

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**  
**FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER**  
**ACADEMIQUE EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**Spécialité : Phytopharmacie appliquée**

**Thème**

**Activité antimicrobienne des extraits aqueux de deux plantes  
médicinales: *Phlomis crinita* L. (Lamiacées) & *Carthamus  
caeruleus* L. (Astéracées).**

**FETTAH Abderrahmane**

Devant le jury composé de :

Jury : Présidente	Benrima A.	Pr.	USD-Blida
Examineurs	Trabelsi – Baba Aissa S.	MAA	USD-Blida
	Mohamed-Mahmoud F.	MAA	USD-Blida
Promotrice	Krimi Z.	Pr.	USD-Blida

**Année Universitaire 2010/2011.**

## **Activité antimicrobienne des extraits aqueux de deux plantes médicinales: *Phlomis crinita* L. (Lamiacées) & *Carthamus caeruleus* L. (Astéracées).**

Résumé : Cette étude a pour objectifs d'évaluer l'efficacité antimicrobienne *in vitro* d'extraits aqueux de deux espèces médicinales ; *Phlomis crinita* & *Carthamus caeruleus*.

L'activité antibactérienne des extraits aqueux a été révélée positive sur une gamme de souches bactériennes phytopathogènes et pathogènes à l'homme ; *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* et *Ralstonia solanacearum* pour le groupe des Gram négatif, et *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*, *Bacillus amylofaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* et *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Beticola*, pour les Gram positif. Les résultats varient selon la partie du végétal utilisée, la dose appliquée, ainsi que l'agent pathogène.

L'activité antifongique évaluée *in vitro* a montré une efficacité moyennement marquée sur une gamme de champignons dont la majorité sont phytopathogènes, causant des dégâts aussi bien en plein champ, qu'en conservation, à savoir : *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryphonectria parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, *Phomopsis vaccinii*, *Rhizoctonia solani*, *Seridium cardinale*, *Seridium cupressi*, *Seridium unicolorne*.

Tous les extraits ont montré une activité bactériostatique avec *Clavibacter michiganensis* après 120 heures, alors qu'avec le reste des bactéries ils ont montré une activité bactéricide.

**Mots clé :** Extrait aqueux, champignon phytopathogène, bactérie phytopathogène, bactérie pathogène, inhibition, *in vitro*.

## **Antimicrobial activity of aqueous extracts from two medicinal plants: *Phlomis crinita* L. & *Carthamus caeruleus* L.**

This study aims to evaluate the *in vitro* antimicrobial efficacy of aqueous extracts of two medicinal species, *Phlomis crinita* & *Carthamus caeruleus*.

The antibacterial activity of aqueous extracts was revealed positive on a range of bacterial pathogens including: *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* and *Ralstonia solanacearum* for the group of Gram-negative, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Bacillus amylofaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *beticola*, for Gram-positive. Results vary depending on the part of the plant used, the dose applied and the pathogen tested.

The antifungal activity evaluated *in vitro* showed a marked average efficiency over a range of fungi most of which are plant pathogens, causing damage both on the field and/or during storage, namely: *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryphonectria parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Phomopsis vaccinii*, *Rhizoctonia solani*, *Seridium cardinale* *Seridium cupressi* and *Seridium unicorne*.

All extracts showed bacteriostatic activity with *Clavibacter michiganensis* after 120 hours, while with the rest of the bacteria they showed bactericidal activity.

**Keywords:** Aqueous extract, plant pathogenic fungi, plant pathogenic bacteria, medicinal plants.

## دراسة نشاط مضادات الميكروبات من مستخلصات مائية لنبتتين طبيتين :

### *Phlomis crinita* L. & *Carthamus caeruleus* L.

تهدف هذه الدراسة لتقييم فعالية مضادات الميكروبات في المختبر من المستخلصات المائية لنوعين من النباتات الطبية *Phlomis crinita* L. & *Carthamus caeruleus* L.

تم الكشف عن النشاط المضاد للبكتيريا من المستخلصات المائية على مجموعة من البكتيريا المسببة للأمراض ومنها : *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* and *Ralstonia solanacearum* for the group of Gram-negative, and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*, *Bacillus amylofaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *beticola*. النتائج كانت ايجابية، مع تسجيل اختلافات على حسب الجزء المستخدم من النبات، الجرعة المطبقة، والبكتيريا الممرضة.

وأظهر تقييم نشاط مضاد الفطريات في المختبر نتائج متوسطة على مجموعة من الفطريات ومعظمها من مسببات الأمراض النباتية ، من التي تسبب أضرار سواء في الحقل و / أو أثناء التخزين، وهم: *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryphonectria parasitica* , *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Phomopsis vaccinii*, *Rhizoctonia solani*, *Seridium cardinal* *Seridium cupressi*, *Seridium unicorn*.

أظهرت المستخلصات المائية نشاط مثبط للجراثيم مع *Clavibacter michiganensis* بعد 120 ساعة، بينما مع بقية البكتيريا أبدت نشاط مبيد جرثومي.

الكلمات المفتاحية : المستخلص المائي، المبيدات الحيوية، الفطريات المسببة للأمراض النباتية، البكتيريا المسببة للأمراض النباتية، النباتات الطبية.

## Remerciements

Mes sincères remerciements au Bon DIEU

&

Professeur KRIMI Z.

Benrima A., Mohamed-Mahmoud F., et Trabelsi-Baba Aissa S.

Tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

## Dédicaces

A ma chère petite famille :  
mon Père et ma Mère  
mes Frères et ma Soeur  
&  
à ma chère Femme

## Sommaire du contenu

### Liste des abréviations

### Les des illustrations, graphiques, et tableaux

### Introduction et Problématique

### Données Bibliographiques

1. Stratégies de protection des cultures .....	5
2. Les pesticides .....	8
3. Approches d'utilisation des produits naturels des plantes .....	9
4. Les métabolites secondaires et les interactions plante-bioagresseurs .....	10
5. Les métabolites secondaires et les réactions de défense .....	11
6. Le mode d'action des métabolites secondaires .....	13
7. Exemples d'espèces végétales à utilisation ethnobotanique .....	15

### Matériels et Méthodes

1. Matériel végétal.....	21
2. Préparation des extraits aqueux.....	24
3. Les souches bactériennes testées.....	25
4. Les isolats de champignons testés.....	25
5. Milieux de cultures utilisés .....	25
6. Densité optique nécessaire à la réalisation du test <i>in vitro</i> .....	26
7. Préparation des suspensions bactériennes .....	26
8. Pouvoir antibactérien <i>in vitro</i> des extraits végétaux .....	27
9. Pouvoir antifongique des extraits .....	29
10. Analyse des résultats obtenus .....	32

### Résultats et Discussion

1. Évaluation de l'activité antibactérienne .....	34
2. Évaluation du pouvoir antifongique .....	40
Activité antibactérienne .....	48
Activité antifongique.....	51

## Liste des Abréviations

ANOVA	
ANalyse Of VAriances (Analyse de la Vairance).....	38
EDS	
Eau Destillée Stérile .....	29
FPH	
partie aérienne de <i>Phlomis crinita</i> .....	48
IPM	
Integrated Pest Management.....	7
LPGA	
Levure Peptone Glucose Agar.....	32
ml	
Millilitre.....	32
nm	
Nanomètre.....	31
pH	
Potentiel Hydrogène.....	30
pv	
Patho Var.....	30, 39
subsp	
Sub Species.....	22
var	
Variété.....	30



## Illustrations et Graphiques

Figure 1.3-1: Les différentes méthodes de lutte contre les bio-agresseurs en production végétale. ....	6
Figure 2.3-1 Représentation schématique des types majeurs des interactions microorganismes-plante.....	10
Figure 2.3-1 Exemples de produits naturels .....	12
Figure 5.3-1 L'activité antifongique des <i>défensines</i> végétales est spécifique et implique des récepteurs et des voies de transduction du signal .....	15
Figure 1.1-1 Plantule de l'espèce <i>Phlomis crinita</i> L.....	21
Figure 1.1-2 Fleurs de l'espèce <i>Phlomis crinita</i> L.....	21
Figure 1.1-3 Plant de <i>Phlomis crinita</i> L. au stade préfloraison.....	21
Figure 1.1-4 Plant adulte de <i>Phlomis crinita</i> L. en floraison, ( taille : 60cm de hauteur) .....	21
Figure 1.1-5 <i>Carthamus caeruleus</i> L. au stade plantule, la racine sous forme de rhizome .....	22
Figure 1.1-6 Fleur de <i>Carthamus caeruleus</i> L. ....	22
Figure 1.1-7 Plant adulte de <i>Carthamus caeruleus</i> L. (taille : 100cm de hauteur). ....	22
Figure 1.1-8 Plant au stade monté en floraison de <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	22
Figure 1.2-1 Feuilles des deux plantes au stade plantule, (A) <i>C. caeruleus</i> (B) <i>P. Crinita</i> .....	23
Figure 1.2-2 Récolte des racines de <i>C. caeruleus</i> .....	23
Figure 1.2-3 Matériel végétal en séchage à température ambiante, (A) racines de <i>C. caeruleus</i> , (B) feuilles de <i>P. crinita</i> .....	24
Figure 1.2-1 Filtration et stockage des extraits bruts .....	24
Figure 1.2-1 Dépôt des disques de papier filtre (Wattman N°1) sur le milieu gélosé coulé dans une boîte de Pétri.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Figure 1.2-2 Pulvérisation bactérienne par spray (pulvérisateur manuel).....	28
Figure 1.2-3 Mesure des diamètres des zones d'inhibitions. D1, D2, et D3 représentent les répétitions .....	29
Figure 9.1-1 Dispositif du test de l'activité volatile.....	30
Figure 9.2-1 Préparation des tubes contenant le milieu de culture PDA.....	31
Figure 9.2-2 Addition de l'extrait aux tubes contenant le milieu PDA en surfusion à 45°C.....	32
Figure 9.2-1 Diamètre d'inhibition en fonction de la souche bactérienne testée [à Gram- : <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (AT), <i>Agrobacterium vitis</i> (AV), <i>Erwinia amylovora</i> (EA), <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>Carotovora</i> (ECC), <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Citri</i> (XC) et <i>Ralstonia solanacearum</i> (RS)] et [à Gram+ : <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Michiganensis</i> (CM), <i>Bacillus amylofaciens</i> (OR2), <i>Bacillus cereus</i> (OR1), et <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>Beticola</i> (EHF3)]	34

Figure 9.2-2 Diamètres d'inhibitions en fonction de l'espèce testée, comparés avec deux facteurs, par dose à gauche et par partie utilisée à droite [P_A : Partie Aérienne, P_R : Partie Racinaire, D_P : Dose Pure, D_2 : Dose dilué à 1/2] .....	35
Figure 9.2-3 Photos montrant des diamètres d'inhibition des souches bactériennes testées avec <i>C. caeruleus</i> après 18h de pulvérisation. ....	37
Figure 9.2-4 Photos montrant des diamètres d'inhibition des souches bactériennes testées avec <i>P. crinita</i> après 18h de la pulvérisation. ....	38
Figure 2.1-1 Photos prises après 8 jours d'incubation à température ambiante montrant les variations de la croissance des isolats fongiques avec l'extrait de la partie aérienne de <i>P. crinita</i> (FPH).....	43

## Tableaux

Tableau 7-1 Résumé des valeurs moyennes des Densités Optiques des différentes souches bactériennes testées .....	27
Tableau 1-1 Modèle Linéaire Général : Tests Univariés de Significativité des Diamètres d'inhibitions représentés pas la variable "Diamètre" inutile de gerder autant de zero après la virgule. Soit les rapprocher de 3 chiffres après la virgule ou les mettre sous forme de puissance .....	39
Tableau 1-2 Effet bactéricide / bactériostatique des différents extraits sur les différentes souches bactériennes testées (+) pour effet bactéricide, (-) pour l'effet bactériostatique. ....	40
Tableau 2-1 Pouvoir antifongique de l'extrait de la partie aérienne de <i>P. Crinita</i> estimé par le pourcentage d'ihibitionde la croissance mycelienne, les bars de couleur verts repréntent le niveau d'inhibitionpar rapport à un repère min/max de 0 à 80%. ....	41
Tableau 2-2 Testdu pouvoir antifongique de l'extrait de la partie aérienne de <i>C. caeruleus</i> par activité volatile estimé en pourcentage d'ihibition par rapport à un témoin, les barres colorées représentent les niveaux d'inhibition par rapport à un repère min/max de 0 à 26%. ....	43

# **Introduction**

## **Activité antimicrobienne des extraits aqueux de deux plantes médicinales: *Phlomis crinita* L. (Lamiacées) & *Carthamus caeruleus* L. (Astéracées).**

Les espèces végétales constituent une source non négligeable de molécules à intérêts divers. Depuis la préhistoire, l'être humain recherche dans son environnement de quoi soulager ses maux et traiter ses blessures. L'histoire de la médecine montre l'importance des plantes dans la thérapie de nombreuses maladies du fait que toutes les sociétés traditionnelles et les nombreuses civilisations ont puisé, pour leurs soins de santé, dans cette diverse et riche pharmacopée végétale (Abayomi, 2010). Les données de l'OMS estiment que, pour se soigner, 80 % de la population africaine recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales (OMS, 2010).

Parallèlement aux problèmes de santé humaine, l'amélioration des moyens de subsistance ont de tout temps constitué une priorité pour l'homme. L'introduction de moyens de lutte contre les invasions par les agents phytopathogènes et les déprédateurs nuisibles remontent au début de l'établissement de l'agriculture. Une des stratégies pour les tendances modernes de recherches agronomiques consiste à explorer et à exploiter les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Cette hypothèse est soutenue par le fait que les organismes microbiens agents des maladies humaines et ceux à l'origine des maladies chez les plantes présentent la même organisation structurale et cellulaire. En effet, ces agents peuvent être des procaryotes (bactéries, mollicutes), des champignons, des virus ou des viroïdes (Abayomi, 2010).

Les espèces végétales renfermant des molécules actives sur ces organismes, constituent une grande importance pour la santé des populations et méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation dans d'autres domaines hors la phytothérapie (Abayomi, 2010).

Parmi les contraintes qui pèsent sur l'agriculture, les maladies et les ravageurs, regroupés sous le terme de « bioagresseurs » rendent nécessaire le développement de méthodes à la fois toujours plus innovantes, respectueuses de l'environnement et efficaces, afin de limiter les dégâts et donc les pertes qu'ils occasionnent.

L'intensification de l'agriculture, avec pour corollaire l'homogénéisation des champs, l'augmentation des densités, l'utilisation de variétés fixées, voire de clones, a ainsi favorisé l'émergence de grandes épidémies et le développement rapide de certains ravageurs. Dans un

premier temps, la réponse à ces contraintes sanitaires fût chimique. Le développement des industries chimiques, les enjeux économiques que représentaient les grandes filières agronomiques, ont en effet permis la création et la mise sur le marché de molécules « efficaces » pour contrôler les principaux bioagresseurs des cultures. Mais ces derniers se sont adaptés aux traitements chimiques, ces traitements ayant permis la survie des individus les plus résistants et donc une sélection de résistances. Au fur et à mesure de l'apparition de résistances à certains produits phytosanitaires, de nouvelles molécules ont été proposées, mais de nouvelles résistances apparaissaient, entraînant une prolifération de produits phytosanitaires (Christian, 2010).

Ce fût le début d'une escalade entre « apparition de nouvelles résistances » et « proposition de nouvelles molécules », parfois accompagnées d'une augmentation des doses et des concentrations. La conséquence de cette surenchère a été une pollution des environnements et des produits consommables présentant toujours plus de résidus de pesticides (Christian, 2010).

Une réflexion a donc démarré sur la « lutte intégrée » dont le principe est d'apporter une réponse « multifactorielle » à un problème lié à des bioagresseurs. La gestion des systèmes de culture et des bioagresseurs associés est ainsi devenue flexible et adaptée aux diverses situations rencontrées (Christian, 2010).

Cependant, la lutte chimique demeure encore aujourd'hui le moyen de lutte privilégié pour de nombreuses cultures, car elle est économiquement intéressante et simple à mettre en œuvre. La recherche s'implique de plus en plus dans la mise au point de méthodes alternatives à la lutte chimique dont la "biologique", et l'analyse ainsi que la gestion des risques liés aux bioagresseurs sont devenues des enjeux importants pour la plupart des équipes travaillant sur les systèmes de culture (Christian, 2010).

Dans cette même optique et pour des considérations de développement durable, nous avons entrepris ce travail qui porte sur l'étude de deux plantes ; *Phlomis crinita* L. de la famille des Lamiacées, et *Carthamus caeruleus* L. de la famille des Astéracées, souvent utilisées efficacement dans le traitement traditionnel de diverses maladies cliniques (Ilef L. et al, 2009). En effet, la flore Algérienne est riche et variée, mais elle demeure très peu exploitée scientifiquement.

Nous avons étudié les effets des extraits aqueux de ces plantes sur la croissance *in vitro* de deux collections d'organismes pathogènes (bactéries et champignons); certains sont impliqués dans de redoutables phytopathologies, alors que d'autres, sont à l'origine de maladies chez l'homme.

## Introduction et Problématique

Notre objectif principal est avant tout d'ordre académique ; c'est celui, d'identifier toujours davantage de substances possédant des propriétés « antimicrobienne ». Cet objectif se doit d'être atteint en premier lieu pour élargir le spectre d'action de ces biomolécules dans le but d'enrichir la base de données sur ces nouvelles substances biologiques actives, pour lutter contre le phénomène d'apparition des résistances suite à l'usage fréquent des produits chimiques y compris des pesticides. Un autre objectif pourrait être joint au premier ; c'est celui de la valorisation de nos espèces végétales souvent méconnues.

# Données Bibliographiques

---

*Protection des cultures, contraintes d'utilisation de pesticides chimiques conventionnels, apports de la biotechnologie et avancées vers une utilisation rationnelle des bioproduits végétaux*

---

## **1. Stratégies de protection des cultures**

### **1.1. La protection des cultures**

Protéger une culture n'a pas pour objectif proximal de réduire la quantité d'ennemis des cultures qui l'attaquent. Elle n'a pas pour but immédiat non plus de réduire la vitesse d'une épidémie causée par un pathogène donné, ou de réduire, cycle après cycle, la taille de population d'un groupe de bioagresseurs, ni encore d'annihiler l'ensemble des bio-agresseurs qui affectent une culture, ou d'empêcher à jamais la survenue d'autres (Aubertot et al 2011).

Certains de ces objectifs sont en réalité les étapes d'un but ultime. D'autres sont inaccessibles ou non désirables. L'objectif ultime de la protection des cultures est de réduire les pertes de récoltes occasionnées par les bio-agresseurs (Aubertot et al 2011).

### **1.2. Les bioagresseurs et les agrosystèmes**

Les bio-agresseurs des cultures sont des composants des agrosystèmes, au même titre que les sols, les plantes qui y sont cultivées, les instruments qui y sont utilisés, ou les producteurs eux-mêmes. Comme les autres composants des agrosystèmes, les bio-agresseurs sont influencés par des facteurs extérieurs, physiques comme le climat, économiques comme l'évolution des marchés agricoles, ou sociaux comme les savoir-faire ou les traditions agricoles. Et comme les autres composants des agrosystèmes, les bio-agresseurs des cultures influent sur les performances, positives ou négatives, des agrosystèmes (Aubertot et al 2011).

