantes alternatives, on constate un changement de comportement ou de diminution de la capacité de reproduction pouvant aller jusqu'à la stérilité complète de l'insecte.

· Sur les maladies, elles :

- Inhibent le développement des champignons ;
- Renforcent les défenses immunitaires des plantes contre la plupart des parasites (mildiou, oïdium,...) (**Bouras et Benhamza, 2013**). Le biopesticide d'origine végétale le plus utilisé est l'huile de neem, un insecticide extrait des graines d'*Azadirachta indica* (**Schmutterer, 1990**). Plusieurs molécules dont l'azadirachtine, la nimbidine, la nimbidinine, la solanine, le déacétylazadirachtinol et le méliantriol ont été identifiées comme biologiquement actives dans l'huile extraite des graines de neem. L'azadirachtine, un mélange de sept isomères de tétranortritarpiñoïde, est le principal ingrédient actif de cette huile et a la propriété de perturber la morphogénèse et le développement embryonnaire des insectes (**Srivastava et al., 2007 ; Correia et al., 2013**). En outre, beaucoup d'autres plantes ont des effets insectifuges (basilic, carotte citronnelle...).

## Chapitre 2 : Méthodes d'extractions

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (**Handa, 2008**).

### II.1 Méthodes d'extraction Traditionnelles

La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec ptisané qui désignait orge mondé, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée Parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles (**Goetz, 2004**). D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées (**Benzeggouta, 2005**). La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa solubilité dans le solvant utilisé, la température et la durée d'extraction et la fragmentation de la plante (**Goetz, 2004**). Parmi les méthodes d'extraction traditionnelle connue et utilisées depuis longtemps, on trouve l'infusion, la décoction, la macération et la distillation.

#### II.1.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**). Les plantes fraîches doivent être infusées rapidement (30 secondes à 1 minutes), les plantes sèches infusent plus longtemps (1 à 2 minutes). La tisane obtenue doit être claire : jaune clair ou vert clair (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

#### II.2.1. Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (**Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**) ex: une décoction de

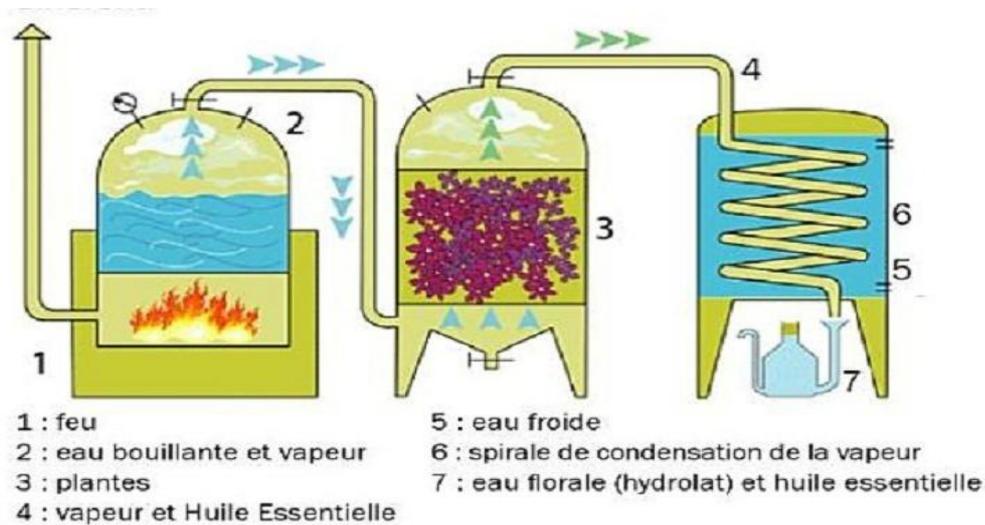
racines peut demander 10 minutes d'ébullition ensuite laisser la plante macérer pendant un temps et filtrer à l'aide d'un papier spécial ou d'une toile à trame fine (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

### II.2.3 Macération

La macération, connue comme une méthode traditionnelle, a été couramment employée (**Spigno et De Faveri 2007 ; Budic-Letoc et al., 2005**). Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Cette méthode est utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Baba-Aïssa, 2000**). Cette méthode est particulièrement indiquée pour les plantes riches en huiles essentielles pour profiter pleinement des vitamines et minéraux que 'elles contiennent (**Delille, 2007**).

### II.1.4 Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs (**Shakeel, 1999; Goetz et Busser, 2007**). De nos jours cette technique traditionnelle est encore utilisée à Constantine pour l'extraction de certaines plantes aromatiques.



ig.3. Schéma d'un appareil de distillation des huiles essentielles par l'entraînement à la vapeur d'eau (Bouffer, 2005; Chaumont et *al.*, 2008)

## II.2. Méthodes d'Extraction Modernes

Les débuts de l'usage des solvants organiques pour l'extraction des plantes médicinales sont mal connus, mais on pense que c'est l'apothicaire français Nicolas Lémery (1645-1715) qui a utilisé l'alcool comme solvant et a également prolongé la durée de l'extraction. Robert Boyle (1627-1691) n'a pas extrait un alcaloïde de l'opium mais il était dans la bonne voie en le traitant par le carbonate de potassium et l'alcool. En 1747, le saccharose a été isolé à partir de plusieurs plantes par l'allemand Andreas Sigismund Marggraf (1709-1780). Alors que le suédois Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) avait beaucoup de succès dans le domaine de la phytochimie en isolant les acides citrique, gallique, malique, oxalique, tartrique et prussique (cyanure d'hydrogène) (Evans, 2002). Au 19<sup>e</sup> siècle, le progrès de la phytochimie était plus rapide, plusieurs principes actifs ont été isolés des plantes médicinales tels que les alcaloïdes du pavot en 1803 (narcotine), l'inuline (polysaccharide) de l'aunée officinale (*Inula helenium*) en 1804 et une variété d'autres principes actifs. En 1838, l'acide salicylique, un précurseur chimique de l'aspirine, était extrait du saule blanc (*Salix alba*). Il sera synthétisé en laboratoire pour la première fois en 1860. A partir de cette date la médecine prend un nouvel essor loin de la phytothérapie traditionnelle: l'isolement et la synthèse des principes actifs des plantes médicinales (Chevallier, 2001).

### II.2.1. Extraction soxhlet

Extraction des extraits aromatiques par solvant organique sur appareillage Soxhlet est une méthode d'extraction par solvant organique à chaud qui est actuellement largement utilisée. Le principe de cette méthode consiste à faire tremper les plantes dans un solvant organique volatil à chaud, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements plus élevés (ISO 659, 1988). Dans l'appareillage Soxhlet un système de régénération interne du solvant permet de mettre en contact en permanence le végétal avec du solvant pur. Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique et température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale.

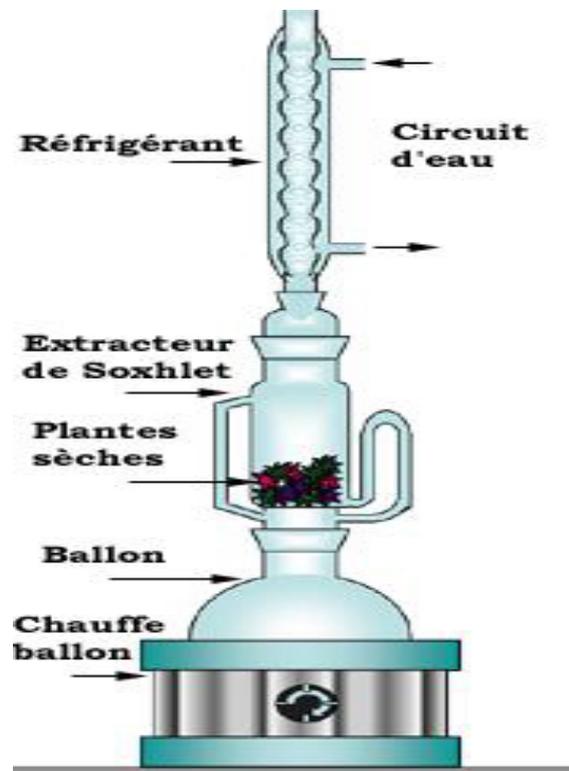


Fig.4. Extraction par Soxhlet.

### II.2.2. Méthode d'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une co-distillation descendante. Dans ce procédé, le végétal est disposé dans un parallélépipède métallique grillagé. On soumet donc le végétal à une pulsion de vapeur d'eau, saturée et humide, mais jamais surchauffée de haut en bas. La forme de l'appareillage permet une meilleure répartition des charges. La vapeur d'eau emporte avec

elle toutes les substances volatiles. L'huile essentielle est recueillie grâce à un collecteur qui permet un équilibre avec la pression atmosphérique. On peut aussi préciser qu'il y a un procédé de cohobation qui renvoie dans la chaudière toutes les eaux qui sont séparées des (Wijesekara *et al.*, 1997).

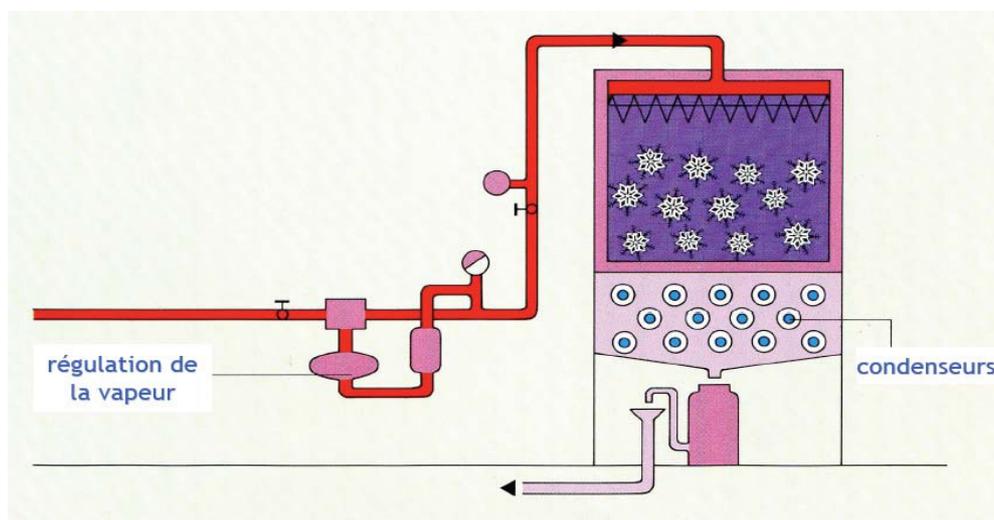


Fig.5. Schéma du procédé d'hydrodiffusion.

### II.2.3. Extraction Assistée par Micro-ondes

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde intermédiaire entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion entre 300 GHz à 300 MHz. Cependant, quelques fréquences seulement sont utilisées pour des usages industriels, scientifiques et médicaux (ISM) comprises entre 0.915 à 2.45 GHz, à cette dernière fréquence la matière réagit avec le champ électromagnétique principalement via le phénomène de rotation des dipôles et de polarisation induite (Ferhat *et al.*, 2010; Leonelli *et al.*, 2013).

L'usage de l'énergie micro-onde dans les laboratoires de chimie a été décrit pour la première fois en 1986 par R. Gedye *et coll.* et R.J. Giguere *et coll.* en synthèse organique et par K. Ganzler *et coll.* pour l'extraction des matrices biologique en vue d'analyse d'échantillons (Gedye *et al.*, 1986; Giguere *et al.*, 1986; Ganzler *et al.*, 1986). Depuis, l'usage de cette technique non conventionnelle pour l'extraction a augmenté en la considérant comme procédé «vert» qui permet l'économie d'énergie, de temps, de solvants et de déchets.

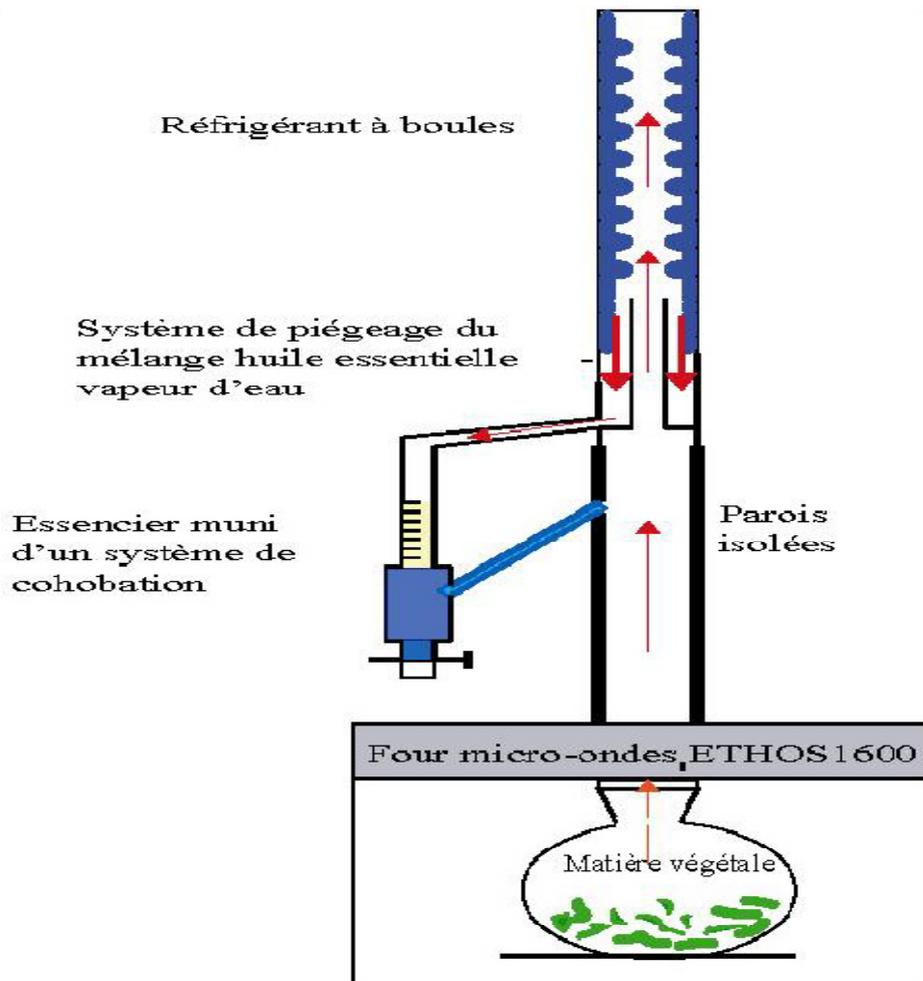


Fig. 6. Schéma du procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM).

#### II.2.4. Extraction par Détente Eclair (Flash-Détente)

La Flash-Détente brevetée par l'INRA en 1993, fut mise au point pour extraire les arômes de bananes, de mangues ou de lichis. Le flash détente (Figure 7) est un procédé multiusages, multi-effets (**Brat, 2001**). Cette technique se réalise en deux étapes, la première consiste à étuver la matière végétale à 85 – 90°C par l'utilisation d'une vis à injection de vapeur. La seconde est une détente avec introduction brutale sous vide (environ 30 mbar) du matériel végétal (fruits, légumes, plantes, etc.). La température d'ébullition de l'eau dans ces conditions de vide se situe entre 27 et 30°C. Cette mise sous vide instantanée provoque donc l'évaporation brutale d'une partie de l'eau de constitution du matériel végétal étuvé (environ 10 % de la masse humide initiale) et une chute brutale de la température du milieu. Cette perte d'eau instantanée engendre un broyage fin dû à la création de micro-canaux intercellulaires. Ce bouleversement et cette explosion cellulaire confèrent aux produits des qualités physico-chimiques, rhéologiques et organoleptiques bien particulières. Les eaux d'évaporation sont

recupérées séparément par condensation : ces eaux, particulièrement riches en composés volatils aromatiques, sont appelées eaux aromatiques et pourront être réintroduites dans les produits après l'extraction par Flash-Détente (**Bousbia, 2011**).

