



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : phytopathologie

## Thème

Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de

*Nerium oleander* (Laurier rose) de la région de Bordj Ghedir

(Bourdj Bou Arreridj)

Présenté par : Bencheikh Khouloud

Derardja Asma

Louail Intissar

Devant le jury :

Président : Mme Slimani M.A.B (Université BBA).

Encadrant: Mme Baazize.N M.C.B (Université BBA).

Examineur : Mr Laib .D M.A.B (Université BBA).

Année universitaire : 2016/2017

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction .....	1

### Chapitre I : *Nerium oleander*

1. Les plantes médicinales.....	4
2. Présentation de la famille Apocynaceae.....	4
2.1 Aspects botanique.....	4
2.1.1 Aspect chimique.....	6
2.1.2 Aspect pharmacologique.....	6
3. Présentation du genre.....	7
3.1 Propriété pharmacologique du genre <i>Nerium</i> .....	7
3.2 Toxicité de <i>Nerium</i> .....	8
4. Classification.....	8
4.1 Reconnaissance botanique.....	8
4.2 Description botanique.....	9
4.3 Distribution géographique.....	10
4.4 Utilisations traditionnelles dans le monde.....	10
4.5 Composition chimique de <i>Nerium.oleander</i> .....	11

### Chapitre II : L'extrait des plantes et moisissure de pois chiche

#### Partie 01 : Les extraits des plantes

1. Métabolites des plantes.....	13
1.1 Métabolites primaires.....	13
1.2 Metabolites secondaires.....	13
1.2.1. Térpenoïdes.....	13
1.2.1.1. Les huiles essentielles.....	14
1.2.1.2 Localisation des huiles essentielles dans la plante .....	14
1.2.1.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante.....	14
1.2.1.4. Propriétés physiques et chimiques.....	15
1.2.1.4.1. Propriétés physiques.....	15
1.2.1.4.2. Propriétés chimiques.....	15
2. L'hydrolat aromatique.....	16
2.1. Considération générale.....	16

2.2. Définition d'hydrolat aromatique.....	16
2.3. Composition.....	17
2.4. Intérêt d'hydrolat.....	18
3. Méthode d'extraction.....	18
3.1 L'hydrodistillation.....	18
3.2 Entraînement à la vapeur d'eau.....	19
3.3 Extraction à froid.....	19
3.4 L'enfleurage.....	19
3.5 Extraction par fluides supercritiques.....	20

## **Partie 02 : Les moisissures de pois chiche**

1. Généralités sur les champignons.....	20
2.1 Présentation de <i>fusarium oxysporum</i> .....	20
2.2 Inoculum primaire, mode de survie et de transmission de FOC.....	21
2.3. Position systématique.....	21
3. La plante hôte : le pois chiche.....	21
3.1 Situation du pois chiche en Algérie.....	21
3.2 Description de la plante du pois chiche ( <i>Cicer arietinum</i> L.) .....	22
4. Description des symptômes de la fusariose du pois chiche.....	22
5. Cycle évolutif de la maladie.....	22
6. Présentation de <i>Alternaria</i> .....	25
6.1 Classification.....	25
7. <i>Aspergillus flavus</i> .....	25
7.1 Morphologie microscopique.....	26
7.1 Classification.....	26

## **Chapitre III : Matériel et méthodes**

1. Matériel végétal.....	27
2. Préparation du matériel végétal.....	27
2.1 Le séchage.....	27
2.2 Le broyage.....	27
3. Origine géographique et période de récolte.....	27
4. Détermination de l'humidité.....	28
5. Matériel fongique.....	29
6. Matériel au laboratoire.....	29
7. Méthode.....	29
7.1 Extarction de l'extrait aqueux.....	29

7.2 Conservation de l'extrait des feuilles.....	30
7.3 Détermination du rendement d'extraction.....	30
8. Activité antifongique.....	32
8.1 Préparation du milieu de culture	
8.2 Choix des concentrations.....	32
8.3. Méthode de travail.....	32
9. Evaluation de la croissance mycélienne des isolats du FOC ,ALT ,ASP.....	33
10. Les tests chimiques .....	33
10.1. Test des saponosides.....	33
10.2 .Test des flavonoïdes.....	34
10.3 .Test des stérols terpènes.....	34
10.4 .Test des Tanins.....	34

#### **Chapitre IV: résultat et discussion**

1. Résultats et discussion.....	35
1.1. Taux d'humidité de <i>N oleander</i> .....	35
1.2. Rendement des extraits de la plante.....	35
1.3. Résultats des tests chimiques.....	36
1.4. L'effet de l'extrait de <i>N.oleander</i> sur la croissance mycélienne du <i>FOC, Alternaria sp,</i> <i>Aspergillus flavus</i> .....	37
1.4.1. Effet de l'extrait <i>N.oleander</i> sur la Croissance mycélienne de <i>FOC</i> .....	37
1.4.2. Effet de l'extrait <i>N.oleander</i> sur la Croissance mycélienne de <i>Alternaria sp</i> .....	39
1.4. 3.Effet de l'extrait <i>N.oleander</i> sur la Croissance mycélienne de <i>L'Aspergillus</i> <i>flavus</i> .....	41
Conclusion .....	44

Références bibliographique

Annexes

## Liste des tableaux :

<b>Tableau I :</b> Famille des <i>Apocynaceae</i> dans le monde.....	05
<b>Tableau II:</b> Propriétés et indications thérapeutiques associées à l'usage de quelques espèces <i>Apocynaceae</i> .....	07
<b>Tableau III:</b> Principales utilisations de <i>Nerium oleander</i> en médecine traditionnelle selon les pays.....	11
<b>Tableau IV :</b> situation géographique de station de récolte.....	27
<b>Tableau V :</b> condition opératoire d'hydrodistillation.....	29
<b>Tableau VI:</b> Les différentes concentrations pour l'activité antifongique d'extrait.....	32
<b>Tableau VII:</b> rendement d'extrait de plant étudié.....	36
<b>Tableau VIII:</b> Résultats des tests phytochimique.....	36
<b>Tableau IX:</b> L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne du FOC .....	37
<b>Tableau X:</b> L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne d'ALT.....	39
<b>Tableau XI:</b> L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne de l'ASP.....	41

## Liste des figures :

<b>Figure 01:</b> <i>Nerium oleander</i> .....	10
<b>Figure 02 :</b> schéma de principe de la technique d'hydro distillation.....	19
<b>Figure 03:</b> Plant de pois chiche complètement desséché. Plant récolté de l'ITGC de Sétif...23	
<b>Figure 04:</b> Cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	24
<b>Figure 05 :</b> La carte géographique de BBA (Bordj Ghedir) la région de récolte De <i>N oleandre</i> .....	28
<b>Figure 06:</b> les différentes étapes de l'extraction d'extrait.....	31
<b>Figure 07 :</b> Teneur d'humidité du <i>N.oleander</i> .....	35
<b>Figure 08 :</b> les tests phytochimique.....	36
<b>Figure 09:</b> Taux d'inhibition de l'extrait de <i>N.oleander</i> sur le FOC.....	38
<b>Figure 10 :</b> L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne du FOC.....	38
<b>Figure 11 :</b> Taux d'inhibition de l'extrait de <i>N.oleander</i> sur <i>l'Alternaria sp</i> .....	40
<b>Figure 12 :</b> L'effet de l'extrait de <i>N .oleander</i> sur la croissance de <i>l'Alternaria sp</i> .....	40
<b>Figure 13:</b> <i>taux d'inhibition de l'extrait de N .oleander</i> .....	42
<b>Figure 14 :</b> l'effet de l'extrait de <i>N .oleander</i> sur la croissance de <i>'Aspergillus flavus</i> .....	43

## Liste des abréviations :

**AFNOR** : association française de normalisation

**BBA** : bordj bou araridj

**CO<sub>2</sub>** : le dioxyde de carbone

**CPG** : chromatographie en phase gazeuse

**FOC** : fusarium oxysporum

**GG** : Guernesey

**Ha** : hydrolat aromatique

**He** : huile essentielle

**ISO** : organisation internationale de normalisation

**ITGC** : institut technique des grandes cultures

**K** : potassium

**MS** : formule de politesse

**NA** : sodium

**NF** : norme française

**T** : PDA sans extrait



## *Remerciements*

*Il n'est jamais facile de faire des remerciements, toujours par peur  
D'oublier quelques noms ou des proches, alors nous vous  
Prions de bien vouloir nous excuser si les lignes qui vont suivre  
Vous paraissent incomplètes. Les gens qui nous entourent  
Savent bien à quel point nous les remercions.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers DIEU  
Pour nous avoir guidé dans la réalisation de ce modeste  
Travail.*

*Un très grand remerciement pour notre encadrante Dr. Naima. Baaziz  
Pour avoir d'abord proposé ce thème et pour le suivi  
Continuel tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous les  
Enseignants qui ont contribué à notre formation, à qui nous  
Présentons notre profonde gratitude.*

*MERCI*



# *Introduction*

## Introduction

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al., 2001**). L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (**Anonyme, 2010**).

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Ma et al., 1997**) in (**Anonyme, 2014**).

De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Les huiles essentielles également appelées huiles volatiles ou étherées (**Guenther, 1948**) in (**Randrianarivelo, 2010**) sont les liquides aromatiques obtenus à partir de la matière végétale (fleurs, bourgeons, les graines, feuilles, brindilles, écorce, herbes, bois, fruits et racines). Ils peuvent être obtenus par expression, fermentation, enfleurage ou extraction. La méthode de la distillation à la vapeur est la plus utilisée pour la production commerciale des huiles essentielles (**Van de braak. et al., 1999**) in (**Randriandrianarvelo, 2010**). Les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agent de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Seri-kouassi et al., 2004**).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi, 2008**).

Alors, les substances naturelles comme les molécules bioactives issues des végétaux suscitent actuellement un intérêt tout particulier par leurs multiples activités biologiques tant appréciées dans le domaine de la santé humaine et de l'industrie alimentaire, pharmaceutique ou cosmétique. En effet, une plante est dite médicinale lorsque l'un de ses organes par exemple la feuille, possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques (**Anonyme, 2015**). A cet effet, les métabolites secondaires font l'objet de

nombreuses recherches qui amène à l'identification des principaux éléments actifs de la plante (**Anonyme, 2014**).

Grâce à sa situation géographique lui permettant de jouir d'une grande variation climatique à laquelle s'ajoute des ressources hydriques ; l'Algérie regorgeant d'une richesse floristique importante. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces ressources naturelles sont importantes pour l'économie Algérienne et pour le maintien de l'équilibre écologique de plusieurs régions. A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille *Apocynaceae* (**Ouibrahim, 2015**).

*Laurier rose ou (Nerium oleandre)* est un arbuste de la famille *d'Apocynaceae*, une plante abondante choisie de cette biomasse végétale en raison du bénéfice des propriétés thérapeutiques que lui a attribuées la médecine traditionnelle, à savoir: les industries de l'aromatisation, de la parfumerie, de la conservation, des cosmétiques et de la pharmacologie grâce à ses divers effets antimicrobiens et antioxydants (**Anonyme, 2015**).

Cette espèce sauvage a été récoltée dans la zone de Bordj Ghedir (Bordj Bou Arreridj), il est de plus en plus cultivé comme arbuste ornemental ou pour former des haies dans les parcs et jardins car sa haute peut atteindre 2 à 3 mètres (**Anonyme, 2009**).

Toutefois, si l'utilisation des pesticides est considérée depuis des années comme un moyen de lutte le plus rentable, la marge bénéficiaire se réduit considérablement par la soustraction des couts de leurs effets indésirables sur l'environnement, les ennemis naturels et la santé humaine (**Pimentel et al., 1992**) in (**Anonyme, 2015**).

En Algérie, les légumineuses occupent une place importante, De nombreuses espèces de légumineuses sont utilisées comme ressources d'alimentation humaine (fève, soja, haricot, pois chiche, lentille, etc.) (**Khelil, 1977**) in (**Anonyme, 2015**). L'Algérie, comme beaucoup de pays en voie de développement attribue une place de choix à cette culture dotée d'une valeur nutritive, les légumes secs telles que le pois chiche, la lentille et le petit pois se placent après les céréales. Le pois chiche constitue une source très importante des protéines végétales qui peuvent corriger le déficit en protéines animales.

Le pois chiche souffre de nombreuses difficultés, en dehors des condition d'environnement et le non maitrise des techniques culturales qui sont des causes non négligeables de la faiblesse de la production, il semble que le problème majeur reste celui de l'aspect phytosanitaire souvent attribué à des maladies fongiques telles que l'antracnose, les pourritures racinaires et le flétrissement. Ces différents problèmes associés à l'immense

besoin en protéines dans l'alimentation humaine ont amené les chercheurs à s'intéresser à cette légumineuse alimentaire. (**Laibi, 2011**).

Il existe un nombre de facteurs biotiques et abiotiques qui participe dans l'abaissement de la production, l'espèce de *F.oxysporum* causent principalement le flétrissement vasculaire de plusieurs espèces des plantes en causant des pertes de rendement importantes, et les espèces de *Aspergillus Flavus* et *Alternaria sp* sont des agents pathogènes de différentes plantes, qui entraînent des pertes drastiques pour les cultures (**Agrios, 2005**).

Ce travail vise à étudier l'activité antifongique de l'extrait de la plante aromatique *Laurier rose*, qui appartiennent respectivement à la famille des *Apocynaceae*. Elles sont parmi les familles des plantes qui leurs extraits à une qualité médicale intéressante.

Notre travail sera réparti en trois parties :

La première partie consacrée à l'étude bibliographique est divisé en deux chapitres :

- Le premier chapitre est dédié à une description botanique générale de l'espèce étudiée (*Laurier rose*) et sa répartition géographique.
- Le deuxième chapitre dresse une revue de littérature sur les extraits des plantes (huile essentielle et l'hydrolat aromatique) et des généralités sur les champignons

Le troisième chapitre, concerne la partie expérimentale, où sont détaillés le matériel et méthodes, utilisés dans le cadre de cette étude.

Le quatrième chapitre, regroupe les résultats et la discussion.

Le mémoire est achevé par une conclusion.

*Chapitre I*  
*Nerium oleander*

## 1. Les plantes médicinales

Les recherches sur les plantes médicinales ont fait ressortir un certain nombre de plantes qui synthétisent des substances chimiques pouvant empêcher la croissance et baisser le rendement des plantes voisines. (Asad et Bajwa, 2005). Plante médicinale est une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Elqaj et al., 2007). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et al., 2007).