Certaines définitions des composants des agrosystèmes peuvent paraître statiques, qui segmentent la production en trois niveaux (apparemment) indépendants (potentiel, accessible et effectif), et qui cloisonnent artificiellement les facteurs et les processus de la production. En réalité, elles permettent une analyse poussée des interactions et conduire à:

- Définir objectivement les bio-agresseurs comme étant des facteurs biologiques de réduction du rendement accessible ;
- Définir une perte quantitative de récolte occasionnée par les bio-agresseurs des plantes comme l'écart entre rendements accessible et effectif ; c'est la définition utilisée par la FAO depuis 1971.
- Utiliser les pertes de récoltes comme une mesure de l'efficacité actuelle des méthodes de gestion mises en œuvre contre les bio-agresseurs, ainsi que des progrès que l'on peut escompter d'avancées futures dans le domaine de la protection des plantes.



### 1.3. Différentes méthodes de contrôle

Même si les données statistiques font, malheureusement, défaut pour décrire précisément dans quels systèmes de production, pour quelles productions végétales, et pour quels bio-agresseurs, les pesticides sont actuellement utilisés dans le monde, la lutte chimique constitue actuellement la pratique dominante (Aubertot et al ;, 2011).

Afin de limiter les nuisances associées à l'utilisation systématique ou à l'abus d'usages de pesticides, deux orientations immédiates sont aujourd'hui envisagées: (1) proposer des produits phytosanitaires à plus faible impact (sur la santé humaine et animale, sur l'environnement), et/ou (2) réduire l'utilisation de ces produits.

Habituellement, on considère que la réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires peut être obtenue soit (i) en raisonnant l'application de ces produits sur la base de seuils économiques de nuisibilité, et/ou (ii) en appliquant une combinaison de méthodes de lutte à effets partiels, qualifiées d'"*alternatives*", en complément (protection intégrée) ou en remplacement des méthodes chimiques habituelles (Aubertot et al., 2011).

Alors que parmi les raisons évoquées pour expliquer la forte dépendance de la production agricole aux produits phytosanitaires, figure en bonne place l'absence de solutions alternatives non chimiques, nous tenterons de montrer que des méthodes de lutte alternatives à l'utilisation des pesticides sont possibles (Jansma et al, 1993).

Après avoir rappelé les méthodes disponibles pour le raisonnement des applications de pesticides, nous présenterons les méthodes alternatives selon quatre grandes catégories: la lutte par amélioration génétique, la lutte biologique, la lutte physique et la lutte par les pratiques culturales (figure 1.3-1).

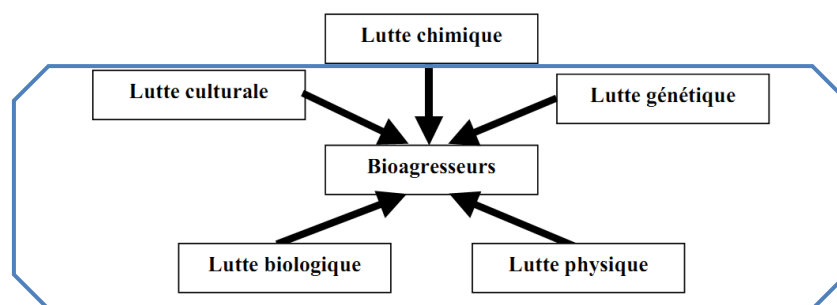


Figure 1-1: Les différentes méthodes de lutte contre les bio-agresseurs en production végétale (Aubertot et al., 2011).

### 1.3.1. La lutte biologique et les biopesticides

La lutte biologique contre les espèces envahissantes est communément divisée en plusieurs branches dont les principales sont: la lutte biologique classique et la lutte biologique (Andy, 2007).

La lutte biologique classique correspond à l'utilisation d'auxiliaires spécifiques contre une espèce envahissante exotique considérée comme une cible à contrôler (plante, insecte, acarien, nématode, etc.) dans l'aire d'origine où ils ont co-évolué. Ces auxiliaires sont évalués pour leur degré de spécificité vis-à-vis de la cible afin de réduire les risques non intentionnels de dérive vers d'autres espèces ayant une valeur écologique ou commerciale (espèces protégées ou indigènes, espèces cultivées). Après leur évaluation, ces antagonistes sont ensuite relâchés au sein des populations de l'envahisseur. L'efficacité d'action dépendra de la capacité des auxiliaires à envahir naturellement le milieu et à contrôler les populations sur le long terme. La lutte biologique classique s'utilise principalement contre les espèces envahissantes bien établies dans le milieu (Andy, 2007). Bien que coûteuse et lente dans sa phase d'installation, elle permet une gestion permanente et respectueuse de l'environnement.

En revanche, l'utilisation de produits chimiques extraits de plantes (tels des insecticides d'origine végétale) ou de micro-organismes (tels les formulations de *Bacillus thuringiensis* ne contenant que l'exotoxine du Bt et non plus des bactéries vivantes) ne peut être qualifiée de méthode de lutte biologique au sens strict: il s'agit de « biopesticides ». Le terme "biopesticide" s'applique également aux produits "naturels" issus de principes actifs (composés secondaires végétaux, toxines allélochimiques et naturelles) (Ferron, 2000 ; Boivin, 2001).

La lutte biologique par conservation s'est récemment développée avec la mise en place de gestions de systèmes en protection des cultures. Cela consiste à améliorer la cible dans sa capacité à réagir contre son agresseur (par manipulation du sol, du microclimat ou du mutualisme) ou encourager, ou encore protéger les populations d'auxiliaires déjà présentes dans l'agrosystème (par des zones refuges telles que bandes enherbées ou haies de bordure) (Andy, 2007).

Ces récents développements ont intégré des concepts d'évolution, d'écologie des interactions plante-ravageur-antagoniste au sein même du concept de lutte biologique. Ceci amène la lutte biologique à jouer un rôle clé dans la gestion des ravageurs à l'échelle du globe, alors même que les objectifs gouvernementaux et la tendance exprimée par l'opinion publique vont vers une diminution de l'usage des produits agro-pharmaceutiques dans l'environnement (Andy, 2007).

### **1.3.2. Biotechnologies et protection des plantes**

Un champ entier de recherches s'est ouvert avec le développement des technologies moléculaires. Initialement, les biotechnologies étaient étroitement définies comme étant 'l'utilisation intégrée de la biologie moléculaire, de la génétique moléculaire, de la microbiologie et des technologies de processus, avec l'objectif de parvenir à des applications pratiques matérialisées par des micro-organismes, des cultures de cellules, ou des fragments d'organismes ou de cellules'. (CABI 2002) Une définition plus large est adoptée, qui recouvre les applications de la biologie moléculaire pour l'agriculture, l'environnement, et pour la santé. Cette acceptation plus large met l'accent sur l'amélioration des caractéristiques génétiques des cellules (végétales, animales, bactériennes ou fongiques) en exploitant un ensemble de technologies moléculaires pour élaborer des méthodes améliorées et des organismes modifiés.

## **2. Les pesticides**

Le terme "pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. D'un point de vue réglementaire, on distingue :

- Les produits phytopharmaceutiques (PPP) ou "produits phytosanitaires" : ils sont utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture ou dans d'autres secteurs (sylviculture, aménagement des paysages et entretien des abords d'axes de transport, jardinage amateur).
- Les biocides: ce sont des substances actives et des préparations contenant une ou plusieurs substances actives. Principalement utilisées dans des applications de la conservation du bois, la désinfection ou la lutte anti-parasitaire, pour détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, en prévenir l'action ou les combattre de toute autre manière par une action chimique ou biologique (Aubertot et al, 2011).

### **2.1. Biodegradation et persistance**

La rétention du pesticide va conditionner la biodisponibilité, donc la manifestation d'une action toxique, et/ou phytosanitaire. Le pesticide ne doit donc pas être « persistant », c'est-à-dire qu'au moins 90% de la substance active et ses produits de dégradation doivent avoir disparu au bout d'un an. La dégradation est la résultante d'un ensemble de processus de dissipation, physico-chimiques et biologiques, qui font diminuer la concentration du pesticide en fonction de cinétiques caractéristiques du pesticide et du milieu (Rivière, 2009).

### 3. Approches d'utilisation des produits naturels des plantes

Les métabolites secondaires des plantes attestant des propriétés thérapeutiques, arôme, odoriférant, stimulant, empoisonnant, hallucinogènes ou de colorants, continuent à jouer un rôle important dans les activités humaines (Matos, 2006). Selon l'estimation, on connaît environ 400.000 espèces végétales, mais seulement un petit pourcentage (moins de 10%) à un usage *ethnobotanique* (Cowan, 1999). Plusieurs rapports sur l'histoire des applications des plantes dans la médecine traditionnelle sont connus. Dans la seconde moitié du 20<sup>e</sup> siècle, après le développement et l'utilisation généralisée d'antibiotiques synthétiques, les produits bioactifs dérivés des plantes à application antimicrobienne ont perdu leur importance (Matos, 2006).

Le nouveau concept se fonde alors sur l'idée que les agroécosystèmes doivent être gérés de manière à tenir les organismes nuisibles à des niveaux tolérables, faisant usage des produits naturels, de gestion intégrée des bioagresseurs, et l'utilisation de variétés végétales résistantes ou même des plantes transgéniques. De ce fait, les substances chimiques naturelles peuvent être utiles pour la protection des cultures et les denrées alimentaires (Matos 2006).

Les extraits de fleurs de pyrèthre contenant la pyréthrine ont fait leurs débuts comme insecticides à usage domestique dans la première moitié du 19<sup>ème</sup> siècle et ont été les premiers pesticides commercialisés sous la dénomination de "poudre insecticide du Caucase" (Banergi et al. 1985), tandis que la nicotine, extrait du tabac, a été le premier insecticide naturel utilisé en protection des cultures (Casida, 1983; Matos 2000).

Des études sur la découverte de moyens de manipulation des plantes afin d'augmenter ou de produire de nouvelles molécules chimiques ont été développés par différentes équipes de recherche. L'isolement de plusieurs substances synthétisées par plusieurs plantes comme réponse aux stress biotiques ou abiotiques attestant l'action insecticide, fongicide, bactéricide ou herbicide ont été rapportés (Lamb et Lawton, 1989; Bouguerra 1990; Keen 1990; Matos et al, 1998).

Collectivement, plus de 10.000 composés de faible poids moléculaire sont connus sous forme de métabolites secondaires des plantes (Cowan, 1999; Dixon, 2001). Phénols simples, dérivés phénylpropanoïdes, coumarines, flavonoïdes, tanins, quinones, huiles essentielles, dérivés de l'isoprène, hétérosides cardiotoniques, alcaloïdes, glycosides et de cyanogène sont des exemples de ces composés (Cowan, 1999). Cette diversité résulte d'une partie d'un processus évolutif conduit par la sélection pour l'acquisition de défense accrue contre les organismes nuisibles et les maladies (Dixon, 2001).

Le nouveau concept se fonde alors sur l'idée que les agroécosystèmes doivent être gérés de manière à tenir les organismes nuisibles à des niveaux tolérables, faisant usage des produits naturels, de gestion intégrée des bioagresseurs et l'utilisation de variétés végétales résistantes ou même des plantes transgéniques. De ce fait, les substances chimiques naturelles peuvent être utiles pour la protection des cultures et les denrées alimentaires (Matos, 2006).

#### 4. Les métabolites secondaires et les interactions plante-bioagresseurs

Les plantes montrent une variabilité remarquable dans leurs relations avec les microbes, allant d'interactions avec des microorganismes "endophyte" non-pathogènes présents dans des tissus spécialisés, jusqu'aux microorganismes extracellulaires habitants les surfaces de la plante (phyllosphère/rhizosphère) (Gray and Smith, 2005). De plus, les plantes modifient continuellement leurs habitats environnant par les exsudats phytochimiques qui sélectionnent et régulent les populations microbiennes par, par exemple, augmenter la population des microorganismes bénéfiques et dissuader les pathogènes (Gordon-Weeks et Pickett, 2009).

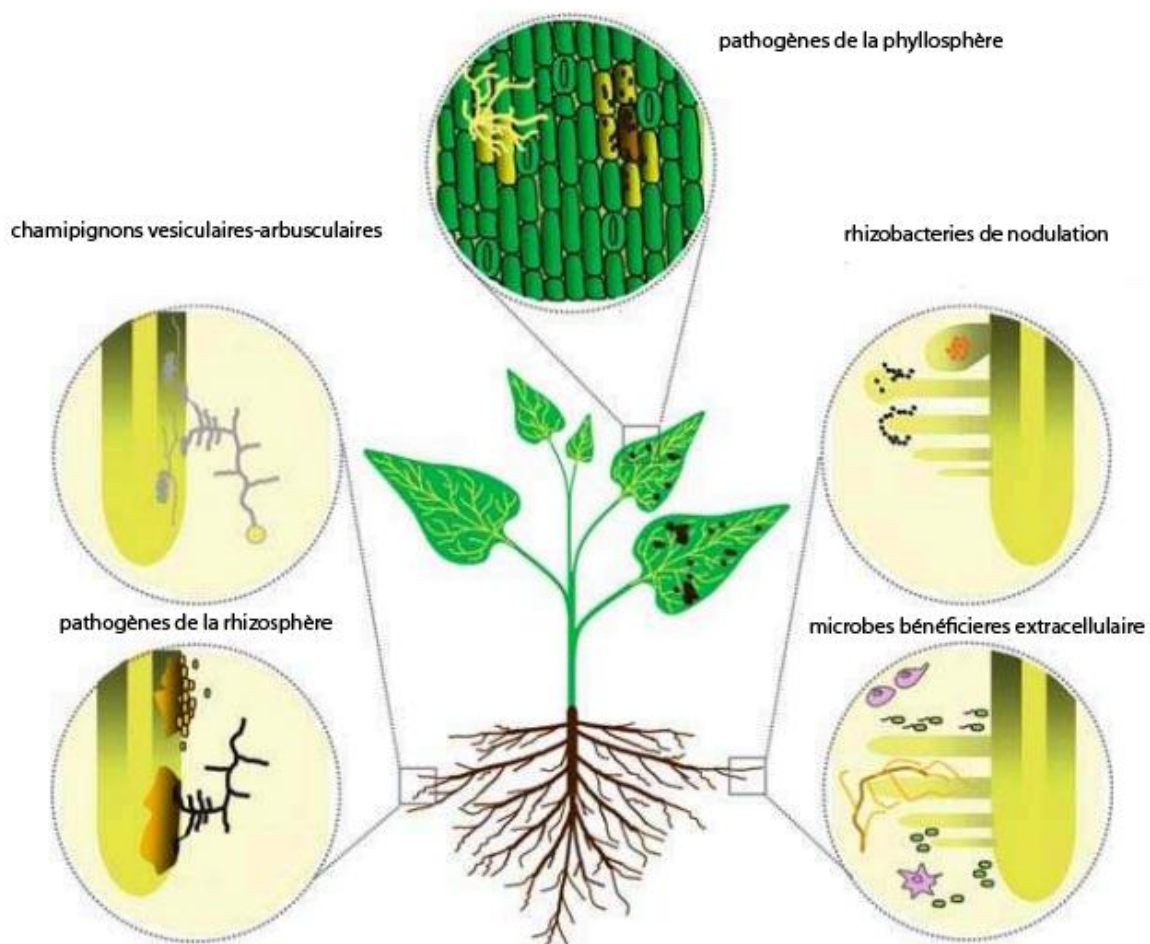


Figure 4-1 Représentation schématique des types majeurs des interactions plante-microorganismes (Gordon-Weeks et Pickett, 2009).

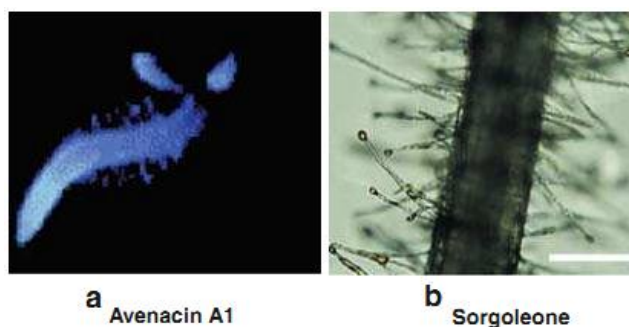
Pour bien gérer avec succès tous ces différents types d'interactions avec les microorganismes, les plantes ont développé diverses stratégies pour l'utilisation de leurs produits naturels. Premièrement, les produits phytochimiques peuvent être produits localement en réponse à une infection microbienne, qui peut se produire dans plusieurs interactions plante-pathogène (Figure 2-1). Les phytochimiques peuvent être constitutivement produits et stockés dans des cellules spécifiques. Les plantes peuvent aussi synthétiser certains produits dans des cellules spécialisées et les transporter sur le site d'action. Finalement, les phytochimiques peuvent se libérer à l'extérieur du corps de la plante par les graines en germination (Nelson, 2004), des racines en croissance (Bais et al., 2006), des cellules du cortex racinaire (Hawes et al., 2000), et aussi des feuilles (Baldwin et al., 2006).

## **5. Les métabolites secondaires et les réactions de défense**

L'exploitation des produits naturels nécessite la connaissance de la façon dont ces molécules exercent leurs effets, et suit souvent une compréhension du rôle du métabolite dans l'organisme producteur. Chez les plantes, les métabolites secondaires les mieux compris sont ceux impliqués dans la défense contre les agents pathogènes ou dans la détection et la signalisation (Morrissey, 2009).

Les plantes ont développé des mécanismes sophistiqués de protection contre les agents pathogènes, avec une origine chimique, une des armes clés de l'arsenal de défense des plantes (Madden et Wheelis, 2003; Maor et Shirasu, 2005; Field et al, 2006). Il s'agit notamment de renforcement mécanique de la paroi cellulaire par le dépôt de callose et de la lignine (Develey-Rivière et Galiana, 2007), la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Apel et Hirt, 2004), par des protéines liées à la pathogénicité, des composés antimicrobiens préformés ou inductibles (Maleck et al., 2000).

Les molécules de défense peuvent être préformées soit dans les tissus (Figure 3-1) ou synthétisées en réponse à une attaque pathogène, des distinctions mènent aux termes phytoanticipants et phytoalexines, respectivement. Bien que des milliers de différentes entités moléculaires soient censées jouer un rôle de défense contre les phytopathogènes bactériens et fongiques, le mode d'action seulement a fait l'objet d'études détaillées (Morrissey, 2009).



Les produits naturels peuvent se localiser dans des tissus de la plantes ou être secrétés extérieurement. **a** avenacin A1, un triterpénoid saponine, qui produit dans les racines d'avoine. La molécule est auto fluorescente et peut se visualiser en s'accumulant aux bouts des racines en croissance active. Avenacin A1 est un antifongique et fournit à la plante une protection contre certains champignons phytopathogènes. **b** montre le sorgoleone, une quinone qui est produite par les racines de sorgho. Dans ce cas, la molécule est secrétée dans la rhizosphère, et dans cette image le sorgoleone peut être vue sous forme de gouttelettes sur les bouts des chevelues racinaires. Le sorgoleone a des propriétés phytotoxique et il est impliqué en allélopathie.