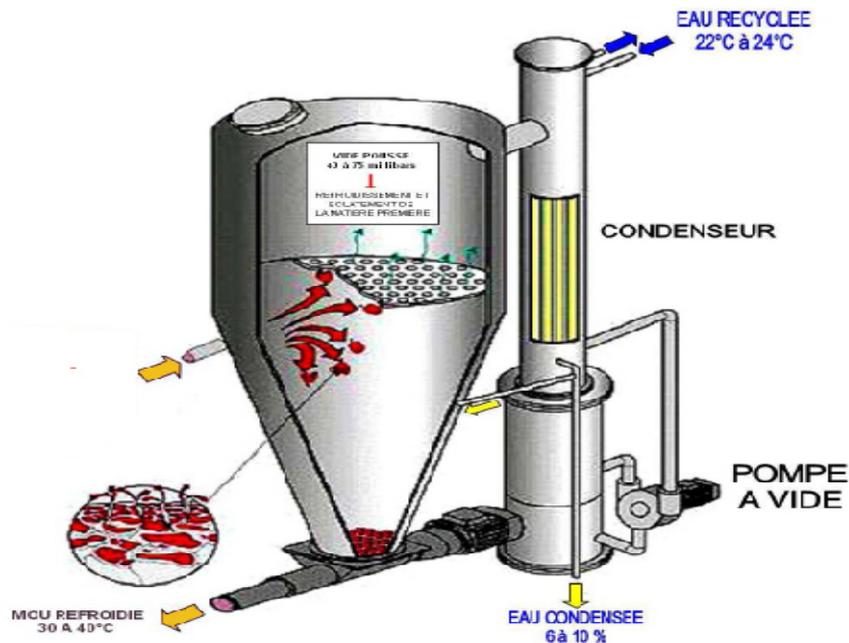


Fig. 7. Schéma de l'extraction par Flash Détente.

### II.2.5. Extraction par ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en oeuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie (**Chemat et al., 2008**). En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatique ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique (**Salisovaet al., 1997 ; Vinatoru et al., 1997 ; Hromadkova et al., 1999 ; Vinatoru et al., 1999 ; Vinatoru, 2001 ; Chemat et al., 2003 ; Chemat et al., 2004a ; Luque de Castro et al., 2007**).

## Chapitre 3 : Extraits de *Pistacia lentiscus*

### III.1. Généralité

*Pistacia lentiscus* est un arbre ou arbuste à feuilles, l'un des caractéristiques de la région méditerranéenne, où il contribue à constituer les forêts, broussailles, et des maquis, on le trouve à l'état naturel dans toute l'Algérie (le nord algérien) (Quezel et Santa, 1993). C'est un arbre dispersé généralement dans l'Algérie au-dessus du littoral entier (Lev et Amar, 2000). Il joue un rôle fondamental dans l'entretien des écosystèmes par sa forte résistance aux changements climatiques. Le nom *Pistacia lentiscus* L. donné à cette plante lui vient de mot latin "pistakia" Constitue une altération du mot "foustak", nom arabe de l'espèce principale, et *Lentiscus*, vient du mot latin "lentiscus" nom de l'arbre au mastic (Bensaci et Hadj Mokhnache, 2015), le Nom commun en arabe est El dharwe. En dialecte local dans la région de Jijel (Algérie) : *trooutroo*; et dans la région la kabylie (Algérie): *amadagh*, et le fruit se dénomme *tidekt*.

La plante contient plusieurs familles de composés (huiles essentielles, polyphénols, tannins...etc.), auxquels reviennent ses propriétés thérapeutiques et son utilisation dans divers domaines, notamment en médecine traditionnelle (Triantafyllou et al., 2007; Benhamou et al., 2008). Parmi les principaux composés identifiés à partir de cette plante, la myricétine, La quercétine, la cyanidine, l'acide vanillique et l'acide caféique (Benhamou et al., 2008).

### III.2. Description botanique de *Pistacia lentiscus*

Le genre *Pistacia* est de la famille des Anacardiaceae, comprend de nombreuses espèces Très répandues dans la région Méditerranéenne et Moyen-Orientale (Tutin, 1968). *Pistacia lentiscus* est un arbrisseau de 1 à 3 mètres de hauteur (Boukeloua, 2009; Belkhodja, 2014), à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise; très répandu sur les versants rocailloux secs, clairières et bois clairs, sur tout types de sol (Maameri, 2014) les feuilles persistantes composées, micronucléus (Boukeloua, 2009).



**Fig.8. Arbuste de pistachier lentisque.**

**a) Les fleurs :** sont brunâtres de trois mm, constituent des grappes denses spiciformes. Elles sont à l'origine de petits fruits rouges, puis noirs à maturité (**Boullard, 2001**). Elle dégage une odeur forte et désagréable. On différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles. Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents, les mâles ont 5 petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère. Les femelles, à 3 ou 4 sépales à un ovaire supère avec un style court à 3 stigmates. Floraison de Mars à Mai (**Belfadel, 2009**). La floraison est la formation puis l'épanouissement d'une fleur ou inflorescence.

**b) Les feuilles :** sont persistantes, paripennées, 4 à 10 folioles elliptiques, coriaces et luisantes et le pétiole est nettement ailé. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai (**Hans, 2007**).

**c) Le fruit :** est petit et globuleux c'est une drupe rouge, puis noire à maturité mûrissent en novembre, comestible, arrondie, d'environ cinq millimètres qui renferme un seul noyau à une seule graine (**Aityoussef, 2006**) les fruits du pistachier lentisque sont utilisés pour l'extraction d'une huile très recherchée comme médicament contre diverses maladies (**Abdelguerfi, 2003**) et utilisée dans le traitement de la gale, des rhumatismes et de la diarrhée. (**El Hamrouni, 2001**)

**d) L'écorce :** de *Pistacia* est rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.

Les branches de *Pistacia lentiscus* sont tortueuses et pressées, forment une masse serrée (Abdelliche et Benabdallah, 2016).

C) Le mastic est une résine naturelle qui est semi-obtenue comme un exsudat du tronc de l'arbuste de *P. lentiscus*. Le mastic a été utilisé dans des essais cliniques sur des patients souffrant d'ulcères peptiques (Boullard, 2001 ; Belfadel, 2009)



Fig.9.Feuillesde pistachier lentisque



Fig.10.Fleurs mâles à droit et femelle a gauche de pistachier lentisque



Fig.11.Fruit de pistachier lentisque(Belfadel, 2009).



**Fig. 12.**Résine de *Pistacia lentiscus* ( Larmes de résine)

### III.3. Habitat

Le Pistachier lentisque est un arbrisseau qui préfère les sols siliceux et sec, il se développe sur des sols calcaires ; cette plante est considérée comme thermophile et xérophile. C'est une espèce indifférente aux propriétés physico-chimiques du sol mais préfère des sols à faible concentration en phosphore et potassium conjugués avec des concentrations différentes en carbonates de calcium et en azote (**Dogan et al., 2003**).

Cet arbuste n'a guère besoin d'eau et résiste très bien à la canicule, il apprécie une exposition au soleil ou mi-ombre. Il résiste bien au vent et aux embruns en bord de mer. Il est également capable de résister à des températures jusqu'à  $-7^{\circ}\text{C}$  sur une courte durée (**Stéphanie, 2014**).

### III.4. La classification taxonomique de *P. lentiscus*

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (**Ghalem et Benhassaini, 2007**).

Sa systématique est :- Règne : *Plantae*

- Embranchement : *Spermatophyte*

- Sous-embranchement : *Magnoliophyta*

- Classe : *Magnoliopsida*

- Sous-classe : *Rosidae*

- Ordre : *Sapindales*

- Famille : *Anacardiaceae*

- Genre : *Pistacia* L.

- Espèce : *Pistacia lentiscus*

Le genre botanique *Pistacia* (les Pistachiers) regroupe 9 espèces d'arbustes, trois espèces sont très connues, *Pistacia lentiscus* (Lentisque pistachier) dont on extrait une résine

et qui présente un feuillage persistant, *Pistacia terebinthus* arbre au feuillage caduc dont on extrait l'huile de térébenthine et enfin *Pistacia vera* (Pistachier vrai) arbuste au feuillage caduc dont on consomme les graines grillées (les pistaches) (Coste, 1937 ; Guignard et Dupont, 2004 ; Pell, 2004).

**Synonymes de *Pistacialentiscus* L (Torkelson, 1996 ; Feidemann, 2005) :**

- *Lentiscus massiliensis* (Mill.) Fourr.
- *Lentiscu svulgaris* Fourr.
- *Pistacia brevifolia* Gand.
- *Pistacia chia* Desf.
- *Pistacia gummifera* Salisb.
- *Pistacia narbonensis* Mill.
- *Terebinthus lentiscus* (L.) Moench
- *Terebinthu svulgaris* Fourr.
- *Pistacia massiliensis* Mill.

### III.5. Répartition géographique

*Pistacia lentiscus* L. est un arbrisseau que l'on trouve couramment en sites arides, Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries (Bellakhdar, 2003).

Selon Belfadel (2009), l'aire de répartition de genre de *Pistacia* est illustrée dans la figure ci-dessous :

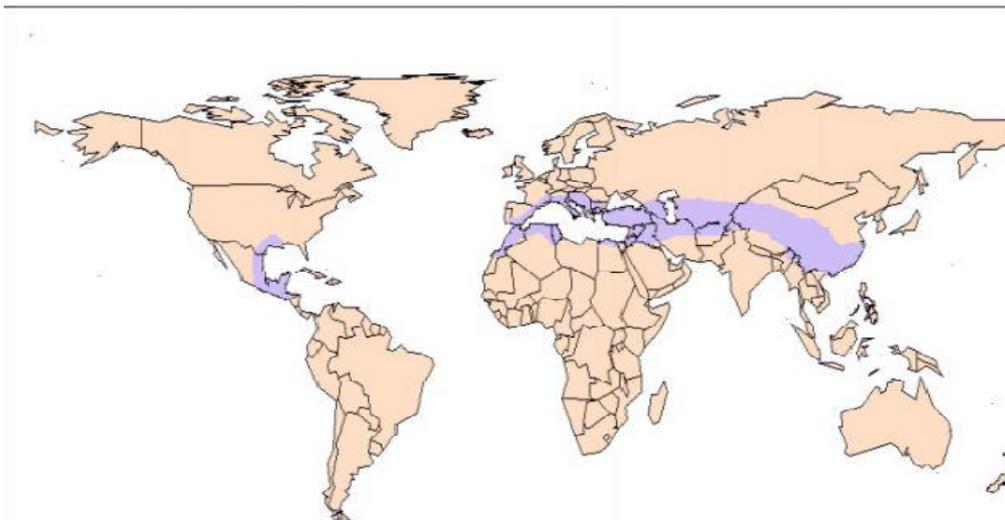
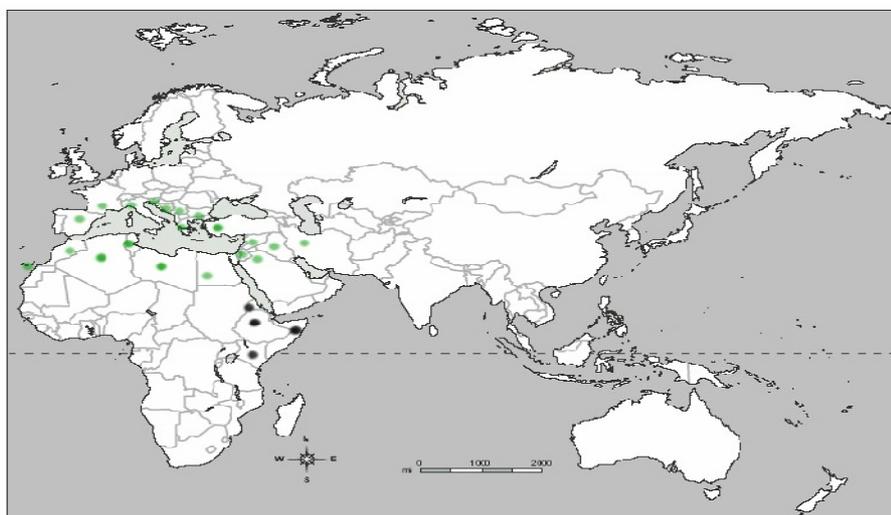


Fig. 13. l'aire de répartition du genre *Pistacia* (Belfadel, 2009)

En France, le pistachier lentisque occupe la zone méditerranéenne au niveau de littoral, et quelques vallons chauds. Il est très répandu en Corse, avec l'olivier sauvage, le myrte et la Salsepareille (**Polesse, 2010**). On le rencontre aussi au Portugal (**Alyafi, 1979**).

En Algérie, on le retrouve sur tout type de sol, subhumide et semi-aride (**Saadoun, 2002**), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le Chêne vert et le chêne liège (**Belhadj, 2000**). Présent dans le bassin méditerranéen, il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis, et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains siliceux (**Polesse, 2010**).

On le trouve également au long du tell et dans les zones forestières (**More et White, 2005**). Il occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saida, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée (**Ait said, 2011**).



**Fig.14.** Distribution de *Pistacia lentiscus* dans le bassin méditerranéen (AL-Saghir, 2006)

### III.6. Composition chimique de *P. lentiscus*

La plante *P. Lentiscus* est très riche en quercétine-3- glucoside, quercétine-3- galactoside et la vicenine-2 et le kaempférol-3-glucoside et la quercétine-3- rutinoside ont été trouvés sous forme de traces (**kawashty, 2000**).

#### III.6.1. Les feuilles

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence des glycosides de flavanols comme la myricétine et la quercitine, l'acide gallique, les dérivés galloyls et les anthocyanines (**Romani et al., 2002; Vaya et Mahmood, 2006**). Elles contiennent aussi des stérols, et des saponosides (**Bammouet al., 2015**). Les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque

ont montré la présence de  $\alpha$ - pinène, limonène,  $\gamma$ -terpénine et terpénine -4-ol (Ben douissa *et al.*, 2005).

### III.6.2. Les fruits

Les fruits de *Pistacia lentiscus* ont une très forte teneur en leucoanthocyanes, taninstotaux, tanins galliques ainsi que des flavonoïdes (Arabet *et al.*, 2014). L'étude de Longo et ses collaborateurs (2007), sur les fruits de *Pistacia lentiscus* a permis d'identifier trois anthocyanes à savoir cyanidine 3-O-glucoside, delphinidine 3-O-glucoside et cyanidine 3-O-arabinoside. Par ailleurs, une autre étude phytochimique réalisée sur la fraction d'acétate d'éthyle (EtOAc) de fruits de *Pistacia lentiscus* a permis d'isoler deux polyphénols qui sont l'acide gallique et le 1,2,3,4,6 – pentagalloylglucose (Abdelwahed *et al.*, 2007). Selon Trabelsi *et al.* (2012), les fruits de *Pistacia lentiscus* représentent une très forte teneur en acides gras mono- insaturés. Le principal acide gras est l'acide oléique, suivie l'acide palmitique et l'acide linoléiques. Ainsi qu'une grande quantité de phytostérols tels que  $\beta$ -sistérol et le campestérol. Récemment l'étude de Mezni *et al.* (2018), a révélée la présence de composés phénoliques dans les huiles de fruits comme les acides phénoliques et les flavonols.

### III.6.3. Le mastic

Les études consacrés au mastic ont montré la présence des huiles essentielles, ainsi un polymère cis- 1, 4- poly- $\beta$ -myrcene (Van den berg *et al.*, 1998).

## III.7. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de *P. lentiscus*

Pistachier lentisque est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité (Palevitch et Yaniv, 2000). La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (Ouelmouhoub, 2005).