## 2. Présentation de la famille *Apocynaceae*

### 2.1. Aspects botanique

Les *Apocynaceae* sont connus pour leur importance comme source de substances médicamenteuses de première importance (ex. Vincristine, Vinblastine, Vincamine,...) (Hostettman et al., 2000). La famille comporte plus de 180 genres et 1300 espèces, se développant principalement dans la zone intertropicale répartis en 4 sous-famille (Hostettman et al., 2000). (Voir tableau I)

**Tableau I** : Famille des *Apocynaceae* dans le monde ( **Anonyme, 2009** ) .

Sous-famille	Genre	Distribution géographique
Apocynoideae	<i>Apocynum</i>	Amérique du Nord, Mexique
	<i>Nerium</i>	De la méditerranée au Japon
	<i>Strophanthus</i>	De la l' Afrique à la Malaisie
	<i>Adenium</i>	Xérophytes charnues d' Afrique
	<i>pachypodium</i>	Madagascar
Plumériodeae	<i>Allamanda</i>	Amérique tropicale
	<i>L andolphia</i>	Madagascar
		Sud-américaines
	<i>Rauwolfia</i>	Tropique
	<i>Ochrosia</i>	Paléotropicale, absent d' Afrique
	<i>Plumeria</i>	Amérique chaude
	<i>Catharanthus</i>	Tropique, particulièrement Madagascar
	<i>Vinca</i>	Méditerranée et Eurasie
Tabernaemontanoideae	<i>Tabernaemontana</i>	Tropique
	<i>Vacanga</i>	paléotropical
Cerbéroideae	<i>Thevetia</i>	Amérique tropicale
	<i>Cerbera</i>	Madagascar

### **2.1.1. Aspect chimique**

Les hétérosides cardiotoniques et les alcaloïdes à noyaux indolique et stéroïdique sont considérés comme les marqueurs chimiotaxonomiques de la famille des Apocynaceae (**Hostettman et al., 2000**).

**2.1.2. Aspect pharmacologique :** Au point de vue des ouvrages classiques de la matière médicale, la famille des *Apocynaceae* fournit des drogues de première importance en thérapeutique (Tableau II) (**Pauwels, 1979**) in (**Anonyme, 2009**). C'est le cas des alcaloïdes indoliques anticancéreux (ex. vinblastine et vincristine extraites de la pervenche de Madagascar ou celle de la vincamine obtenue la pervenche mineur) (**Gaussen et al., 1982**) in (**Anonyme, 2009**).

**Tableau II** : Propriétés et indications thérapeutiques associées à l'usage de quelques espèces Apocynaceae. (Eyog et al., 1999) in (Anonyme, 2009).

Espèce	Organe utilisé	Principe actif	Propriétés et usage thérapeutique
<i>Rauwolfia serpentina</i>	racines	réserpine et autres dérivés	utilisés dans le traitement des hypertensions artérielles.
	plante	-	paludisme ; ovulation.
	plante	ajmaline	Antirythmique .
<i>Strophanthus gratus</i>	grains	ouabaïne	réputé pour le traitement des cardiopathies.
<i>Tabernanthe iboga</i>	racines	ibogaïne	utilisé comme tonique nerveux musculaire .
<i>Holarrhena flobunda</i>	écorces de tige ou de racines	conessine	utilisé dans le traitement de la dysenterie amibienne, puis abandonnée en raison de sa neurotoxicité.
	écorces de tige et feuilles	-	utilisé dans le traitement des amibiases maladies.
<i>Catharanthus roseus</i>	plante	vincalécoblastine	propriétés leucopéniathes, elle abaisse le nombre de globules blancs.
		vincristine	utilisé dans la thérapie des leucémies et de la maladie de hodgkin (cancer de ganglions)

### 3. Présentation du genre *Nerium*

#### 3.1. Propriété pharmacologique du genre *Nerium*

Les espèces de *Nerium*, *Nerium indicum* et *Nerium oleander*, sont des plantes toxiques, à ce titre leur utilisation en phytothérapie est limitée à l'usage externe.

*Nerium indicum* est largement utilisée en médecine traditionnelle chinoise, pour stimuler les muscles cardiaques, soulager les douleurs et comme insecticide (**Shan et al., 2004**). Les écorces de *N. indicum* ont été signalées comme douées d'une activité molluscicide contre *Lymnaea acuminata* (**Singh et al., 1998**) in (**Anonyme, 2009**).

### **3.2. Toxicité de *Nerium oleander***

*Nerium* est une plante toxique par ingestion de ces diverses parties (feuilles, fleurs, tiges,...). Sa toxicité envers l'homme, l'animal et certains insectes a fait l'objet de plusieurs études (**Almahy et al., 2006**). *Nerium* étant plus souvent associé à des intoxications accidentelles chez les enfants ou même chez les animaux domestiques (**Bruneton, 2001**).

Toutefois, des tentatives de suicide au *Nerium* sont régulièrement colligées par les toxicologues dans différentes parties du globe, et un cas d'utilisation à visée criminelle (**Bourgeois et al., 2005**).

L'empoisonnement peut être causé par l'ingestion d'une seule feuille verte ou séchée qui peut s'avérer mortelle pour un adulte. Les premiers signes de l'intoxication : inconscience, irritation de muqueuses, nausées, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, polypnée, troubles cardiaques graves, brûlure de la peau parfois signalée chez les sujets sensibles. Les symptômes apparaissent plusieurs heures (72h) après l'ingestion d'une quantité toxique (**Adom et al., 2003**).

Les hétérosides cardiotoniques principaux constituants de *Nerium* les toxiques sont reconnus à cette espèce (**Bruneton, 2001**).

## **4. Classification**

Selon **Bruneton, 2001** la flore de l'Europe, le *Nerium oleander* est classé comme suit :

**Division :** *Angiospermae*

**Classe :** *Dicotyledoneae*

**Ordre :** *Gentianales*

**Famille :** *Apocynaceae*

**Genre :** *Nerium*

**Espèce :** *Nerium oleander*

### **4.1. Reconnaissance botanique**

Le *Nerium oleander* ou laurier-rose (Figure 01) (appelée localement Défla) est un arbuste appartenant à la famille des Apocynaceae. Le nom latin *Nerium* vient du grec **nerion**

signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (**Paris et al., 1971**) in (**Anonyme, 2009**). Nom spécifique *oleander* vient de l'italien de «oleandro » qui vient du latin « olea » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages.

### Noms communs

*Nerium oleander* est connu sous différentes dénominations communes selon les pays et régions considérés :

Nom anglais : Rose-bay

Nom allemand : Rosenlorbeer

Nom espagnol : Laurel rosa

Nom italien : Oleandro

Nom français : Laurier rose

Nom arabe : El-defla الدفلة

### 4.2. Description botanique

Arbuste dressé atteignant 3-4m de hauteur, possédant :

- **feuilles** : opposées ou verticillées par 3, longuement lancéolées (8-14 x 5-2.5cm), coriaces, à nervures secondaires pennées, très nombreuse, serrées.
- **fleurs** : en corymbes terminaux, ont une corolle infundibuliforme à gorge rose s'évasant en 5 lobes étalés et ornés d'un appendice à 3-4 dents courtes ; elles s'épanouissent de juin à septembre, sont de teinte rose ou blanche, disposées en corymbe (**Delille, 2007**).
- **fruit** : comporte deux follicules allongés (8-16 x 0.5-1.5cm), soudés jusqu'au début de la déhiscence.
- **graine** : duveteuse, est surmontée d'une aigrette sessile qui en facilite la diffusion (**Hussain et al., 2004**).



**Figure 01:** *Nerium oleander*

### 4.3. Distribution géographique

En Afrique du Nord, le *N. oleander* est assez commun dans la zone steppique. En Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocaillieux. Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (**Chopra et al., 1971**) in (**Anonyme, 2009**). Le *N. oleander* se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...). (**Banon et al., 2006**). Elle fréquemment cultivée comme ornemental (**Delille, 2007**).

### 4.4. Utilisations traditionnelles dans le monde

Le *Nerium oleander* est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (**Almahy et al., 2006**). Les usages traditionnels des différents organes de *Nerium oleander* selon les pays sont décrits dans le tableau III.

**Tableau III** : Principales utilisations de *Nerium. oleander* en médecine traditionnelle selon les pays. (Adom et al., 2003).

Parties utilisées	Pays	Indications	Mode d'emploi
feuilles fraîches ou séchées	Afrique du sud	abortif	*
	Algérie	nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre les caries dentaires	décoction
	Iran	cardiotonique et diurétique	infusion
	Maroc	antidiabétique, abortif, démangeaison, mal de tête , antigale, contre la chute des cheveux et l'eczéma	Décoction, infusion, macération
	Tanzanie et Turquie	Antibactérien	décoction
différents organes	Cuba	médecine de folklore	*
	Inde et Bangladesh	Antibactérien	*

#### 4.5. Composition chimique de *Nerium.oleander*

Les études phytochimiques effectuées sur *le N. oleander* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les cardénolides, tritèrènes, prégnanes, flavonoïdes, coumarines et des dérivés stéroïdiques (Hanson, 1985), in (Anonyme, 2009). La plante accumule les hétérosides cardénolides dans tous les organes. Les feuilles renferment environ 1,5% de cardénolides, dont 0.1% d'oléandrine ou 3-o- $\alpha$ -Loléadrosyl-16-acétylgitoxigénine. Ces concentrations varient selon des considérations génétiques et environnementales. L'oléandrine est accompagné d'analogues stéroïdiques tel que : la gitoxigénine, adynérigénine, l'uzarigénine... (Bruneton, 1999) in (Anonyme, 2009). Les graines renferment de l'oléandrine et des composés voisins : odorosides, adigoside, gluco-strospéside, etc. (Bruneton, 2001).

Toute la plante est dangereuse, ni l'ébullition ni la dessiccation des feuilles ne permettent d'inactiver les toxines constituées essentiellement d'hétérosides cardénolides. Les

mécanismes responsables de la toxicité sont à superposer à ceux des hétérosides digitaliques classiques agissant principalement sur l'inhibition de l'Atp ase Na-K membranaire et par l'élévation du calcium intracellulaire (**Bruneton, 1999**) in (**Anonyme, 2009**).

## *Chapitre II*

# *L'extrait du plante et les moisissures du Pois chiche*

## Partie 01 : Les extraits des plantes.

### 1. Métabolites des plantes

Chez les végétaux, deux catégories de voie métaboliques se déroulent déterminant ainsi deux types de métabolites, dites primaires et secondaires.

#### 1.1 Métabolites primaires

Le métabolisme peut également être subdivisé différemment. Par exemple toutes les cellules renferment des glucides phosphorylés, des acides aminés, des lipides et des acides nucléiques, ces molécules qui sont à la base de la machinerie moléculaire de la cellule sont dénommées métabolites primaires (**Hopkins, 2003**).

#### 1.2 *Metabolites secondaires*

Les métabolites secondaires sont des produits dérivant du métabolisme général et ne jouent apparemment aucun rôle vital; ils sont propres à chaque espèce, ils sont l'expression de la diversité du monde vivant. Ce sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes, mais plutôt, elles interviennent dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction. Elles varient en fonction des espèces (**Buchnan, 2006**).

Un métabolite secondaire est une molécule ,telle que les acides phénoliques les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes, que produisent les organismes en dehors des voie métaboliques strictement nécessaires à assurer la survie ( on parle de métabolisme primaire dans ce cas), cette gamme de composés est très développée chez les végétaux et constitue un moyen de lutte contre des concurrents écologiques (allélopathie) ou des prédateurs (production des substances toxiques ou des mauvais goût contre un Herbivore) (**Benchacha, 2008**).

##### 1.2.1. Térpenoïdes

Les terpenoïdes des plantes sont beaucoup utilisés en raison de leurs qualités aromatiques. Ils Jouent un rôle dans les remèdes en herboristerie traditionnelle et font l'objet de recherche pour Découvrir des effets antibactériens, antinéoplasiques ou autres effets pharmaceutiques (**Benchacha, 2008**).

### 1.2.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuse volatile et odorante qui sont secrétés par les plante aromatique que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation (**Iserin et al., 2007**). Elles se forment dans un grand nombre de plante comme sous-produit du métabolisme secondaire (**Guy, 1997**) in (**Anonyme, 2015**).

Les HE sont des mélanges complexes de substance organique aromatique, liquide qu'on trouve naturellement de divers parties végétaux .elle sont très concentrées, volatiles et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (**Brunton, 1999**) in (**Anonyme, 2015**).

Actuellement, leurs utilisation, en parfumerie et en alimentation est considérable, c'est pourquoi certains organismes de normalisation AFNOR NF et ISO ont donné des définitions beaucoup plus précise des HE, l'huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistilation.

L'HE est séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques .Cette définition est restrictive elle exclut d' une part les produits odorants d'origine animale, et d'autre part les essences obtenus selon d'autre procédés d'extraction (**Paris et Hurabelle, 1980**) in (**Anonyme, 2015**).

#### 1.2.2.1 Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les H.E sont contenues dans les éléments sécréteurs qui à leurs tours ont deux origines structurales (**Chaumont et Paquin, 1971**) in (**Anonyme, 2015**).

**A. Structure externe** : elle représentée par des cellules sécrétrices incluses dans les glands ou dans les poils et leurs extrémités.

**B. Structures interne** : elle est représentée par des cellules sécrétrices incluses dans l'épiderme dans les rhizomes, ou encore dans les déférents organes végétaux et des cellules sécrétrices modifiées : poches, en sacs, en cavités, ou encore en tubes huileux.

#### 1.2.2.2 Rôle des huiles essentielles dans la plante

L'huile essentielle d'une plante représente le liquide indispensable a la plante comme le liquide céphalo-rachidien dans le corps humain, (**Salle et al., 1991**) in (**Anonyme,2015**). Malgré les travaux de plusieurs auteurs, le rôle des huiles essentielles reste encore mal connu. en général , elles sont considérées comme produit de déchet du métabolisme (produit secondaires du métabolisme ) .elles peuvent être insectifuges ou insecticides ou encore un moyen de défense vis-à-vis des prédateurs (micro-organismes , champignons , herbivores ).