Figure 5-1 Exemples de produits naturels

### 5.1. Interactions allélopathiques

L'allélopathie est typiquement définie par l'inhibition de la croissance d'une espèce par des produits naturels chimiques produits par une autre espèce. Les principes de bases de l'allélopathie est que les plantes secrètent des métabolites phytotoxiques dans leur proche environnement (essentiellement la rhizosphère), et ces métabolites vont inhiber la croissance des plantes sensibles (Macias *et al.*, 2007).

La majorité sont soit phénoliques, y compris les phénols simples, flavonoïdes, et quinones; terpènes, comme les monoterpènes, sesquiterpènes lactones et diterpènes; benzoxazinoids soit des glucosinolates (Morrissey, 2009).

### 5.2. Activité antimicrobienne des composés naturels des plantes

Des milliers de composés produits par les plantes sont impliqués dans la défense. La diversité phytochimique des composés antimicrobiens comprend : les terpénoides, les saponines, les phénols et phenylpropanoïdes, pterocarpanes, stilbenes, alcaloïdes, glucosinolates, hydrogen cyanide, terpénoides, indole et aussi le soufre élémentaire, le seul composé inorganique (Bonanomi *et al.*, 2009)..

L'identification des sites et des mécanismes d'action est nécessaire pour comprendre, si ces composés antimicrobiens sont juste une réponse de l'infection ou ce sont des déterminants de la résistance (Hammerschmidt, 1999).

### **5.3. Activité anti-tumorale des composés naturels des plantes**

Parmi les diverses propriétés associées aux saponines, la capacité de certaines préparations d'inhiber la croissance des cellules tumorales *in vitro* attire le plus l'attention. Plusieurs études ont établis que cette activité est médiée par la perturbation des mitochondries. Les données indiquant que les effets sont doubles la perturbation du potentiel de la membrane externe, et la fermeture induite de la chaîne d'anions dépendante du voltage (VDAC) dans la membrane mitochondriale (Haridas et al., 2001; Mujoo et al, 2001; Li et al, 2005b; Lemeshko et al, 2006; Haridas et al, 2007). Le lien entre le dysfonctionnement mitochondrial induit lié à la saponine et l'apoptose a été réaffirmé par un récent rapport montrant que le traitement des cellules avec une préparation soyasaponin conduit à l'apoptose via la voie mitochondriale (Xiao et al., 2007).

Autres cibles intracellulaires pour des avicins spécifiques ont également été rapportés, cependant, ils indiquent que les effets pro-apoptotiques peuvent impliquer plusieurs cibles, ou ces avicins différents ont plusieurs processus de ciblage spécifique. Nombreuses études sur les produits végétaux naturels ont signalé l'activité "pro-apoptotique" (Codogno et Meijer, 2005). L'effet semble impliquer les ROS, l'homéostasie calcique, la fonction mitochondriale, l'autophagie et l'apoptose (Friedman, 2007).

## **6. Le mode d'action des métabolites secondaires**

### **6.1.1. L'inhibitions d'enzymes spécifiques**

Les métabolites secondaires peuvent inhiber des enzymes spécifiques, chez les plantes et chez d'autres espèces qualifiées "bioagresseurs". Un exemple de ça est l'inhibition de multiples réactions enzymatiques, y compris des enzymes de biosynthèse des hormones, catalase, maltase et phosphatase par des composés phénoliques et des acides phénoliques (Maclas et al, 2007).

### **6.1.2. Inhibition des systèmes de transport d'électrons des réactions de photosynthèse et de respiration**

La photosynthèse est un enjeu majeur pour la santé des plantes, il est donc une cible évidente pour les molécules inhibitrices naturelles et synthétiques. Au moins 59 herbicides différents ciblent le photosystème II (PSII), principalement en interférant avec le transport des électrons (Cole et al., 2000). Il a été également constaté que le PSII est la cible principale de la sorgoleone quinone, le métabolite qui inhibe la même enzyme HPPD. Le Sorgoleone est censé rivaliser avec la plastoquinone pour la liaison avec les protéines D1 au PSII (Rimando et al, 1998) et est sécrété en gouttelettes par les poils des racines, et en s'accumulant à des niveaux de 10 à 100  $\mu\text{M}$  dans le sol



autour de la racine de la plante (rhizosphère). Le déséquilibre entre le nombre d'herbicides et métabolites naturelles qui inhibent la photosynthèse est surprenant et laisse entrevoir qu'il pourrait y avoir beaucoup d'autres inhibiteurs naturels de photosynthèse encore à être identifier.

La respiration est l'autre processus clé dans la cellule qui est basée sur les chaînes de transport d'électrons, ce qui est également une cible de molécules inhibitrices. Le meilleur exemple est probablement les glycosides cyanogènes qui sont produites par plus de 200 différentes espèces de plantes. Ce sont synthétisés par la conversion des acides aminés précurseurs d'oximes, qui sont ensuite glycosylés. L'hydrolyse des glucosides cyanogéniques en réponse à des lésions tissulaires génère le cyanure d'hydrogène (HCN), une puissante toxine respiratoire (Morrissey et Oshourn, 1999). Les glucosinolates sont évolutivement des molécules apparentées qui sont synthétisées par un sous-ensemble d'espèces, principalement l'ordre des Capparales, y compris l'importante famille agricole Brassicaceae (Halkier et Osbourn, 2006). L'hydrolyse des glucosinolates génère de l'isothiocyanate, thiocyanate, et de nitrile, molécules ayant un mode d'action antifongique aussi.

Ainsi, certains acides phénoliques inhibent l'absorption d'oxygène par les mitochondries, ces composés phénoliques peuvent bloquer le transport d'électrons dans le complexe cytochrome B/C1 (Macias et al, 2007).

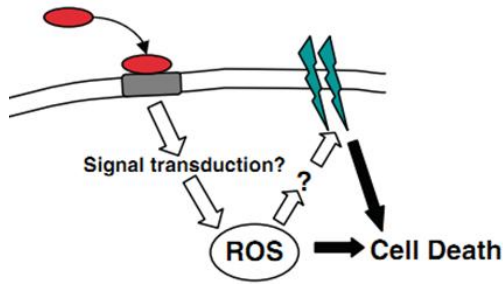
### **6.1.3. Perturbation de l'intégralité de la membrane plasmique**

- **L'importance de la membrane fongique comme cible**

La membrane de la cellule fongique possède des caractéristiques unique, la plus notable est le stérol et l'ergostérol à la place du cholestérol et stigmastérol, lesquels sont présentent dans la membrane animale et végétale, respectivement. Autres différences comprends la présence des lipides spécifiques dans la couches externe de la membrane.

Les composés antifongiques communs contiennent l'amphotericin B, qui s'attache à l'ergostérol conduit à la formation de pores, les azoles et les morphines inhibent la biosynthèse de l'ergostérol.

Le meilleur exemple sur ça est les *défensines* et les *saponines* (Figure 5.3-1) (Morrissey, 2009).



La défensine (rouge) se lie aux sphingolipides spécifiques, dans ce cas le glucosylcéramide, dans la membrane et transmet un signal à l'intérieur de la cellule. Cela conduit à la formation d'espèces réactive d'oxygène (ROS), la perte de l'intégrité de la membrane la mort cellulaire

Figure 6-1 L'activité antifongique des *défensines* végétales est spécifique et implique des récepteurs et des voies de transduction du signal

## 7. Exemples d'espèces végétales à utilisation ethnobotanique

### 7.1. Description botanique de *Phlomis crinita* L.

Ce sont des plantes herbacées vivant à l'état spontané, très velues, à feuilles opposées simples, chaque paire de feuilles formant un angle droit par rapport à la précédente. Les fleurs jaunes, sont groupées en verticilles plus ou moins denses. La corolle comporte deux lèvres, la supérieure, légèrement échancrée au sommet, formant un casque, l'inférieure trilobée à lobes plus ou moins apparents. Elles portent quatre étamines. Le fruit est formé de quatre akènes inclus dans un calice persistant (Ben-Amor et al, 2009).

Classification de l'espèce :

Règne : Plantae

Division : Spermatophyta

Subdivision : Angiospermae

Classe : Dicotyledones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Phlomis* L.

Espèce : *Phlomis crinita* L.



(Javier martin, 2010)

En Afrique du nord, deux sous espèces ont été décrites : *Phlomis crinita* subsp. *crinita* et subsp. *mauritanica*.

## 7.2. Description botanique de *Carthamus caeruleus* L.

Le genre *Carthamus* de la famille des Asteraceae, comprend 14 espèces d'annuelles ou de vivaces herbacées, dont « la *Carduncelle bleue* ou le *kendjar*, ou *maghress guèrss* » du nom scientifique *Carthamus caeruleus* L. ou *Carduncellus caeruleus* L. appelé aussi *Onoborma caerulea* et *Carthamus tingitanus* (Belkhiri, 2009).

Classification de l'espèce :

---

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Carthamus* L.

Espèce : *Carthamus caeruleus* L.

---



(Valter Jacinto, 2011)

La carduncelle bleue est une herbe annuelle ou bisannuelle à tige ascendante simple ou très peu rameuse, glabre, dressée et velue (haute de 0.2 à 0.6 m) (Quezel et Santa, 1963; Mioulane, 2004), ses feuilles glabres ou pubescentes, fortement nervées, à contour ovale ou lancéolé; les inférieures pétiolés, dentées ou lyrées-pinnatifides, les supérieurs sessiles amplexicaules ou dentées-épineuses (Mioulane, 2004). Les fleurs sont bleues, en capitules terminaux solitaires (3 cm de large sur 3 - 4 cm de long), ont une corolle tubuleuse que prolongent 5 dents à valeur de courts lobes sommitaux. En outre, les fruits du *Carthamus caeruleus* L. sont des akènes nettement plus courts que l'aigrette (environ 2 fois, 1 cm de long) (Boullard, 2001 ; Quezel et Santa, 1963).

C'est une espèce peu commune qu'on peut rencontrer dans les terrains maigres. Elle préfère les lieux secs et ensoleillés du Bassin méditerranéen, elle est originaire du Sud - Ouest de l'Asie (Mioulane, 2004), d'Orient, mais répandue depuis dans le reste de l'Asie, en Afrique du Nord, en Australie même et dans les deux Amériques ainsi qu'en Europe (Boullard, 2001).

### 7.3. Utilisation ethnobotanique

- *Phlomis crinita* L.

Selon Limem et al (2009), un nombre élevé d'espèces de *Phlomis* partout dans le monde ont le même mode d'utilisation, notamment comme une boisson sous forme de thé à base de plantes (décoction ou infusion) pour traiter les troubles gastriques, douleurs abdominales et intestinales. D'autres espèces ont été décrites pour protéger le foie, le rein, le cœur, les veines et les os de différentes pathologies.

Certaines espèces de *Phlomis* ont été décrites pour traiter la fièvre, la toux et le rhume, tels que *Phlomis cephalotes* et *Phlomis plukenettii*. D'autres espèces de *Phlomis* telles que ; *Phlomis bovei* subsp. *bovei* et *Phlomis crinita* sont transformées en pâtes et utilisées comme cataplasme ou en plâtre pour traiter les brûlures, lésions et infections de la peau et des allergies (Limem et al 2009).

Par exemple, *Phlomis crinita* subsp. *crinita* et subsp. *mauritanica*, qui se développent en Espagne, en Tunisie et en Algérie, sont utilisées pour guérir des lésions et des brûlures par la préparation d'un plâtre de feuilles hachées en Espagne ou en poudre de feuilles séchées en Tunisie et en Algérie (Limem et al 2009)..

- *Carthamus caeruleus* L.

Les racines du *Carthamus caeruleus* L. sont utilisées en médecine traditionnelle en Algérie, comme un cicatrisant, ou pour guérir les brûlures, soit sous forme de poudre après séchage, ou sous forme d'une crème (cataplasme) préparée dans le lait ou dans l'eau à partir des racines fraîchement récoltées (Belkhiri, 2009).

### 7.4. Les métabolites secondaires des genres *Phlomis* et *Carthamus*

#### 7.4.1. Le genre *Phlomis*

Des études phytochimiques des espèces de *Phlomis* ont fait l'objet de plusieurs recherches, et, en conséquence, des huiles essentielles, des flavonoïdes, des iridoïdes, glycosides phényléthylique et d'autres composants ont été extraits.

- **Huiles essentielles**

Les huiles essentielles à partir de nombreuses espèces de *Phlomis* ont été étudiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. A partir des données

déclarées dans différentes études, des compositions d'huiles variables ont été décelées. En effet, ces différences ont permis souvent de séparer les espèces de *Phlomis* en quatre chémotypes:

- Chémotype riche en sesquiterpènes dont appartient *P. crinita* L. (Limem et al, 2008.);
- Le deuxième est riche en monoterpènes et sesquiterpènes (Liolios et al, 2007.);
- Des acides gras, des composés aliphatiques et d'alcools constituent les principaux composants du troisième chémotype (Zhang et Wong, 2008);
- Le dernière chémotype est riche en terpènes, acides gras, composés aliphatiques et d'alcools comme constituants principaux (Zhang et Wong, 2008; Morteza emnani et al, 2004.).

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont les principaux phytoconstituents extraits du genre *Phlomis*. Il s'agit notamment de l'apigénine, la lutéoline, la naringénine, l'ériodictyol, le chryseriol, le kaempférol et leurs glycosides (Marin et al., 2007). *P. crinita* est reporté comme une espèce riche en Lutéoline, notamment Luteolin-7-O-glucopyranoside (Kabouche et al., 2005).

- **Iridoïdes**

Un certain nombre de glycosides iridoïdes ont été extraits à partir des espèces de *Phlomis*, mais aucune étude n'a rapporté la présence de ces composés dans l'espèce *P. crinita*.

- **Des structures de Phényléthylique glycosides**

Le genre *Phlomis* est l'un des genres les plus riches en structures de Phényléthylique glycosides, l'un des caractères importants de la chimiotaxonomie des espèces de la famille des Lamiacées. Le verbascoside (acteoside) est considéré le majeur représentant de ces composés dans l'espèce *P. crinita* (Kabouche et al, 2005).

- **D'autres métabolites secondaires**

Dans le genre *Phlomis*, beaucoup d'autres métabolites secondaires sont rencontrés comme glycoside acétophénone, alcaloïde acridone, glycoside alcool aliphatique, glycoside alcool benzylique, les esters d'acide caféique, diterpénoïde ester glycosyle, lignanes, glucoside megastigmane, glycosides monoterpènes, glucoside neolignan, nortriterpènes, oléane de type glycoside triterpénique, glycosides phénoliques et dérivés pyrrolidinium (Limem et al, 2009).

#### 7.4.2. Le genre *Carthamus*

**Baghiani, (2010)** et **Belkhiri, (2009)**, rapportent que l'extrait brut obtenu à partir des racines de *Carthamus caeruleus* L., en utilisant des méthodes de dosage général des composés phénoliques, contient des polyphénols. De même, pour les flavonoïdes, les racines montrent des taux importants de composés de flavonoïdes. Par contre, de faibles quantités ont été enregistrées en ce qui concerne les huiles essentielles.

# **Matériels et Méthodes**

## 1. Matériel végétal

Le matériel végétal comprend deux espèces de plantes utilisées couramment comme plantes médicinales dans la région du Maghreb: *Phlomis crinita* L. comme cicatrisant, anti-brûlure, et anti-ulcère (Limem et al, 2009) et le *Carthamus caeruleus* L. est un cicatrisant et anti-brûlure (Belkhiri, 2009). Les plantes ont été récoltées de la région de Beni-Rached, Wilaya de Chlef.

### 1.1. Description botanique

Les deux plantes ont été identifiées par le laboratoire de botanique du département d'Agronomie de l'Université de Blida. L'utilisation de la flore d'Algérie de Quezel et Santa (1963) a servi pour la confirmation des noms.

#### 1.1.1. *Phlomis crinita* L. (Photos Personnelles)



Figure 1-1 Plantule de l'espèce *Phlomis crinita* L.



Figure 1-2 Fleurs de l'espèce *Phlomis crinita* L.



Figure 1-3 Plant de *Phlomis crinita* L. au stade préfloraison



Figure 1-4 Plant adulte de *Phlomis crinita* L. en floraison, (taille : 60cm de hauteur)



1.1.2. *Carthamus caeruleus* L. (Photos Personnelles)



Figure 1-5 *Carthamus caeruleus* L. au stade plantule, la racine sous forme de rhizome



Figure 1-6 Fleur de *Carthamus caeruleus* L.



Figure 1-7 Plant adulte de *Carthamus caeruleus* L. (taille : 100cm de hauteur).



Figure 1-8 Plant au stade pré-floraison de *Carthamus caeruleus* L.

## 1.2. Collecte et conditionnement

La collecte des feuilles (Figure 1.2-1) a été effectuée en deux prises, à la mi-février pour *Phlomis* durant le stade plantule avant la montée en floraison, et à la mi-mai pour les deux plantes durant le stade adulte. Pour les racines, la collecte a été effectuée en février pour les deux plantes (Figure 1.2-2).

Le matériel végétal ainsi récolté est lavé à l'eau pour éliminer les débris du sol. Les feuilles sont séparées des racines. Les parties ainsi séparées sont étalées sur la paille à l'ombre pour leur séchage. Les racines de *C. caeruleus* ont été étalées sur un tissu pour éviter la pourriture à cause de leur teneur élevée en eau (Figure 1.2-3).



Figure 1-9 Feuilles des deux plantes au stade plantule, (A) *C. caeruleus* (B) *P. Crinita*



Figure 1-10 Récolte des racines de *C. caeruleus*

Le séchage a été réalisé sous-abri à température ambiante (Figure 1.2-3). Le matériel végétal ainsi séché, est broyé en quantités suffisantes selon la nécessité et stocké dans des boîtes hermétiques et à l'abri de la lumière, le reste est stocké dans des sacs en polyéthylène afin de conserver toute activité des composés.



Figure 1-11 Matériel végétal en séchage à température ambiante, (A) racines de *C. caeruleus*, (B) feuilles de *P. crinita*

## 2. Préparation des extraits aqueux

Nous avons préconisé une méthode simple à réaliser qui a donné des résultats positifs auparavant (Djellout, 2009 ; Tafifet, 2010). La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs, il s'agit d'une extraction qui se fait à température ambiante (Figure 1.2-4).

La macération à l'eau : une macération aqueuse a été effectuée sur 20g de poudre de chaque partie avec 250 ml d'EDS (à l'exception des feuilles de *Phlomis crinita* et à cause leurs aspect velu, 10g/250ml d'EDS ont subi une macération), dans des flacons hermétiques et stériles, sous agitateur horizontal pendant 72 h à la température du laboratoire.



Figure 2-4 Filtration et stockage des extraits bruts

Après 72 h, les homogénats ont été filtrés d'abord à l'aide d'un filtre de particules grossières, suivi d'une filtration à l'aide de compresses stériles, puis par le biais du papier filtre (Wattman N°1). Les extraits bruts ont été ensuite préservés aseptiquement dans des flacons stériles entourés par du papier

aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules par la lumière puis conservés dans le réfrigérateur pour une utilisation ultérieure (Figure 2-1).