Les feuilles ont pourvue d'actions d'activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (Villar *et al.*, 1987; Magiatis *et al.*, 1999; Janakat et Al-Meir, 2002; Kordali *et al.*, 2003; Paraschos *et al.*, 2007). Elles sont également utilisées dans le traitement l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, asthme et problèmes respiratoires (Villar *et al.*, 1987; Ali-Shtayeh *et al.*, 1998; Ali-Shtayeh *et al.*, 2000; Lev et Amar, 2002).

La résine de *Pistacia lentiscus* a été traditionnellement considérée comme un agent anticancéreux, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de l'estomac, de la rate,

et de l'utérus (**Assimopoulou et Papageorgiou, 2005**). Ces croyances traditionnelles sont en accord avec de récentes études montrant que mastic de Chios induit l'apoptose et dispose d'action anti-prolifératrice contre les cellules cancéreuses du côlon (**Balan et al., 2007**).

Le mastic est connu par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithrombotique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique (**Abdel Rahman et Soad, 1975; Magiatis et al., 1999; Dedoussis et al., 2004; Prichard, 2004**). Par conséquent, cliniquement, le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, les diarrhées, les infections bactériennes, les ulcères et gastro-intestinaux comme un agent antiseptique du système respiratoire (**Al-Said et al., 1986; Huwez et Al-Habbal, 1986; Yasilada et al., 1991; Marone et al., 2001**).

Plusieurs études ont également signalé que l'huile essentielle des parties aériennes de *Pistacia lentiscus* possède des propriétés antifongiques et antibactériennes appréciables. L'huile de fruits du lentisque est souvent utilisée comme un remède d'application externe locale sous forme d'onguent pour soigner les brûlures ou les douleurs dorsales (**Bammou et al., 2015**). Elle pourrait être également considérée comme une source alimentaire, en maintenant le taux de LDL-cholestérol dans sa gamme normale (**Trablsi et al., 2012; Dhifi et al., 2013**).

### III.8. Activité biologique des extraits de *Pistacia lentiscus*

Plusieurs études expérimentales effectuées sur *Pistacia lentiscus* ont mis en évidence différentes activités biologiques. Ainsi, les extraits des feuilles et des fruits de cette plante ont montré un pouvoir anti-radicalaire important notamment l'inhibition de certaines enzymes tels que la xanthine oxydase qui est une enzyme productrice des radicaux libres (**Berboucha et al., 2010**). Les mêmes résultats ont été obtenus par **Benhammou et al. (2008)**, **Bampouli et al. (2014)** et **Mezni et al. (2015)**, ces derniers ont démontré que les extraits aqueux et éthanoliques sont antioxydants et piègent le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl).

Les travaux de **Baratto et ses collaborateurs (2003)** montrent que les dérivés quiniques 3,5-O-digalloyl quinic, 3,4,5-O-trigalloyl quinic, acide gallique, et le 5-O-galloyl quinic, extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus* ont une activité scavenger importante vis-à-vis du radical DPPH. La présence de l' $\alpha$ -tocophérol (0,005308 %) dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*, explique l'activité antioxydante des extraits (**Kivaçak et Akay, 2005**).

le pouvoir anti-oxydant peut être dû aux composés phénoliques présents dans les fruits et les feuilles de *Pistacia lentiscus*, et qui ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (**Kelly et al., 2002**).

Les extraits des feuilles et des fruits présentent des propriétés également anti-inflammatoires et anticancéreuses, conformément aux utilisations traditionnelles de cette plante (**Atmani et al., 2009 ; Remila et al., 2015**). D'une autre part, des études, *in vivo* et *in vitro* révèlent son pouvoir anti-microbien, anti-fongique, hépatoprotecteur et anti-diabétique (**Kordali et al., 2003; Mehenni et al., 2016**). L'activité hépatoprotective de l'extrait aqueux a été démontrée également par les travaux de **Janakat et Al-Merie (2002)**.

L'extrait éthanolique des feuilles a montré une activité inhibitrice sur *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma* sp. et *Fusarium* sp. (**Kordali et al., 2003 ; Benhammou et al., 2008**).

**Bammou et al. (2015)** ont étudié le pouvoir antibactérien des extraits de *Pistacia lentiscus* L. dans différents solvants. Leurs résultats ont montré que les extraits des feuilles n'ont aucun effet sur *E. coli*, par contre la sensibilité de *S. aureus* varie selon le type de l'extrait, une faible sensibilité est enregistrée avec l'extrait d'Acétate d'éthyle (zone d'inhibition 8.00±0.00mm) et l'extrait aqueux (8.66±0.57 mm) et l'extrait obtenu par l'éther de pétrole n'a aucun effet. L'effet le plus important est obtenu avec l'extrait méthanolique sur *S. aureus* (28.00±1.00mm).

Les activités antimicrobiennes et antioxydantes des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de lentisque sont en partie dues à leur richesse en composés polyphénoliques (**Romani et al., 2002; Boubakar et al., 2004; Dahmoune et al., 2014**): acides phénoliques (acides caféique, gallique, vanillique), flavonols (myricétol et dérivés, dérivés du quercétol), flavanols (catéchine), anthocyanes (cyanidol, delphinidine). Ces activités biologiques intéressantes peuvent expliquer que, depuis 2014, le Pistachier lentisque fait partie de la liste des plantes utilisables dans les compléments alimentaires en France et au sein de la communauté européenne (**Arrêté du Jorf du 24 juin 2014**). Comme il constitue une matière végétale naturelle, facilement disponible à faible coût, il serait dès lors judicieux de tester son potentiel comme agent de conservation.

Ce travail a été réalisée au niveau des laboratoires du département des sciences agronomiques de l'université d'Akli Mohand Oulhadj de Bouira pendant une durée de 4 mois (Février –Mai 2019).

## I.1. Matériels

### I.1.1. Matériels biologiques

#### I.1.1.1. Matériel végétale

Pour notre expérimentation nous avons utilisé une plante médicinale récolté au niveau de régions de Lakhedaria de la wilaya de Bouira et qui est le lentisque *Pistacia lentiscus*. Dans notre étude on a utilisé les feuilles de cette plante.

#### I.1.1.2. Matériels fongiques

Pour nos essais de l'évaluation de l'activité antifongique des extraits de *Pistacia lentiscus* L, nous avons utilisé Cinq souches fongiques il s'agit de deux espèces de genre *Aspergillus* et deux espèces du genre *Fusarium* et une espèce de genre *Penicillium*

##### a) *Aspergillus flavus*

C'est un ascomycète filamenteux qui a une distribution ubiquitaire dans l'environnement. Il est connu par ses implications dans les infections opportunistes humaines .le mode de la transmission principal aux humains est par l'inhalation des conidies (**Desai et Ghosh, 2003**)

Cette espèce est un phytopathogène qui s'attaque à des récoltes économiquement importantes, telles les céréales. *Aspergillus flavus* est souvent étudiées en tant que contaminants produisant des mycotoxines comme les aflatoxines (**Warnock, 1977**).

- **Systematique**

- REGNE : *Fungi*

-Embranchement : *Ascomycota*

-Classe : *Eurotiomycota*

-Sous classe : *Eurotiomycetidae*

-Ordre : *Eurotiales*

-Famille : *Trichocomyaceae*

-Genre : *Aspergillus*

- Espèce : *Aspergillus flavus*

**b) *Aspergillus niger***

L'*Aspergillus niger* est un hyphomycète pour lequel on ne connaît pas de formes parfaites ou télémorphes, il fait partie des ascomycètes de l'ordre des Eurotiales, il s'agit d'une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus* qui apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. *A. niger* est considérée comme une moisissure non dangereuse, c'est pourquoi elle est communément utilisée dans le processus alimentaire. Elle est généralement classée inoffensive

- **Systematique**

-REGNE : *Fungi*

-EMBRENCEMENT : *Ascomycota*

-CLASSE : *Eurotiomycota*

-SOUS CLASSE : *Eurotiomycetidae*

-ORDRE : *Eurotiales*

-FAMILLE : *Trichocomyaceae*

-GENRE : *Aspergillus*

-ESPECE : *Aspergillus niger*

**C) *Penicillium sp***

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (**Pitt, 1979**). Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales (**Tabuc, 2008**).

- **Systematique**

-RENGE : *Fungi*

-EMBRENCEMENT : *Ascomycota*

-CLASSE : *Eurotiomycota*

-SOUS CLASSE : *Eurotiomycetidae*

-ORDRE : *Furotiales*

-FAMILLE : *Trichocomaceae*

-GENRE : *Penicillium*

-ESPESE : *Penicillium sp*

#### **d) *Fusarium verticillioides***

*Fusarium verticillioides* est un important agent pathogène de céréales notamment le maïs. Il est un agent de moisissures qui se développe en conditions d'humidité élevée et entraîne une baisse de la qualité des grains. Il est considéré comme le principal agent pathogène habilité à produire des mycotoxines sur les grains de maïs en stockage (Rossi et al., 2008). *Fusarium verticillioides* se conserve sur les débris végétaux, le sol et les semences sous forme de mycélium et de conidies. Il peut être également transmis par l'eau et le vent. L'infection se fait soit par les blessures opérées par les insectes, les outils agricoles ou autres, soit par la semence infectée. Les conidies pénètrent à travers les ouvertures et le champignon évolue dans la plante de façon systémique et contamine les grains. En cas de forte infection, la viabilité des grains peut être affectée

#### **Systematique**

-RENGE : *Fungi*

-Division : *Ascomycota*

-CLASSES : *Sordariomycetes*

-SOUS CLASSE : *Hypocromycetidae*

-ORDRE : *Hypocerales*

-FAMILLES : *Nectraceae*

-GENRE : *Fusarium*

-ESPECE : *Fusarium verticillioides*

### e) *Fusarium graminearum*

*Fusarium graminearum* est un champignon cosmopolite, retrouvée en Asie, en Europe, en Afrique, en Amérique du Nord et du Sud et en Océanie (O'donnell et al., 2004). En 2012, la revue scientifique *Molecular Plant Pathology* (Dean et al., 2012) établit un classement des champignons phytopathogènes d'importance économique. *F. graminearum* est classé quatrième champignon phytopathogène majeur mondial. Ce résultat s'explique par la prédominance et le potentiel mycotoxinogène de *F. graminearum* qui provoque outre des baisses de rendement, des baisses de la qualité du grain et des produits transformés issus de ce grain. En effet, les grains sont rabougris et contaminés par des mycotoxines. Cette espèce est aujourd'hui majoritaire sur le blé et l'orge dans la plupart des pays européens et en Amérique du Nord.

- **Systematique**

-RENGE : *Fungi*

-Division : *Ascomycota*

-CLASSES : *Sordariomycetes*

-SOUS CLASSE : *Hypocromycetidae*

-ORDRE : *Hypocerales*

-FAMILLES : *Nectraceae*

-GENRE : *Fusarium*

-ESPECE : *Fusarium graminearum*

### I.1.2. Autre matériels

En plus du matériel biologique cité précédemment, on a utilisé d'autres matériels de routine de laboratoire (voir annexe 1)

## I.2 Méthodologie

### I.2.1 Séchage des plantes

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* fraîchement récoltées, lavées et séchées à l'ombre dans un endroit à l'abri de la lumière. Une fois séchées, elles sont récupérées dans des sacs en papier.

### I.2.2. Broyage

Les feuilles de plante séchées (*Pistacia lentiscus L*) sont broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à leur réduction en poudre fine. Après broyage du matériel végétal, on a procédé à 2 types d'extraction.

### I.2.3 Méthodes d'extraction

#### I.2.3.1. Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* plante est obtenus 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).

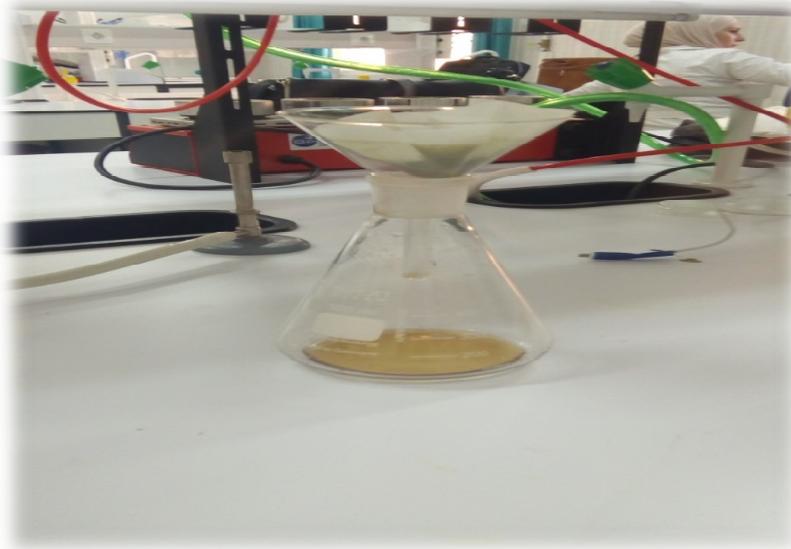
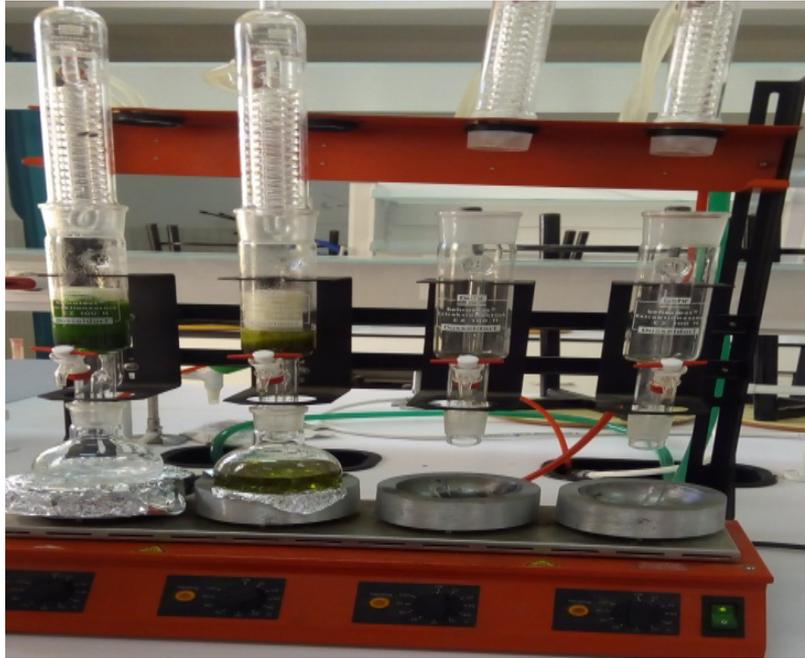


Fig. 15. Filtration des extraits aqueux

#### I.2.3. 2. Préparation des extraits éthaloniques

Les extraits éthaloniques sont obtenus à l'aide d'un extracteur soxhlet à une température de 70°C. Une quantité de 10g de la poudre de *Pistacia lentiscus* est introduite dans une cartouche soxhlet .Cette dernière sera placées dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Le volume de l'éthanol 96° utilisé est 200 ml. (Wilkinson, 2006 et Traoré, 2006). Les extraits sont récupérés et conservés dans des flacons en verre jusqu'au moment de leur utilisation.



**Fig.16.** l'extraction éthaloniques par soxhlet



**Fig.17.** Les extraits aqueux et éthanolique récupérés sont conservés dans des flacons en verre étiquetés et recouverts de papier aluminium

## **I.2.4. Etudes de l'activité antifongique de l'extrait de plante *Pistacia lentiscus***

### **I.2.4.1. Caractérisation microscopique et macroscopique**

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

- ✓ Vitesse de croissance,
- ✓ Aspect du mycélium aérien,

✓ Couleur de l'envers de la colonie

### I.2.5 Méthode d'évaluation de l'activité antifongique des extraits

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

#### I.2.5.1. Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait aqueux

Un volume de 30 ml d'extrait aqueux est incorporé dans 300 ml de milieu PDA (soit un milieu PDA à 10% d'extrait, 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.