Enfin. Les rôles bactériens et cryptogamiques des huiles essentielles ont été prouvés selon plusieurs auteurs notamment dans la prévention et la lutte contre les maladies des plantes, le rôle biologique des essences en particulier de certains terpènes aromatiques pourraient avoir une fonction énergétique « mis en réserve pendant le jour, ils seraient dégradés durant la nuit en acétyl-coa » (Guignard et al., 1985) in (Anonyme,2015).

Dans un bulletin de l'UNESCO (1960) on signale que la formation l'huile essentielle par certaines plantes semble jouer un rôle dans leur protection contre la sécheresse, la volatilité et l'odeur marquée de ces huiles essentielles en font des éléments de contamination. Leurs rôle dans la pollinisation et dans la dispersion des diaspores est largement accepté (Bruneton, 1987) in (Anonyme, 2015).

### 1.2.2.3. Propriétés physiques et chimiques

#### 1.2.2.3.1. Propriétés physiques

Les propriétés physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Généralement incolores ou jaune pâle, les essences sont liquides à température ambiante. La nature huileuse des He, la rend liposoluble ainsi elles sont peu solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques apolaires, les huiles grasses, et dans les alcools. Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux ce qui induit à la perte de ses propriétés.

Leurs densité est en général inférieure à celle de l'eau (à l'exception des huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (Baser et Buchbauer, 2010).

#### 1.2.2.3.2. Propriétés chimiques

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composées différentes, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques : les terpènes et les dérivés du phénylpropane biosynthèses essentiellement à partir de l'acide shikimique (Bruneton, 1993) in ((Ouibrahim, 2015).

## 2. L'hydrolat aromatique (HA)

### 2.1. Considération générale

Lors de la distillation, un sous –produit se forme a partir de l'eau ayant servi à des molécules odorantes .ce produit est l'hydrolat ou (hydrosol en anglais). Au cours de la distillation, la vapeur d'eau traverse la matière végétale puis se condense au contact des parois froides d'un réfrigérant. L'eau se dissocie alors spontanément de l'huile essentielle du fait de leur non miscibilité tout en conservant une petite portion des composés volatils de l'huile essentielle (**Price et al., 2004**). L'eau flore HA et l'HE, issues de la même plante, ont des propriétés similaires mais pas identiques.

Les eaux florales ont des avantages certains :

- Elles sont hydrosolubles, contrairement aux huiles essentielles qui se diluent dans l'huile
- Elles n'ont pas de contre – indications car elle ne contiennent ni acide, ni aucune matière caustique ou corrosive . D'après l' hydrolathérapie : thérapie des eaux florales de lydia bosson et de Guénolée dietz bien que cette faible concentration en principe actifs, les hydrolats présentent activités biologiques intéressantes (**Catty, 2001**).

Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques thérapeutiques et culinaires les hydrolats de rose, de fleur d'oranger, de lavande et de fleurs de bleuets sauvages en sont des exemples .certaines plantes sont distillées uniquement pour leurs hydrolat (**Catty, 2001**).

La principale marchée des hydrolats se situe dans le domaine de cosmétique et des arômes alimentaires. Cependant, avec le regain d'intérêt actuel pour les médecines alternatives telle que l'aromathérapie, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus utilisés pour leurs vertus thérapeutiques (**Catty, 2001**).

### 2.2. Définition d'hydrolat aromatique

L'hydrolat est l'eau distillée que l'on sépare de l'huile essentielle a la sorte de l'alambic elle est plus ou moins aromatisée selon les plantes distillées car elle se charge de molécule aromatique au cours de la distillation. Les hydrolats contiennent sous forme naturellement dissoute certains composés aromatiques des huiles essentielles (moins de 5%) (**Price et al., 2005**).

Ce dernier est beaucoup moins concentré en molécules actives que l'huile essentielle, on l'a longtemps considéré comme simple «co-produit».

On trouve beaucoup les acides dans l'hydrolat car ils sont hydrosolubles. Ce sont des composés très actifs et efficaces même à l'état de traces (**Price et al., 2005**).

### 2.3. Composition

Les hydrolats contiennent en petite quantité de composés volatils semblables à ceux présents dans l'huile essentielle ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile (**Anonyme, 2011**).

La composition des hydrolats s'éloigne donc de celle des huiles : les molécules oxygénées hydrophiles s'y trouvent en grandes quantités alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps quasi absents. Certains hydrolats présentent une grande proportion de molécules lipophiles comme ceux de mentha piperita ou mélissa officinalis (**Price et al., 2005**).

Pour pouvoir effectuer l'analyse de la composition chimique des hydrolats par GG-MS, il est nécessaire de « concentrer » l'hydrolat avec l'injection, en procédant à une extraction liquide avec un solvant organique tel que le chloroforme. À titre d'exemple, ses chromatogrammes permettent de constater de visé les différences entre la composition de l'huile essentielle et celle de l'hydrolat d'*Organum compactum* (**Jeannot et al., 2003**). Au total, 29 composés sont également présents dans l'huile essentielle et seulement huit dans l'hydrolat. Ces huit composés sont également présents dans l'huile essentielle : il n'y a donc pas, dans ce cas, de composés spécifiques à l'hydrolat. Ces molécules appartiennent à la famille des alcools, cétones et phénols. Aucun mono ou sesquiterpène n'a été détecté mise à part quelques traces d'*α*-pinène. Les deux produits majoritaires sont le thymol et le carvacrol (supérieur à 95%). Comparativement au carvacrol, le thymol se retrouve en plus faible proportion dans l'hydrolat car celui-ci est moins soluble dans l'eau que le carvacrol (**Anonyme, 2011**).

Les hydrolats ont les mêmes propriétés pharmacologiques que les huiles essentielles mais plus atténuées à cause des concentrations plus faibles en composés terpéniques. La CPG-SM a été utilisée pour déterminer la composition chimique (**Jeannot et al., 2003**).

## 2.4. Intérêt d'hydrolat

L'hydrolat est un guérisseur énergétique à l'image de l'homéopathie, il arrive que l'hydrolat agisse plus rapidement que l'huile essentielle au niveau psycho-émotionnel ou énergétique. L'énergie des arômes s'est transmise à l'eau durant le processus de distillation. L'eau imbibée des molécules aromatiques donne directement l'information au corps, sans devoir passer par la matière comme cela se fait pour l'huile essentielle.

En aromathérapie énergétique, il est intéressant de combiner les huiles essentielles par voie olfactive ou cutanée avec les hydrolats par voie orale (**Anonyme, 2011**).

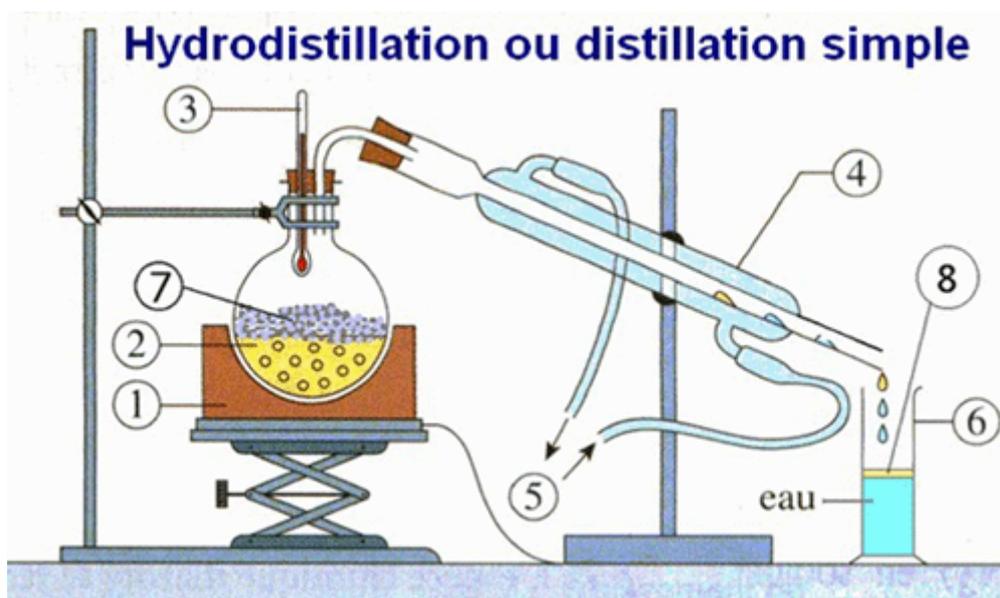
## 3. Méthode d'extraction

La quantité d'HE contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'HE (**Anonyme, 2015**). L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal. Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation. L'entraînement par la vapeur ou l'hydro distillation de la plante fraîche ou sèche reste la technique la plus utilisée. (**Anonyme, 2015**).

On distingue les procédés suivants :

### 3.1 L'hydrodistillation

Il s'agit d'une méthode la plus simple (Figure 02). La matière végétale est émergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysate. Cependant l'hydrodistillation des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatique (**Lucchesi, 2005**).



**Figure 02** : Schéma de principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

- 1- Chauffe ballon, 2- Ballon, 3- Thermomètre, 4- Réfrigérant, 5- Entrée et sortie d'eau, 6- Eprouvette, 7-Matière à extraire l'essence, 8- La couche d'H.E.

### 3.2 Entraînement à la vapeur d'eau

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau (steam distillation). Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macéré pas directement d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme, 1990) in (Anonyme, 2015).

### 3.3 Extraction à froid

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

### 3.4 L'enfleurage

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, ces dernières ayant elles aussi une forte affinité

avec les composés odorants, cette méthode peut être réalisée à froid ou au chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

### 3.5 Extraction par fluides supercritiques

L'extraction par fluides supercritiques à partir de ses dernières années, beaucoup d'essor concernant l'extraction des extraits végétaux. Le principal avantage de ces techniques est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus. En outre tous les processus de dégradation possible tels que l'oxydation ou isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction le plus employé, au-delà du point critique ( $P=73.8$  bars,  $T^{\circ}=31.1$  °c), le  $CO_2$  possède les propriétés entre celle des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (**Piochon, 2008**).

## Partie 2 : les moisissures de pois chiche

### 1. Généralités sur les champignons

Les champignons, ou mycètes, sont des végétaux eucaryotes dits thallophytes. Les cellules sont groupées en un ensemble plus ou moins structuré appelé thalle porteur d'organes reproducteurs qui permettent de distinguer les champignons filamenteux des levures. Ils sont non chlorophylliens et peuvent se multiplier par reproduction sexuée ou asexuée. On peut les cultiver à l'abri de la lumière mais il faudra leur fournir une source de carbone (**Chabasset al., 2004**).

### 2. *Fusarium oxysporum* (FOC)

#### 2.1 Présentation du champignon

Le filament mycélien de *Fusarium oxysporium* Schelecht f.sp .*ciceri* (hanz) Snyd. Et Hansen est hyalin, septé et uninuclé, il provoque des dégâts systémiques par pénétration dans les racines de la plante du pois chiche et obstruction des vaisseaux. Il bloque ou réduit le passage de l'eau et des éléments nutritifs vers les feuilles et cause le flétrissement vasculaire (**Sharma et Muehlbauer, 2007**). Le genre *Fusarium* comptant principalement des espèces phytopathogènes, nécrotrophiques, d'origines telluriques causantes des maladies sérieuses chez les plantes dans le monde. Les espèces *F. oxysporum* causent principalement le flétrissement vasculaire de plusieurs espèces de plantes en causant des pertes importantes du rendement (**Agriose, 2005**).

## 2.2 Inoculum primaire, mode de survie et de transmission de FOC :

Le FOC est un pathogène d'origine tellurique, cependant quelques rapport indiquant que ce pathogène peut être transmit par les graines (**Richerdson, 1992**). Cela suppose que l'augmentation de la densité de l'inoculum de FOC dans le sol est aussi contribuée par le mélange des graines infectées avec les graines saines utilisées pendant le semis (**Pande et al, 2007**). La dissémination du champignon peut se produire selon différentes formes : les résidus de plantes infectés (racines, tiges, feuilles), le sol et les graines. Les spores peuvent êtres disséminées par le vent et la pluie (**Cunnington et al, 2009**).

## 2.3. Position systématique

*Fusarium oxysporum* est considéré comme ascomycète proche du groupe télémorphique gibberella que nectria (**Di Pietro et al., 2003**). et ayant plus de 120 forma spéciales.

**Règne** : *Fungi*

**Division** : *Ascomycota*

**Classe** : *Hymenoascomycètes*

**Sous-classe** : *Pyrenomycetideae*

**Ordre** : *Hypocreales*

**Famille** : *Nectriaceae*

**Genre** : *Fusarium*

**Espèce** : *F. oxysporum*

## 3. La plante hôte : le pois chiche

### 3.1 Situation du pois chiche en Algérie

En Algérie les espèces de légumineuses alimentaires les plus cultivées sont la lentille (*Lens culinaris* L.), le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), la fève (*Vicia faba* L.) et le haricot (*phasiolus* L.).Les légumineuses alimentaires ont reçu beaucoup d'attention de la part des services agricoles pour augmenter les superficies et améliorer les niveaux de rendements.

Cependant les résultats obtenus n'ont pas été à la hauteur des efforts consentis (**Bouzerz et al., 2003**).

### **3.2 Description de la plante du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) :**

Le pois chiche est une plante annuelle, herbacée avec des branches diffusées et propagées (**Muehlbauer et Rajesh, 2008**).

## **4. Description des symptômes de la fusariose du pois chiche :**

Le flétrissement précoce causé par *Fusarium oxysporum schelechet* peut être observé sur les génotypes sensibles 25 jours après le semis (**Shah et al., 2009**) et comme tardif au stade de remplissage de gousses. Le flétrissement précoce cause plus de perte que le flétrissement tardif. Les jeunes plantules infectées par flétrissement vasculaire s'écroulent, s'aplaties et s'allongent sur terre et gardent leur couleur verte sombre (**Pande et al, 2007**). Cependant, les plantes adultes montrent des symptômes du flétrissement typique, par conséquent la plante entière montre un abaissement soudain des feuilles (**Shah et al., 2009 ; Raju et al, 2008**), une couleur pale par rapport aux plantes saines (**Shah et al, 2009**) et une décoloration du xylème de la tige (**Raju et al., 2009**), ensuite le plant meurt.