Pour tous les tests, nous avons préconisé deux concentrations : extrait brut et extrait dilué au 1/2.

### 3. Les souches bactériennes testées

Sept souches bactériennes de référence ont été choisies, elles font partie de la collection des souches phytopathogènes du laboratoire de phytobactériologie. Ces souches sont les suivantes : *Agrobacterium tumefaciens* (C58), *Agrobacterium vitis* (LFBP 5523), *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora pv. carotovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* et *Ralstonia solanacearum* pour le groupe des Gram négatif, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* comme Gram positif.

Nous avons joint à ces tests biologiques de nouvelles souches récemment identifiées par voie biochimique dans le laboratoire de phytobactériologie, et moléculaire au laboratoire de Phytopathologie de Florence (Italie) (Krimi, communication personnelle). Parmi ces souches, certaines sont des organismes ayant un rôle clinique et peuvent être pathogènes à l'homme, d'autres sont utilisés comme agents de lutte biologique : *Bacillus amylofaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* et *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Beticola*, tous à Gram positif.

### 4. Les isolats de champignons testés

Treize souches de champignons nous a été fournis pour réaliser des tests *in vitro*, la majorité sont phytopathogènes, causant des dégâts aussi bien au champ qu'en conservation, à savoir : *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryphonectria parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, *Phomopsis vaccinii*, *Rhizoctonia solani*, *Seridium cardinale*, *Seridium cupressi* (deux isolats), *Seridium unicolorne*. Ces champignons nous ont été gracieusement fournis par deux laboratoires étrangers (laboratoire de Phytopathologie d'Alicante, Espagne) et (Centro di Protezione delle Piante, Florence, Italie).

### 5. Milieux de cultures utilisés

Le milieu LPGA (Levure Peptone Glucose Agar) a constitué le principal milieu de culture utilisé pendant nos tests bactériologiques et les boîtes de pétri en plastique de 90mm de diamètre ont servies comme support de nos études. Le pH est ajusté à 7,2 pour l'ensemble des bactéries.

Le milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar) a constitué le principal milieu utilisé pour les tests de l'activité antifongique des différents extraits. Le PH est ajusté à 7,0 pour tous les champignons, à l'exception du champignon *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, pour lequel, le milieu PDA est ajusté à 6,5. Les boîtes de pétri en plastique de 90mm de diamètre ont servi comme support.

## 6. Densité optique nécessaire à la réalisation du test *in vitro*

De très nombreuses techniques permettent de mesurer la biomasse : détermination du poids sec, mesure de la densité optique, mesure d'un ou de plusieurs constituants cellulaires, mesure de la consommation d'un substrat, mesure des produits d'excrétion, mesure des variations physico-chimiques induites par la croissance, etc.

La mesure de la densité optique est la technique la plus rapide et la plus utilisée parmi de très nombreuses techniques permettant de mesurer la biomasse d'une suspension bactérienne. Elle consiste à mesurer la lumière absorbée par une suspension bactérienne à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 600nm ; longueur d'onde pour laquelle l'absorption de la lumière par les constituants cellulaires est la plus faible et dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration cellulaire (Euzeby, 2009).

En résumant les résultats des derniers travaux réalisés dans le laboratoire de phytobactériologie par Djelout en 2009 et Tafifet en 2010 en ce qui concerne la D.O des bactéries utilisées, nous avons tracé le tableau 7-1.

## 7. Préparation des suspensions bactériennes

Les suspensions des souches bactériennes à pulvériser ont été préparées à partir de cultures préalablement purifiées, issues d'une culture de 24h. La purification est une opération nécessaire afin de s'assurer que nous sommes en train de manipuler des clones purs.

Pour l'étape de pulvérisation, nous avons préparé des suspensions bactériennes à une densité optique D.O variant de 0,12 à 0,34 à une longueur d'onde de 600nm, ce qui correspond à une densité cellulaire de  $10^6$  à  $10^8$  bactéries/ml et selon la souche bactérienne. En effet, dans la plupart des travaux de lutte biologique et des tests antimicrobiens, ces valeurs de concentrations sont utilisées car elles correspondent aux concentrations initiant le pouvoir pathogène et infectieux de la majorité des bactéries.

Tableau 7-1 Résumé des valeurs moyennes des Densités Optiques des différentes souches bactériennes testées

souche bactérienne	D.O. recommandée à 600nm	D.O. prise à 600 nm	Densité cellulaire/ml
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	0,12 – 0,15	0,12	10 <sup>6</sup>
<i>Agrobacterium vitis</i>	0,12 – 0,15	0,13	10 <sup>6</sup>
<i>Bacillus amylofaciens</i>	0,25 – 0,30	0,25	10 <sup>8</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	0,28 – 0,30	0,31	10 <sup>8</sup>
<i>Bacillus pumilus</i>	0,28 – 0,30	0,30	10 <sup>8</sup>
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>Beticola</i>	0,28 – 0,30	0,27	10 <sup>8</sup>
<i>Clavibacter michiganensis</i> pv <i>michiganensis</i>	0,28 – 0,34	0,32	10 <sup>8</sup>
<i>Erwinia amylovoa</i>	0,15 – 0,18	0,15	10 <sup>6</sup>
<i>Erwinia carotovora</i> pv <i>carotovora</i>	0,25 – 0,30	0,27	10 <sup>8</sup>
<i>Ralstonia solanacearum</i>	0,30 – 0,32	0,30	10 <sup>8</sup>
<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>citri</i>	0,15 – 0,18	0,17	10 <sup>6</sup>

## 8. Pouvoir antibactérien *in vitro* des extraits végétaux

L'activité bactérienne des extraits aqueux a été testée par la technique de la diffusion de disques de papier filtre (Wattman N°1) en milieu gélosé (Dorothy et Adcock, 2005) vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes citées précédemment.

Des disques de papier filtre (Wattman N°1) de 8 mm de diamètre ont été découpés à l'aide d'un emporte-pièce, stérilisés à l'autoclave. Dans les conditions d'asepsie, ces disques sont imprégnés d'une faible quantité des différents extraits, puis déposés à raison de 3 disques par boîte de Pétri contenant le milieu LPGA (Figure 8-1). Le témoin correspond aux disques imprégnés d'eau distillée stérile.

Les trois disques/boîte correspondent à des répétitions. Les boîtes de pétri sont par la suite conditionnées au frais durant 18 à 24h dans le noir, pour laisser les molécules actives diffuser dans la gélose. Un autre test de comparaison a été effectué en laissant la diffusion trois heures seulement.

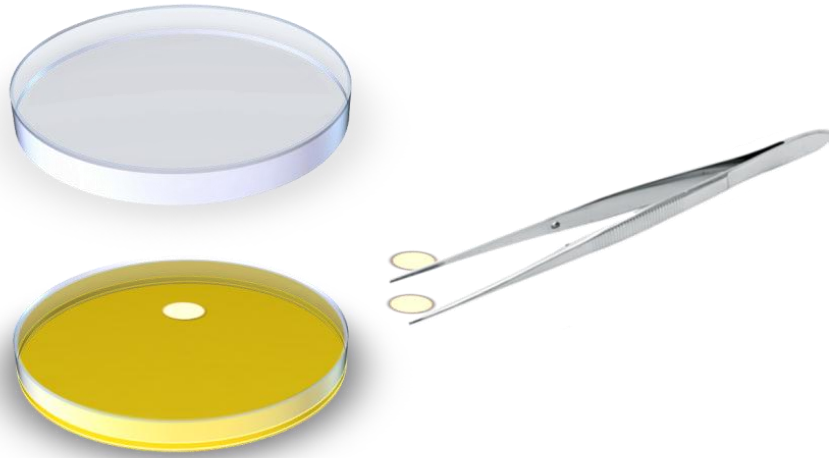


Figure 8-1 Dépôt des disques de papier filtre (Wattman N°1) sur le milieu gélosé coulé dans une boîte de Pétri

Une suspension de la souche pathogène à tester de densité optique déterminée (ce qui donne la densité cellulaire), est appliquée par spray (Figure 8-2) à l'aide d'un pulvérisateur manuel sur la surface des boîtes de pétri. L'incubation se fait à 28-30°C durant 18 à 24 heures.

Si la souche testée est sensible à l'extrait végétal choisi, sa croissance sera inhibée autour du disque, ce qui laisse apparaître une zone d'inhibition claire (Tafifet, 2010, Djelout, 2009).



Figure 8-2 Pulvérisation bactérienne par spray (pulvérisateur manuel)

Après incubation, la lecture de l'efficacité de l'activité antibactérienne de l'extrait testé a été enregistrée en mesurant le diamètre en mm, de la zone d'inhibition autour du spot central (Figure 8-3)

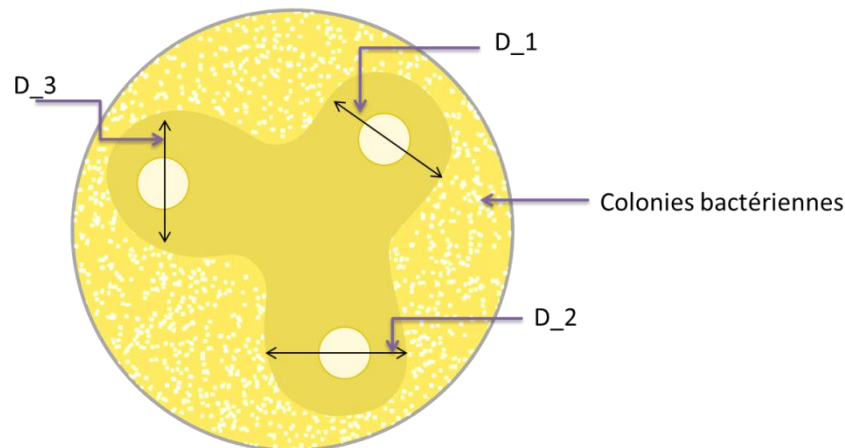


Figure 8-3 Mesure des diamètres des zones d'inhibitions. D1, D2, et D3 représentent les répétitions

## 9. Pouvoir antifongique des extraits

### 9.1. Test de l'activité volatile

L'activité antifongique vis-à-vis des treize souches de champignons cités précédemment a été déterminée par le test d'activité volatile ou « *volatile activity* » (SHARMA et al, 2006).

Cette méthode consiste à déposer au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu de culture, un disque mycélien issu d'une jeune culture fongique (croissance de 5 jours est préconisé pour tous les isolats) découpé à l'aide d'un emporte pièces de 5 mm de diamètre.

Des disques de papier Wattman de 8 mm de diamètre, préalablement stérilisés, sont d'abord imprégnés et saturés avec l'extrait végétal, puis déposés sur le couvercle de la boîte de Pétri retourné, à raison de trois disques imprégnés par couvercle (Figure 9-1). Le témoin consiste en des disques imprégnés avec l'eau distillée stérile. Chaque test est répété trois fois.

La lecture de l'activité antifongique des extraits bruts vis-à-vis des dix champignons testés a été enregistrée en mesurant le diamètre de croissance en millimètre (mm). Les souches fongiques traitées présentant une faible croissance par rapport au témoin sont des isolats sensibles aux extraits aqueux.



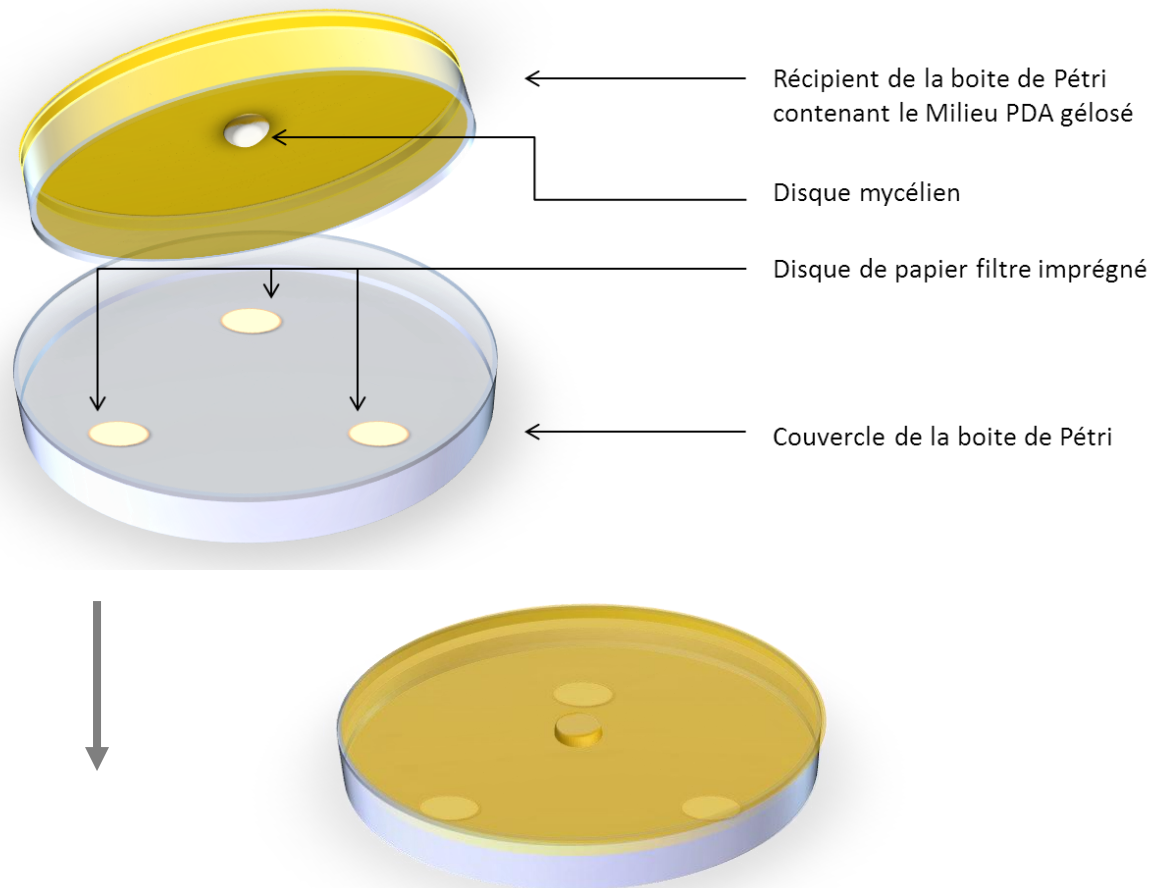


Figure 9-1 Dispositif du test de l'activité volatile

L'activité antifongique de l'extrait testée et évaluée par rapport à la croissance radiale exprimée en pourcentage d'inhibition du mycélium par des composés volatiles, en utilisant la formule décrite par Pandey et coll. (Pandey, 1982) :

$$PI = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons testés (%)

DC : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon non traité (EDS) en mm

CT : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon traité en mm

## 9.2. Test par culture inhibitrice

La méthode consiste à provoquer l'inhibition de la croissance du champignon en préparant un milieu de culture additionné de l'extrait végétal. Nous avons utilisé cette méthode seulement pour les feuilles de *Phlomis crinita*, vu la manière de leurs utilisations traditionnelles.

Pour des raisons de stérilité des extraits utilisés, nous avons procédé à une autre extraction. Une quantité de 50 g de poudre végétale a été introduite dans un erlenmeyer contenant 350 ml d'eau, l'ensemble a été porté à ébullition pendant 20 minutes. La suspension a été ensuite filtrée à chaud successivement sur coton hydrophile et sur papier filtre. Le filtrat obtenu constitue le décocté. Le décocté ensuite placé à l'étuve à 90°C pendant 10 minutes afin de prévenir toute contamination (Loubaki et al, 1999).

Dans des tubes à essai contenant chacun 13,5 ml de milieu gélosé (2 % d'agar), stérilisés à l'autoclave (20 min à 120 °C) et refroidis à 45°C (figure 9-2), on ajoute 1,5 ml de l'extrait à raison de deux préparations, extrait brut, demi concentration. L'ensemble des tubes est agité convenablement avant de les couler dans des boîtes de Pétri (figure 9-3). Des témoins, contenant le milieu de culture gélosé (2% d'agar) sont également préparés (Kra et al, 2009).

L'ensemencement se fait par dépôt de fragments de 5 mm de diamètre prélevés à partir de la périphérie d'un tapis mycélien et provenant d'une culture jeune. L'incubation se fait à l'obscurité pendant 5 à 7 jours à la température ambiante.

La méthode de mesure des diamètres d'inhibition est la même que celle décrite ci-dessus.