#### I.2.5.2. Préparation des milieux gélosés à base de l'extrait éthanolique

Un volume de 30 ml d'extrait éthanolique est incorporé dans 300 ml de milieu PDA (soit un milieu PDA 10% d'extrait éthanolique) ; le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120C pendant 20 mn. Après refroidissement à 60°C environ, le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire. Le témoin ici est préparé de la même façon mais en ajoutant un volume de 30 ml de l'éthanol à la place de l'extrait éthanolique.



Fig.18. coulage des boîtes de Pétri.

### I.2.5.3. Inoculation des milieux et incubation

L'inoculum est constitué d'une culture fongique âgée de 7 jours sur un milieu PDA contenu dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Sur cette culture, on délimite des disques de taille identique 5 mm à l'aide d'un emporte-pièce. On dispose ensuite chaque disque au centre d'une boîte de Pétri contenant un des milieux de culture. Les boîtes ainsi inoculées sont incubées dans le phytotron à 26°C. Les mesures sont enregistrées à partir de 2ème jour et jusqu'au 9ème jour.



Fig. 19. Inoculation du champignon *Aspergillus*

### I.2.5.4. Expression des résultats

la croissance radiale des champignons est évaluée via le suivi de diamètre de colonie développée, le diamètre (en cm) est estimé en calculant la moyenne mesurée sur deux axes perpendiculaires tracé préalablement sur la boites de Pétri.

A partir des diamètres moyens des colonies, nous avons calculé le pourcentage d'inhibition de chaque extrait en utilisant la formule de (Greche et Haggagi 2000).

$$T = (Dk - D0) / Dk \times 100$$

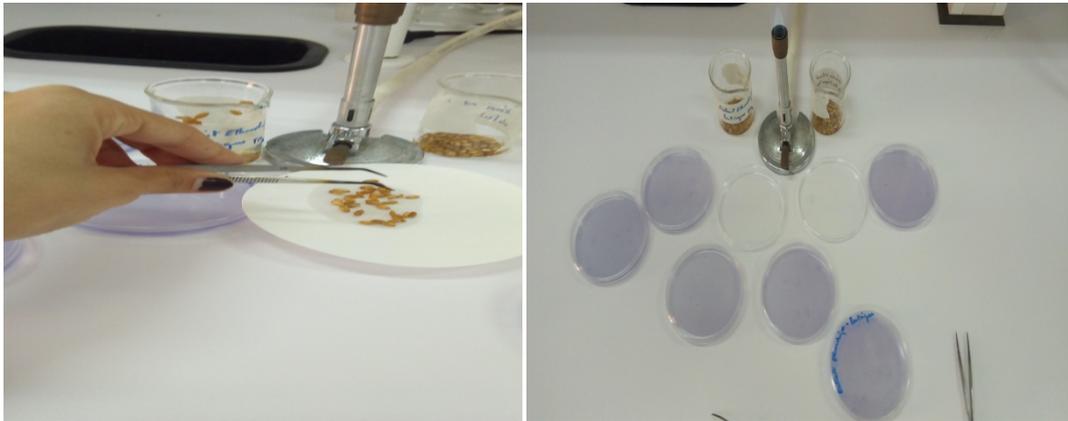
**Dk:** Diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm).

**D0:** Diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm).

**T:** Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage (%).

### I.2.6. Essai de traitement de semences

Pour ce test on a pesé 5g des grains de blé importé à l'aide d'une balance. Dans un bécher on a mis 1ml de l'extrait éthanolique à l'aide d'une pipette à pasteur et on a ajouté de l'eau distillé jusqu'à 5 ml (extrait est donc dilué à 20%). Après cette étape on a trempé les grains dans cette solution pendant 30 min tout en agitant de façon continue ; le témoin est réalisé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait éthanolique par l'éthanol. Après le trempage, les grains de blé sont séchés à l'aide d'un papier Wattman. Ces grains sont ensuite déposés dans des boîtes de pétri contenant le milieu DCPA modifié (Dichloran Chloramphénicol Peptone Agar voir annexe) à l'aide d'une pince à raison de 6 grains par boîte. Les boîtes sont mises à incuber dans un phytotron à 26°C. Les observations sont faites après 4 et 8 jours d'incubation.



**Fig.20.** essai de traitement de semences

Après cette durée on a mesuré le taux de contamination et le taux de germination. Le taux de germination est calculé suivant cette formule :

Sur la base du nombre total des graines utilisées (Nt), le pourcentage des graines en germination (Ni) est calculé selon la relation :

$$\mathbf{Tg = Ni * 100 / Nt}$$

De la même façon, on a calculé le pourcentage de contamination fongique :

Pourcentage de contamination = Nombre de grains contaminés x 100 / Nombre de grains total

### I.2.7. Effet des fongicides et des extrait éthanolique sur les champignons

Pour réaliser cette expérience on utilisé l'extrait éthanolique et deux matière active fongicide qui sont Fludioxonil (solution de 0.75mg/ml) et Tebuconazole (Solution de 0. 0.162 mg/ml).

#### a-Mode opératoire

Des disques de 6 mm de diamètre en papier sont stérilisés et imprégnés à raison de 20 ul de fongicide ou de l'extrait éthanolique à tester par disque. Ensuite ces disques sont déposés à la surface d'un milieu PDA préalablement ensemencé avec une suspension fongique de l'un des cinq champignons (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*, *Penicillium sp*) . . Chaque essai a été répété trois fois. les boites sont ensuite incubés à 26°C pendant 4jours

#### b-Expression des résultats

L'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré (y compris le diamètre de disque de6mm). Le diamètre moyen se la zone d'inhibition est calculé. Les résultats sont exprimés en mm (**Rasooli et al., 2008**).

## Chapitre II : Résultats et discussions

Dans le cadre de la recherche d'alternatives pour les fongicides de synthèse, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude de l'activité antifongique des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. Dans cette partie, on présente les résultats obtenus et on les a discutés.

### II.1. Caractérisation microscopique et macroscopique des champignons étudiés

#### II.1.1. *Aspergillus flavus*

Les colonies incubées à 26°C sur le milieu PDA se développent rapidement, elles sont d'abord blanches, puis jaunes, puis vert lime avec un revers crème ; leur texture est de duveteuses à poudreuses.

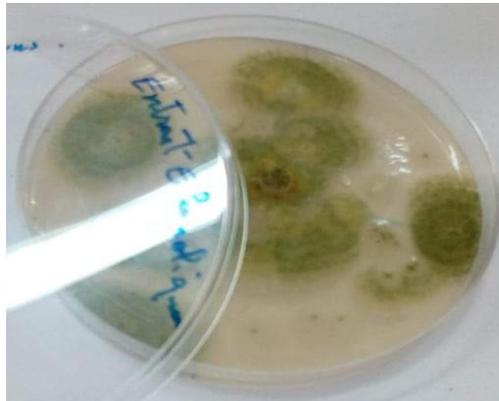


Fig.21. colonies d'*Aspergillus flavus* sur milieu PDA

L'observation microscopique de la souche fongique (*Aspergillus flavus*) permet de distinguer les hyphes qui sont septés et hyalins, les conidiophores sont hyalins et long, les vésicules sont sub-globuleuses, les phialides sont insérées directement sur la vésicule ou portées par des métules. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de couleur verte pâle. Ce qui est en accord avec Tabuc (2008).

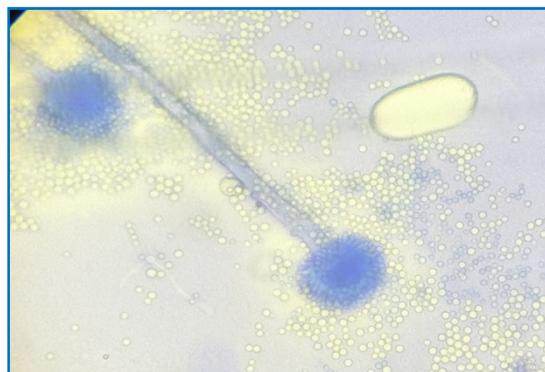


Fig.22. Observation microscopique d'*Aspergillus flavus*

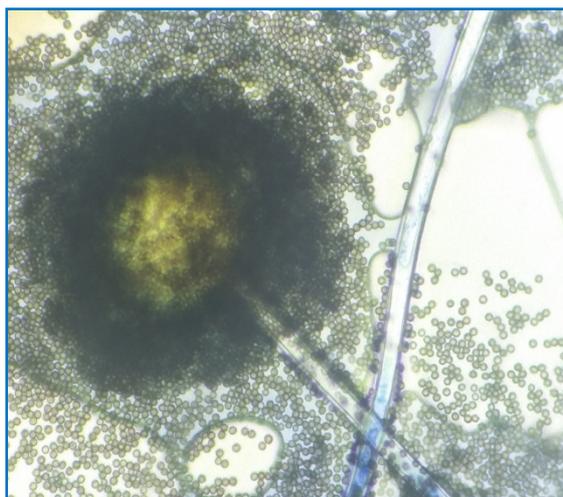
### II.1.2. *Aspergillus niger*

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



**Fig. 23.** Colonies *Aspergillus niger*

L'observation microscopique de la souche fongique (*Aspergillus niger*) mettant en évidence les têtes conidiennes, bisériées, radiées, sont disposées en plusieurs colonnes brunâtres ou noires. Les conidiophores sont lisses, hyalins ou brunâtres dans leur moitié supérieure. Les vésicules sont globuleuses. Les phialides sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables. Les conidies sont habituellement globuleuses, ces observations sont en accord avec celles rapporté par **Tabuc (2008)**



**Fig.24.** Observation microscopique d'*Aspergillus niger* Gx40

### II.1.3. *Penicillium sp*

Les colonies de *Penicillium sp* cultivées dans les milieux 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 de couleur crème.

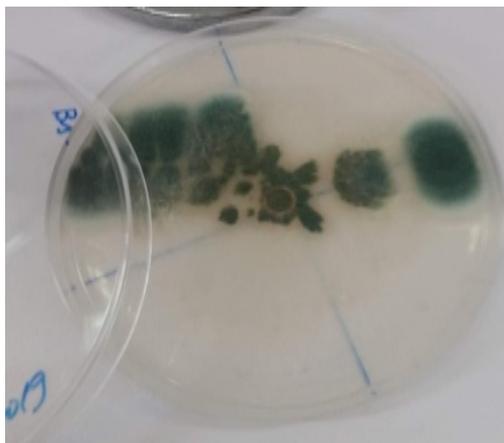


Fig.25. Colonies de *Penicillium sp*

L'observation microscopique de cette souche fongique permet de distinguer des organisations en pinneau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses qui se terminent par un pénicille. Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Les phialides sont par l'intermédiaire de deux rangées successives de métules (*Penicillium triverticillé*). Cette description correspond à la celle du genre *Penicillium* (Pitt, 1979).

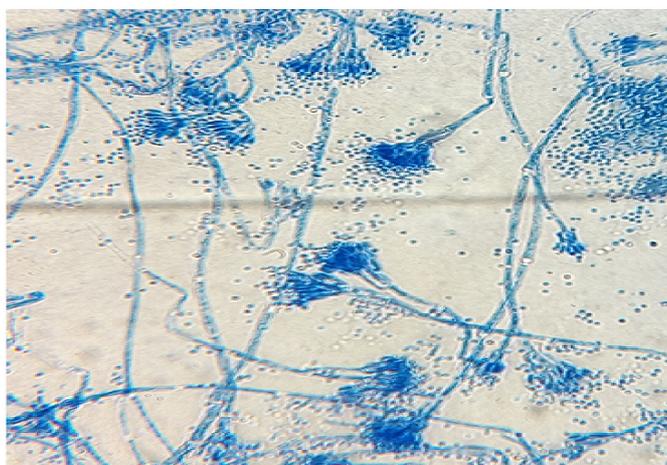


Fig.26. *Penicillium sp* sous microscope optique G ×40

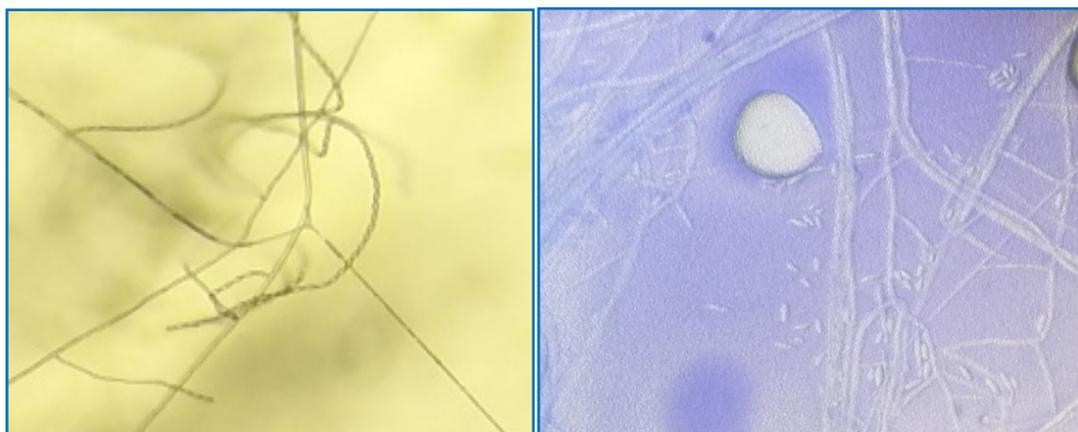
#### II.1.4. *Fusarium verticillioides*

Le *Fusarium verticillioides* est un champignon imparfaits, sur le milieu PDA les colonies mycéliennes sont rasantes et poudreuses présentent généralement une coloration rose, le mycélium présent une couleur blanche rosée ; le revers de la colonie est de couleur rose violée ce champignon à une croissance rapide.



**Fig.27.** colonies de *Fusarium verticillioides*

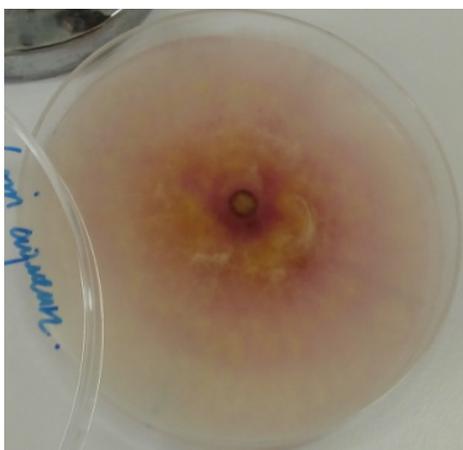
Sous microscope Les conidiophores sont peut ramifiés et produisent sur le milieu PDA micro –conidies abondantes unicellulaires hyalines, ovales, unicellulaires et occasionnellement bicellulaires organisées en fausses têtes et en chainette . Cette espèce est caractérisée par la production des conidies en chainettes (Figure n 28 ). Cette description est en accord avec ce qui en accord avec **Nelson et al (2003)** et Champion (1997).



**Fig.28.** Observation microscopique *Fusarium verticillioides* G x40 (conidies en chainettes à gauche, conidies isolés et organisé en fausse tête à droite)

### II.1.5. *Fusarium graminearum*

Sur milieu PDA la croissance de la souche est rapide (boîte de Petri de 9 cm de diamètre recouverte en 7 jours) Les colonies de cette souche sont caractérisées par un mycélium aérien abondant, les colonies sont de couleur blanc rosé à ocre, le revers des colonies est de couleur rose.



**Fig.29.** colonies de *Fusarium graminearum*

Sous microscope, la souche fongique ne produit pas de microconidie. La production de macroconidies par les conidiophores de type monophialide, ramifiée ou non, est importante. Les macroconidies sont divisées en 6 à 7 loges. Elles sont peu incurvées et leur face dorsale est plus incurvée que leur face ventrale. La cellule basale est distinctement pediforme. La cellule apicale a une forme de crochet . ce qui'est en accord avec la description de **Leslie et Summerell (2006)**.