## **5. Cycle évolutif de la maladie**

L'infection primaire se fait au moyen des chlamydospores (**Haware et al., 1986**) in (**Anonyme, 2005**). Leur germination dans le sol peut être inhibée par les exsudats des racines du pois chiche, phénomène qui à son importance dans la résistance de la plante à la maladie (**Haware et Nene, 1984**). Le tube germinatif qui s'introduit à travers l'épiderme du système racinaire envahit les vaisseaux du xylème. Le développement du champignon (mycélium et conidies) obstrue ces vaisseaux, ce qui induit par conséquent un flétrissement des plantes accompagné d'une coloration des tissus vasculaires (**Gupta et al., 1986**) (Figure 04). L'infection s'accompagne d'une réduction de la chlorophylle et parallèlement à une augmentation des acides organiques, des polyphénols et des hydrates de carbones. Les symptômes peuvent se manifester à deux stades de développement de la culture, ils apparaissent au stade plantule, trois semaines après le semis : les feuilles des plantes affectées montrent une flaccidité suivie d'une coloration vert terne et d'un dessèchement conduisant à la mort précoce de la plante. Il se manifeste aussi chez les plantes adultes sous forme d'un jaunissement progressif du bas en haut avec une nécrose des folioles. Il s'agit d'un

flétrissement tardif appelé aussi jaunissement vasculaire. Dans les deux cas, les racines des plantes affectées gardent une apparence saine et leurs tiges montrent une coloration brune des tissus internes quand elles sont sectionnées verticalement (**Haware ,1988**). Il est probable que ces deux types de symptômes soient induits par des biotopes différents de l'agent pathogène (**Cabrera de la Cocha et al., 1985**).

Le *Fusarium oxysporum* est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique. Par ses organes de résistances, les chlamydospores, il est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables, en absence de la plante hôte (**Kornnesdhal, 1970**) in (**Sharma et Muehlbauer, 2007**). pouvant même coloniser des zones profondes du sol cultivés ; c'est le cas de la forme spéciale ciceris (**Haware et al., 1986**)in (**Anonyme, 2007**). Cette situation rend compte des difficultés rencontrées quand les moyens de lutte chimique sont préconisés (Figure 03 ).



**Figure 03** : Plant de pois chiche complètement desséché. Plant récolté de l'ITGC de Sétif, **Abed 2015**).

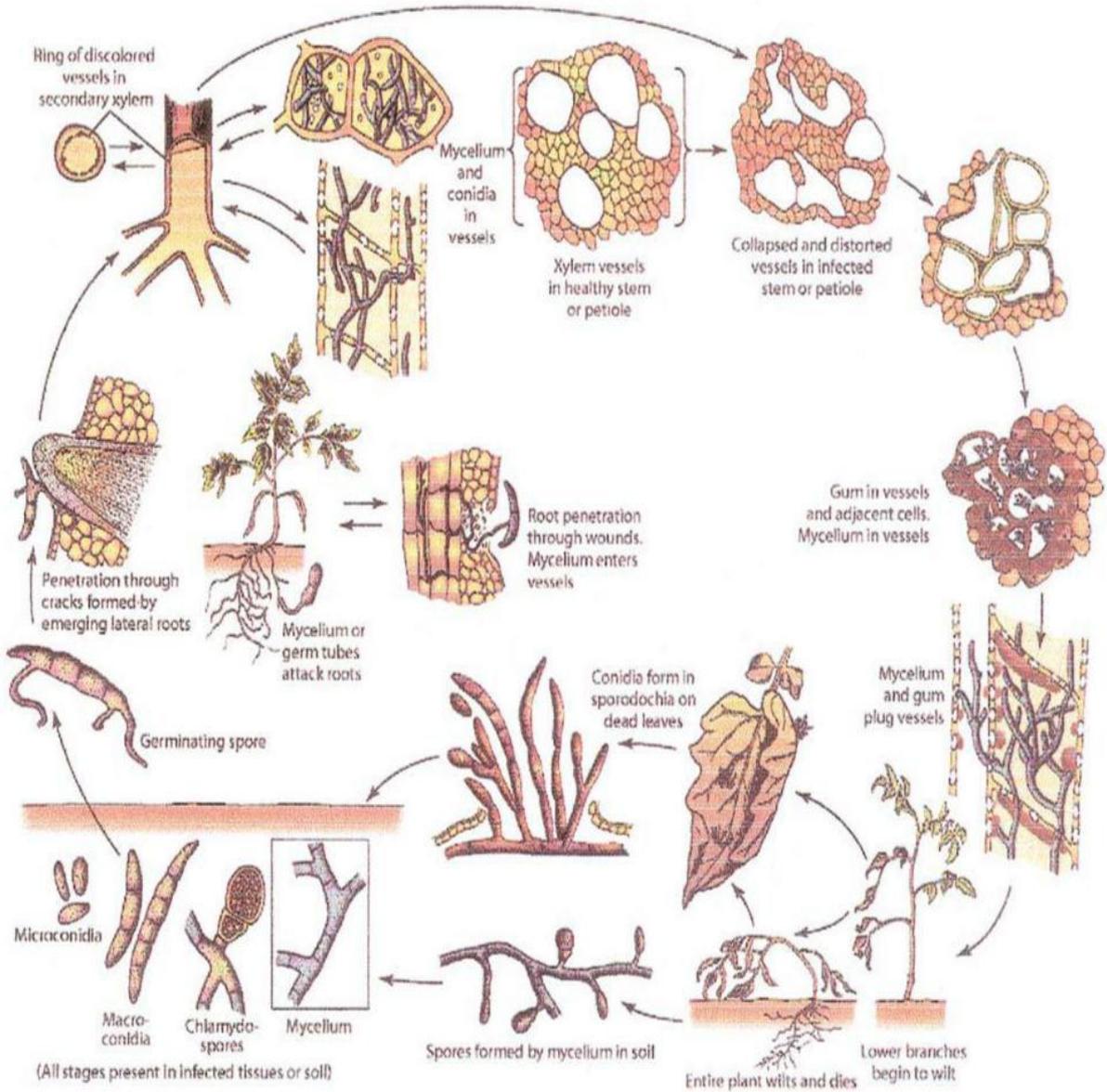


Figure 04: Cycle de vie de *Fusarium oxysporum* (Agrios, 2004) in (Anonyme, 2017).

## 6. Présentation d'*Alternaria*

Le genre *Alternaria* regroupe plus de 100 espèces ubiquitaires extrêmement répandues dans les sols, la végétation, l'air ou les aliments (Joly, 1964 ; Ellis, 1971, 1976 ; Simmons 1992) in (Anonyme, 2011). Si certaines espèces vivent à l'état saprophyte pouvant occasionnellement être des agents pathogènes opportunistes, d'autres sont responsables de maladies atteignant les plantes (Schell, 2000 ; Ferrer et al., 2002).

Cependant la majorité des espèces du genre *Alternaria* sont des champignons phytopathogènes inféodés à une famille de plantes ou à une plante spécifiquement. Ils sont généralement présents sur les semences provoquant des manques à la levée ou des fontes de semis. Les jeunes pousses atteintes constituent une source importante d'inoculum primaire pour les plantes matures où tous les organes aériens peuvent être affectés , La gamme de plantes hôtes concernées par l'alternariose est très variée et certaines espèces peuvent provoquer d'importants dégâts sur des espèces cultivées occasionnant des pertes financières significatives. C'est le cas, par exemple d'*A. triticina* sur les céréales, *A. douci* et *A. radicina* sur cultures maraîchères comme la carotte. *A. brassicicola* qui fait partie d'un complexe fongique avec *A. japonica* et *A. brassicae*, est responsable de la maladie de la tache noire spécifique des Brassicacées, famille végétale qui comprend notamment le chou (*Brassica oleracea*), la moutarde (*Brassica juncea*) ou le colza (*Brassica napus*) (Champion, 1997) in (Anonyme, 2011).

### 6.1- classification

**Régne** : *Fungi*,

**Division** : *Ascomycota*,

**Classe** : *Dothideomycètes*

**Sous-classe** : *Pleosporomycetidae*

**Order** : *Pleosporales*

**Famille** : *Pleospora*

**Genre** : *Alternaria* (Joly, 1964 ; Ellis, 1971, 1976 ; Simmons 1992) in (Anonyme, 2005).

## 7. Présentation d'*Aspergillus flavus*

Caractères culturels : Le champignon se développe rapidement sur les milieux classiques (géloses au malt et Sabouraud) à 22-25°C. La température optimale de croissance est 37°C. Sur le milieu de culture *A. flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord

blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotas (**Raju et al., 2009**).

### 7.1 Morphologie microscopique :

Les têtes conidiennes, strictement unisériées, en colonne compacte sont d'abord bleu-vert puis virant au vert bronze. Les conidiophores sont courts (300-500 µm), lisses, s'élargissent insensiblement au sommet en formant des vésicules subhémisphériques. Ces dernières (20-30 µm en diamètre), vertes, sont fertiles dans leur moitié supérieure. Les phialides dressées, sont densément groupées, de couleur verte. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, mesurent 2(2,5)-3 (3,5) µm de diamètre, et sont échinulées (**Pande et al., 2007**).

### 7.2 Classification

**Régne** : *fungi*

**Division** : *Ascomycota*

**Classe** : *Eurotiomycetes*

**Sous-classe** : *Eurotiomycetida*

**Ordre** : *Eurotiales*

**Famille** : *Trichomaceae*

**Genre** : *Aspergillus*

**Espèce** : *A. flavus* (**Hibbett et al., 2007 ; Bennett, 2010**).

*Chapitre III*  
*Matériel et méthodes*

## 1. Matériel végétal

Laurier rose (*Nerium. oleander*) est un arbre ornemental planté au bord des routes.

Nous avons récolté les feuilles de cette espèce le matin de 6 mars 2017 dans la région de Bordj Ghedir au sud de Bordj Bou Arreridj, cette date le feuillage est dense.

Remarques : les feuilles de *N. oleander* que nous avons choisie sont complètement vertes et ne présentent aucune anomalie ou un signe d'une attaque par les ravageurs. Nous avons coupé les tiges de 10-15 cm du sol, puisque la majorité des feuilles près de sol sont jaunes et d'autres sont attaquées par les insectes.

## 2. Préparation du matériel végétal

### 2.1 Le séchage

Les échantillons en été étalées dans une chambre aérée sur du papier journal pendant 45 à 60 jours. Lorsque les feuilles sont complètement sèches nous avons éliminé les feuilles qui portent des signes d'attaques par les ravageurs ou les microorganismes.

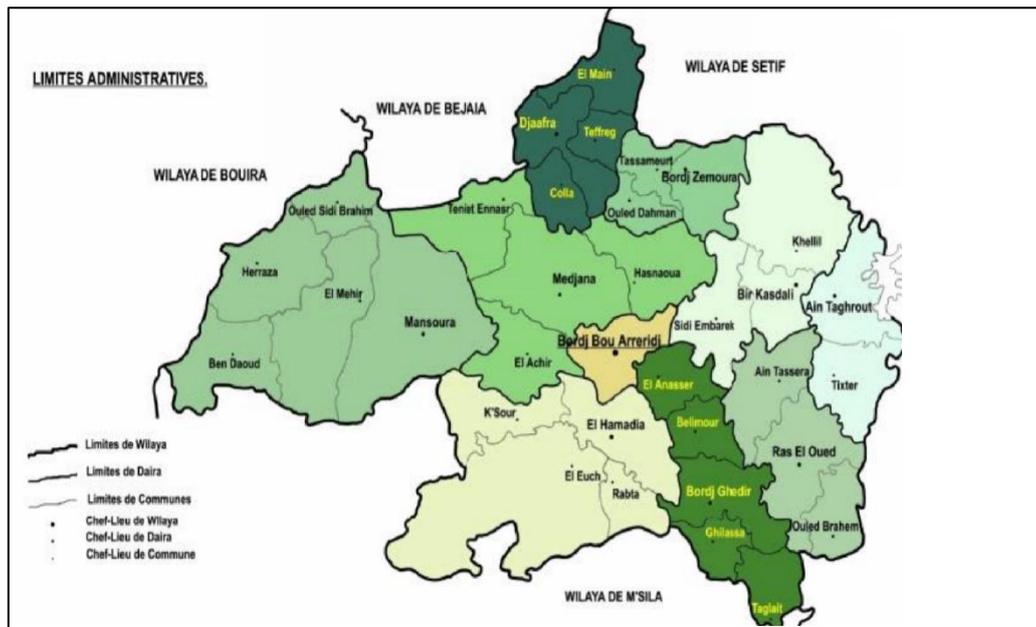
### 2.2 Le broyage

Nous avons initialement coupé les feuilles de *N. oleander* en petits morceaux. Le broyat des feuilles constituent le matériel végétal final que nous avons utilisé pour la préparation des extraits aqueux. Il s'agit de petits morceaux de feuilles dont la taille est de l'ordre de 1 à 3 mm.

## 3. Origine géographique et période de récolte

**Tableau IV** : situation géographique de station de récolte (Anonyme, 2013)

Région	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Borj Ghedir (Bordj Bou Arreridj)	35° 54'	4° 53'	Semi-aride



**Figure 05** : La carte géographique de BBA la région de récolte (Bordj Ghedir) de *N. oleander* (Anonyme, 2015).

#### 4. Détermination de l'humidité

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage.

Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante : (Twidwell et al., 2002).

$$H(\%) = \{(M1 - M2)\} \times 100$$

H(%)= taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M1= pois de l'échantillon en gramme après la récolte (plante fraîche).

M2=pois de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

## 5. Matériel fongique

Le matériel fongique présenté par un isolat de :

*Fusarium oxysporum.sp* : agent responsable du flétrissement de pois chiche. Cet isolat est originaire de la région de Mascara (Algérie), isolat à partir des tiges de pois chiche présentant les symptômes de maladies, identifié par Dr Abed.

*Alternaria* : certaines espèces vivent à l'état saprophyte pouvant occasionnellement être des agents pathogènes opportunistes, d'autres sont responsables de maladies atteignant les plantes (Schell, 2000 ; Ferrer *et al.*, 2002).

*Aspergillus* : Le champignon se développe rapidement sur les milieux classiques (géloses au malt et Sabouraud) à 22-25°C. La température optimale de croissance est 37°C. Sur le milieu de culture *A. flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés (Raju *et al.*, 2009).

## 6. Matériel au laboratoire :

Le matériel et l'appareillage utilisé est mentionné dans l'annexe 10

## 7.Méthode

### 7.1 Extarction de l'extrait aqueux

L'extraction de l'extrait des feuilles a été effectuée par hydrodistillation pour l'espèce de *Laurier rose* au laboratoire de phytopathologie de l'université de BBA .