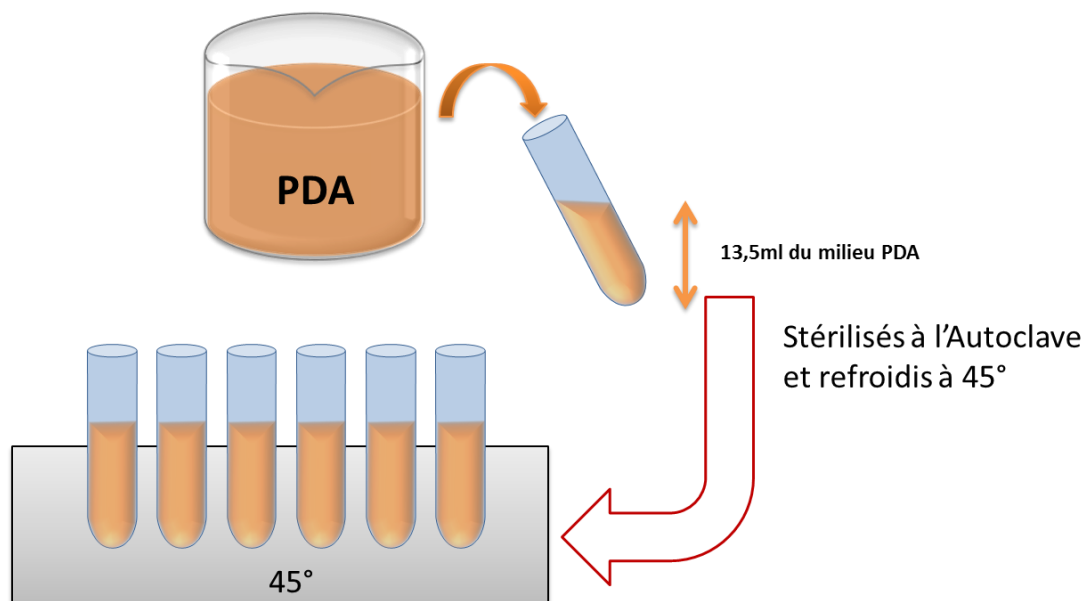


Figure 9-2 Préparation des tubes contenant le milieu de culture PDA

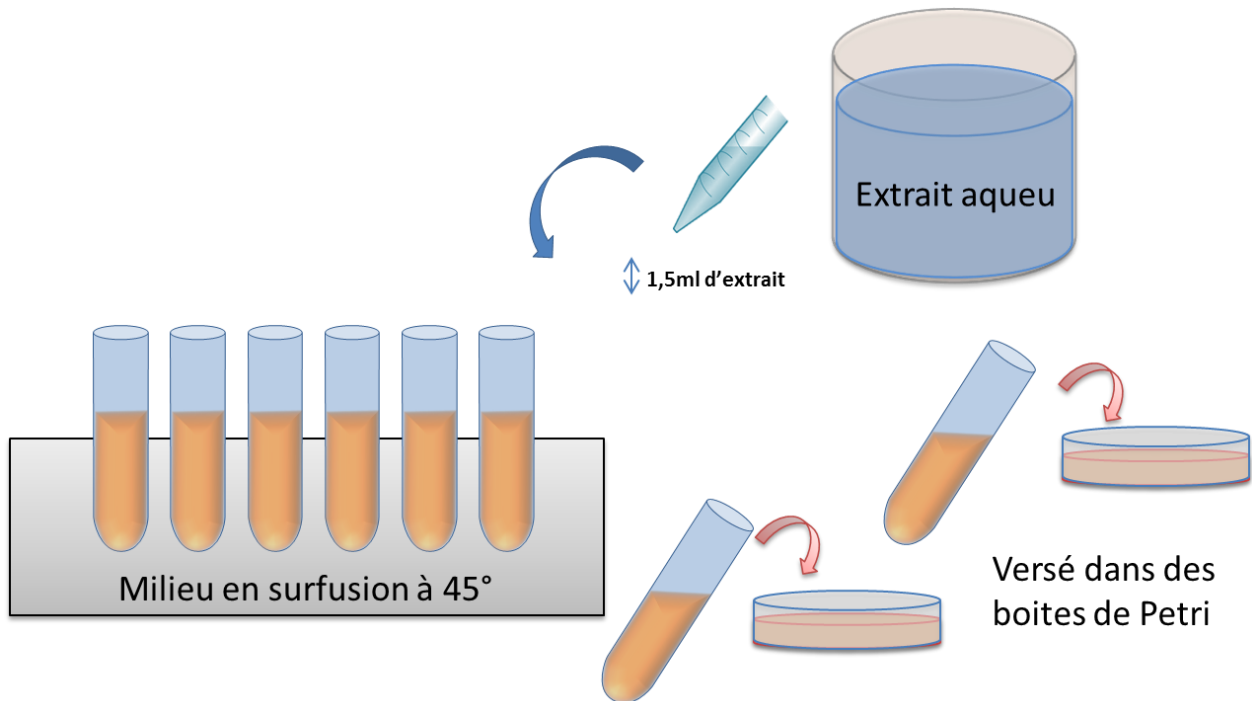


Figure 9-3 Addition de l'extrait aux tubes contenant le milieu PDA en surfusion à 45°C

## 10. Analyse des résultats obtenus

A partir des photos prises avec un repère de mesure décimale, les zones claires présentes autour des disques ont été mesurées après traitement numérique à l'aide de Photoshop CS5 (v. 12) combiné à ImageJ (v. 1.44 de l'institut national de santé, U.S.A.), les données sont ensuite transférées à l'Excel. L'activité antibactérienne des extraits des quatre plantes a été indiquée par des zones d'inhibition de croissance claires autour des disques imprégnés. Trois répétitions ont été maintenues pour chaque traitement, par la suite un calcul de la moyenne a été effectué.

L'analyse de la variance (ANOVA) a été faite en utilisant le logiciel SYSAT (v. 12,02 - 2007) et STATISTICA (v. 6.1 2003). Pour l'affinité des tests statistiques et pour une meilleure interprétation des données, d'autres tests ont été également réalisés, notamment le test de probabilité, le F-ratio, et le t-test.

# Résultats

## 1. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des quatre extraits aqueux issus des deux plantes étudiées : partie aérienne et partie racinaire de *Phlomis crinita* et *Carthamus caeruleus* a été évaluée *in vitro* sur onze souches bactériennes. Les diamètres d'inhibition enregistrés des différentes souches bactériennes testées avec les différents extraits des deux plantes sont représentés sur le graphique suivant :

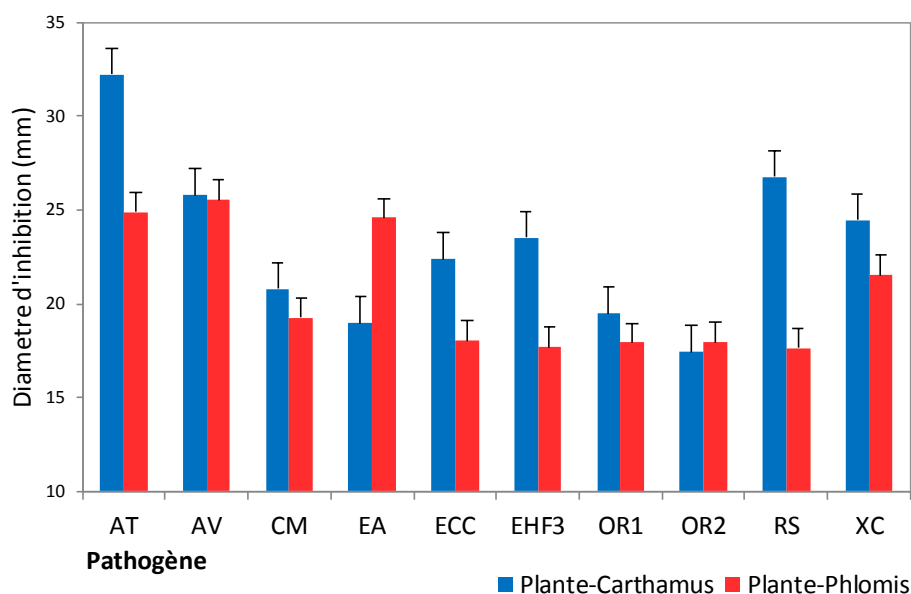


Figure 1-1 Diamètre d'inhibition en fonction de la souche bactérienne testée [à Gram- : *Agrobacterium tumefaciens* (AT), *Agrobacterium vitis* (AV), *Erwinia amylovora* (EA), *Erwinia carotovora* pv. *Carotovora* (ECC), *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* (XC) et *Ralstonia solanacearum* (RS)] et [à Gram+ : *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*(CM), *Bacillus amylofaciens*(OR2), *Bacillus cereus*(OR1), et *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Beticola*(EHF3)]

D'après le graphique global (figure 1-1), il apparaît que les extraits totaux utilisés des deux plantes se sont révélés actifs sur les souches testées et se traduisent par la formation de zones d'inhibition mesurables, comparées au témoin. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient en fonction de la souche bactérienne testée ainsi que l'extrait végétal utilisé. Cette zone peut être qualifiée de forte, modérée à faible inhibition. .

Nous pouvons noter une dissemblance entre les deux groupes de bactéries, ceux à Gram- montrent les diamètres d'inhibition les plus élevés comparé aux autres bactéries à Gram+, et les deux groupes affichent des diamètres modérés. De même, les deux bactéries du genre *Bacillus* sont qualifiées des plus résistantes aux extraits utilisés, avec les plus faibles diamètres d'inhibition pour *Bacillus cereus*(OR1).

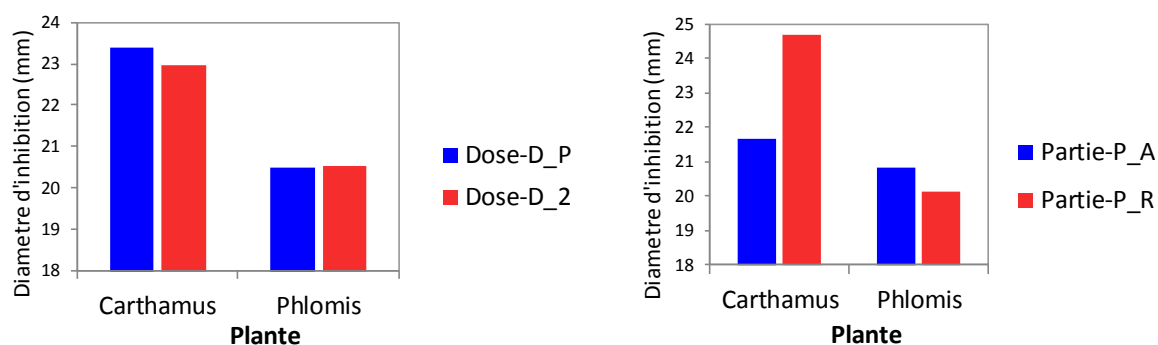


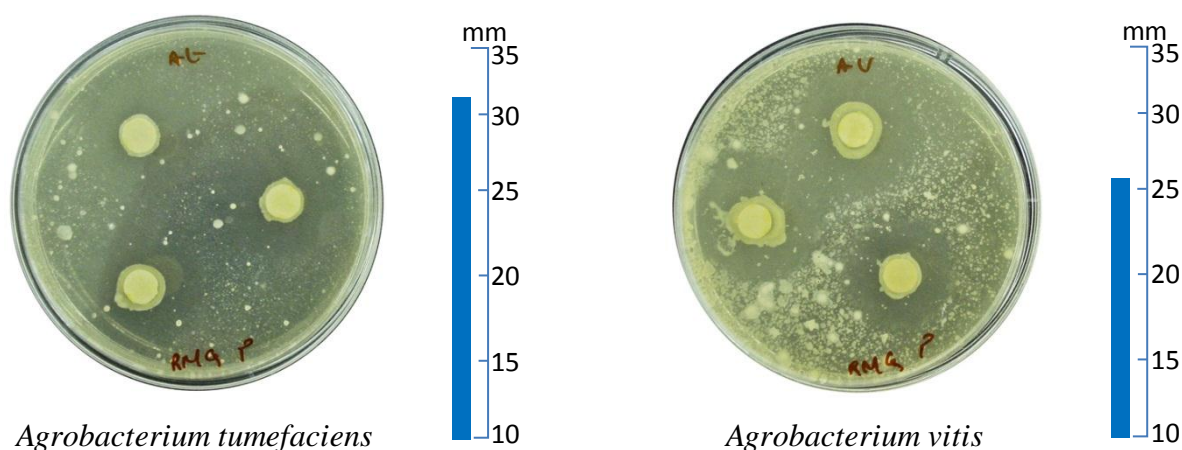
Figure 1-2 Diamètres d'inhibitions en fonction de l'espèce testée, comparés avec deux facteurs, par dose à gauche et par partie utilisée à droite [P\_A : Partie Aérienne, P\_R : Partie Racinaire, D\_P : Dose Pure, D\_2 : Dose dilué à 1/2]

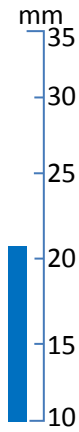
Parmi les extraits utilisés, ceux de l'espèce *Carthamus caeruleus* avec les deux doses étudiées ont montré l'activité antibactérienne la plus élevée comparée aux autres extraits. Cependant, l'extrait de la partie aérienne de l'espèce *Phlomis crinita* montre une légère différence par rapport à l'extrait de la partie aérienne de l'espèce *Carthamus caeruleus*.

D'une manière générale, une différence non significative entre les deux doses des extraits aqueux de *C. caeruleus* et *P. crinita* et une légère différence qualifiée de non significative entre la partie aérienne et la partie souterraine de ce dernier se révèle des résultats.

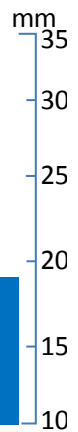
Les résultats se confirment par les photos prises après 18h de pulvérisation des souches bactériennes sur les disques imbibés par les extraits aqueux des deux plantes analysés et leur mise en culture à l'étuve à 28° C :

- **Partie racinaire de *Carthamus caeruleus* L.** (Figure 1-3)

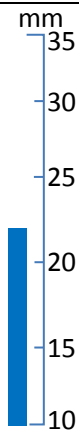




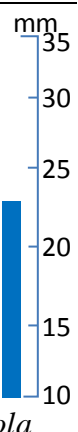
*Clavibacter michiganensis*



*Erwinia amylovoa*



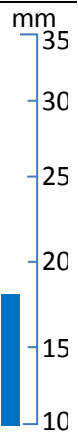
*Erwinia carotovora* pv. *carotovora*



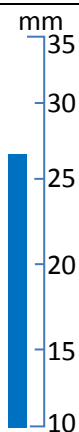
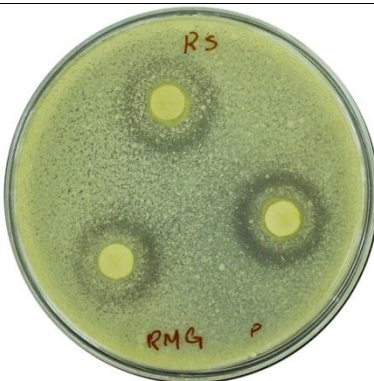
*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *beticola*



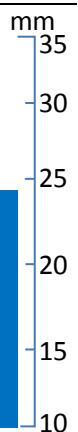
*Bacillus cereus*



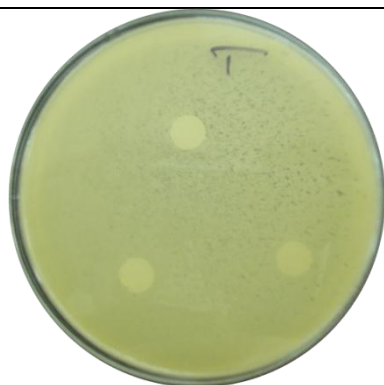
*Bacillus amylofaciens*



*Ralstonia solanacearum*



*Xanthomonas campestris*



Témoin (disques imbibés avec l'EDS)

Figure 1-3 Photos montrant des diamètres d'inhibition des souches bactériennes testées avec *C. caeruleus* après 18h de pulvérisation.

D'une manière générale, le screening antibactérien révèle que toutes les bactéries présentent une sensibilité envers l'extrait de la partie racinaire de *C. caeruleus* et la valeur la plus élevée est celle de la bactérie *A. tumefaciens* suivie par la bactérie *R. solanacearum*. Par ailleurs, le groupe des bactéries appartenant au genre *Bacillus* montre aussi une sensibilité. Une valeur moyenne de sensibilité de la bactérie *C. flaccumfaciens* pv. *Beticola* a été enregistrée.

- **Partie aérienne de *Phlomis crinita* L.** (Figure 1.4)



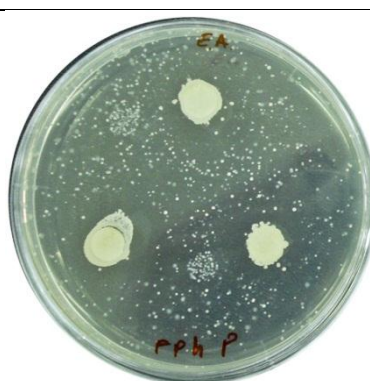
*Agrobacterium tumefaciens*



*Agrobacterium vitis*



*Clavibacter michiganensis*



*Erwinia amylovoa*



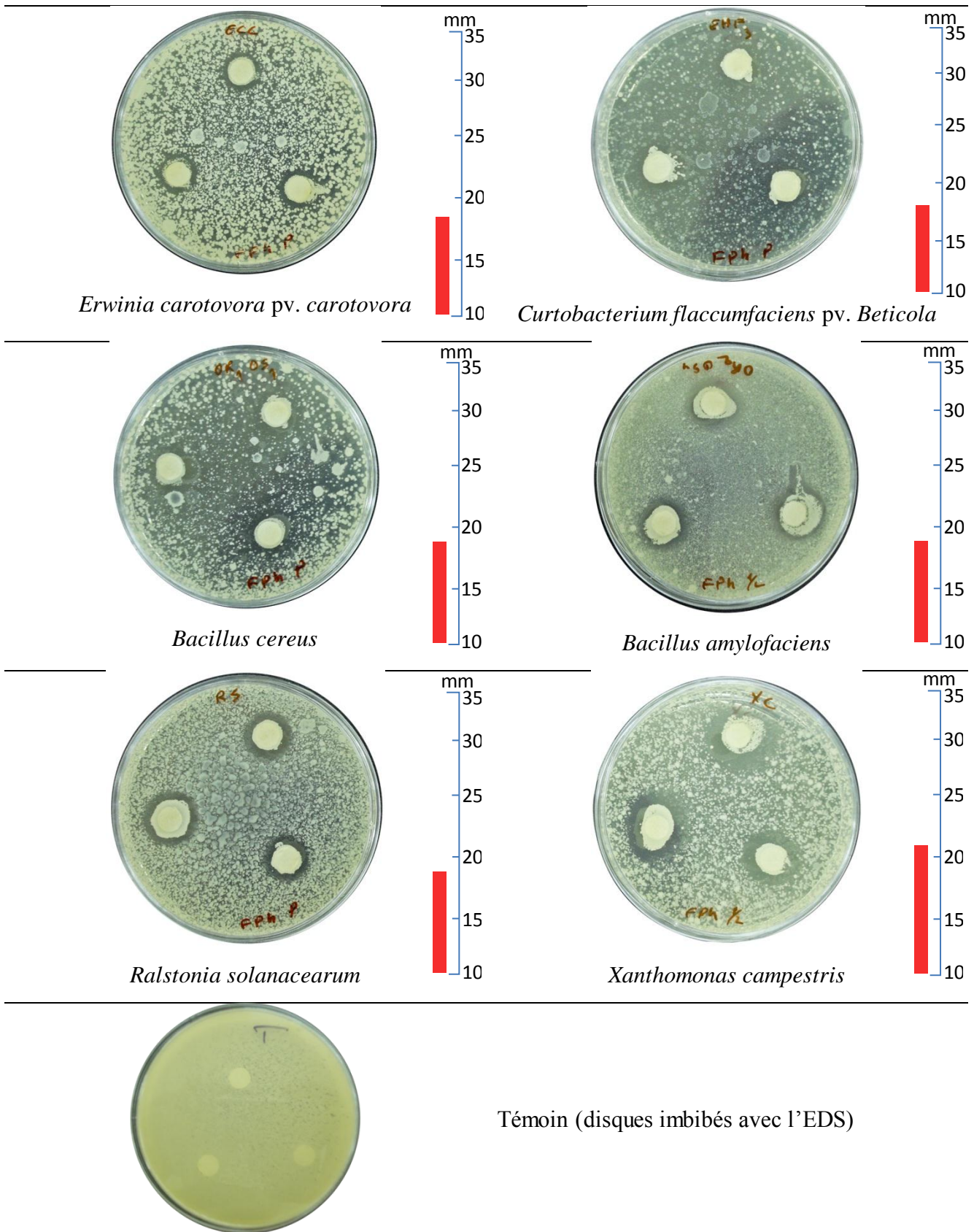


Figure 1-4 Photos montrant des diamètres d'inhibition des souches bactériennes testées avec *P. crinita* après 18h de la pulvérisation.

D'après les résultats du test du pouvoir antibactérien, des diamètres d'inhibitions ont été enregistrés avec toutes les bactéries présentent une sensibilité envers l'extrait de la partie aérienne de *P. crinita* et la valeur la plus élevée est celle de la bactérie *A. vitis* suivie par la bactérie *A. tumefaciens* et *Erwinia amylovora*. Le groupe des bactéries du genre *Bacillus* montre aussi une sensibilité mais elle est faible par rapport aux autres bactéries phytopathogènes.