**Fig.30.** Observation microscopique de macroconidies du *Fusarium graminearum* Gx40

## II.2. Effet des extraits aqueux et éthanolique de *Pistacia lentiscus* sur la croissance radiale des champignons

### II.2.1. Effet des extraits sur *Aspergillus flavus*

Rappelons que l'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne d'*Aspergillus flavus* sur le milieu PDA additionné de des différents extraits aqueux et éthanolique.. Les résultats de l'effet d'extrait aqueux ainsi l'extrait éthanolique sur la cinétique de la croissance radiale d'*Aspergillus flavus* sont présentés dans la (Fig. 31).

En absence des extraits dans le milieu de culture (témoin EA), les colonies atteignent un diamètre de 2,85cm après 3jour d'incubation et 3,81 après 6 jours, elles arrivent à son maximum de croissances 6.1cm le neuvième jour. L'extrait aqueux commence son effet inhibiteur sur la croissance radiale à partir du 3eme jour, cette inhibition persiste jusqu' au 9eme jour. Les taux d'inhibition enregistrés sont entre 15.1 et 34.9% (tableau n 1)

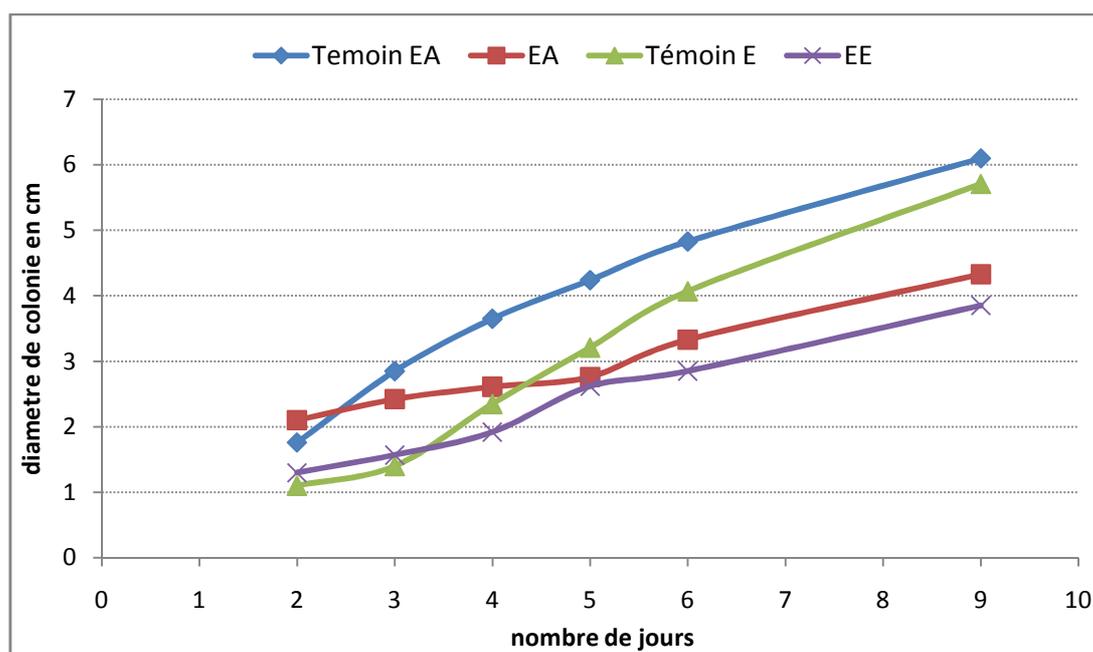


Fig.31. Effet des extraits aqueux sur la croissance d'*Aspergillus flavus*

En ce qui concerne l'extrait éthanolique, les colonies témoins (Témoin E :éthanol à 10%) présentent un diamètre de 5.7cm après 9 jours d'incubation alors que les colonies développées sur le milieu contenant l'extrait éthanolique (EE) présentent un diamètre de 3.85 cm après la même période d'incubation. Ceci correspond à des taux d'inhibition de 18.5 et 32.5%. . Il est

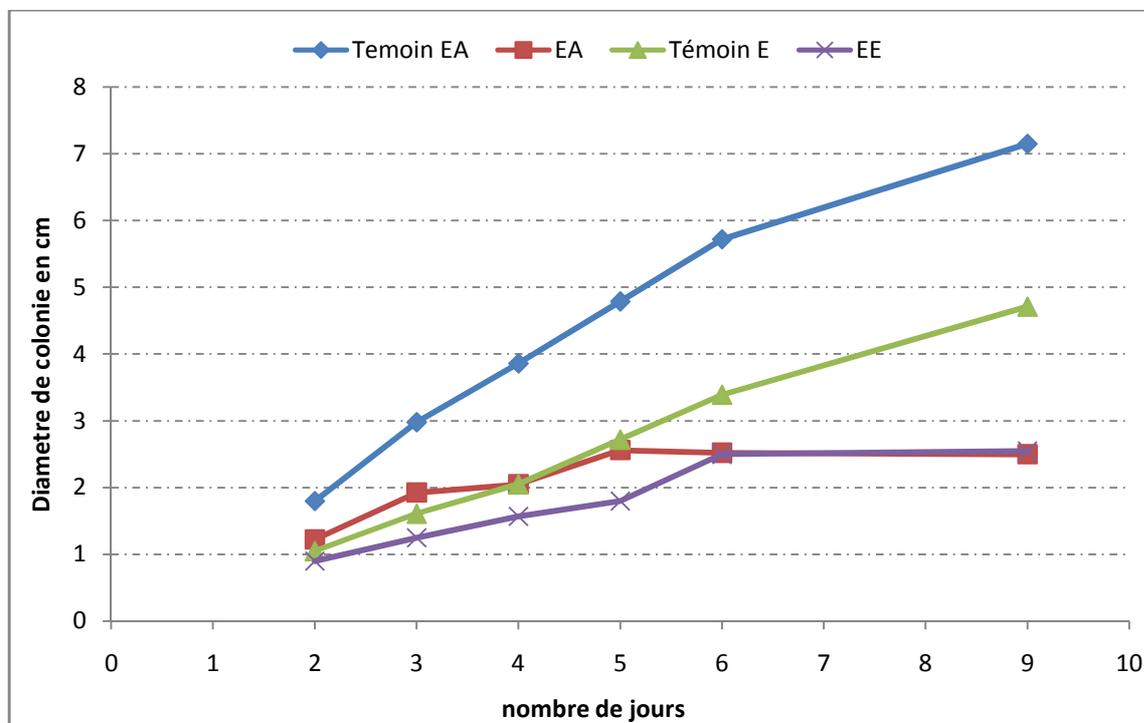
à noter que l'éthanol seul exerce lui aussi un effet inhibiteur sur la croissance radiale de ce champignon.

**Tableau 01** : taux d'inhibition d'*Aspergillus flavus*

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition EA (%)	-19.32	15.09	28.49	34.91	31.06	29.02
Taux d'inhibition EE (%)	-18.18	-12.14	18.30	18.38	29.98	32.57

### II.2.2. Effet des extraits sur *Aspergillus niger*

L'effet des deux extraits sur la croissance radiale d'*Aspergillus niger* est illustré dans la figure n 32 et le tableau n 2. En absence des extraits dans le milieu de culture (témoin EA), la colonie de ce champignon atteint un diamètre de 3.86cm après 4jour d'incubation et elle arrive à son maximum de croissances 7.15cm le neuvième jour. En présence de l'extrait aqueux (EA), on observe une forte inhibition de la croissance radiale toute au long de la période d'incubation (Taux d'inhibition entre 31.94 et 65.03%)



**Fig. 32.** Effet des extraits aqueux sur la croissance d'*Aspergillus niger*

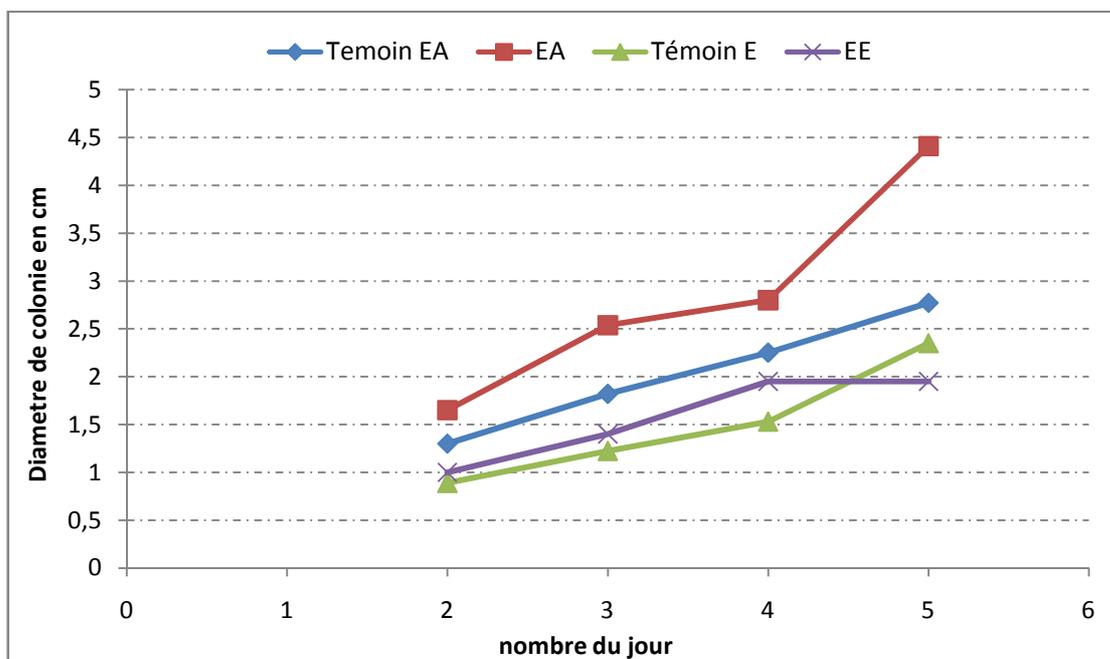
L'extrait éthanolique comparé au Témoin éthanol (TE) exerce aussi une inhibition de la croissance radiale qui s'observe le long de la période d'incubation. Les taux d'inhibition enregistrés sont entre 14.29 et 45.86%. Là aussi, il faut signaler que l'éthanol seul exerce un fort effet inhibiteur sur la croissance radiale de ce champignon.

**Tableau 02 :** taux d'inhibition d'*Aspergillus niger*

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition EA (%)	31.94	35.40	46.89	46.56	55.94	65.03
Taux d'inhibition EE (%)	14.29	22.36	23.41	33.82	26.25	45.86

### II.2.3. Effet des extraits sur *Penicillium sp*

Les résultats de l'effet de différents extraits aqueux sur la cinétique de la croissance mycélienne du *penicillium sp* sont présentés dans la Figure. 33. En l'absence des extraits dans le milieu de culture, la colonie de champignon atteint un diamètre de 2,77 cm dans le 5ème jour après incubation, en présence d'extrait aqueux en remarque un effet positif sur la croissance ; ainsi les colonies développées sur le milieu EA présente un diamètre de 4.41cm durant la même période d'incubation.



**Fig.33.** Effet des extraits aqueux sur la croissance de *Penicillium sp*

La croissance radiale en présence de l'extrait éthanolique est meilleure qu'en présence d'éthanol seul, ce qui montre que l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* n'a aucune action antifongique sur cette souche de *Penicillium sp.* Ceci se traduit par des taux d'inhibition négatif dans le tableau 3. L'éthanol seul exerce l'effet inhibiteur le plus marqué sur la croissance radiale.

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

Jours	2j	3j	4j	5j
Taux d'inhibition				
Taux d'inhibition EA (%)	-26.92	-39.40	-24.44	-59.21
Taux d'inhibition EE (%)	-12.36	-14.29	-27.45	17.02

#### II.2.4. Effet des extraits sur *Fusarium verticillioides*

Les résultats de l'effet d'extraits aqueux et éthanoliques sur la cinétique de la croissance mycélienne du *F. verticillioides* sont présentés dans la Figure n° 34 et le tableau n°4. En l'absence des extraits dans le milieu (témoin EA), la croissance prend un rythme rapide, la colonie de champignon atteint un diamètre de 4,80 cm après 5 jours d'incubation et 5,4 cm après 6 jours, elle arrive à son maximum de croissance (9 cm) aux neuvièmes jours. En présence d'extrait aqueux cette cinétique se trouve modifiée. Ainsi, on observe une bonne activité anti-fongique de l'extrait aqueux, le diamètre de la colonie après 5 jours d'incubation est de 3,59 cm ce qui correspond à un taux d'inhibition de 25.2%, et de 3,6 cm après 6 jours, et de 4,46 cm le neuvième jour

*Fusarium verticillioides* montre une croissance rapide dans le milieu qui contient l'extrait éthanolique, le diamètre maximal 7cm atteint au bout de 9ème jour, donc ce dernier exerce un effet positif sur la croissance radiale au contraire l'éthanol qui exerce un effet inhibiteur sur la croissance de *Fusarium verticillioides*.

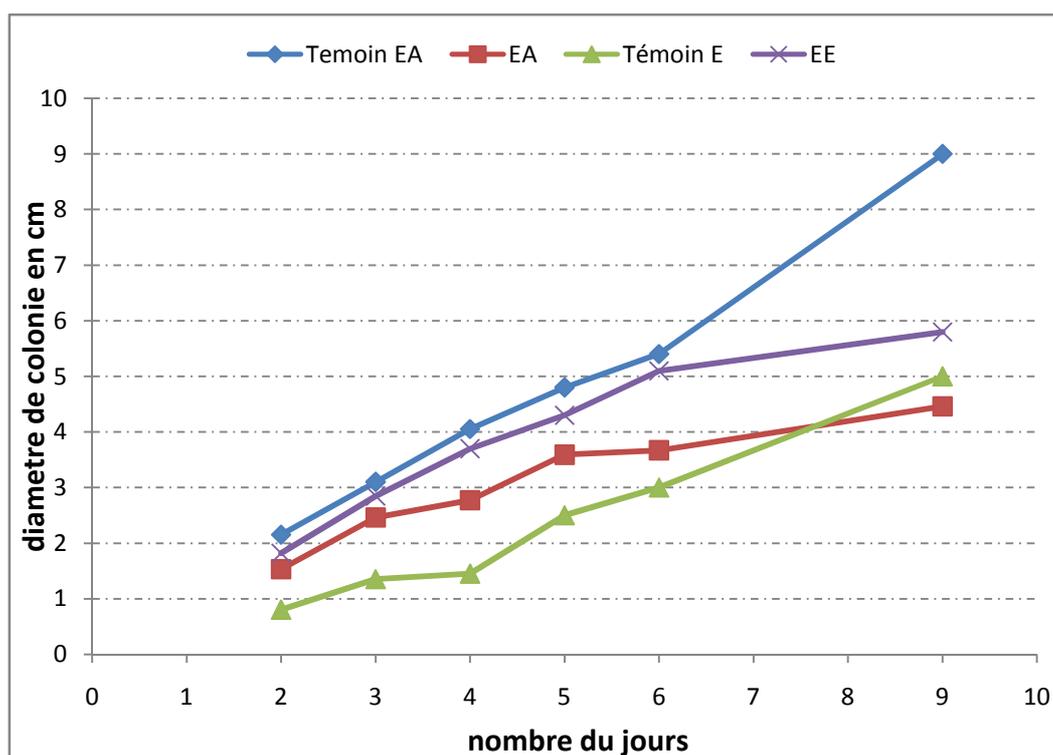


Fig. 34. Effet des extraits aqueux sur la croissance *Fusarium verticillioides*

Tableau 4 : Taux d'inhibition de *F. verticillioides*

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition EA (%)	28.8	20.6	31.6	25.2	32.0	50.4
Taux d'inhibition EE (%)	-127.5	-111.1	-155.2	-72.0	-70.0	-16.0

### II.2.5. Effet des extraits sur *Fusarium graminearum*

Les résultats de l'effet de l'extrait aqueux sur la cinétique de la croissance mycélienne du *F. graminearum* sont présentés dans la Figure n° 35 et le tableau n 5. En l'absence des extraits dans le milieu (témoin EA), la colonie de champignon atteint un diamètre du 7,3 cm après 5 jours d'incubation et elle arrive à son maximum de croissance (9 cm) le 6ème jour. En présence de l'extrait aqueux cette cinétique se trouve modifiée. Ainsi, on observe une activité anti- fongique importante, le diamètre de la a colonie après 5 jours d'incubation est 5,24 cm ce qui correspond à un taux d'inhibition de 28,22% et 5,76 cm après 6 jours ce qui correspond à un taux d'inhibition 36%.