**Tableau V** :condition opératoire d'hydrodistillation.

Quantité de matière végétale sèche	15g
Quantité de l'eau distillée	300g
Température maximale	60°C
Temps d'extraction	2h30min

Selon les conditions opératoires du système d'extraction ,chaque fois on prend 15g de la plante sèche et immerger dans 300ml d'eau distillé pendant une nuit pour le système d'hydrodistillation simple de la plante sèche ,on la mélange avec 300ml de l'eau distillé et l'introduire dans un ballon de 500ml, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2h30min (ou 3h) à une température de 100°C au début puis diminues à 60°C. La vapeur chargé d'extrait traversant un réfrigérant se condense et chute dans une ampoule à décanter.

## 7.2 Conservation de l'extrait du *N.oleander*

A cause de leurs sensibilité à la chaleur et à la lumière l'extrait doit être conservé au réfrigérateur à 4°C dans des flacons stérils ,sombres et bien fermé (Salle et *al.*, 1991).

## 7.3 Détermination du rendement d'extraction

D'après la norme (Afnor, 1986) le rendement d'extrait (RE) est défini comme étant le rapport entre la masse en grame d'hydrolat aromatique obtenue après l'extraction (M')et la masse en gramme de la matière végétale sèche utilisé(M) .

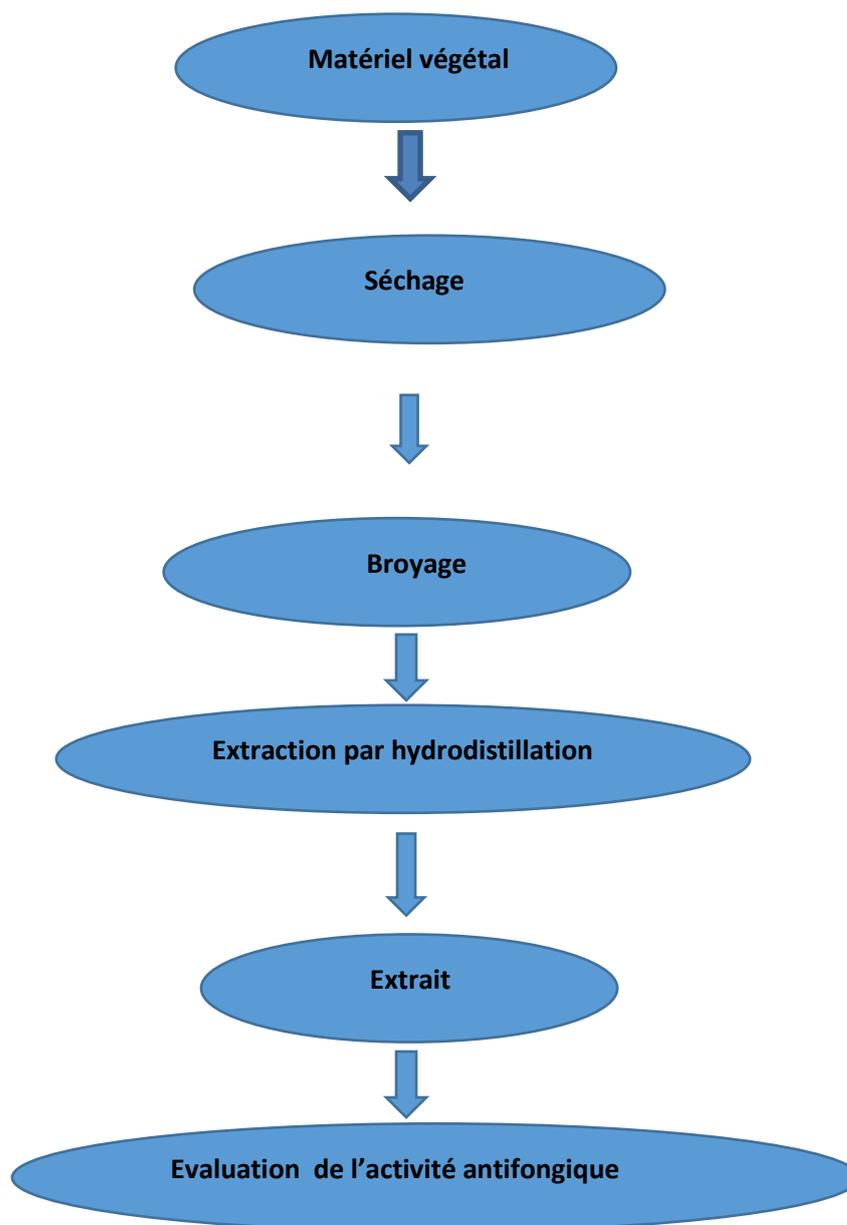
Le rendement est exprimé en pourcentage ,il est exprime par la formule suivante :

$$\text{RHA}(\%) = \{M' - M\} \times 100$$

RHA :Rendement d'extrait en %.

M' :Masse d'extrait en gramme .

M :Masse de la matière végétale sèche utilisé en gramme.



**Figure 06:** Les différentes étapes de l'extraction des feuilles du *N. Oleander*

## 8. Activité antifongique

### 8.1 Préparation du milieu de culture

Les deux milieux (PDA ,GM) devient prêt à l'emploi après la stérilisation dans l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.(annexe 10)

### 8.2 Choix des concentrations:

Dans la recherche de la concentration d'efficacité, cinq (05) concentrations successives sont choisies dont:1/10,1/25,1/50, 1/75 et1/100.

**Tableau VI :** Les différentes concentrations pour l'activité antifongique de l'extrait.

Les concentrations	Tube (témoin)	Tube 1/10	Tube 1/25	Tube 1/50	Tube 1/75	Tube1/100
Volume (extrait)	0 ul	1000ul	500ul	250ul	125ul	62,5ul
Volume (GM)	1,5ml	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml
Volume (PDA)	13,5ml	13,5ml	13,5ml	13,5ml	13,5ml	13,5ml

### 8.3 Methode de travail

Les concentrations de l'extrait sont additionnées aux tubes GM (10ml).Après agitation des tubes (GM+Extrait) ,on prélève 1,5ml de ce mélange et on le met dans les tubes contenant le PDA(13,5ml)

Après agitation de mélange (Extrait+PDA+GM) ,le milieu est coulé dans des boites de Pétrie de 9cm de diamètre.

L'inoculationse fait par le dépôt au centre de la boite d'un disque du mycélium d'environ 6mm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 7 jours .

Une boîte de Pétrie de chaque activité antifongique contenant 1,5ml de GM et 13,5ml de PDA sans extrait est inoculé pour servir de témoin (tous les tests ont répétés 3 fois pour chaque concentration).

Après incubation à 25°C pendant 7 jours en tenant compte de la croissance du témoin, on mesure la zone d'inhibition.

## 9. Evaluation de la croissance mycélienne des isolats du FOC *Aspergillus flavus*, *Alternaria sp*

La croissance mycélienne a été estimée quotidiennement en calculant la moyenne des trois diamètres des boîtes de culture.

D'après Leroux et Gerdet 1978, le pourcentage d'inhibition (%) a été déterminé par rapport au témoin et calculé selon la formule suivante :

$$X(\%) = \{(X - X_i) / X\} \times 100$$

X : croissance mycélienne moyenne dans le milieu sans extrait (témoin) .

X<sub>i</sub> : croissance mycélienne moyenne dans le milieu en présence de l'extrait.

## 10. Les tests chimiques

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence ou l'absence des substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes...etc.

### 10.1. Test des saponosides

2 g de poudre de la plante est mélangé à 80 ml d'eau distillée puis porté à l'ébullition pendant 5 minutes. On filtre, l'extrait est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (Chaouch, 2001 ; Benzazi, 2001).

### **10.2 .Test des flavonoïdes**

10g de plante, mise en poudre, est pesé puis mélangé à 150 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange est macéré durant 24 h, après filtration on ajoute NH<sub>4</sub>OH au 10 ml du filtrat jusqu'à la basicité. L'apparition d'une couleur jaune claire implique la présence des flavonoïdes (Chaouch, 2001 ; Benzzihi, 2002).

### **10.3 .Test des stérols et des terpènes**

5g de plante, mise en poudre, a été mis dans 20 ml de chloroforme et filtrer, ajouté au filtrat 1ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> avec précaution sur les parois du tube. Le point de rencontre entre les deux phases donne une couleur verte qui indique la présence des stérols insaturés et terpènes (Chaouch, 2001 ; Benzzihi, 2001).

### **10.4 .Test des Tanins**

10g de plante, mise en poudre, on extrait par l'alcool éthylique 50%, puis on filtre, on ajoute au filtrat quelques gouttes FeCl<sub>3</sub> (1%). En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre (Chaouch, 2001 ; Benzzihi, 2001).

# *Chapitre IV*

## *Résultats et discussion*

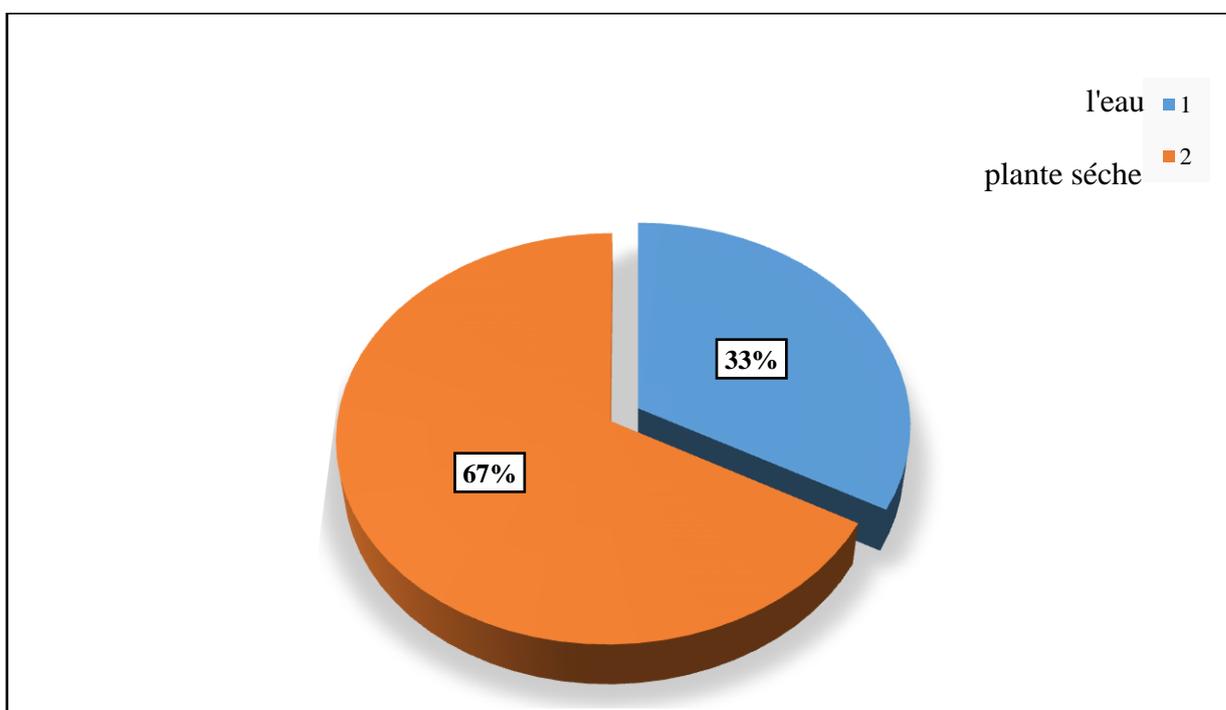
## 1. Résultats et discussion

### 1.1. Taux d'humidité de *N. oleander*.

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale, le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage, le taux d'humidité est exprimé en % est calculé par la formule suivante : (Twidwell et *al.*, 2002).

$$H\% = (M_1 - M_2 / M_1) 100$$

La détermination de taux d'humidité des feuilles de *N.oleander* a révélé un taux égale approximativement 1/3 du poids des feuilles fraiches .ce taux correspond à environ 33%, ce qui signifie que 67% représente le taux de la matière sèche, donc la plante est pauvre en eau.



**Figure 07** : Teneur d'humidité du *N.oleander*.

### 1.2. Rendement de L'extrait de la plante *N.oleander*

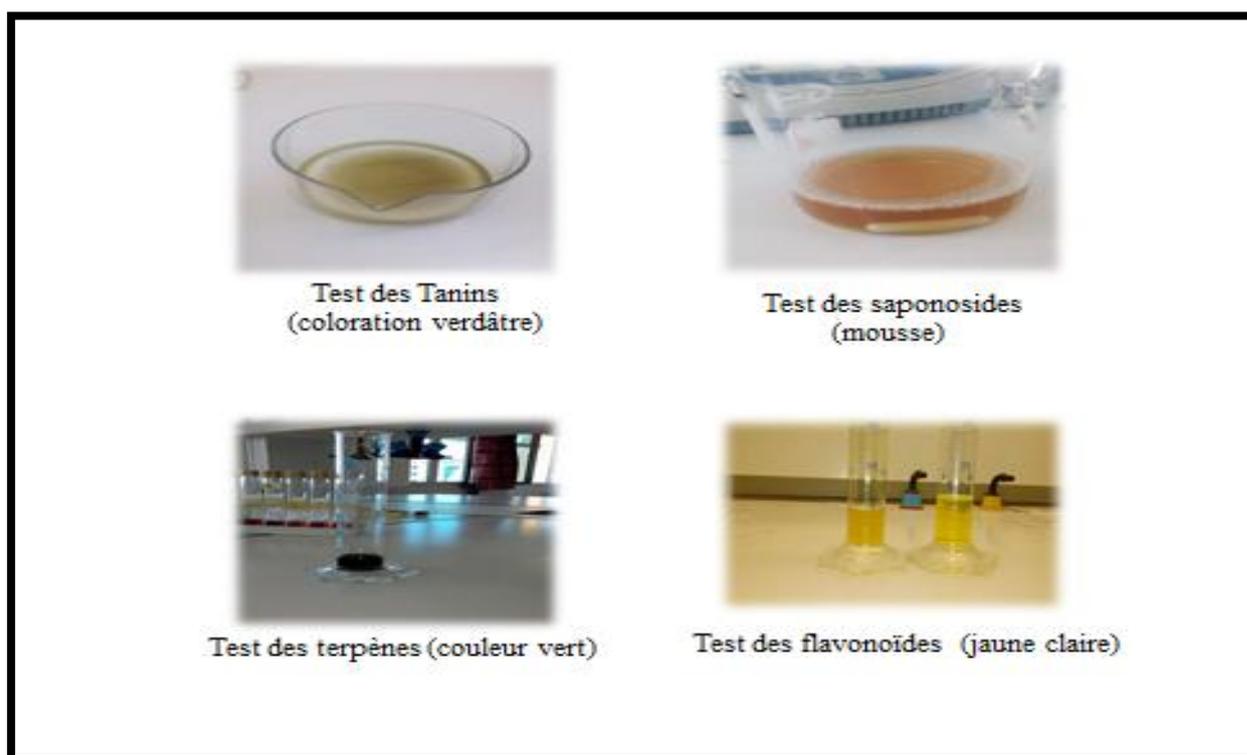
Le rendement de l'extrait est obtenu par la technique d'hydrodistillation des feuilles de *Nerium oleander* .Ce rendement est calculé à partir au poids d'extrait par rapport au poids. sec de la masse végétale, les résultats sont présenté dans le tableau **VII** suivant :

**Tableau VII:** Rendement d'extrait de plante étudié.

Espèce	Matière sèche(g)	Rendement de l'extrait (ml)
<i>Nerium oleander</i>	15	64,5

### 1.3. Résultats des tests phytochimiques

Tous les résultats obtenus après les tests phytochimiques sont présentés dans le tableau VII et la figure suivante :

**Figure 08 :** les tests phytochimiques**Tableau VIII :** Résultats des tests phytochimiques

Principe active	Résultats obtenus
Flavonoids	+
Tannins	+
Saponosides	+
Terpène	+

Selon le tableau VIII toutes les tests sont positif donc l'extrait de plante *Nerium oleander* est riche en flavonoïdes , tannis , saponosides , terpènes dont il peuvent être responsables de l'inhibition de microbes résistants aux antibiotique.