Tableau 1-1 Modèle Linéaire Général : Tests Univariés de Significativité des Diametres d'inhibitions représentés pas la variable "Diamètre" inutile de gerder autant de zero après la virgule. Soit les rapprocher de 3 chiffres après la virgule ou les mettre sous forme de puissance

Effets et interactions	Sommes des Carrés	Degré De Liberté	Moyens Carrés	F de Fisher	Probabilité (P)
Plante utilisée	429,6	1	429,6	121,84	1.00E-18
Partie utilisée	81,4	1	81,4	23,10	3.52E-06
Dose appliquée	2,3	1	2,3	0,66	4.17E-01
Pathogène	2300,5	9	255,6	72,50	1.00E-18
Plante*Partie	207,2	1	207,2	58,77	1.62E-12
Plante*Dose	3,5	1	3,5	0,99	3.22E-01
Partie*Dose	64,9	1	64,9	18,40	3.09E-05
Plante*Patho	983,2	9	109,2	30,99	1.00E-18
Partie*Patho	936,7	9	104,1	29,52	1.00E-18
Dose*Patho	179,0	9	19,9	5,64	9.05E-07
Plante*Partie*Dose	4,3	1	4,3	1,22	2.70E-01
Plante*Partie*Patho	975,9	9	108,4	30,76	1.00E-18
Plante*Dose*Patho	256,6	9	28,5	8,09	7.70E-10
Partie*Dose*Patho	216,6	9	24,1	6,83	2.79E-08
Plante*Partie*Dose*Patho	319,0	9	35,4	10,05	3.56E-12

L'application du modèle G.L.M (Modèle Linéaire Général) a permis de déduire que les effets antibactériens des extraits sont hautement significatifs selon la plante médicinale, le pathogène (souche testée), et la partie du végétal utilisée. Par ailleurs, la dose appliquée (extrait pure ou semi-diluée) n'a montré aucune différence significative d'un point de vue statistique (P=0.417).

### 1.1. Effet bactéricide et bactériostatique

Pour le test de l'effet bactériostatique ou bactéricide des différents extraits sur les différentes souches bactériennes testées, nous avons laissé les boîtes de pétri des résultats de 18h pendant 120h (05 jours) à température ambiante (25°C), les résultats sont présentés sur le (tableau 1-2).

Tous les extraits montrent une activité bactéricide envers les bactéries : *Agrobacterium tumefaciens* (AT), *Agrobacterium vitis* (AV), *Ralstonia solanacearum* (RS), *Xanthomonas campestris* (XC), alors qu’avec la bactérie *Clavibacter michiganensis* (CM), les extraits montrent une activité bactériostatique. La bactérie *Bacillus amylofaciens* (OR2) paraît sensible qu’avec l’extrait de la partie aérienne de *Carthamus caeruleus* et montre un effet bactéricide. En effet, l’effet bactéricide paraît le plus fréquent avec le reste des bactéries testées.

Tableau 1-2 Effet bactéricide / bactériostatique des différents extraits sur les différentes souches bactériennes testées (+) pour effet bactéricide, (-) pour l’effet bactériostatique.

Extrait			Souche Bactérienne									
Plante	Partie	Dose	AT	AV	CM	EA	ECC	EHF3	OR1	OR2	RS	XC
<i>Phlomis crinita</i>	Partie aérienne	P	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
		1/2	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
	Partie souterraine	P	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+
		1/2	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
<i>Carthamus caeruleus</i>	Partie aérienne	P	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
		1/2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	Partie souterraine	P	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
		1/2	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

## 2. Évaluation du pouvoir antifongique

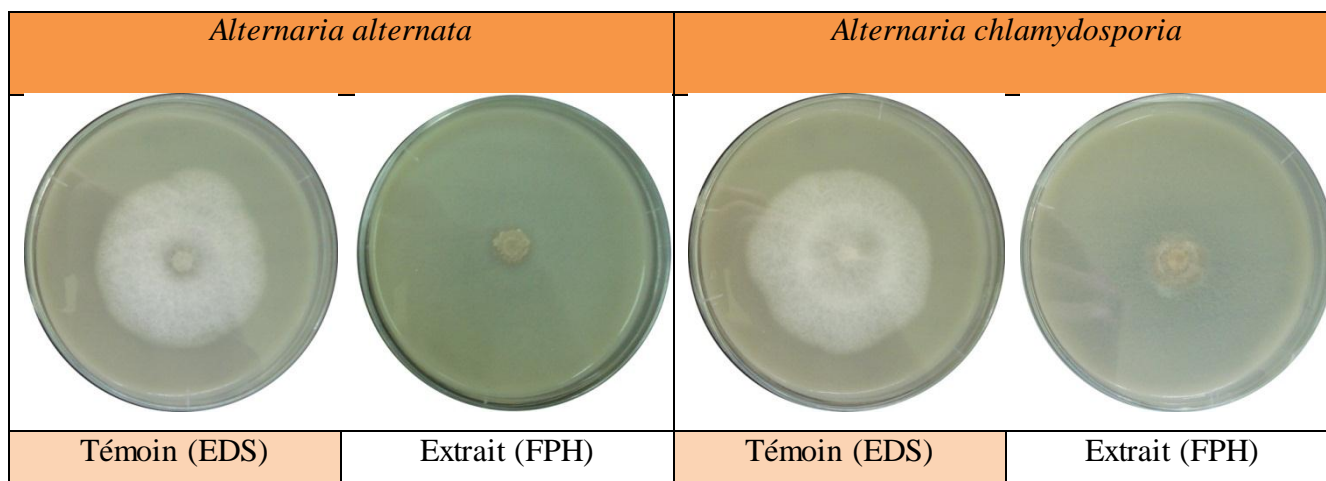
### 2.1. Test par la culture inhibitrice








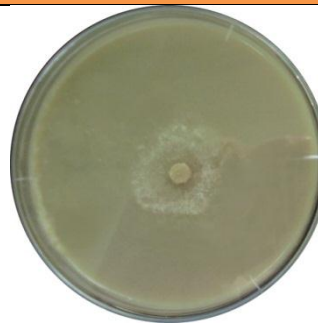
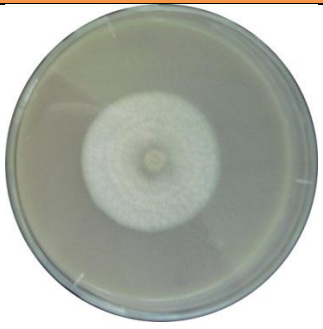







Nous avons préconisé ce test uniquement pour l’extrait de la partie aérienne de *Phlomis crinita*. L’étude du pouvoir antifongique a été évalué sur douze isolats fongiques, et les résultats sont présentés sur le (tableau 2-1) où nous avons mesuré les diamètres de croissance dans les deux cas : Témoin avec EDS et extrait de la partie aérienne de *P. crinita*. Le pourcentage d’inhibition est calculé par rapport à ces deux valeurs.

Tableau 2-1 Pouvoir antifongique de l'extrait de la partie aérienne de *P. Crinita* estimé par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycelienne, les bars de couleur verts représentent le niveau d'inhibition par rapport à un repère min/max de 0 à 80%.

isolat fongique	Croissance mycelienne (mm)		Inhibition (%)
	Témoin	Extrait FPH	
<i>Alternaria alternata</i>	51.96	10.62	79.56
<i>Alternaria chlamydosporia</i>	52.62	16.46	68.72
<i>Aspergillus fumigatus</i>	54.10	14.88	72.50
<i>Cryphonectria parasitica</i>	44.67	36.08	19.23
<i>Fusarium oxysporum</i>	63.54	23.83	62.49
<i>Fusarium solani</i>	37.78	29.50	21.92
<i>Gaeumannomyces graminis var tritici</i>	40.67	20.17	50.41
<i>Phomopsis vaccinii</i>	57.59	16.91	70.64
<i>Rhizoctonia solani</i>	62.48	13.05	79.11
<i>Seridium cardinale</i>	9.34	16.05	71.84
<i>Seridium cupressi</i>	12.70	9.05	28.74
<i>Seridium unicorne</i>	14.92	5.31	64.41

Il est clair d'après le tableau ci-dessus qu'il y'a une forte inhibition de la croissance pour la majorité des isolats fongiques testés sauf pour *C. parasitica*, *F. solani* et *S. cupressi* où nous avons assisté à une inhibition de la croissance relativement faible. Pour *F. oxysporum*, *G. graminis var tritici*, et *S. unicorne* l'inhibition est modérée. Concernant l'espèce *S. cardinale*, un résultat nous a paru comme une stimulation de la croissance sur le milieu de culture additionné de l'extrait, cependant, le champignon est rentré dans la phase de sporulation, ce qui a donné l'impression d'une croissance dans la boîte de Pétri. La figure 2-1 confirme les résultats présentés dans le tableau ci-dessus



<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Cryphonectria parasitica</i>	
			
Témoin (EDS)	Extrait (FPH)	Témoin (EDS)	Extrait (FPH)
<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Fusarium solani</i>	
			
Témoin (EDS)	Extrait (FPH)	Témoin (EDS)	Extrait (FPH)
<i>Gaeumannomyces graminis var tritici</i>		<i>Phomopsis vaccinii</i>	
			
Témoin (EDS)	Extrait (FPH)	Témoin (EDS)	Extrait (FPH)
<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Seridium cardinale</i>	
			
Témoin (EDS)	Extrait (FPH)	Témoin (EDS)	Extrait (FPH)

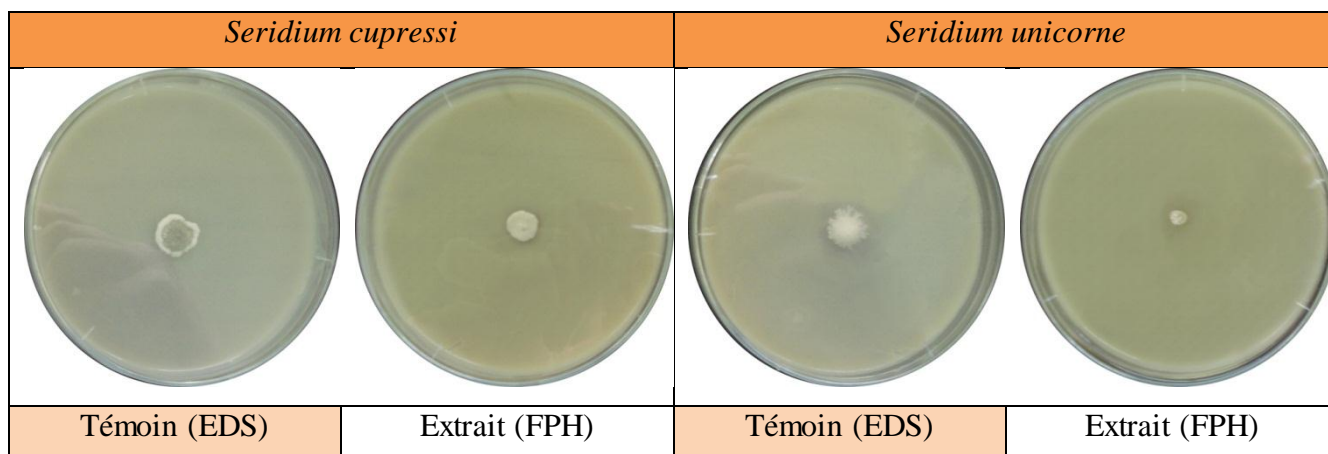


Figure 2-1 Photos prises après 8 jours d'incubation à température ambiante montrant les variations de la croissance des isolats fongiques avec l'extrait de la partie aérienne de *P. crinita* (FPH)

### 2.2. Test de l'effet antifongique par la recherche de l'activité volatile

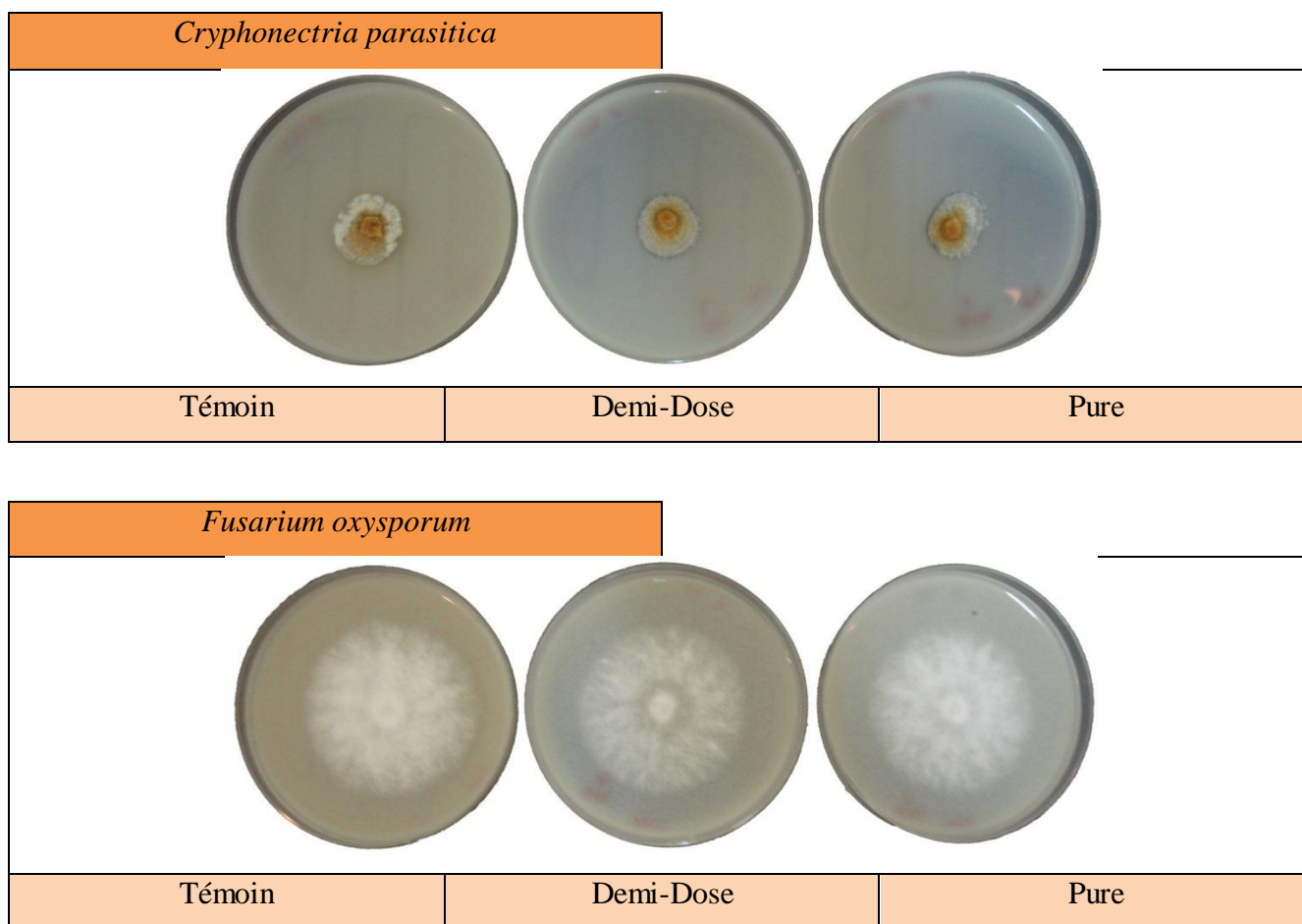
L'étude du pouvoir antifongique de l'extrait de la partie souterraine de *Carthamus caeruleus* a été testée sur toutes les souches fongiques. Après incubation à température ambiante, et un suivi chaque 24h durant 08 jours, les valeurs enregistrées nous ont permis de dresser le tableau 2-2.

Tableau 2-2 Test du pouvoir antifongique de l'extrait de la partie aérienne de *C. caeruleus* par activité volatile estimé en pourcentage d'inhibition par rapport à un témoin, les barres colorées représentent les niveaux d'inhibition par rapport à un repère min/max de 0 à 26%.

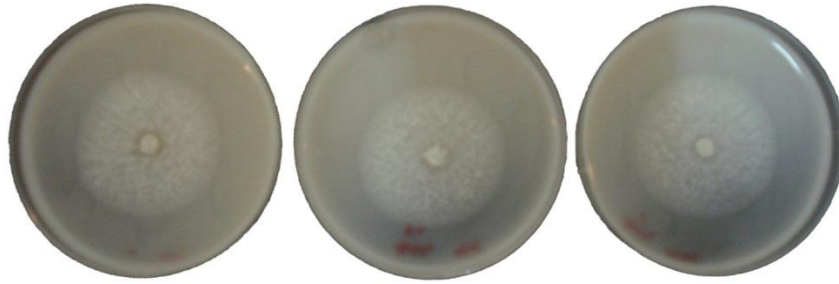
Isolat fongique	Croissance mycélienne (mm)			% d'Inhibition / témoin	
	EDS	Extrait			
	Témoin	Demi-Dose	Pure	Demi-Dose	Pure
<i>Alternaria alternata</i>	64.94	63.09	61.48	2.86	5.33
<i>Alternaria chlamydosporia</i>	66.34	65.49	65.32	1.29	1.54
<i>Aspergillus fumigatus</i>	69.47	68.24	64.72	1.77	6.84
<i>Cryphonectria parasitica</i>	22.31	18.40	17.23	17.51	22.79
<i>Fusarium oxysporum</i>	56.50	53.09	49.91	6.03	11.66
<i>Fusarium solani</i>	42.84	41.94	36.13	2.10	15.66
<i>Gaeumannomyces graminis var tritici</i>	48.40	46.23	46.21	4.49	4.54
<i>Phomopsis vaccinii</i>	66.70	62.36	60.22	6.50	9.71
<i>Rhizoctonia solani</i>	64.82	62.86	58.80	3.02	9.28
<i>Seridium cardinale</i>	16.25	14.59	12.58	10.23	22.62
<i>Seridium cupressi</i> (isolat 1)	22.19	20.62	20.48	7.08	7.71
<i>Seridium cupressi</i> (isolat 2)	13.74	12.04	10.31	12.38	24.96
<i>Seridium unicorne</i>	20.27	15.44	15.02	23.82	25.91

L'estimation du pouvoir antifongique par le test de l'activité volatile de l'extrait de la partie souterraine de *C. caeruleus* s'est révélée relativement positif. D'après le (tableau 2-2), l'activité la plus marquante c'été sur *S. unicorne*, suivi par *S. cupressi* (isolat 2), *S. cardinale*, et *C. parasitica*. Par contre *Alternaria Chlamydosporia* s'est montré comme étant l'isolat le plus résistant aux composés volatiles de l'extrait végétal étudié.

Nous remarquons d'après le tableau 2-2 que dans les conditions de notre expérience, l'extrait de la partie aérienne de *Carthamus caeruleus* ne montre pas une forte activité volatile, mais ceci n'empêche pas d'enregistrer quelques résultats positifs concernant l'inhibition induite par cette plante. La (figure 2-2) illustre quelques exemples d'une activité volatile relativement modérée de l'extrait de la partie aérienne de *C. caeruleus*.



