



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 Mohammed El Bachir El Ibrahimi 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 Biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé :

Comparaison de l'activité antifongique de quelques extraits actifs des plantes spontanés

(*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de Bordj Bou Arreridj

Présenté par :

BEN KHELFALLAH Radhia & CHOUCOU Khaoula

Soutenu le 12/06/2024, Devant le Jury :

	Nom &Prénom	Grade	Affiliation / institution
Présidente :	M ^{me} TAMINE Milouda	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrante :	M ^{me} ABED Hanane	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice :	M ^{me} IRATNI Nadjat	MAA	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

Remerciement

*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance la volonté et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail.*

*Nos remerciements s'adressent en particulier à notre encadrante **Mme ABED Hanane**, qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé, nous a permis de réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier de nous avoir fait l'honneur de présider les membres de jury : **Mme IRATNI Nadjet** et **MmeTAMINE Milouda***

Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leur remarque

*Un remerciement spécial à les techniciens de laboratoire **Mme Gahfif ouahiba** et **Mme ouassima** pour son aide, tout le long de la réalisation de notre travail pratique, et tous les membres de l'équipes pédagogiques du département biologie de l'Université de Bordj.*

Nous exprimons notre gratitude à tous les enseignants rencontrés lors de notre cycle universitaire.

Dédicace

El Hamdoulillah

Je dédie ce modeste travail à :

A mon très cher père Moussa la personne la plus idéale dans ce monde c'est ma vie et ma réussite, qui m'a toujours poussé et motivé dans ma vie, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance j'espère que tu es fier de moi.

A ma très cher mère tu m'as appris à donner et m'a comblé de sa tendresse, à la source de l'amour et la lumière de ma vie, ton affection me couvre et ta bienveillance me guide.

Mes très cher parents je ne saurai point te remercier comme il se doit c'est grâce à votre présence à mes coté, que j'ai réussi ce respectueux parcours.

A mes très cher frères Abdelouahab, Abderahmane, Mouaad et Ahmed je tiens à remercier vivement pour vos soutiens, vos encouragement, vous êtes toujours ma grand force.

A ma très chère sœur et ses fille Faiza Yasmine Hiba Ichrak et le petit Ibrahim ma source d'amour et de bonheur qui n'ont pas cessée de m'aider, de me encourager et de votre Confiance tout le long de ma vie je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies.

A mes grands-parents des deux coté et à toute ma famille merci pour votre soutien moral

A ma chérie Radhia merci pour les moments agréables que nous avons passé ensemble et pour votre aide à la réalisation de ce travail

Khaoula

Dédicace

*Ce travail n'aurait jamais vu le jour sans la volonté de **DIEU**, qui m'a offert santé, force, patience et volonté jusqu'au dernier moment. Je te remercie **ALLAH** pour ça et pour ton soutien à chaque instant.*

« Celui qui ne remercie les gens ne remercie guère Dieu ».

Je tiens à dédier ce modeste travail d'abord :

*À qui je préfère à moi-même (**Ma mère**) et pourquoi pas, et s'est Sacrifiée pour moi ; Elle n'a épargné aucun effort pour toujours me plaire, Merci maman pour tout ce qu'elle m'a donné Merci pour toutes tes prières pour moi, j'espère que tu seras toujours satisfaite.*

*A (**Mon père**) pour son amour son soutien depuis toujours, Il a me donner toutes les chances pour réussir.*

Toutes les expressions de gratitude ne pas suffisante pour exprimer mes sentiments envers toi, fier que tu sois mon père.

A mes sœurs et mes frères qui ont toujours été présents pour moi.

Merci pour votre encouragement et confiance.

A mes chères amies qui ont proche de moi pour lessympathiques moments qu'on passe ensemble.