### 1.3. L'effet de l'extrait de *N.oleander* sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp*, *Asplergillus flavus*

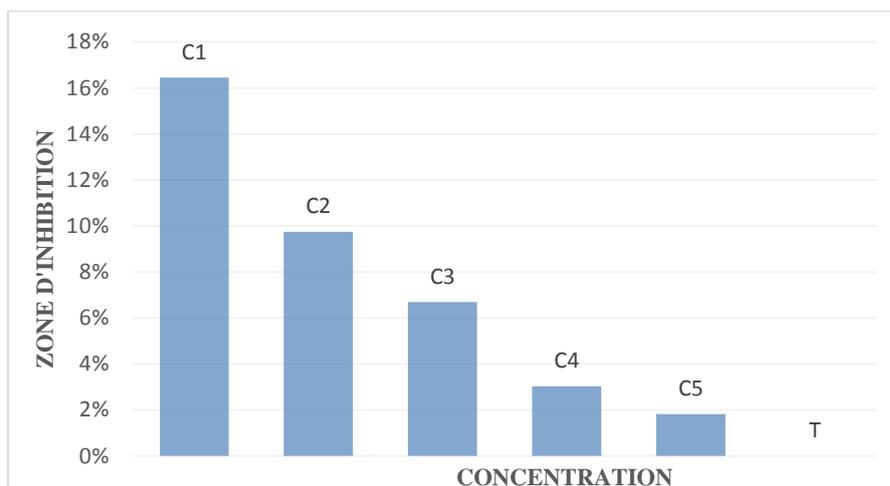
Les tests in vitro utilisé par la technique d'incorporation directe dans le milieu PDA ou révélé que l'extrait de *N.Oleander* possède une activité antifongique contre le *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp*, *Aspergillus flavus*.

L'analyse de la variance (ANOVA) à été réalisé avec l'excelle 2013 (tableaux IX, X et XI).Les résultats obtenus indiquent un effet très hautement significatif en fonction de concentration, temps et de l'effet conjugué. (Annexe 02)

#### 1.3.1. Effet de l'extrait *N.oleander* sur la Croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*

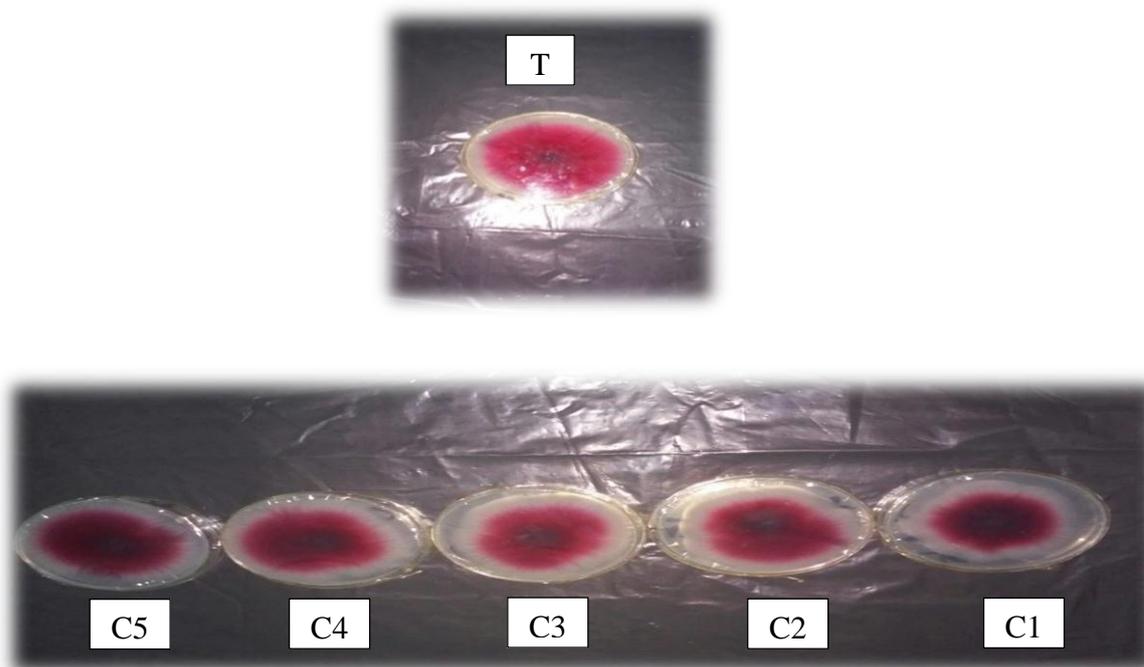
**Tableau IX** : L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne du FOC.

Champignon	Concentration	Zone d'inhibition %
FOC	T 0 %	0
	C1 10%	16,46
	C2 4%	9,75
	C3 2%	90,24
	C4 1,13 %	89,88
	C5 1 %	87,57



**Figure 09:** Taux d'inhibition de l'extrait de *N.oleander* du FOC.

On a observé un faible effet inhibiteur de l'extrait sur la croissance du FOC avec une valeur de zone d'inhibition de 16,5 % pour C1, 9,7% pour C2, 6,7% pour C3 , 3,0% pour C4, et 1,8% pour C5. Ce qui signifié que le FOC est très résistant à l'extrait du N.O , donc l'extrait de N.O presque n'a pas d'effet sur le FOC, le FOC est résistant



**Figure 10 :** L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne du FOC.

Le plus grand diamètre de croissance mycélienne a été enregistré en absence de l'extraits aqueux de plante étudiée (témoin) avec un diamètre de croissance de 82 mm soit (100%).

Par contre il est diminué avec l'augmentation de dilution d'extrait de plantes et atteint un diamètre minimale de 67mm soit (16 ,46 %) en présence de l'extrait de *N.oleander*.

Ces résultats sont identiques à ceux de (**Anonyme, 2014**), dont la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*, diminue avec l'augmentation de concentration de l'extrait, donc le *Fusarium oxysporum* est sensible à l'extrait de *N.oleander*.

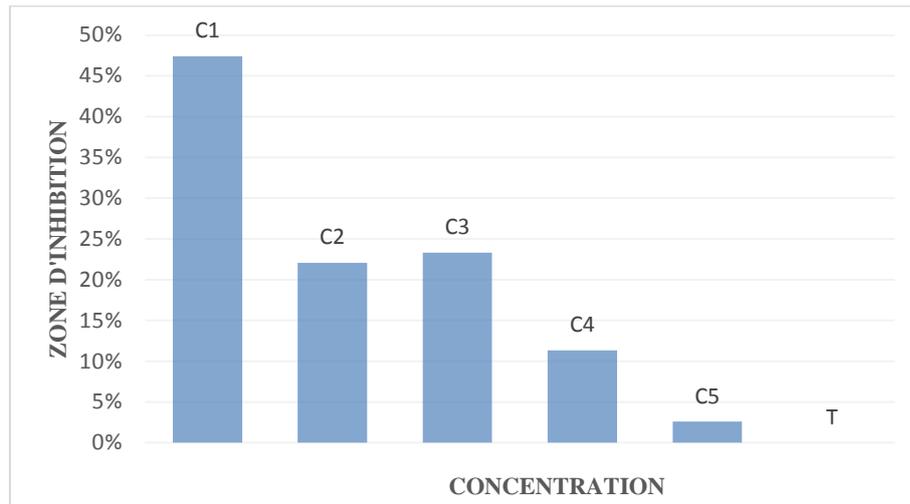
Peut-être les composants de l'extrait (flavonoïdes, tannins, saponosides, terpènes) tels que les terpènes affectent non seulement la perméabilité mais aussi d'autres fonctions dans les membranes cellulaires. Ces composés peuvent traverser les membranes cellulaires, pénètrent ainsi à l'intérieur de la cellule et interagissent avec des sites critiques intracellulaires tels que les enzymes et les protéines, ce qui conduit à la mort cellulaire (**Omidbeygi et al., 2007 ; Cristani et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont également responsables de l'inhibition des microbes résistants aux antibiotiques. Ils sont responsables des processus de balayage et peuvent également perturber les membranes microbiennes (**Kessler et al., 2003**), cela était confirmé par nos test phytochimique qui ont été positives pour la présence des flavonoïdes .

### 1.3.2. Effet de l'extrait *N.oleander* sur la Croissance mycélienne de *Alternaria sp.*

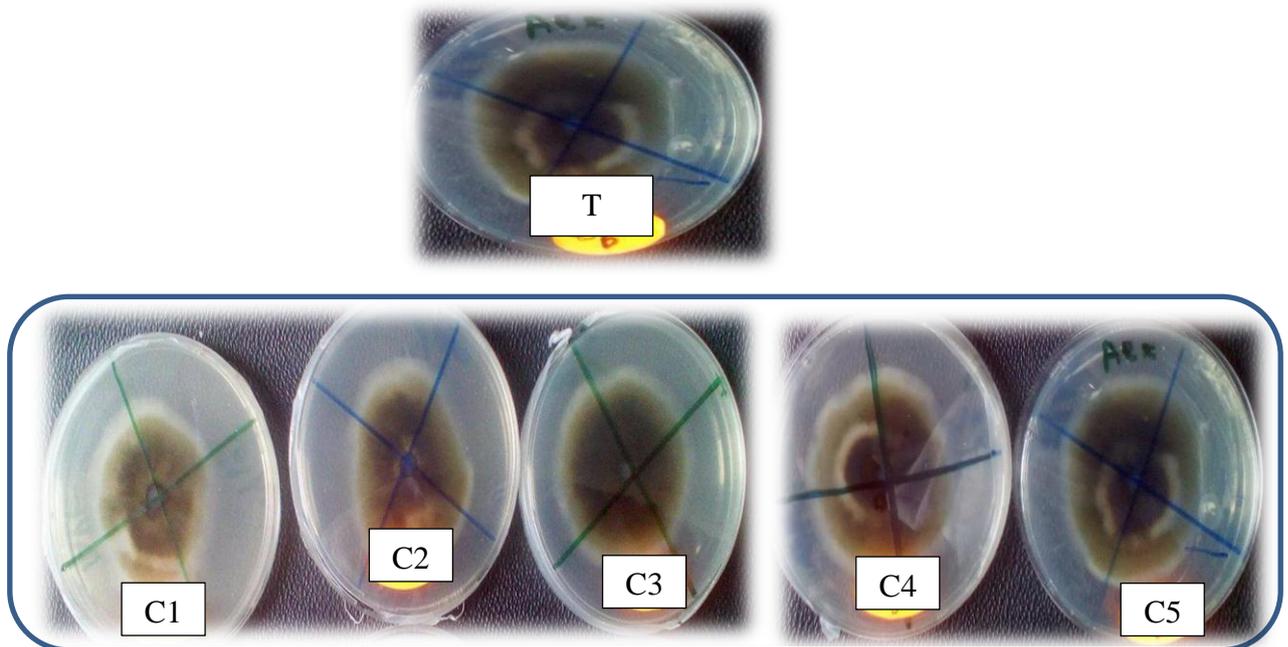
**Tableau X** : L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne d'*Alternaria sp.*

Champignon	Concentration	Zone d'inhibition %
<i>Alternaria sp</i>	T 0%	0
	C1 10%	44,8
	C2 4%	35,06
	C3 2%	23,3
	C4 1,3%	11,03
	C5 1%	2,59



**Figure 11** : Taux d'inhibition de l'extrait de *N.oleander* d'*Alternaria sp*

Selon le tableau X l'effet inhibiteur de l'extrait de *N.oleander* est important sur la croissance d'*Alternaria sp* dont on a enregistré une activité inhibitrice de 44,8% pour la concentration C1. la concentration de C2 avec une zone d'inhibition de 23,06%, C3 avec une zone d'inhibition de 23,3% C4 avec 11,03% et C5 avec 2,59% qui est la plus faible



**Figure 12** : L'effet de l'extrait de *N.oleander* sur la croissance de l'*Alternaria sp*.

Les résultats obtenus, indiquent une relation très hautement significative entre les zones d'inhibition et les concentrations de l'extrait de *N.oleander*.