*Fusarium solani*



Témoins

Demi-Dose

Pure

*Phomopsis vaccinii*

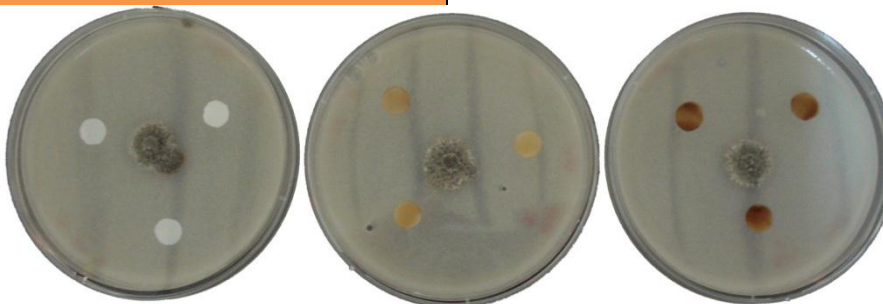


Témoins

Demi-Dose

Pure

*Seridium cupressi* (isolat 2)



Témoins

Demi-Dose

Pure

*Seridium unicornie*



Témoins

Demi-Dose

Pure



# **Discussion**

Récemment, beaucoup d'attention a été orientée vers les extraits des plantes et les composés biologiques actifs isolés à partir de certaines espèces végétales. L'utilisation des plantes médicinales joue un rôle essentiel étant donné qu'elles peuvent offrir une nouvelle source d'agents antimicrobiens, notamment des antibactériens et des antifongiques (Munõz-Mingarro et al., 2003 ; Coelho de Souza et al., 2004).

Notre objectif principal est avant tout d'ordre académique ; c'est celui, d'identifier toujours davantage de substances possédant des propriétés « antimicrobienne ». En premier lieu pour élargir le spectre d'action de ces biomolécules dans le but d'enrichir la base de données des nouvelles substances biologiques actives

Nous avons étudié les effets des extraits aqueux de deux plantes médicinales (*Phlomis crinita* L. de la famille des Lamiacées, et *Carthamus caeruleus* L. de la famille des Astéracées) sur la croissance *in vitro* de deux collections d'organismes pathogènes (bactéries et champignons); certains sont impliqués dans de redoutables phytopathologies, alors que d'autres, sont à l'origine de maladies chez l'homme.

L'activité antibactérienne des extraits aqueux a été révélée positive sur une gamme de souches bactériennes phytopathogènes dont : *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *citri* et *Ralstonia solanacearum* pour le groupe des bactéries à Gram négatifs, et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Bacillus amylofaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* et *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *beticola*, pour les bactéries à Gram positif. Les résultats varient selon la partie du végétal utilisée, la dose appliquée, ainsi que l'agent pathogène testé.

Cependant, l'activité antifongique évaluée *in vitro* suivant deux méthodes de travail, a montré une efficacité relativement modérée à forte, marquée sur une gamme de champignons dont la majorité sont phytopathogènes, causant des dégâts aussi bien au champ qu'en conservation, à savoir : *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryphonectria parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, *Phomopsis vaccinii*, *Rhizoctonia solani*, *Seridium cardinale*, *Seridium cupressi*, *Seridium unicorne*.

## Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne constitue une étape préliminaire de recherche sur de nouvelles molécules bioactives à intérêt pesticide et/ou clinique (médical). Dans une approche originale, la première fois menée sur cette gamme de bactéries phytopathogènes, et même à intérêt clinique et sur ces espèces végétales les résultats montrent une efficacité modérée à élevée des différents extraits aqueux des deux plantes médicinales en relation avec leurs origines (partie aérienne ou souterraine) et leurs concentrations (pure, dilué à 1/2).

Les résultats obtenues à travers cette étude confirment les propriétés antimicrobiennes que renferment ces plantes spontanées à intérêt médical, et explique leur utilisation traditionnelle pour guérir certaines maladies cliniques.

Toutefois, une différence marquée entre les deux espèces végétales due principalement aux différences qui existent entre les deux familles botaniques. En effet, l'espèce *Carthamus caeruleus* de la famille des Astéracées, montre des taux élevés d'inhibition comparée à l'espèce *Phlomis crinita* de la famille des Lamiacées.

Hilan et ses collaborateurs en 2006 ont confirmé que la composition des huiles essentielles extraites de différentes plantes médicinales de la famille des lamiacées dont : *Mentha longifolia* (la menthe), *Micromeria barbata* Boiss. & Ky, *Micromeria myrthifolia* Boiss., & Hohen (la micromère), *Origanum majorana* L., *Origanum syriacum* L. (le thym), *Rosmarinus officinalis* L. (le romarin), *Salvia libanotica* (la sauge), montre une grande diversité au sein de cette famille et entre espèces et variétés, tant sur le plan structurel que fonctionnel. En effet, plusieurs de ces espèces possèdent des propriétés pharmacologiques tant sur le plan humain qu'industriel. De nombreuses propriétés leurs sont conférées : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...ect.

Cependant, FLORIN en 2008 résume que le caractère médicinal général de la famille des astéracées découle dans le fait qu'il s'agit souvent de plantes pouvant aider à la fois à la revitalisation et à la régénération On y trouvera à la fois des plantes soutenant l'immunité comme l'Echinacée des Amérindiens, des vulnéraires aidant à cicatriser ou à limiter des effets des contusions : pâquerette, arnica, hélichryse, carthame, etc. et de bonnes digestives (matricaire, achillée, camomille, ...). De même, du fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes médicinales sont attribués aux composés dérivés de polyphénols et/ou des flavonoïdes, Belkhir (2009), a pu caractériser les extraits préparés à partir des racines de *C. caeruleus*.

Des différences significatives entre les extraits des deux plantes utilisées pour les tests, peuvent être expliquées selon l'origine de l'extrait ou la partie utilisée, la dose appliquée, et la composition chimique. En effet, pour l'espèce *C. caeruleus*, la partie souterraine a montré les valeurs les plus élevées par rapport à la partie aérienne, jumelée avec la dose appliquée, qui montre une faible différence entre les deux doses préconisées durant nos tests avec un avantage de l'extrait non dilué. Cependant, cette différence peut être expliquée en suivant la logique que les plantes synthétisent et stockent les métabolites secondaires localement ou dans des organes spécialisés, ce qui crée une diversité des composés chimiques rencontrés dans les deux parties de la plante testées. Tandis que chez les plantes en général, les racines accumulent des quantités élevées de molécules bioactives de type alcaloïdes (comme chez *Datura innoxia*), polyphénols (chez les carthames), terpénoïdes (comme le taxol, substance anticancéreuse chez *Taxus baccata*), coumarines (les furocoumarines chez *Ruta graveolens*), shikonine (colorant cosmétique issu de *Lithospermum erythrorhizon*), les flavonoïdes, base de plusieurs antioxydants (chez le sarrasin et le citron) (Bourgaud, 2006).

Cette différence d'action entre les différents extraits aqueux est expliquée aussi par le fait que les plantes produisent des métabolites secondaires spécifiques qui appartiennent à certaines classes connues pour avoir ce type d'activité antibactérienne telles que : les composés phénoliques (Stavrianakou et al., 2005), les terpénoïdes (Ceccherelli et al., 1985; Grande et al., 1992) et les flavonoïdes. Les résultats obtenus par cette étude sont en concordance avec les travaux cités précédemment.

L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* de nos extraits aqueux analysée par la méthode de disque-diffusion, nous a permis de déduire que l'espèce *Carthamus caeruleus* présente l'activité antibactérienne la plus remarquable à l'égard de toutes les souches bactériennes analysées, à l'exception de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Erwinia amylovora*. Ces résultats pourraient être expliqués par la composition phytochimique de cette plante, caractérisée par sa richesse en composés phénoliques ; spécialement des polyphénols et aussi des flavonoïdes. De nombreux travaux ont mis en évidence le pouvoir antibactérien élevé des composés phénoliques (Scalbert, 1991; Cowan, 1999),

Cependant, l'espèce *P. crinita*, avec sa richesse en métabolites secondaires représentés spécialement par les huiles essentielles, les flavonoïdes, et les iridoïdes, montre aussi des diamètres d'inhibition considérables avec toutes les bactéries. De même, des pratiques ethnobotaniques de cette espèce végétale confirment aussi son utilisation pour traiter des brûlures, des lésions et infections de la peau et des allergies. Plusieurs auteurs ont rapporté l'effet antibactérien de la précédente espèce sur une large gamme de bactéries cliniques (Ben-Amor et al, 2009).

Les extraits aqueux testés dans cette étude ont montré une action antibactérienne importante vis-à-vis des bactéries à Gram négatif testées, ce qui démontre que ces extraits renferment des métabolites secondaires bioactifs capables de franchir la paroi de ces bactéries comme le feraient d'ailleurs, certains antibiotiques, selon différents modes d'action, soit empêcher la multiplication des bactéries (bactériostase) ou entraîner leur destruction (bactéricide) (Lavigne, 2007).

De nombreux mécanismes antimicrobiens très complexes des extraits végétaux à base de flavonoïdes ont été rapportés, tels que; l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, l'inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (HARAGUCHI, 1998).

Plusieurs études ont été menées pour comprendre les mécanismes d'action des extraits des plantes, et plusieurs attribuent cette fonction aux composants phénoliques en interaction avec la membrane plasmique des agents pathogènes. De ce fait, les composés secondaires des plantes, entre autres, les huiles essentielles, possèdent plusieurs modes d'action sur différentes souches bactériennes, et d'une manière générale, leur action aboutit à une lésion de la membrane plasmique.

Dans la plupart des recherches sur l'activité antibactérienne des extraits des plantes, les bactéries à Gram positif s'avèrent souvent plus susceptibles aux extraits des plantes que les à Gram négatif (Fennell et al, 2004). En effet, les bactéries à Gram + ont seulement une couche externe de peptidoglycane (murène) qui ne constitue pas une barrière efficace. En contraste, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe de phospholipides qui rend la paroi des cellules imperméables aux corps dissous lipophiles, alors que les porines constituent une barrière sélective aux corps dissous hydrophiles (Nikaido et Vaara, 1985). Nos résultats sont en parfaite concordance avec les hypothèses ci-dessus du fait que les quatre extraits montrent tous une activité antibactérienne sur toutes les bactéries testées, et avec une grande action sur les bactéries à Gram négatif, ce qui prouve que ces extraits contiennent des molécules bioactives capables de franchir la paroi des bactéries à Gram négatif.

Pour le test de l'efficacité de nos extraits utilisés, et comme il a été rapporté, nous avons considéré qu'un extrait a une action bactériostatique, si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm (SAĞDIÇ, 2003). D'après les résultats révélés par cette analyse, il s'avère que tous nos extraits semblent avoir un effet bactéricide après une durée de 24 à 48h. Cependant, 48h après, certains extraits perdent leur activité. En effet, nous avons constaté que chez le groupe des bactéries à Gram- un effet bactéricide a été montré, ceci pourrait être expliqué par le fait que l'extrait végétal a non

seulement inhibé la croissance bactérienne, mais aurait conduit également à une lésion de la paroi accompagnée par la mort de la cellule.

L'effet bactéricide induit, qui est le cas de la majorité de nos extraits, est dû aux molécules liposolubles. Par contre, le groupe des bactéries à Gram positif, représenté par *Clavibacter michiganensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*, ont montré un effet bactériostatique, l'extrait, avec sa composition riche en métabolites secondaires a inhibé la croissance quand il est actif, après 48h, il y'a une reprise de la croissance bactérienne sur les zones initiales d'inhibition. Ceci peut être dû à la perte de l'activité antibactérienne suite au contact avec l'air. La paroi semble avoir un rôle majeur dans la régulation des échanges entre la cellule bactérienne et le milieu externe. La nature chimique des extraits peut aussi être impliquée, par le fait que les extraits contiennent des composés du métabolisme secondaire qui sont volatiles, et donc dégradables à l'air libre (Mirza et Baher, 2007 ; Sarkhail, 2006).

### **Activité antifongique**

La composition chimique de *Carthamus caeruleus* et *Phlomis crinita*, essentiellement constituée de glycosides et de flavonoïdes, et iridoïdes, confère à ces plantes des effets antimicrobiens y compris antifongiques. La teneur en composés chimiques varie selon la partie de la plante analysée. D'autre part, des études ont montré une activité inhibitrice remarquable sur de nombreuses bactéries et champignons cliniques de ces deux plantes (Limem et al, 2009 ; Baghiani, 2010)

La littérature rapporte de nombreux mécanismes antifongiques très complexes des extraits aqueux d'origine végétale afin d'expliquer l'action de diverses molécules bioactives appartenant à différentes familles botaniques. C'est ainsi qu'OMIDBEYGI et coll en 2007, ont suggéré que les composants de la membrane cellulaire traversent la paroi en interagissant avec les enzymes et les protéines de la membrane, produisant ainsi un flux de protons vers l'extérieur de la cellule qui provoque des changements, et, finalement leur mort. CRISTANI et coll en 2007, ont signalé que l'activité antimicrobienne est liée à la capacité des terpènes pour son action non seulement sur la perméabilité, mais aussi sur d'autres fonctions de la membrane cellulaire. Ces composés allélopathiques peuvent traverser la membrane, pénétrer ainsi à l'intérieur de la cellule et interagir avec les sites intracellulaires critiques. LUCINI et coll. (2006), quant à eux, ont indiqué que l'inhibition de la croissance mycélienne est causée par les monoterpènes. Ces

biocomposés vont augmenter la concentration des peroxydes lipidiques tels que les radicaux hydroxyle, l'alcoxy et alkoperoxy et provoquer ainsi la mort cellulaire. Pour TRIPATHI et SHARMA (2006), les composants des extraits agiraient sur les hyphes du mycélium, provoquant la sortie du contenu cytoplasmique, la perte de la rigidité et l'intégrité de la paroi cellulaire des hyphes, ce qui entraîne sa désintégration et l'arrêt de la croissance mycélienne.

Un résultat a cependant retenu notre attention, c'est celui de l'espèce *S. cardinale*. En effet, nous avons constaté une stimulation de la croissance sur le milieu de culture additionné de l'extrait, mais en vérité, le champignon est rentré dans la phase de sporulation, ce qui nous a donné l'impression d'une croissance dissimulée sans prolifération du mycélium à cause de la vitesse lente de ce champignon.

Certaines substances phénoliques jouent un rôle très actif dans les mécanismes de résistance des plantes contre les bioagresseurs. Elles participent à la résistance constitutive en inhibant des enzymes hydrolytiques parasites ou en se polymérisant. Ces polymères phénoliques ne sont pas dégradés par la plupart des agents pathogènes. Ils constituent une barrière à plusieurs niveaux en protégeant les autres constituants de la paroi ou en créant un obstacle à la diffusion des toxines parasites et à la dissémination des parasites vasculaires (Elmodafar et Boustani, 2002).

Les champignons phytopathogènes analysés lors de cette étude constituent pour la plupart des parasites vasculaires, ce qui nous permet d'avancer que l'effet des composés phénoliques sur les hyphes mycéliens, en inhibant leurs croissances, pourrait être assimilé aux résultats des recherches cités antérieurement.

Les substances phénoliques sont aussi impliquées dans la résistance induite à travers la biosynthèse des phytoalexines. Les travaux d'EL Modhafar et coll. (1999), indiquent que l'infection des racines du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) par le champignon pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* responsable du Bayoud, engendre la synthèse et l'accumulation de phytoalexines identifiées à des coumarines et à des dérivés de l'aesculétine. Le mécanisme de défense comporte une accumulation rapide des phénols aux sites d'infection, causant un ralentissement de la croissance du pathogène (Misirli et al, 2001). Nous pouvons expliquer cet état de cause par la capacité de l'espèce végétale à résister à l'attaque des bioagresseurs qui est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Rees et Hraborne, 1985).

Le changement de couleur exhibé par l'isolat de *Cryphonectria parasitica* en présence de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Phlomis crinita* et un ralentissement relativement faible de la

croissance par rapport au témoin, pourrait être expliqué par le fait que le champignon est rentré dans la phase de sporulation. Ceci peut être assigné aux composés que contient l'extrait.

Le manque d'activité inhibitrice d'un extrait vis-à-vis de certains isolats fongiques, soit pour l'activité par additionnement de l'extrait au milieu de culture ou par activité volatile, peut être prouvé par l'extraction de ces composés bioactifs dans un solvant différent de l'eau. L'attention devrait également être prêtée aux interactions possibles entre le solvant et les corps dissous car le solvant peut réagir avec certains composés pour produire des complexes ou pour causer la décomposition, la déshydratation ou encore l'isomérisation de ces composés (Yrjonen, 2004).

En fin, Ces constituants mineurs issus du métabolisme secondaire favorisent un effet synergétique avec les constituants majeurs pour jouer un rôle déterminant sur le plan d'utilisation médicinal ou autres (Christo et al, 2006).



---

## Conclusion

Parmi les contraintes qui pèsent sur l'agriculture, les maladies et les ravageurs, regroupés sous le terme de "bioagresseurs", rendent nécessaire le développement de méthodes à la fois toujours plus innovantes, respectueuses de l'environnement et efficaces, afin de limiter les dégâts et donc les pertes qu'ils occasionnent.

La lutte chimique demeure encore aujourd'hui le moyen privilégié pour de nombreuses cultures, car elle est économiquement intéressante et simple à mettre en œuvre. La recherche s'implique de plus en plus dans la mise au point de méthodes alternatives à la lutte chimique dont la "biologique" (Christian, 2010). L'avenir est par conséquent orienté vers la lutte intégrée dont le principe est d'apporter une réponse multifactorielle à un problème lié à des bioagresseurs. Pour cela, une combinaison de plusieurs méthodes de contrôle y compris la lutte chimique est indispensable.

Dans cette même optique et pour des considérations de développement et d'agriculture durable, nous avons entrepris ce travail qui porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux de deux plantes (*Phlomis crinita* L. de la famille des Lamiacées, et *Carthamus caeruleus* L. de la famille des Astéracées) souvent utilisées efficacement dans le traitement traditionnel de diverses maladies cliniques.

L'activité antibactérienne des extraits aqueux a été révélée positive sur une gamme de souches bactériennes pathogènes dont : *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* et *Ralstonia solanacearum* pour le groupe des bactéries à Gram négatif, et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Bacillus amylofaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* et *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Beticola*, pour ceux à Gram positif. Les résultats varient selon la partie du végétal utilisée, la dose appliquée, ainsi que l'agent pathogène.

Nous avons déduit que l'espèce *Carthamus caeruleus* présente l'activité antibactérienne la plus remarquable à l'égard de toutes les souches bactériennes testées, à l'exception de *Bacillus amyloliquefaciens* et *Erwinia amylovora*. Cependant, l'espèce *P. crinita*, avec sa richesse en métabolites secondaires représentés spécialement par les huiles essentielles, les flavonoïdes, et les iridoïdes, montre aussi des diamètres d'inhibition considérables avec toutes les bactéries pathogènes étudiées.

En effet, la majorité de nos extraits exhibent un effet bactéricide, ce résultat est probablement dû aux molécules liposolubles qui sont dominantes. Par contre, le groupe des bactéries à Gram positif, représenté par *Clavibacter michiganensis* et *Bacillus amyloliquefaciens*, ont montré un effet bactériostatique. D'après les résultats révélés par cette analyse, il s'avère que tous nos extraits semblent avoir un effet bactéricide après une durée de 24 à 48h, cependant, 48h après, certains extraits perdent leur activité, et cela peut être dû à la dégradation des molécules biologiquement actives que renferment l'extrait, suite à l'exposition à l'air.