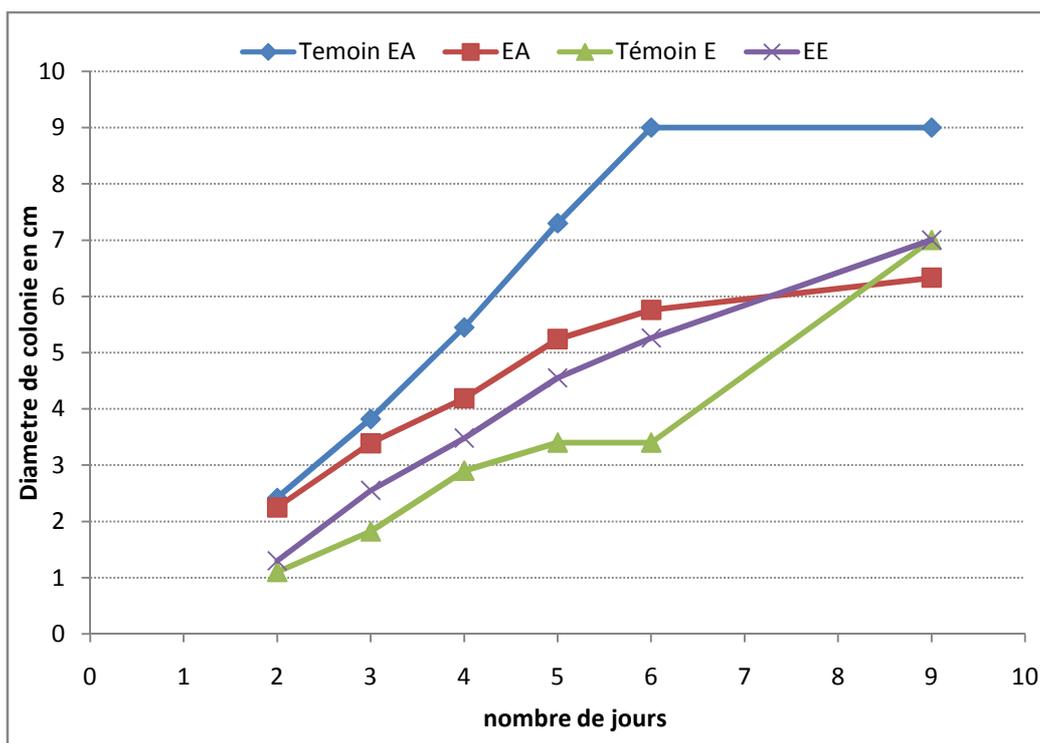


Fig. 35. Effet des extraits aqueux sur la croissance *Fusarium graminearum*

L'extrait éthalonique de *lentisque Pistacia* exerce un effet positif sur la croissance radiale de ce champignon, des valeurs négatives de taux d'inhibition (tableau n5), il est à noter également que l'éthanol dans le milieu témoin (témoin E) exerce un effet positif sur la croissance de *Fusarium graminearum*

Tableau 5 : Taux d'inhibition de *F. graminearum*

Jours	2j	3j	4j	5j	6j	9j
Taux d'inhibition						
Taux d'inhibition EA (%)	7.02	11.26	23.16	28.22	36.00	29.67
Taux d'inhibition EE (%)	-18.18	-40.11	-20.00	-33.82	-54.71	0.00

### II.3. Essai de traitement de semences par l'extrait éthalonique de *Pistacia lentiscus*

Dans cet essai, l'extrait éthalonique dilué dans l'eau distillée à raison de 20% est utilisé comme traitement des grains, le témoin est constitué de l'éthanol dilué à 20% dans l'eau distillée. L'effet de cet extrait sur la germination des grains et sur le taux de contamination fongique sont détaillés dans cette partie du document.

#### II.3.1. Effet de l'extrait éthanolique sur la germination des graines

D'après les résultats obtenus sur la figure n°36, après une période de 4 jours d'incubation, on constate une germination plus importante des graines traitées par l'extrait éthanolique (taux de germination =100%), les graines traitées par éthanol (Témoin E) présentent un taux de germination de 77.7%. Cette différence de nombre de germination explique la présence d'un effet positif des extraits éthanolique de *Pistacia lentiscus* sur la germination. Après 8 jours d'incubation, on remarque toujours que le lot de grains Témoin E présente un retard dans la germination par rapport au lot de grains EE (94%). D'après ces résultats on peut conclure que l'éthanol possède une certaine phytotoxicité sur les grains de blé et qui est levé en présence l'extrait éthanolique.

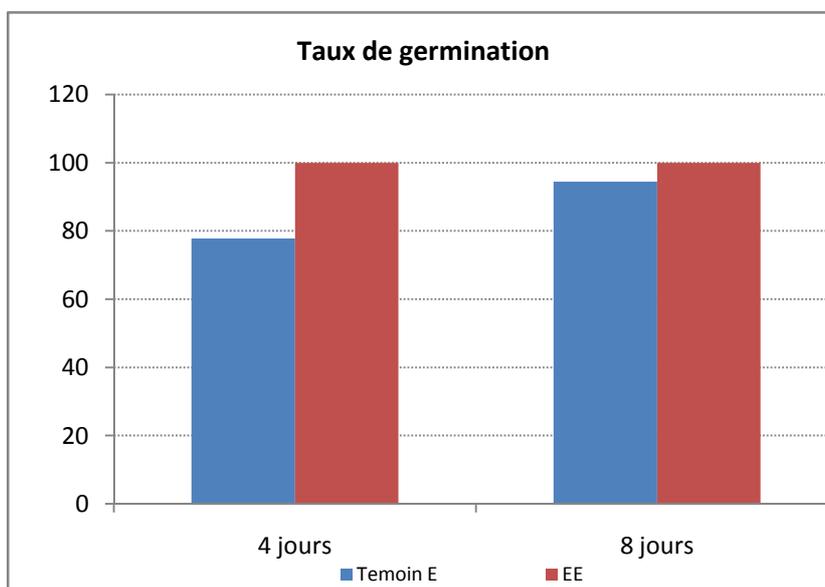


Fig. 36. Effet de l'extrait éthalonique sur la germination des graines

#### II.3.2. Effet de l'extrait éthanolique sur la contamination fongique des graines

L'effet de l'extrait éthalonique sur le taux de contamination des grains est présenté dans la figure n 37. Les résultats montrent que le lot de grains traités par l'éthanol (Témoin E) possède un taux de contamination plus élevé (61%) que celui des grains traités par l'extrait

(44.4%) après 4 jours d'incubation. Alors qu'après 8 jours, le taux de contamination des grains traités par l'extrait (94.4%) est plus élevé que le lot témoin (88.8%) ; Ceci indique que l'effet de l'extrait n'est pas persistant dans le temps, il retarde seulement le développement des contaminants fongiques.

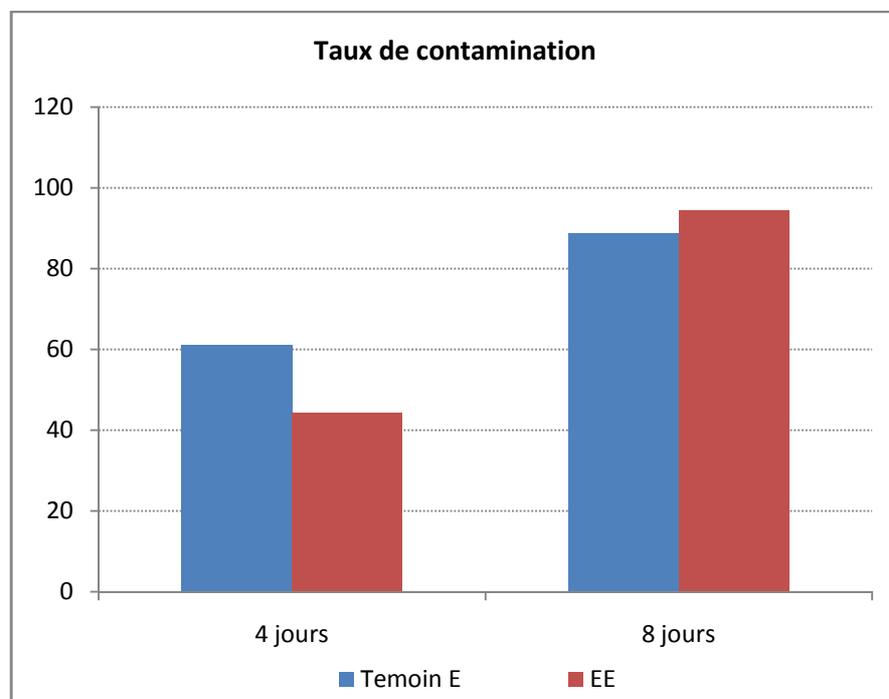


Fig. 37. Effet de l'extrait éthalonique sur la contamination des graines

#### II.4. Evaluation de l'effet de l'extrait éthalonique sur la croissance des champignons par la méthode de diffusion sur milieu gélosé

Dans la méthode de diffusion sur le milieu gélosé, un volume 20ul de l'extrait éthalonique est placé sur un disque en papier et laissé diffuser sur la surface du milieu contenant la suspension fongique. L'effet de l'extrait est comparé avec deux matières actives fongicides (Tebuconazole à la concentration de 0.162 mg/ml et le Fludioxonil à la concentration de 0.75mg/ml) en utilisant la même méthode. Un effet antifongique se traduit par la formation d'un halo translucide autour de disque en papier dont le diamètre est en fonction de l'intensité de l'effet antifongique.

##### II.4.1. Effet de l'extrait éthanolique sur la croissance des champignons

D'après le tableau ci-dessus on remarque qu'il y a des zones d'inhibition de 11.6 et 13.66 mm avec l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* dans le cas d'*A. niger* et *A. flavus*

respectivement. Avec le témoin ethanol on observe de zone d'inhibition de 13mm dans le cas d'*A. flavus* seulement, cela veut dire que cette inhibition est du à l'ethanol et non pas à l'extrait.

Donc on peut conclure que notre extrait à la concentration de 20ul par 20 ml de milieu (volume approximatif du milieu dans la boite de Petri) exerce un effet inhibiteur seulement sur *A.niger*.

**Tableau 6.** Diamètres de zones d'inhibition observés avec l'extrait ethalonique

Champignons	Diamètre de la zone d'inhibition en mm				
Essai	<i>F.verticilioides</i>	<i>F.graminearum</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.flavus</i>	<i>Penicillium sp</i>
Extrait éthanolique	0	0	11.66	13.66	0
Témoin ethanol	0	0	0	13.0	0

#### II.4.2. Effet des fongicides sur la croissance des champignons

Les résultats de l'effet de deux fongicides de synthèse le Tebuconazole et fludioxonil sur la croissance d' *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* sont présentés dans la le tableau n 7 .

On marque que le fludioxonil exerce un effet inhibiteur de la croissance sur tous les champignons , la zone d'inhibition le plus élevé est observé pour *Aspergillus niger*. En ce qui concerne la tebuconazole, on constate un effet inhibiteur sur la croissance de trois champignons seulement (*A. niger*, *A. flavus* et *Fusarium graminearum* ) avec la zone d'inhibition le plus élevé avec *Fusarium graminearum*.

**Tableau 7 :** Diamètres de zones d'inhibition observées avec les deux fongicides

Champignons	Diamètre de la zone d'inhibition en mm				
Essai	<i>F.verticilioides</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	32.6	27.2	29.7

#### II-4-3 Comparaison de l'effet des extraits et l'effet des fongicides de synthèse

Selon les tableaux n° 6 et 7, 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.5. Discussion générale

Les extraits des plantes commencent à avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Les extraits végétaux font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements bactéricide et fongicides insecticides. Les substances bioactives des plantes sont considérées comme des composés non phytotoxiques et potentiellement efficaces contre les champignons pathogènes. Le développement de la sécurité des agents antifongiques pour le contrôle des phytopathogènes dans l'agriculture connaît une place importante dans la recherche (Alleche, 2017).

Dans cette optique nous sommes intéressés à l'étude d'une plante locale qui est *Pistacia lentiscus*.

L'effet des extraits aqueux et éthanolique de *Pistacia lentiscus* sur la croissance de cinq champignons phytopathogènes *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum* a été évalué par la méthode de dilution dans le milieu gélosé dans ce document.

A cet effet, l'extrait aqueux utilisé à une concentration équivalente à 10g de poudre de feuilles *Pistacia lentiscus* par 1 litre de milieu de culture a montré un bon effet inhibiteur de croissance sur *Fusarium verticillioides* (taux d'inhibition entre 20.6 et 50.4%), *Fusarium graminearum* (taux d'inhibition entre 7 et 36%), *Aspergillus niger* (taux d'inhibition entre 31.9 et 65%), *Aspergillus flavus* (taux d'inhibition entre 15.1 et 34.9%). Cependant, il possède un effet stimulateur de croissance sur l'espèce de *Penicillium*.

L'effet stimulateur de croissance exercé par l'extrait aqueux des autres plantes a été rapporté par Bellili et Slimani (2017), qui ont observé un effet similaire exercé sur la croissance de *F. verticillioides* dans le cas de l'extrait de l'ail. Des effets similaires ont été rapportés dans le cas de nombreux extraits aqueux vis-à-vis de la croissance bactérienne : citons le cas de galanga et de gingembre (Benzergouta, 2015), et des roses (Al-Azzay et al., 2011). Cette stimulation de la croissance peut être expliquée par l'existence des éléments nutritifs et des facteurs de croissance favorables pour le développement de ce champignon.

L'étude de l'effet d'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* sur la croissance radiale des cinq champignons a révélé la sensibilité d'*Aspergillus niger* (taux d'inhibition de 14.29 à 45.86%) et *A.flavus* (taux d'inhibition de 18.30 à 32.57%) vis-à-vis de cet extrait.

*Pistacia lentiscus* est une plante reconnue biologiquement active comme agent antimicrobien (Alkhawajah 2007, gagnadeep et al., 2010, benamor et al., 2010, kamal et jawaid, 2010). D'autres ont confirmé cette activité antimicrobienne tels que : Cheng et al. (2008) et ont trouvé que l'activité antifongique et antibactérien, marquée par l'effet particulièrement des acides cinnamiques et caféiques. (Cheng et al., 2008). On peut supposer que l'activité inhibitrice des extraits de *Pistacia lentiscus* est due à la présence des flavonoïdes, des tanins et des terpènes. L'activité antifongique d'extrait aqueux peut être expliquée aussi 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'extrait éthanolique de la plante, montrent une activité antifongique modérée, car l'efficacité d'un composé phénolique dépend de ses propriétés physico-chimiques et de sa structure hétérogène (Basli et al., 2012). Sachant que cette activité antifongique n'est pas générale pour tous les types des moisissures, certains d'entre eux peuvent même utiliser les terpènes en tant que source de carbone, les dégrader ou les transformer, ce qui peut expliquer l'inefficacité de certaines de ces molécules de l'extrait aqueuse et éthanolique vis-à-vis de certains microorganismes (Laib, 2011).