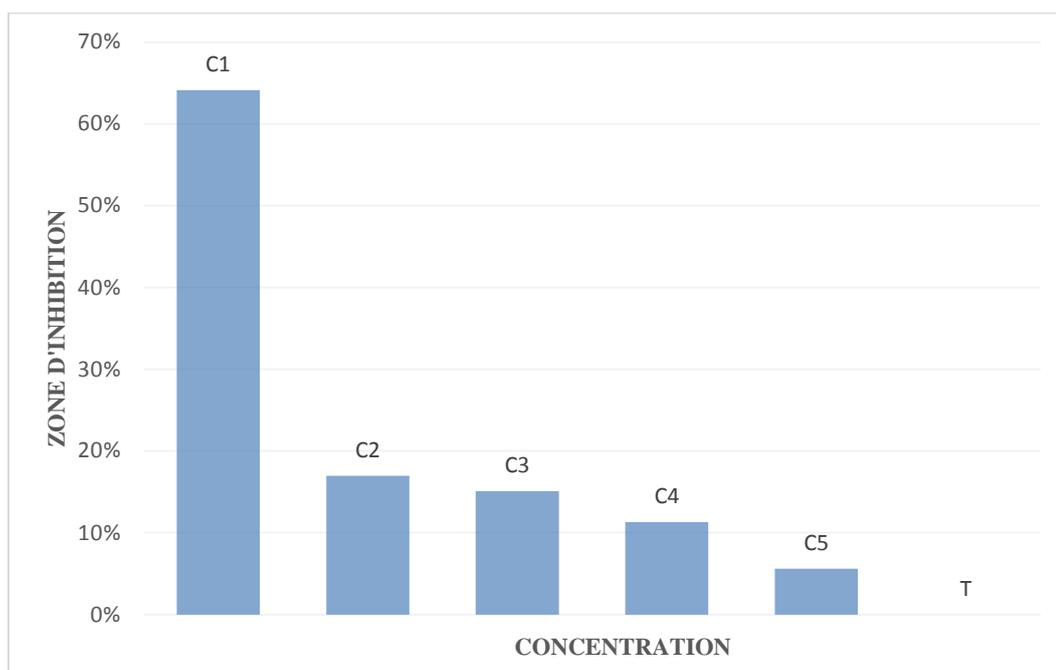
Le plus grand diamètre de croissance mycélienne a été enregistré en absence d'extrait aqueux de la plante étudiée (témoin) avec un diamètre de croissance de 77 mm, Ce qu'il se diffère en présence de l'extrait de *N.oleander* on a remarqué que le diamètre de croissance diminue en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait.

L'application de l'extrait sur la souche fongique *Alternaria sp*, d'après (**Hadizedeh, 2009**) a montré une faible sensibilité par rapport aux autres champignons testés (*Rizoctonia.solani*, *fusarium.solani*) par l'extrait de *N.oleander*.

### 1.3. 3.Effet de l'extrait *N.oleander* sur la Croissance mycélienne de *L'Aspergillus flavus*

**Tableau XI:** L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne de l'*Aspergillus flavus*.

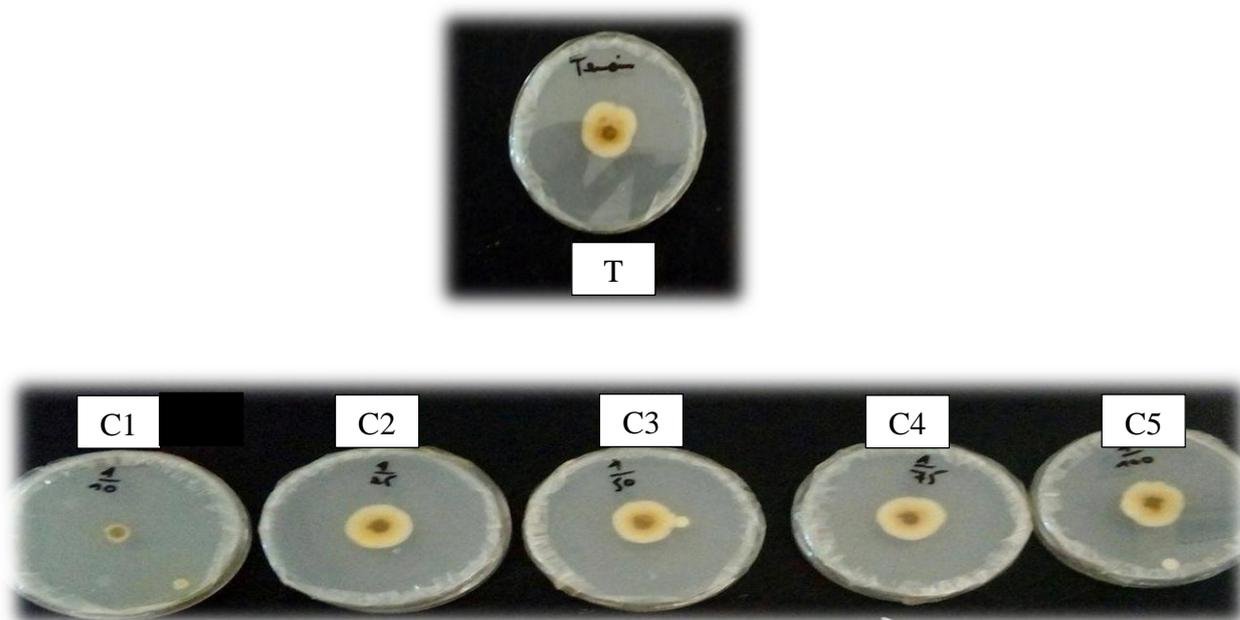
Champignon	Concentration	Zone d'inhibition %
<i>Aspergillus flavus</i>	T 0%	0
	C1 10%	62,26
	C2 4%	49,05
	C3 2%	45,28
	C4 1,3%	43,40
	C5 1%	39,62



**Figure 13:** *taux d'inhibition de l'extrait de N.oleander d'Aspergillus Flavus.*

Selon le tableau XI l'extrait de *N.oleander* a montré que l'*Aspergillus flavus* est sensible à l'extrait pour la concentration C1 avec un zone d'inhibition de 62,26 % mais , on a enregistré une sensibilité faible pour C2 ,C3,C4,C5 par rapport à celle enregistré à C1 avec une zone d'inhibition de 49,05 % , 45,28%,43,40% et 39,62% respectivement (Annexe 06).

L'*Aspergillus Flavus* est sensible à l'extrait de *Nerium oleander*, donc l'extrait à un fort pouvoir sur la croissance du mycélienne qui se diminué en fonction de la concentration de l'extrait.



**Figure 14** : l'effet de l'extrait de *N.oleander* sur la croissance de '*Aspergillus flavus*.

Selon la bibliographie il n'y a pas des travaux déjà réalisés sur l'activité antifongique de l'extrait de *N.oleander*, c'est pour cela les résultats obtenus de cette étude vont être comparés à d'autres espèces d'une autre famille.

Les résultats sont accordés avec une recherche sur des feuilles d'*Annona senegalensis pers*, ces feuilles contiennent les mêmes composants que *N.oleander* (flavonoïdes, tannins, saponosides, terpènes) (Traoré et al., 2012). Dont l'*Aspergillus flavus* montre une croissance mycélienne de 15 à 20% à la dose de C1 (55mg/ml) et 5% à la dose C2 (100mg/ml), ce qui signifie qu'il est très sensible aux composants des feuilles d'*Annona senegalensis pers*.

Nos résultats ont montré une croissance mycélienne de l'*Aspergillus flavus* de 37,75% pour C1 (soit 10%) et c'est la plus faible croissance en revanche, la plus forte croissance et enregistrée pour C5 avec un diamètre de croissance de valeur de 60,37.

L'*Aspergillus flavus* a une moyenne de sensibilité à l'extrait du *Nerium oleander*.

*Conclusion*

## Conclusion

Dans ces dernières années, il est devenu très indispensable de rechercher des substances actives d'origine naturelle à base des végétaux pour la lutte biologique des microorganismes pathogènes, qui peuvent constituer une solution alternative aux produits chimiques, les plantes médicinales et aromatiques restent toujours la source fiable de composants actifs en raison de leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux, antioxydants, cytotoxiques et anticancéreuses.

Ce travail a été mené dans le cadre d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait (hydrolat aromatique) de la plante *Nerium oleander*, vis-à-vis des agents pathogènes de flétrissement vasculaires du pois chiche *Fusarium oxysporum*; *Alternaria sp* et *Aspergillus flavus*.

Les résultats obtenus indiquent que *Nerium oleander* pauvre en eau avec un taux d'humidité de 33%.

L'activité antifongique évaluée par la méthode de contact directe a montré que l'extrait a donné un pouvoir antifongique faible sur la croissance du FOC et moyenne sur *Alternaria* et un effet fort sur *Aspergillus flavus*.

Les trois souches fongiques FOC, *Alternaria*, *Aspergillus* montrent une augmentation de sensibilité en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait.

En conclusion, l'ensemble des résultats obtenus de l'extrait peuvent servir comme une base de lutte biologique contre l'organisme pathogène et surtout l'*Aspergillus flavus*

Pour les futures études nous proposerons

- Comparer l'effet de l'extrait de l'espèce étudiée de différentes régions (en Algérie)
- Utiliser les autres parties de la plante (tiges, racines, fleurs et fruits)
- Étudier l'effet des huiles essentielles sur les mêmes souches fongiques et d'autres genres qui touchent le blé par exemple.

## *Références bibliographique*

### Références bibliographique :

- Abdelkader F,1 . Bounechada m, 2012: Etude comparative de l'infection des sols par quelques champignons pathogènes en conditions de semis direct et de travail conventionnel
- Adom. R. O., Gachichi. J. W., Onegi. B., Tamale. J., Apio. S. O. (2003) : The cardiotoxic effect of the crude ethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated guinea pig hearts.  
*African health sciences*. Vol. 3, pp. 77-82.
- Almahy. H. A et Khalid. H. E. (2006) :Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander*  
*International journal of tropical medicine*., vol. 1, n° 2, pp. 58-61.
- Al-yahya. M. A., Al-farhan. A. H., Aadam. S. E. I. (2000) : Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus colocynthis* and *Nerium oleander* in rats. *Fitoterapia*., vol. 71, 385-39.
- Ameenah g. F., 2006 : Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow *Molecular Aspects of Medicine*, 27:1-93
- Asad, S. and R. Bajwa. 2005: Allelopathic effects of *Senna occidentalis* L. on *Parthenium* weed. 6<sup>th</sup> National Weed Science Conference, 28-30 March 2005, NWFP Agricultural University, Peshawar. p. 16
- Banon. S., Ochoa. J., Alarcon. J. A., Sanchez-blanco. M. J. (2006) : Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. *Environmental and Experimental Botany*., vol. 56, pp. 36-43.
- Barbosa. R. R., Fontenele-neto. J. D., Soto-blanco. B. (2008) :Toxicity in goats caused by oleander (*Nerium oleander*). *Research in Veterinary Science*., vol. 85, issue 2, pp. 279-281
- Baser KHC. and Buchbauer G., 2010 : Handbook of Essential oils : Science, Technology and Applications. CRC Press. UK.
- Begum. S., Siddiqui. B. S., Sultana. R., Zia A., Suria. A. (1999) :Bio-active cardenolides from the leaves of *Nerium Oleander* *Phytochemistry*., vol. 50, pp. 435-438
- Begum. S., Sultana. R., Siddiqui. B. S. (1997) : Triterpenoids from the leaves of *Nerium oleander*. *Phytochemistry*., vol. 44, pp. 329-332.
- Ben amara n , chender m , akbache a , 2013 : l'activité anti fongique des extraits de *rosmarinus officinalis* ( huile essentielle hydrolat aromatique ) des univ bba p 24.
- BEN CHACHA.A., 2008. :Etude de l'effet allélochimique de l'extrait aqueux de quelques plantes médicinales et aromatiques sur la germination des grains des mauvaises herbes.5-23p.
- Benzahik, Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante cynodn *Dactylon* -L <<chindent>>, mémoires de Magister. Université de Ouargla ,P,15-17 2001.
- Blaidi A,Ouldelhadj-khelil A .2014:Evaluation du potentiel biocide des extraits foliaires aqueux de (*Datura stramonium* L , et *Nerium oleander* L :Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Bnouham. M., Mekhfi. H.,Legssyer. A., Ziyat. A. (2002) : Ethno pharmacology forum.Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco.*Int. J. diabetes et Metabolism*., vol.10, pp. 33-50.
- BOUCHNAN. 2006. : Métabolisme secondaire.

## Références bibliographique

---

- Bouderhem A, Guenez R.2015:** Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*): Université Echahid Hamma Lakhdar D'el-oued
- Bourgeois. B., Incagnoli. P., Hanna. J., Tirard. V. (2005) :** Traitement par anticorps antidigitalique d'une Intoxication volontaire par laurier rose. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.*, vol. **24**, pp. 640-642.
- Boyraz,NE., Ozean ,M. 2005:**.Antifungal effect of some spice hydrosols. *Fitoterapia* 76,661-665.
- CHAABI M., 2008 :** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenocla Baill. (Euphorbiaceae)*, *Anogeissuslio carpus Guill. Etperr.(Combrétaceae)*, *Limoniastrum feei (Girard) Batt. (Plumbaginaceae)*. Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université, Louis Pasteur et Université MENTOURI de Constantine (Alger): 179, 180
- Chakou., Medjoudja k , Hadjadj S. 2014:** *Etude bibliographique sur la phytochimie* : Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Chaouch.N,** Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées ) Région de Oued N'sa (Wilaya de ougla ). Mémoire de magister. Université de Ouargla, 44 (2001).
- Calmes, B. (2011):** .Réponses adaptatives d'*Alternaria brassicicola* au stress oxydatif lors del'interaction avec les brassicacées : Rôle du métabolisme du mannitol et des Glutathion-Stransférases.Thèse de doctorat Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale Ecole Doctorale VENAM
- Catty , s . (2001) hydrosols , the next aromatherapy . healing arts press . rocheester . 290 p.**
- Chaouch.N,** Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées ) Région de Oued N'sa (Wilaya de ougla ). Mémoire de magister. Université de Ouargla, 44 (2001).
- Delille. L. (2007) :** *Les plantes médicinales d'Algérie*, Berti éditions, pp. 141-142. Alger.
- Eun Jeong. S. (2001) :** Effects of the sap of the common oleander *Nerium indicum* (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* . *The Journal of Experimental Biology.*, vol. **204**, pp. 3935-3942.
- Hadjadj, HADJADJ Soumia.2015:**Etude chimique et biologique des huilles essentielles de coriandre de Fenouil et de persil. Thèse de doctorat : université d'oran1.
- Hadizadeh.L peivastegan .B,Kolahi.M;**journal:*Pakistan,antitifungalActivity of Nettle,colocynth,oleander and konar in journal of biological Sciences* vol 12(1) :pp58-63 ,(2009)
- HOPKINS .WG, 2003. :** Physiologie végétale.Boeck et Larcier, Bruxelles. 267-283p
- Hostettman. K., Marston. A., Ndjoko. K., Wolfender. J. L. (2000) :** The potential of Africa plants as source of drugs. *Current Organic Chemistry.*, vol. **4**, pp. 973-1010.
- Hussain. M. A et Gorsl. M.S. (2004) :** Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn. *Asian Journal of Plant Sciences*3., vol. **2**, pp. 177-180.
- Huq. M. M., Jabbar. A., Rashid. M. A., Hasan. C. M. (1999) :** A novel antibacterial and cardiac steroid from the roots of *Nerium oleander*. *Fitoterapia.*, vol. **70**, pp. 5-9.