L'activité antifongique évaluée *in vitro* montre une efficacité moyennement marquée sur une gamme de champignons dont la majorité sont phytopathogènes, à savoir : *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryphonectria parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Gaeumannomyces graminis var tritici*, *Phomopsis vaccinii*, *Rhizoctonia solani*, *Seridium cardinale*, *Seridium cupressi*, *Seridium unicolore*. De même, l'inhibition de la croissance marquée sur le mycélium des champignons phytopathogènes analysés lors de cette étude, nous a permis d'attribuer cet effet aux composés issus du métabolisme secondaire que renferment nos extraits aqueux.

Le manque d'activité inhibitrice enregistré d'un extrait vis-à-vis de certains isolats fongiques, soit par la méthode d'addition de l'extrait au milieu de culture ou par activité volatile, peut être prouvé par l'extraction de ces composés bioactifs dans un solvant différent de l'eau. En effet, ces constituants mineurs issus du métabolisme secondaire favorisent un effet synergétique avec les constituants majeurs pour jouer un rôle déterminant sur le plan d'utilisation médicinale ou autres.

Les résultats obtenues à travers cette étude confirment les propriétés antimicrobiennes que renferment ces plantes spontanées à intérêt médical, et expliquent leur utilisation ethnobotanique pour guérir certaines maladies cliniques.

La différence marquée entre les deux espèces végétales est due principalement aux différences intrinsèques propres aux deux familles botaniques.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine végétale biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence. Vue la richesse en composés biologiquement actifs, il impérativement nécessaires de tester l'efficacité de ces plantes sur d'autres gammes de microorganismes pathogènes.

Comme continuation à ce travail, des études approfondies plus spécialisées, pour cerner la recherche sur de nouveaux composés bioactifs, diminuer ainsi les fluctuations expérimentales en utilisant des procédés biotechnologiques et bien sûr affiner les résultats sont à prévoir.

Au vu des résultats obtenus pour la première fois sur cette gamme d'agents pathogènes, cette étude mériterait d'être poursuivie. Ces résultats nous encouragent à vérifier et confirmer l'activité *in vivo* de ces espèces végétales et de caractériser les composés responsables du pouvoir antimicrobien,

## Références Bibliographiques

Abayomi Sofowora,(2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. KARTHALA Editions.

Abderrahmane Baghiani, Sabah Boumerfeg, Farida Belkhiri, Seddik Khennouf, Noureddine Charef, Daoud Harzallah, Lekhmici Arrar, Mosaad Attia Abdel-Wahhab. (2010). Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata Scientiae* 1(2): 128-136.

Al-reza s.m., Rahman a., Ahmed y., kang S.G., (2010).Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 96 : 86–92.

Andy Sheppard, 2007. Agropolis international, ISSN: 1628-4240 • Dépot légal : Mars 2007

Apel, K. and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Ann. Rev. Plant Biol.* 55,373–399

Aubertot J.N., J.M. Barbier, A. Carpentier, J.J. Gril, L. Guichard, P. Lucas, S. Savary, I. Savini, M. Voltz (éditeurs), 2011. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France).

B. C. Loubaki,a. S. Ouattara, c. A. T. Ouattara, r. Ouedraogo/traore, a. S. Traore. (1999) Activités antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de *Detarium microcarpum* [Cesalpinaceae (Guill et Perr)] sur huit espèces bactériennes impliquées dans certaines maladies infectieuses au Burkina Faso. *Rev. CAMES - Série A*, vol. 01, 66-73

Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G.,Gilroy, S., and Vivanco,J.M. (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol* 57. 233–266

Bajpai v.k., Rahman a., Ahmed y., Kang s.g., (2007). Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Industrial Crops and Products* 26 : 28–35.

Baldwin IT., Halitschke R., Paschold A., von Dahl CC, Preston CA (2006) Volatile signaling in plant-plant interactions: “Talking Trees” in the Genomics Era. *Science* 10, 311812–815

- Belkhiri Farida. (2009). Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *Tamus communis* L. et *Carthamus caeruleus* L. These.mag Microbiologie Appliquée. Univ-SETIF
- Biyiti L.F., Meko'o DJ.L, Tamzc v., Amvam Zollo P.H., (2004), Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. Pharm. Méd. Trad. Afr. 2004, Vol.13, pp.11-20
- Boivin G. (2001). Parasitoïdes et lutte biologique : paradigme ou panacée ? *Vertigo*, 2(2)
- Boullard, B. (2001). *Plantes Médicinales Du Monde (Réalités & Croyances)*, ESTEM, ISBN 284371 1177. pp515-516.
- Casida JE (1983) Development of synthetic insecticides from natural Products. Case history of pyrethroids from pyrethrins *Curr Themes Trop Sci* 2iO9—125
- Ceccherelli P., Curini M., Marcotullio M. C. & menghinA. I ;(1985). Sesquiterpene Acids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemistry*, Vol. 24, N°.12, P: 2987-2989.
- Christian Cilas (UPR Maîtrise des bioagresseurs des cultures pérennes),(2010). *Agropolis international*. ISSN : 1628-4240 • Dépot légal : Juillet 2010.
- Christo Hilan, Rabia Sfeir, Dalal Jawish et Souad Aitour, (2006. Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des lamiacée. *Lebanese Science Journal*, Vol. 7, No. 2, 2006.
- Cowan MM, (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 564-582.
- Cristani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with modeles membranes: application for their antibacterial activity. *J. Agric Food Chem*, 55: 6300-6308.
- Crop Protection Compendium, 2002 Edition, CABInternational, Wallingford, Oxon OX10. 8DE, UK
- Develey-Rivière, M. and Galiana, E. (2007). Resistance to pathogens and host developmental stage: a multifaceted relationship within the plant kingdom. *New Phytol.* 175,405–416
- Dixon R.A. (2001) Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411, 843–847

- Djellout H., (2009). Evaluation du pouvoir antibactérien de quatre plantes spontanées. thes ing phytopathol . Univ Blida. 60 p.
- Dorothy M. Adcock, MD, (2005). Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems; Approved Guideline. ISBN 1-56238-580-1. Volume 25. Number 23. H54-A.
- El Modafar C., EL Boustani E., (2002). Contribution des polyphénols aux mécanismes d'action des plantes. In Regnault-roger C., Philogène B., J., R., Vincent C., biopesticides d'origines végétale. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 196-185.
- El Modafar, c., A. Tantaoui E. El Boustani, (1999). Time course accumulation and fungitoxicity of date palm phytoalexins towards *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. J. Phytopathol., 147: 477–484
- Fennell CW, Lindsey KL, McGaw LJ, Sprag SG, Stafford GI, Elgorashi EE, Grace OM, Van Staden J. (2004). Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicity. *Journal of Ethnopharmacology* 94, 205-217.
- Ferron P. (2000). La lutte biologique : définition, concept et stratégie. Dossiers de l'environnement de l'INRA. 19 : 7-18.
- Field,B., Jordan, F., and Osbourn, A. (2006). First encounters-deployment of defence-related natural products by plants. *New Phytol* 172:193–207
- Frédéric Bourgaud, (2006). Des plantes à traire. Unité mixte de recherche " Agronomie et environnement " INPL (ENSAIA)-INRA – 2005.
- Giuliano Bonanomi, Francesco Vinale, and Felice Scala. (2009). The Role of Natural Products in Plant-Microbe Interactions. *Plant-derived Natural Products*, p301-320
- Grande M., Torres P., Piera F. & Bellido I. S.1992. Triterpenoids from *Dittrichia viscosa*. *Phytochemisry*, Vol. 31, N°. 5, p: 1826-1828.
- Gray, E.J. and Smith, D.L. (2005) Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.*, 37, 395–412
- Hammer O., Harper D.A.T., et Ryan P. D., (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm).

- Hammerschmidt, R. (1999). Phytoalexins: what have we learned after 60 years? *Ann. Rev. Phytopathol.* 37, 285–306
- Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*.48:125-129.
- Hawes, M.C., Gunawardena, U., Miyasaka, S. and Zhao, X. (2000) The role of root border cells in plant defense. *Trends Plant Sci.* 5, 128–133
- J.P. Lavigne, (2007). Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. MB7 Bactériologie, B7 Antibiotiques et Résistance. Faculté de Médecine Montpellier – Nîme. Janvier 2007.
- Jansma J.E., van Keulen H., Zadocks J.C. (1993). Crop protection in the year 2000: a comparison of current policies toward agrochemical usage in four West European countries. *Crop Protection*, 12, 483-489
- Jean, Paul, Marie, Euzéby (2009). *Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.*
- Jean-Louis Rivière. 2009. Pesticides : risques sanitaires et environnementaux, état des lieux et perspectives. Séance commune académie nationale de médecine-académie d'agriculture de France. 6 mai 2009
- Jean-Michel Florin, (2008). *Plante et cosmos*, E.-M Kranich, Ed. Triades. *Biodynamis - N° 64 HIVER 2008.*
- Kabouche, A., Kabouche, Z., Seguin, E., Tillequin, F., Bruneau, C., (2005). A phenylethanoid glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Cav.) (Lamiaceae). *Biochememical and Systematic Ecology* 33, 813–816.
- Kra K.D. , Diallo H.A. et Kouadio Y. J. (2009). Activités antifongiques de l'extrait de *Chromolaena odorata* (L.) King & Robins sur deux isolats de *Fusarium oxysporum* (E.F. Sm.) responsables du jaunissement mortel des feuilles des bananiers. *Journal of Applied Biosciences* 24: 1488- 1496
- Limem-Ben Amor I., Neffati A., Ben Sgaier M., Bhourri W., Boubaker J., Skandrani I., Bouhlel I., Kilani S., Ben Ammar R., Chraief I., Hammami M., Ghoul, Chekir-Ghedira L., Ghedira K., (2008). Antimicrobial Activity of Essential Oils Isolated from *Phlomis crinita* Cav. ssp. *mauritanica* Munby. *Journal American Oil Chemist Society* 85, 845–849.

- Limem-Ben Amor Ilef, Jihed Boubakera, Mohamed Ben Sgaier, Ines Skandrani, Wissem Bhourri, Aicha Neffati, Soumaya Kilani, Ines Bouhleb, Kamel Ghedira, Leila Chekir-Ghedira, (2009). Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *Journal of Ethnopharmacology* 125 (2009) 183–202
- Liolios, C., Laouer, H., Boulaacheb, N., Gortzi, O., Chinou, I., (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Algerian *Phlomis bovei* De Noé subsp. *Bovei*. *Molecules* 12, 772–781.
- Lucini E.I., Zunino M.P., Lopez M.L., Zygadlo J.A., (2006). Effect of monoterpenes on liquid composition and sclerotial development. *J. Phytopat*, 154: 441-446.
- Luigi Chiarappa. 1971. *Crop Loss Assessment Methods*. FAO Manual on Evaluation and Prevention of Losses by Pests, Diseases, and Weeds. Edition Commonwealth Agricultural Bureaux,
- Macias FA., Galindo JLG, Galindo JCG. (2007). Evolution and current status of ecological phytochemistry. *Phytochemistry* 68:2917–2936
- Madden, L.V., and Wheelis, M. (2003). The threat of plant pathogens as weapons against U.S. crops. *Annu Rev Phytopathol* 4:155–176
- Maleck, K., Levine, A., Eulgem, T., Morgan, A., Schmidn, J., Lawton, K.A., Dangl, J. and Dietrich, R.A. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nat. Genet.* 26:403–410
- Maor, R., and Shirasu, K. (2005). The arms race continues battle strategies between plants and fungal pathogens. *Curr Opin Microbiol* 8:399–404
- Marin, P.D., Veitch, N.C., Grayer, R.J., Kite, J.C., Sokovic, M., Janackovic, P., (2007). Flavonoids from *Phlomis fruticosa* (Lamiaceae) growing in Montenegro. *Biochemical and Systematic Ecology* 35, 462–466.
- McRoberts N., Hughes G., Savary S. (2003) Integrated approaches to understanding and control of diseases and pests in field crops. *Australasian Journal of Plant Pathology* 32:167-180
- Mioulane, P. (2004). *Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de Jardin*. Larousse.
- Mirza, M., Baher Nik, Z., (2007). Volatile constituents of *Phlomis olivieri* Benth. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal* 18, 131–132.



- Misirli A., Kuden A., Demir G., Gulcan R., (2001)- Determination of phenolic compounds in some almond hybrids varying in resistance to *Pseudomonas amigdali*. In Ak B.E. (ed) 11 GREMPA Seminar on Pistachious and almond 11 colloque du GREMPA sur le Pistachier et l'amanier, Zaragoza. Ciheam- IAMZ. P : 71-90.
- Morrissey John P. (2009). Biological Activity of Defence-Related Plant Secondary Metabolites. Plant-derived Natural Products, p283-299
- Morteza-Semnani, K., Azadbakht, M., Goodarzi, A., (2004). The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. Flavour and Fragrance Journal 19, 29–31.
- Nelson, E.B. (2004) Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. Ann. Rev. Phytopathol., 42, 271–309
- Nikaido H, Vaara M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiology Review 1, 1-32.
- Olivia C. MATOS, CÂNDIDO P. RICARDO (2006). Screening of plants against fungi affecting crops and stored foods. Naturally Occurring Bioactive Compounds. Elsevier B.V. All rights reserved. p139
- Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z., (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control 18: 1518-1523.
- Oussalah M., S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 18 (5), 414-420.
- Pandey D.K., Tripathi N.N., Tripathi R.D., Dixit S.N., (1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Caesulia axillaris* Roxb. (Compositae). Angerwandte Botanik, 56 : 256-257.
- Panneton B., Vincent C., Fleurat-Lessard F. (2000). Bilan et perspectives pour la lutte physique en phytoprotection. In : Vincent C., Panneton B., Fleurat-Lessard F. (Eds.). La lutte physique en phytoprotection. INRA Publications, Versailles, France

- Philippeau, G., (1986). Comment interpréter les résultats d'une analyse en composante principale. I.T.C.F., Paris, 63 pp.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Tome I et II. CNRS. 1 160-1170.
- R. Gordon-Weeks and J.A. Pickett (2009). Role of Natural Products in Nature: Plant–Insect Interactions. Plant-derived Natural Products, p 321-347
- Rees S. B., Hraborne J.B., (1985)- The role of sesquiterpenes lactone and phenolics in the chemical defense of the chicory plant, *Phytochem.* 24: 2225-2231.
- Rudolf Heitefuss, 1989. Crop and plant protection: the practical foundations. Ellis Horwood series in agrochemical and agricultural science.
- SAGDIÇ O., (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss.U.-Technol.*36:467-473.
- Sarkhail, P., Amin, G., Shafiee, A., (2006). Composition of the essential oil of *Phlomis olivieri* Benth. from North of Iran. *DARU* 14, 71–74.
- Scalbert, A., (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* 30 ; 3875-83.
- Sharma N., Tripathi A., (2006). Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus cinensis* on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6) : 587-593.
- Stavrianakou S., Liakopoulos G. & Karabourniotis G., (2005). Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany* (Elsevier). p : 293-300.
- Tafifet Lamia, (2010). Effet bactéricide, fongicide et nématocide in vitro de quatre espèces végétales spontanées. Thèse Magister : Univ-Blida.
- Tripathi A., Sharma N., (2006). Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus cinensis* on post-harvest pathogens. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22: 587-593.
- Veldhuizen, E.J., J.L. Tjeerdsma-Van Bokhoven, C. Zweijtzer, S.A. Burt et H.P. Haagsman, (2006). Structural requirements for the Antimicrobial activity of carvacrol. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 1874-1879.

YRJÖNEN T., (2004) - Extraction and planar chromatographic separation techniques in the analysis of natural products. Conference room 513 at Viikki Infocentre. Faculty of Pharmacy of the University of Helsinki. p: 64.

Zhang, Y., Wong, Z.Z., (2008). Comparative analysis of essential oil components of three *Phlomis* species in Qinling Mountains of China. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 47, 213–217.

## Table des matières

### Liste des abréviations

### Les des illustrations, graphiques, et tableaux

### Introduction et Problématique

### Partie Bibliographique

1. Stratégies de protection des cultures .....	5
1.1. La protection des cultures.....	5
1.2. Les bioagresseurs et les agrosystèmes .....	5
1.3. Différentes méthodes de contrôle.....	6
1.3.1. La lutte biologique et les biopesticides .....	7
1.3.2. Biotechnologies et protection des plantes .....	8
2. Les pesticides .....	8
2.1. Biodegradation et persistance.....	8
3. Approches d'utilisation des produits naturels des plantes .....	9
4. Les métabolites secondaires et les interactions plante-bioagresseurs .....	10
5. Les métabolites secondaires et les réactions de défense .....	11
5.1. Interactions allélopathiques .....	12
5.2. Activité antimicrobienne des composés naturels des plantes .....	12
5.3. Activité anti-tumorale des composés naturels des plantes .....	13
6. Le mode d'action des métabolites secondaires.....	13
6.1.1. L'inhibitions d'enzymes spécifiques .....	13
6.1.2. Inhibition des systèmes de transport d'électrons des réactions de photosynthèse et de respiration.....	13
6.1.3. Perturbation de l'intégralité de la membrane plasmique .....	14
7. Exemples d'espèces végétales à utilisation ethnobotanique .....	15
7.1. Description botanique de <i>Phlomis crinita</i> L.....	15
7.2. Description botanique de <i>Carthamus caeruleus</i> L. ....	16

---

7.3. Utilisation ethnobotanique .....	17
7.4. Les métabolites secondaires des genres <i>Phlomis</i> et <i>Carthamus</i> .....	17
7.4.1. Le genre <i>Phlomis</i> .....	17
7.4.2. Le genre <i>Carthamus</i> .....	19

## Matériels et Méthodes

1. Matériel végétal.....	21
1.1. Description botanique.....	21
1.1.1. <i>Phlomis crinita</i> L. ....	21
1.1.2. <i>Carthamus caeruleus</i> L.....	22
1.2. Collecte et conditionnement .....	23
2. Préparation des extraits aqueux.....	24
3. Les souches bactériennes testées.....	25
4. Les isolats de champignons testés.....	25
5. Milieux de cultures utilisés .....	25
6. Densité optique nécessaire à la réalisation du test <i>in vitro</i> .....	26
7. Préparation des suspensions bactériennes.....	26
8. Pouvoir antibactérien <i>in vitro</i> des extraits végétaux .....	27
9. Pouvoir antifongique des extraits.....	29
9.1. Test de l'activité volatile .....	29
9.2. Test par culture inhibitrice .....	30
10. Analyse des résultats obtenus .....	32

## Résultats

1. Évaluation de l'activité antibactérienne .....	34
1.1. Effet bactéricide et bactériostatique .....	39
2. Évaluation du pouvoir antifongique.....	40
2.1. Test par la culture inhibitrice.....	40
2.2. Test de l'effet antifongique par la recherche de l'activité volatile.....	43

**Discussion**

Activité antibactérienne .....48

Activité antifongique.....51

**Conclusion**