Les résultats obtenus au cours de cette étude concernant l'influence de l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* sur la germination des graines de blé montrent un impacte positif sur la germination et une réduction de la contamination fongique de ces grains.

L'activité antifongique de l'extrait éthanolique *Pistacia lentiscus* a été évaluée également par la méthode de diffusion sur milieu gélosé avec un volume 20ul de l'extrait par boîte de Petri, la détermination des diamètres des zones d'inhibition a montré un effet inhibiteur seulement sur *A. niger*. Ceci peut être expliqué par la faible concentration appliqué pour cet essai.

## Conclusion

Dans le cadre de la recherche dans le domaine de la protection phytosanitaire basés sur l'utilisation de nouvelles formulations d'extraits naturels de plantes contre certaines maladies fongiques et bactériennes, nous nous sommes intéressés à l'étude in vitro de l'effet des extraits de *Pistacia lentiscus* sur cinq champignons phytopathogènes : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*, et nous avons étudié la possibilité d'utiliser l'extrait éthanolique comme traitement des grains de blé.

La méthode de la dilution des extraits dans un milieu de culture solide nous a permis de mettre en évidence un pouvoir antifongique des extraits aqueux contre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*. L'extrait éthanolique s'est révélé efficace seulement contre *A. niger* et *A. flavus*

D'autre part, l'utilisation de l'extrait éthanolique comme traitement de grains de blé a montré un effet positif sur la germination des graines et sur réduction de la contamination fongique

Suite aux résultats positifs obtenus au laboratoire, nous pouvons conclure que les extraits aqueux et éthanolique de *Pistacia lentiscus* sont intéressants et peuvent être utilisés comme lutter contre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum*.

A la fin de cette étude, on peut dire que vu l'existence et la disponibilité de cette plante médicinale au niveau du territoire nationale, l'utilisation de leurs extraits à l'échelle industrielle est possible et permet de mettre à la disposition de l'agriculture des produits efficaces dans la lutte contre des genres du champignon comme *Fusarium* et *Aspergillus* sans d'être néfaste sur la santé humaine et l'environnement.

## Références bibliographiques

A :

**Abdelwahab A., Bouhlel I., Skandrani I., Valenti K., Kadri M., Guiraud P., Steiman R., Mariotte A.M., Ghedira K., Laporte F., Dijoux-Franca M.G., Chekir-Ghedira L., (2007).** Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-Pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*: Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-biological interactions*, 165: 1-13.

**Abdelliche S., Benabdalleh A., (2016) :** L'effet preventif de l'huile de *Pistacia lentiscus* sur l'inflammation induite par l'acide acetique chez les rats de la souche Wistar. Memoire master, Universite des Freres Mentouri Constantine ; 53p

**Abdel-Rahman A., Soad A., (1975).** Mastic as antioxidant. *J Am Oil Chem Soc*, 52, 423.

**Abderrazak, M, Joël, R. , (2007).** La botanique de A à Z. Ed Dunod. Paris. 177 p.

**Ait Said S. (2011).** Stratégie adaptative de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* L. ETP. *atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, des alinites et d'aridités: approche morpho-anatomique, phytochimique et ecophysiologique.

**Alleche N., (2017).** Activité antifongique de quelques extraits d'une plante endémique sur des moisissures du blé stocké. Mémoire de master, université de Constantine ,77 **Warnock dw, (1977).** Detection of *Aspergillus fumigatus* precipitins. a comparison of counter immunoelectrophoresis and double diffusion .J clin pathol 1977 ; 30 ; 388-9

**Aït Youssef, M. , (2006).** Plantes médicinales de cabylie, Paris, pp : 260-262

**Al-Azzauy ,A.A.M., Hana D.B., Abdalah M.E., (2011).** The Use of the Water Extract of *Rosa spp* Petals as a Bacterial Growth Medium, Al-Mustansiriyah Journal for Pharmaceutical Sciences, 10, 84-93.

**Ali-shtayeh M S, Yaghmour R, Faidi, Y, Salem K., Al-Nuri M., (1998).** Antimicrobial Activity of 20 plants used in folkloric medicine in the palestinian area. *J Ethnopharmacol*, 60, 265-271.

**Ali-shtayeh MS, Yaniv Z;, Mahajna J., (2000).** Ethnobotanical survey in the palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 73, 221-232.

**Alkhawajah A, M., (1997).** studies on the antimicrobial activity of juglans regia .Am.J.chinese Med, 2008 (25), 175-180.

**Al-said M, Ageel A, Parmar N, Tarik M., (1986).** Evaluation of mastic a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *J Ethnopharmacol*, 15, 271-278.

**Arab K., Bouchenak O. Yahiaoui K., (2014).** Phytochemical Study and Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Phenolic Compounds of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6:77-91

**Alyafi J. (1979).** Approche systématique et écologie du genre *Pistacia* L. dans la région Méditerranéenne. Thèse de Docteur. Faculté des Sciences et Techniques. St Jérôme, Marseille P 82.

**Assimipoulou A.N., Papageorgiou., V.P.,( 2005).** GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. Chia. *Biomedical Chromatography* 19, 285-311.

**Atmani D., Chaher N., Atmani D., Berboucha M., Debbache N. and Boudaoud H. (2009).** Flavonoids in Human Health: From Structure to Biological Activity. *Current Nutrition & Food Science*, 5: 225-237.

## **B :**

**Baba-Aïssa F. (2000),** Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie

**Balan K.V., Demetzos C., Prince J., Dimas K., Cladaras M., Han Z., Wyche J.H., Pantazis P., (2005).** Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product. Chios mastic gum. *In Vivo* 19, 93-102.

**Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E., Ibijbijen, J, Nassiri L. (2014):** Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences* 86:7966- 797

**Bampouli A, Kyriakopoulou K, Papaefstathiou G, Louli V, Aligiannis N, Magoulas K, Krokida M (2015).** Evaluation of total antioxidant potential of *Pistacia lentiscus* var. chia leaves extracts using UHPLC–HRMS. *Journal of Food Engineering*, 167: 25-31.

**Baratto Maria C, M Tattinib, C Galardic, P Pinellie, A Romanic, F Visiolid, R Basosia , R Pogni (2003).** Antioxydant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *P. lentiscus* Leaves. *Free Radic Res*, 37 (4), 405–412.

**Basli A .,chibane M ., madani k., et oukil n ., (2012) ,** activité antibactérienne des polyphénols extrait d'une plantes médicinale de la flore d'algerie : *origanum glandulosum* desf .phytothérapie ,10 :2 -9.

**Benamor h** ,rached w , akpagona k , koumaglo k ,et bouchet . ;( **2002**), activité antifongique d'une espece en voie de disparition de la flor togolaise conyzaaegyptiaee.cité par Akrom s 2006, mémoire de magister ,université de constantine : 58 .

**Belhadj S. (2000).** Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation. Centre Universitaire de Djelfa, Algérie, p 108.

**Belkhodja, Y. K. (2014).**Contribution à la description anatomique du phytomère chez le genre *Pistacia* de la wilaya de Tlemcen. Mémoire de master, université Abou berk belkaid-Tlemcen, p 35

**Bellakhdar J. ; (2003).** Le Maghreb à travers ses plantes : plantes, productions Végétales et traditions au Maghreb. Editions le Fennec, CasaBlanca.

**Belfadel f., Z. (2009).** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*-Caractéristiques Physicochimiques et effets biologiques. Mémoire présentée pour obtenir le diplôme de Magistère en chimie organique, Université Constantine 1, p 139

**Belfadel, F.Z Bahri, L., Belkheri A., Bensegueni A. (2009).** Dermal wound healing effect of *Pistacia lentiscus* fruit's fatty oil. *Pharmacognosy Research* ,1(2):66-71

**Benamor h** ,rached w , akpagona k , koumaglo k ,et bouchet p( **2002** ) , activité antifongique d'une espece en voie de disparition de la flor togolaise conyzaaegyptiaee.cité par Akrom s 2006 ,mémoire de magister ,université de constantine : 58 .

**Ben Douissa F., Hayder N., Chekir-Ghedira L., Hammami M., Ghedira K., Mariotte A.M. and Dijoux-Franca M.G. (2005).** New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour and fragrance journal*, **20**: 410-414.

**Bensaci. M. Et Hadj Mokhnache. M. ; (2015)**, Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus*, thèse de master, Université de Frères Mentouri Constantine.

**Benzeggouta, N. ,( 2015)**. Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse de Doctorat, université de Mentouri-Constantine, 96p.

**Bego ph, (2003)**. Aromathérapie pratique et familial. Ed : MBD. France

**Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK.; (2008)**. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(2): 22-28.5.

**Berboucha M., Ayouni K., Atmani D., Atmani D. and Benboubetra M. (2010)**. Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Journal of Medicinal Food*, **13**: 1-9.

**Boukeloua, A. ;(2009)**. Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique a base d'huile de *Pistacia lentiscus*.(Anacardiaceae). Thèse de magister en biologie, , université Mentouri – constantine, p 1-67.

**bahorun, t. ;(1997)**. substances naturelles actives.la flore mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. food and agricultural research council mauritias, p83-94.

**Bonzi, s. ; (2007)**. Efficacité de quatre plantes contre les champignons transmis par les semences de sorgho (*Sorghom bicolor* (I.) Moench) : Cas particulier de *Colletotrichum graminicola* (CES.) Wilson et *Phoma sorghina* (SACc.) Boerema, Dorenhosh et Van kesteren. Diplôme d'études approfondies en gestion intégrées des ressources naturelles. Burkina Faso : Université polytechnique de Bobo Dioulasso, 62 p.

**Boudjouref m. ;(2011)**- Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p

**Boubakar A, Kayouli C, Buldgen A (2004).** Composition chimique et teneur en composés phénoliques des espèces arbustives du Nord-Ouest de la Tunisie. Cahiers Options Méditerranée, 62 : 315-317.

**Boubekri, A (2014).**-Approche immunohistochimique de l'ovaire du rat des sables du sud-ouest algérien, en période de reproduction. Rev. Fr. Histotech., 17, 21-29. <http://www.afhisto.com>

**Boullard, B., (2001).** Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Réalités et Croyance, Ed: Estem, p414, 415.

**Bouras, a., benhamza, S (2013).** Impact de deux extraits végétaux, le basilic *Ocimum basilicum* et l'ail *Allium sativum*, dans la lutte contre la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* sur six variété de tomate *Lycopersicum esculentum* sous abris plastique à L'I.T.D.A.S. de Hassi ben Abdellah-Ouargla. Master académique. Ouergla : Université Kasdi Merbah, 93 p

**Bourgaud.,(2013) :** Les questions et travaux de recherche nécessaires au développement de la filière ; Exemple de l'apport des sciences cognitives à la production/valorisation des métabolites secondaires d'intérêt, Unité Mixte de Recherche 1121 Université de Lorraine-INRA, Nancy-Colmar), Fondateur de la société Plant Advanced Technologies, Nancy.

**Brunton LL., (2002)** Cyclic nucleotide research -- still expanding after half a Century. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3:710–708.

**Bruneton J., (1993).** -Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème Édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

**Bruneton J., 1999.** -Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Ed 3ème édition, Tec et Doc (ED) Paris, 658-666.

**Bruneton j., 2009.** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition de médicales internationales (Tec et Doc), Paris: 1288.

**C :**

**Catier O, Roux D.,(2007).** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3ème édition, Ed: Wolters Kluwer, p. 9

**Champion R., 1997.** Identification des champignons transmis par les semences. Techniques et pratiques, édition INRA, France, 398p.

**Chaumont J.P. ; Cieur CH. ; Millet J. ; Morel J.M. ; Sitruk D.R. ; Tallec D (2008).** : Conseil aromathérapie, 2ème Ed, pro-officina, France, p15.

**Chevallier A. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse., 293p.

**Cheng S.S., Liu J.Y., Chang E.H. et Chang S.T., (2008)**-Antifungal activity of cinnam aldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology*. 99 (11): 5145-5149.

**Correia A. et al., (2013).** Microscopic analysis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) embryonic development before and after treatment with azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin. *J. Econ. Entomol.*, **106**(2), 747-755.

**Coste H., (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Second Tirage, Paris - Librairie des Sciences et des Arts

## **D:**

**Dahmoune F, Spigno G, Moussi K, Remini H, Cherbal A, Madani K (2014).** *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 61: 31-40.

**Dean, R., Van Kan, J.A., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., (2012).** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13, 414e430.

**Dedoussis, G, Kaliora A, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos N and andrikopoulos N K (2004).** Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and Down regulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis*, 174, 293-303.

**Dhifi W., Jelali N., Chaabani E., Beji M., Fatnassi S., Omri S. et Mnif W., (2013).** Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. African Journal of Agricultural Research, 8(16) : 1395-1400.

**Delille L., 2007** - Les plantes médicinales d'Algérie. Éd.BERTI, Alger, 122 p.

**Djerroumi, A, Nacef, M ., 2004.** 100 plantes médicinales d'Algérie. Palais du livre , 23p

**Dogan Y., Baslar S., Aydin H.et Mert H.H., (2003).**A study of the soil-plant Interactions of *Pistacia lentiscus* L.distributed in the westem Anatolien part of Turkey.Acta Bot.Croat., P62, 73-88

**[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](http://www.inpv.edu.dz/institut/wp-content/uploads/2016/03/INDEX_PRODUIITS_PHYTO_2015.pdf) .Consulté le 20janvier 2019

#### **E :**

**El Hamrouni A. (2001).** Projet de conservation des Zones Humides Littorales et des Ecosystèmes côtiers du Cap-Bon.

**Evans W.C. (2002)** Trease and Evans Pharmacognosy. Saunders, Edinburgh, UK. 275p.

#### **F:**

**Faller A. L. K., Fialho E. (2010).** Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional Plantfoods. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**: 561–568

**Feidemann J., (2005).** World Spices Plants: Economic Usage, Botany, TaxonomySpringer Verlag, Berlin. Heidelberg, European Union, p 196

#### **G :**

**Gagandeep c, sandeep g, priyank p., (2010),** lawsonia inermis Linnaeus: a phytopharmacological review . international journal of pharmaceutical science and drug reseaech 2010 , 2(2):91-98.ISS 0975-248 .

**Gbogbo k A,dourma M,akpavi s,batawila k,Akpagana k .,(2013):** Evaluation de l'activités antifongique de ficus platyphylla del (moraceae) .Européen scientifique journal,9(33),252-260

**Ghabrier Y. (2010)** .Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France) : 165.by différent solvents. J. Food Chem. p. 509-512.

**Ghalem B.R., Benhassaini H. (2007)**. Etude des phytostérols et des acides gras de *Pistachia atlantica*. Afrique Science. 3(3) 405 – 412

**Goetz P., Busser C. (2007)** La Phytocosmétologie Thérapeutique. Springer-Verlag France, Paris. p53-54

**Goetz P. (2004)** Plaidoyer pour la tisane médicinale, Phytothérapie, 1, 8-15.

**Geordani, Hadeif, kaloustian, (2008)** :Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants .Fitotirpia

**Greche H,Haggagi N,(2000)**:Chimécal composition and anti funagale propeties of the essential oil of algerien aromatique plant.FILOT2RAPIA ,79.199-2003p

**Guignard J.L., (1996)**- Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p

**Guignard, J.L., Dupont, F., (2004)**. Botanique: Systématique moléculaire, 13emeédition. Paris: Mass

## **H :**

**Handa S.S. (2008)** an Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *In*: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) Extraction Technologiesfor Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology,Trieste, Italy. p 21-25

**Hans W. Koth. (2007)**. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre. p 242.

**Hemingway, S. R. and Phillipson, J. D., (1980)** Alkaloids of the Rubiaceae. In : J.D. Phillipson and M.H. Zenk (Eds), Indome and Biogenetically Related Alkaloids.Academic Press, London, pp. 62-90

**Hopkins, w. g. (2003)**. Physiologie végétale. 2éme édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris, Pp: 138-139-140 -267- 278-514.