## Références bibliographique

---

- Ibrahim. K. A., Khalagi. S., Youssef. D., Khan. I., Mesbah. M. (2007)** :Stimulation of oleander in production by combined *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation and fungal elicitation in *Nerium oleander* cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology.*, vol. **41**, pp. 331-336.  
(<http://www.plantencyclo.com>; consulter le 24-10-2007).
- Iserin P ., Masson M .et Restellini J P., 2007** : Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larouse, pp14.
- Jeannot , v., chahboun, j . russel , d ., casablanca , h . (2003):**. origamum compactum bentbam : composition of the hydrolat aromatic fraction , comparison with the essential oil and its interest in aromatherapy . int . aromather 13,90-94
- Khadidja L,S,hacini. 2015:**. Extraction et Analyse des huilles essentielles de Mentha pulegium.L et de Saccocalyx satureioide. Test d'activités Antifongiques et antibactériennes : université d'oran Es-Sinia..
- Lardry J.M et Haberkorn V. 2007** : Les huiles Essentielles : principes d'utilisation ; Kinestherapy Reviews 61 ; p : 18-23.
- Latreche N, Baaziz N. 2015:**.Evaluation de l'activité antifongique des extraits ( huilles essentielle et hydrolat aromatique) de quelques plantes de la famille Lamiaceae( Teucrium polium, Rosmarinus officinalis et Mentha spicata) : Université BBA,10 ,11,13,14p.
- Lucchesi M E., 2005** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huilles essentielles. Thèse de doctorat, Université de la Réunion, France.
- Majinda R.R.T., Abegaz B.M., Bezabih M. et autres (2001)** Resent resultants from naturel product resarch at the university of Botswana, *Pure. Appl. Chem.* **73** (7) : 1197-1208.
- Ouibrahim A,Tlili A.2015.**Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (Laurus nobilis L.,Ocimum basilicum L. et Rosmarinusofficinalis L.) de l'est Algerien :Université de Annaba
- Oukal. Z. (2008)** : les principales plantes toxiques chez les animaux domestiques au Maroc. (Thèse deDoctorat), Maroc
- Piochon, 2008** :Etude des huiles essentielles des espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université du Québec.199
- Price , l ; price , s . (2004):** understanding hydrolat : the spesific hydrosols for aromatheropy .- churchill livingstone . 294p20
- Randriandrivelo R, Raherimandimby M. 2010:**.Etude de l'activite antimicrobienne d'une plante endemique de Madagascar « Cinnamosma fragrans » Alternative aux antibiotiques en crevetticulture :Université d'Antananarivo.
- Roux D, 2008** : Conseil en aromathérapie. 2 éme édition, Pro-Offician.187.Lardry J.M et Haberkorn V. 2007. Les huiles Essentielles : principes d'utilisation ; Kinestherapy Reviews 61 ; p : 18-23
- SANAGO R., 2006** : Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université

## Références bibliographique

---

Bamako(Mali): 53.

**-Shan Yu. M., Wanilai. S., Funclin. K., Nianfang. J., Hungyuen. W., Chung. R. C. (2004)**

Characterization of polysaccharides from the flowers of *Nerium indicum* and their neuroprotective effects. *International Journal of Molecular Medicine.*, vol. **14**, pp. 917-924.

**-Shriff. N., Saudarshana. M. S., Umesha. S., Hariprasad. P. (2006) :** Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. *Africa journal of biotechnology.*, vol. **5**, n°. 10, pp. 946-950.

**-Simon T, Jacques G,2011,** Etude de la diversité génétique et du pouvoir pathogène d'*Aspergillus fumigatus* et de *Chlamydophila psittaci* chez les oiseaux 51-52p

**-Singh. S et Singh. D.K. (1998) :**Molluscicidal activity of *Nerium indicum* bark. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.*, vol. **31**, pp. 951-954

**-Tarifa W, Belkhiri A.2009:**Caractérisation chimique des principes molluscicides des feuilles de *Nerium oleandre* L :Université de constantine, 20,21,22,23,24,25,26,27,28,30,32,34,35p

**-Tiwari. S et Singh. A. (2003) :** Control of common freshwater predatory fish, *Channa punctatus*, through *Nerium indicum* leaf extracts. *Chemosphere.*, vol. **53**, pp. 865-875.

**-Traoré Y., Ouattara K., Yéo D., Doumbia I., Coulibaly A,** Recherche des activité antifongique et antibactérienne des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae), in, *journal of applied biosciences*, 5902, 11<sup>th</sup> Septembre 2012.

# *Annexe*

# ANNEXES

Annexes 01: analyses statistique de l'extrait de *N.olender vis-à-vis à fusarium oxysporium*.

inerce	<b>1</b>	<b>2194,594</b>	<b>2194,594</b>	<b>51469,30</b>	<b>0,000000</b>
concentrat	<b>5</b>	<b>17,049</b>	<b>3,410</b>	<b>79,97</b>	<b>0,000000</b>
time	<b>2</b>	<b>249,993</b>	<b>124,996</b>	<b>2931,51</b>	<b>0,000000</b>
con tem	<b>10</b>	<b>2,438</b>	<b>0,244</b>	<b>5,72</b>	<b>0,000044</b>
err	36	1,535	0,043		
total	53	271,014			

Annexes 02:L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne du FOC.

Champignon	Concentration	Zone d'inhibition %	Diamètre de croissance	Diamètre de croissance en %
FOC	T 0 %	100	8 2	0
	C1 10%	16,46	68,5	13,5
	C2 4%	9,75	74	8
	C3 2%	90,24	8	74
	C4 1,13 %	89,88	8,3	73 ,7
	C5 1 %	87,57	8,55	73,45

## ANEXES

Annexes 03 : analyses statistique de l'extrait de *N.olender vis-à-vis à Alternaria sp.*

	DDL	MS	SS	F	P
inerce	<b>1</b>	<b>1682,817</b>	<b>1682,817</b>	<b>91558,79</b>	<b>0,000000</b>
concentrat	<b>5</b>	<b>29,150</b>	<b>5,830</b>	<b>317,20</b>	<b>0,000000</b>
time	<b>2</b>	<b>218,525</b>	<b>109,263</b>	<b>5944,76</b>	<b>0,000000</b>
con* tem	<b>10</b>	<b>7,264</b>	<b>0,726</b>	<b>39,52</b>	<b>0,000000</b>
err	36	0,662	0,018		
total	52	255,601			

Annexes 04:L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne d' *Alternaria sp.*

champignon	Concentration	Zone d'inhibition %	Croissance mycéliennes	Zone d'inhibition en (mm)
<i>Alternaria sp</i>	<i>T</i> 0%	0	77	0
	<i>C1</i> 10%	44,84	42,5	34,5
	<i>C2</i> 4%	35,06	50	27
	<i>C3</i> 2%	23,37	59	18
	<i>C4</i> 1,3%	11,03	68,5	8,5
	<i>C5</i> 1%	2,59	75	2

Annexes05: analyses statistique de l'extrait de *N.olender vis-à-vis à Aspergillus flavus*

	DDL	MS	SS	F	P
inerce	1	210,2389	210,2389	24680,22	0,000000
concentrat	5	10,1830	2,0366	239,08	0,000000
time	2	8,9195	4,4598	523,54	0,000000
conc*tem	10	1,6994	0,1699	19,95	0,000000
err	36	0,3067	0,0085		
total	53	21,1086			

Annexes 06: L'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne de l'Asp.

Champignon	Concentration	Zone d'inhibition %	Diamètre de croissance mycélienne (mm)	Zone inhibition en (mm)
<i>Aspergillus flavus</i>	T 0%	0	26,5	
	C1 10%	62,26	10	16,5
	C2 4%	49,05	13,5	13
	C3 2%	43 ,39	15	11,5
	C4 1,3%	45,28	14,5	12
	C5 1%	39,62	16	10,5

## **Annexe 10 :**

### **Appareillage**

- la hotte stérile( GENINI Italie)
- Etuve (mememert)
- Bain marie (mememert)
- Autoclave (Agimatique)
- plaque chauffante (P .SELECTA)
- Balance de précision(KERN)
- Agitateur
- Système hydrodistillation

### **Verreries**

- Ampoule à décan
- Ballon de 500ml
- Bécher de 500 ml
- Eprouvette graduée
- Burette graduée
- Tube à vis
- Flacon
- Entonnoir

### **Les produits**

- Chlorure du fer ( $\text{FeCl}_3$ ) 1%
- Chloroforme( $\text{CHCl}_3$ ) 1%
- Acide sulfurique( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- Hydroxyde d'ammonium( $\text{NH}_4\text{OH}$ )
- Chlorure d'hydrogène( $\text{HCl}$ ) 1%
- Chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ )
- Alcool éthylique 50%
- Agar -Glucose

**Autre :**

-Boites de Pétri

**Préparation du milieu de culture****La composition du milieu de culture(PDA)**

Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Agar	20g
Eau distillé	1000ml

**La composition du milieu de culture(gélose a mole)**

Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Agar	08g
Eau distillé	1000ml

**Abréviation**

**C1** : concentration de 100ul/15ml PDA soit 1 /10

**C2** : concentration de 500ul/15 ml PDA soit 1/25

**C3** : concentration de 250ul / 15 ml PDA soit 1/25

**C4** : concentration de 125ul / 15 ml PDA soit 1/25

**C5** : concentration de 62.5ul /15 ml PDA soit 1/25

## Résumer :

*Laurier rose (Nerium oleandre)* appelée par les algériens Defla est une plante de la famille des Apocynaceae.

Cette espèce est principalement utilisée comme plante ornementale.

*Laurier rose* a été récolté dans la région de Bordj GHedir (Bourdj B ou Arraridj).

L'étude que nous avons réalisé a été consacré à L'évaluation de l'activité antifongique d'extrait de la plante de *Laurier rose* is-à-vis les trois champignons suivant : *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus* et *Alternaria*.

L'extraction de la partie aérienne (feuille) de cette plante a été effectuée par l'hydrodistillation.

Les tests chimiques qui nous avons employée sur la plante de *Nerium oleandre* montrent que cette plante composé de : saponoside, flavonoïde, terpène et tamins.

Le FOC est résistant avec une zone d'inhibition enregistré de valeurs 16,46%, L'*Alternaria* sp moyenne sensibilité avec une zone d'inhibition de 44,8%, *Aspergillus flavus* est une souche fongique sensible à l'extrait une zone d'inhibition de 62,26% par rapport au deux souches fongiques testés.

L'évaluation de l'activité antifongique de cet extrait a montré que la variation la variation d'inhibition est en fonction de nombreux facteurs, notamment la concentration des extraits les plantes étudiés.

Mots clés : plante sornementale, extrait, Apocynaceae , FOC, ASP,ALT , activité antifongique, tests.

## Abstract :

*Laurier rose (Nerium oleandre)* called by the Algerian Defla is plant from the Apocynaceae family. This type of plant is mainly used as an ornamental plant.

*Laurier rose* was respectively cultivated in the area of Bordj GHedir (Bourdj B ou Arraridj).

The work that we did to evaluated the anifongical activity of the extract of plant *Laurier rose* deterioration from three champignons : *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus* et *Alternaria*.

The extraction of the uper parts of this plant was done by hydrodistillation.

The chimical tests which we have used on the plant show that this plant composed of : saponoside, flavonoïde, terpène and tamins

The FOC is resistant with a recorded inhibition zone of 16.46%

The *Alternaria* sp medium sensitivity with an inhibition zone of 44.8%.

*Aspergillus flavus* is a fungal strain sensitive to the extract an inhibition zone of 62.26% compared to the two fungal strains tested.

The evaluation of the antifungal activity of this plant extrect showed a variation in the level of inhibition due to a variety of factors mainly the level of concentration of the extract and the plants themselves.

Key Words : plant ornamental, extract, Apocynaceae, FOC, ASP,ALT, Anifongical activity, tests.

## ملخص :

تسمى *Nerium oleander* بالدفلة عند الجزائريين و هي من عائلة الدفلية (*Apocynaceae*) و هذا النوع من النباتات العطرية يستعمل كنبات للزينة.

تم جمع الدفلة *Laurier rose* من برج الغدير جنوب ولاية برج بوعريبيج .  
الدراسة التي انجزناها خصصت لتقييم المضادات الفطرية لمستخلص نبتة الدفلة و مدى تأثيرها علي الفطريات الثلاثة التالية:

*Fusarium oxysporium*, *Aspergillus sp*, *Alternaria*

تمت عملية الاستخلاص الاجزاء الهوائية (الأوراق) بواسطة التقطير المائي

الاختبارات الكيميائية التي طبقناها على علي نبات الدفلة *Nerium oleander* تبين ان هذه النبتة تتكون من :

Saponoside, flavonoïde, terpène, tannins

FOC مقاومة مع منطقة تثبيط سجلت تقد رب : 16.46%

*Alternaria* sp متوسط الحساسية مع منطقة تثبيط 44.8

*Aspergillus flavus* هو سلالة فطرية حساسة لمستخلص الدفلة بمنطقة تثبيط 62.26% مقارنة مع السلالتين الفطرية التي تم اختبارها

اظهر تقييم هذا المستخلص علي نمو الفطريات اختلافا في التثبيط و يستند هذا التلف علي تركيز المستخلص من جهة, ويستند ايضا علي السلالات الفطرية من جهة اخرى .

الكلمات المفتاحية :

المستخلص, النباتات العطرية, النشاطية ضد الفطرية ASP, Alt, FOC