**Huwez F U and Al-Habbal M J (1986)**. Mastic in the treatment of benin gastric ulcers. *Gastroenterologia Japonica*, 21, 273-274.

**I :**

**Iserin p., masson m., restellini j. p., ybert e., de laage de meus a, moulard f., zha e., de la roque r., de la roque o., vican p., deesalle -feat t., biaujeaud m., ringuet j., bloth j., botrel A.,( 2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335

**ISO 659, (1988).** Graines oléagineuses- détermination de la teneur en huile. International organisation for Standardisation (ISO). Geneva

**J:**

**Janakat S and Al-Merie H., (2002).** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *J Ethnopharmacol*, 83, 135-138

**K :**

**Kamal m, jawaid t., (2010),** pharmacologie activité of lawsonia inermis l :a review ,international journal of biomedical research . *IJBR*,1(2)(2010)62-68 .

**Kawashty.,( 2000)**Antioxidant and antimicrobialactivities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extra ctsatlantica extracts. *African J of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2): p 22-28.

**Kivaçak and Akay S., (2005).** Quantitative Determination Of alpha–Tocopherol In *Pistacia Lentiscus*, *Pistacia Lentiscus* Var. Chia, and *Pistacia Terebinthus* by Tlc-Densitometry and Colorimetry. *Fitoterapia*, 76, 62–66.

**Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro, Dennis J Bobilya (2002).** Flavonoid Antioxidants:chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*, 13, 572–584

**Kesselmeier, J., and Staudt, M., (1999).** Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry* 33, 23-88.

**Kokwaro. J. O., (1986).** Anacardiaceae. In: Polhill, R. M. (Editor), 1986. Flora of Tropical East Africa.

**Kordali S, Cakir A, Zengin H and Duru M (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in turkey. *Fitoterapia*, 74, 164-167.

**Kraft K., Hobbs C.** (2004) Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York.  
P1

**L :**

**Larousse Médical., (2006).** Paris: Larousse

**Lev, E., Amar, Z., (2000).** Ethnopharmacological survey of traditional drugs Sold in Israel at the end of the 20th century. *Journal of Ethnopharmacology* 72, 191-205

**Longo L., Scardino A. and Vasapollo G. (2007).** Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrine* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(3): 360-364

**Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G., (2002).** Botanique 3ème Ed : Technique et Documentation. Lavoisier .Paris. 211 p.

**Leslie j.f., summerell b.a., (2006).** The *Fusarium* laboratory Manual. Blackwell publishing, Ames, USA.388 p.

**M :**

**Maameri. (2014).** *Pistacia lentiscus L.:Evaluation pharmaco toxicologique.* Thèse en vue del'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences, Option pharmacologie Toxicologie, Université constantine 1, p.4-90

**Magiatis P,** Melliou E, Skaltsounis A, Chinou I B and Mitaku S (1999). Chemical Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var.chia. *Planta Med*, 65, 749-751.

**Marone P,** Bono, Leone, Bona, Carretto and Perversi (2001). Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *Journal of Chemotherapy*, 13, 611-614.

**Marouf, A., Reynaud, J. (2007).** La botanique de A à Z .DUNOD, paris, p : 9-20-176-177.

**Maumené C. (2008).** Un fongicide à la loupe : le mode d'action des triazole. *Perspectives agricoles* n° 345 :60-61

**Mehenni C., Atmani-Kilani D., Dumarcay S., Perrin D., Gérardin P. and Atmani D (2016).** Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of food and drug analysis*, **24**: 653- 669.

**Mezni F., Slama A., Ksouri R., Hamdaoui B., Khouja M.L. and Khaldi A. (2018).** Phenolic profile and effect of growing area on *Pistacia lentiscus* seed oil. *Food Chemistry*, **257**: 206-210.

**Mezni F, Aouadhi C, Khouja ML, Khaldi A, Maaroufi A., (2015).** In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oil and phenolic extract. *Natural product research*, **29**(6): 565-570.

**More D. et White J., (2005).** Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, p 797.

**Mitcheh A., (1986).** Tous les Arbres de nos Forêts, édition Bordas, p 319

**N :**

**Nabil Bousbia., (2011)** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Autre. Université d'Avignon, Français.

**Nelson PE, Toussoun TA, Marasas W F O., (1983) :** *Fusarium species-* an illustrated manual for identification. The pennsylvania state university press; University Park Pennsylvania.USA. 293 p.

**Newman d.J. Cragg G.M., (2012) –** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-33559

**O :**

**OSBOURN A. E., LANZOTTI V., (2009).** Plant-derived Naturels Products synthesis, function and application. Édition SPRINGER, New York: 11-35.

**Ouelmouhoub, S., (2005).** Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie).

**O'donnell k. ward tj., geiser dm., corby kistler h. et aoki t.,( 2004).** Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of

nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. *Fungal Genetics and Biology*. 41, (6). 600– 623. p.

**P :**

**Paraschos S, Magiatis P, Mitaku S, Petraki K, Kalioropoulos A, Maragoudakis P, Mentis A, Sgouras and**

**Palevitch D and Yaniv Z (2000).** Medicinal plants of the Holy Land. *Modan Publishing House*, 9-88.

**Skaltsounis (2007).** In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 51, 551-559.

**Pell, S.K., (2004).** Molecular systematics of the cashew family (*Anacardiaceae*).Thèse de Doctorat. St

**Polesse. , j-M., (2010).** Arbre & Arbuste de Méditerranée .Ed : Ed sud, p .85 .

**Prichard A J N., (2004).** The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research*, 18, 696-699.

**Q :**

**Quezel P. et Santa S., (1962-1993) -** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Paris C.N.R.S., 2 volumes. 1170p. désertiques *méridionales*. *Editions du Centre National de la recherche scientifique*. Tome-t-II.

**R :**

**Remila S., Atmani-Kilani D., Delemasure S., Connat J.L., Azib L., Richard T. and Atmani D., (2015).** Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacialentiscus* (*Anacardiaceae*) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3): 274-286.

**Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N. and Tattini M., (2002).** Identification and quantification of galloyls derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, **13**: 79-86.

**Rasooli I. and Abyaneh M.R.,( 2004).** Inhibitory effect of Thyme oils on growth and afltoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 15, pp. 479-483.

**Rossi V., Scandolara A., Battilani P.,( 2008).** Effect of environmental conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. *European Journal of Plant Pathology* 123:159-169.

**ROUX D., CATIER O.,(2007)-** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 p.

## S :

**Saadoun S.N., (2002).** - Types stomatiques du genre *Pistacia*: *Pistacia atlantica* Desf.ssp. *Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. p369.

**Sanago r., (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 5

**Sarni-Manchado .P, Cheynier V., (2006)** les polyphénols en agroalimentaire .collection sciences & techniques agroalimentaires. P 398

**Shakeel A.J. (1999)** L'Industrie du Parfum dans la Civilisation Islamique, *Afaq Magazine*, 25/26, 153-167. (Article en Arabe)

**Stéphanie m l, aromatalogue ., (2014).** Le lentisque des vertus multiples.

**Srivastava M. & Raizada R., 2007).** Lack of toxic effect of technical azadirachtin during postnatal development of rats. *Food Chem. Toxicol.*, **45**(3), 465-471

**Schmutterer H., 1990.** Properties and potentials of natural pesticides from neem tree. *Annu. Rev. Entomol.*, **35**, 271-298.

**Spigno, G., De Faveri, D.M., (2007).** Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*. 78:793-801.

## T:

**Tabuti, j.r.s., Iye, k.a., Dhillon, s.s., (2003).** Journal of ethnopharmacology. traditional herbal drugs of bulamogi, Uganda: plants, use and administration ethnopharmacology, vol.88, pp. 19-44.

**Trabelsi H., Cherif O. A., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., Boukhchina S. et Mayer P. (2012).** Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. Journal of Food Chemistry, 131 : 434-440.

**Triantafyllou, A.; Chaviaras, N.; Sergentanis, T. N.; Protopapa, E. and Tsaknis, J. (2007).** Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 43–49.

**Torkelson A. R., (1996).** The Cross Name Index to Medicinal Plants, CRC

**Tutin, 1968** histoire et renouveau des plantes médicinales. Ed : Albein Michel. Paris : p 300-303.

**V :**

**Van den Berg K.J., Van der Horst J., Boon J.J. and Sudmeijer O. (1998).** Cis-1,4- poly- $\beta$ -myrcene; the structure of the polymeric fraction of mastic resin (*Pistacia lentiscus* L.) Elucidated. *Tetrahedron letters*, **39**: 2645-2648.

**Vaya J. and Mahmood S., (2006).** Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *Biofactors*, **28**: 169-175.

**Villar A, Sanz M J and Payo M., (1987).** Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L. *Int JCrude Drug Res*, 25, 1-3.

**W :**

**Walker A.F., (2006).** Herbal medicine: the science of art. Proceedings of the Nutrition society, 65, pp. 145-152

**William G. H:** Physiologie végétale, Éditeur, De Boeck Supérieur, p282, (2003).

**Wichtl, M. et Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques : Tradition pratique officinal science et thérapeutique .2ème Ed. Tec &Doc .Paris, p: 35-38.

**Wilkinson G M., (2006 ):**Methods for testing the antimicrobial activity of chapitre 4p.157-165.and owais m.Moden pytomedicine,turning medicinal plant into drugs.Ed.Wiley –vch verlag gmbh.weinheim 405.

**Y:**

**Yasilada E, Honda G, Sezik E,** Tabata M, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y and Takalshi Y (1995). Traditional medicine in Turkey. V: Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *J Ethnopharmacol*, 46, 133-152.

**Z :**

**ZIEGLER J., FACCHINI P.J., (2008)-** Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769

## Annexe n°1 : le matériel utilisé pour l'extraction

<b>verreries</b>	<b>Les appareils utilisés</b>	<b>Les produits</b>
Eprouvette graduée	Une hotte	Eau distillée
Flacon en verre	Une étuve.	L'eau de javel
Erlenmeyer	Plaque chauffante.	Bleu de coton
Boîtes de pétrie	Autoclave.	Silica gel
Papier aluminium.	Balance de précision.	
Étiquettes.	Un bec bunsen.	
Disque en papier.	soxlet	
Spatule.		
Pince		
Entonnoir		
Bécher		
Étiquettes.		
Pipette de pasteur		
Eppendorfs...		
Micropipettes		

## **Annexe 02 :**

Préparation de bleu de coton :

Les produits utilisés pour la préparation :

-acide acétique

-Bleu de mythéle

-SDS

-Eau distillé

## **Annexe 3 : Milieux de culture utilisée**

### **Milieu PDA :**

La composition du milieu est comme suit :

-300g de pomme de terre.

-20g de Glucose.

-20g de Géllose.

-1l d'eau distillée.

### **Milieu DCPA**

La composition de milieu DCPA est comme suit :

-15g de peptone bactériologique

-1g de  $K_2HPO_4$

-0,5g de  $MgSO_4 \cdot H_2O$

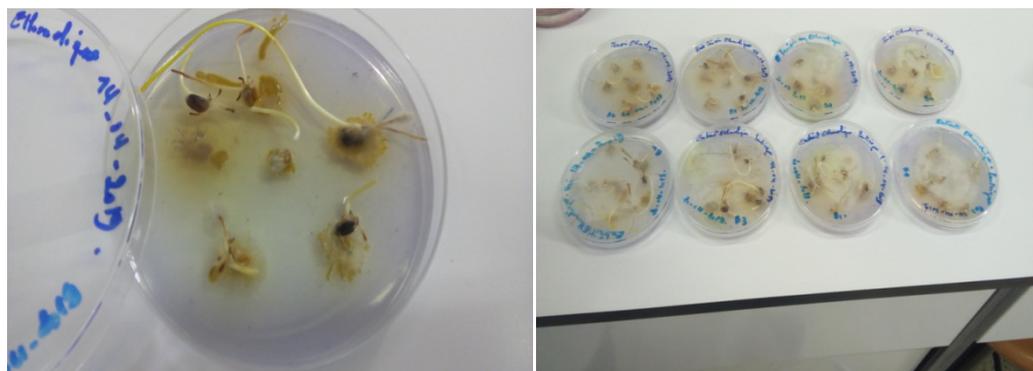
-1ml de Crystal violet

-15 g d'agar

-1l de  $H_2O$  distillé

## **Annexe 4 :**

Résultat d'essai de traitement de semences :



## L'étude de l'effet fongicide des extraits aqueux et éthanolique de *Pistacia lentiscus L*

### Résumé

La région de Bouira dispose d'une flore spontanée très diversifiée dont plusieurs espèces ont démontré leur intérêt comme antioxydant et pour lutter efficacement contre les bio-agresseurs des cultures avec un minimum d'impact négatif sur l'environnement. L'actuelle étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet antifongique des extraits végétaux obtenus par les feuilles *Pistacia lentiscus* vis-à-vis de cinq espèces de champignons phytopathogènes : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides* et *Fusarium graminearum*.

La méthode de la dilution des extraits dans le milieu de culture solide a mis en évidence un bon effet inhibiteur de l'extrait aqueux sur la croissance de 4 champignons et qui sont *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. L'étude de l'effet de l'extrait éthanolique a révélé la sensibilité d'*Aspergillus niger* et *A. flavus* vis-à-vis de cet extrait. L'essai de traitement de grains de blé avec l'extrait éthanolique a montré un impact positif sur la germination et une réduction de la contamination fongique de ces grains.

**Mot clés:** *Pistacia lentiscus*, activité antifongique, extrait éthanolique, extrait aqueux.

دراسة تأثير المضاد للفطريات للمستخلصات المائية و الايثانولية لـ *Pistacia lentiscus L*

### ملخص

تتمتع منطقة البويرة بنباتات عفوية متنوعة للغاية أظهرت العديد من الأنواع اهتمامها بها كمضاد للأكسدة وللمحاربة الفعالة لمحاصيل المعتدين الحيويين مع الحد الأدنى من التأثير السلبي على البيئة. تبحث هذه الدراسة في تقييم التأثير المضاد للفطريات من المستخلصات النباتية التي حصلت عليها أوراق الضرو *lentiscus* على خمسة أنواع من الفطريات المسببة للأمراض النباتية *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* و *Vericillioides fusarium* و *Penicillium sp*

أظهرت طريقة تخفيف المستخلصات في وسط المستنبتات الصلبة تأثيراً مثبطاً جيداً للمستخلص المائي على نمو 4 الفطريات وهي فطر *Fusarium verticillioides* و *Fusarium graminearum* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* كشفت دراسة تأثير مستخلص الإيثانول عن حساسية *Aspergillus niger* و *A. flavus* لهذا المستخلص.

أظهر اختبار معالجة حبوب القمح باستخدام المستخلص الإيثانولي تأثيراً إيجابياً على الإنبات وتقليل التلوث الفطري لهذه الحبوب.

**الكلمات المفتاحية:** الفستق الحلقي، النشاط المضاد للفطريات، المستخلص الإيثانولي، المستخلص المائي

## Study of fungicide effect of aqueous and ethanolic extracts of *Pistacia lentiscus L*

### Abstract

The region of Bouira has a very diversified spontaneous flora of which several species have demonstrated their interest as antioxidants and to effectively control crop bio-aggressors with a minimum negative impact on the environment. The current study is interested in evaluating the antifungal effect of plant extracts obtained by *Pistacia lentiscus* leaves on five species of phytopathogenic fungi: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp*, *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum*.

The method of diluting the extracts in solid culture medium showed a good inhibitory effect of the aqueous extract on the growth of 4 fungi, which are *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. The study of the effect of the ethanolic extract revealed the sensitivity of *Aspergillus niger* and *A. flavus* to this extract. The test of treating wheat grains with ethanolic extract showed a positive impact on germination and a reduction in fungal contamination of these grains.

**Keywords:** *Pistacia lentiscus*, antifungal activity, ethanolic extract, aqueous extract.