*A ma chérie, ma sœur, mon partenaire de ce travail (**khaoula**),
Je n'oublierai pas les moments difficiles que nous avons passés, merci Dieu
qui nous a réunis dans ce travail.*

Radhia

Résumé :

Les fongicides ont des effets graves sur la santé humaine notamment en provoquant des cancers, justifient la recherche de nouvelles stratégies de lutte contre les champignons phytopathogènes. A cet effet, les potentiels antifongiques de deux plantes médicinales populaires (*Marrubiumvulgare* et *Artémisia herba alba*), recueillies à partir du nord-est de l'Algérie (ElHamadia et Hasnaoua de la wilaya de Bourdj Bou Arreidj) ont été évalués en utilisant la diffusion sur milieu gélosé. L'extraction hydraulique et méthanolique de ces plantes permet d'obtenir les composés bioactifs. Le rendement est optimal avec les extraits aqueux d'*A. herba alba* et *M. vulgare*, qui atteignent respectivement 14,39% et 9,09%. Quant aux extraits méthanoliques, leurs rendement est de 7,81% pour *A. herba alba* et 6,93% pour *M. vulgare*. L'analyse phytochimique qualitative des extraits indique une richesse en flavonoïdes et en saponines dans les extraits aqueux, tandis que l'extraits méthanolique d'*A. herba alba* contient des tanins. La quantification des polyphénols totaux a révélé des valeurs plus élevées que l'extrait méthanolique de *M. vulgare*, soit 6,23 mg EAG / mg d'extrait sec. En ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait aqueux de *M. vulgare* a montré une teneur de 0,71 µg EQ /mg d'extrait, suivie par *A. herba alba* avec 0,67. Les résultats obtenus de l'activité antifongique montrent que les extraits méthanoliques de *M. vulgare* et *A. herba alba* ont une activité importante vis-à-vis *Alternariasp*, *Penicillium spet* *Candida albicans*. En fait, les zones d'inhibitions maximales et les valeurs de la CMI sont aux alentours de 30-25-18-19 mm à 300 mg/ml et 50mg/ml respectivement. De plus, l'extrait aqueux d'*A. herba alba* est actif seulement contre *Alternariasp* avec une CMI de 200mg/ml. D'après les résultats obtenus *A. herba alba* présente une activité fongicide, tandis que *M. vulgare* présente une activité fongistatique.

Mots clés : activité antifongique, extrait méthanolique, extrait aqueux, *A. herba alba*, *M. vulgare*, CMI, CMF.

Abstract :

Fungicide has serious effects on human health, particularly by causing cancer, justifying the search for new strategies to combat phytopathogenic fungi. For this purpose, the antifungal potentials of two popular medicinal plants (*Marrubium vulgare* and *Artemisia herba alba*), collected from the no rest of Algeria (El Hammadia et Hasnaoua of the wilaya Bordj Bou Arreridj) were evaluated using the diffusion on agar medium. The hydraulic and methanolic extraction of these plants makes it possible to obtain bioactive compound. The yield is optimal with aqueous extracts, of *A. herba alba* and *M. vulgare*, wich reach 14.39% and 9.09% respectively. As for the methanolic extracts, their yields 7.81% for *A. herba alba* and 6.93% for *M. vulgare*. Qualitative photochemical analysis of the extracts indicates richness in flavonoides and saponins in the aqueous extracts, while the methanolic extracts of *A. herba alba* conain tanins. Quantification of total polyphenol revealed higher values than the methanolic extract of *M. vulgare*, 6.23mg EAG /mg dry extract. Regarding flavonoids, the aqueous extract of *M. vulgare* shows a content of 0.71 μ g EQ/mg of extract, followed by *A. herba alba* with 0.67. Therresults obtained for the antifungal activity show that the methanolic extracts of *M. vulgare* and *A. herba alba* have significant activity against *Alternaria* sp, *Penicillium* sp, and *candida albicans* in fact the maximum inhibition zones and MIC values are around 30-25-18-19mm at 300mg/ml and 50mg/ml respectively. In addition, the aqueous extract of *A. herba alba* is only active against *Alternaria sp* with a MIC of 200mh/ml According to the results obtained *A. herba alba* presents fungicidal activity, while *M. vulgare* presents fungistati cactivity.

Key Words: antifungal activity, methanolic extract, aqueous extract, *A. herba alba*, *M. vulgare*, CMI, CMF.

ملخص:

لمبيدات الفطريات آثار خطيرة على صحة الإنسان، خاصة أنها تسبب السرطان، مما يبرر البحث عن استراتيجيات جديدة لمكافحة الفطريات المسببة للأمراض النباتية. لهذا الغرض، تم تقييم الإمكانيات المضادة للفطريات لاثنين من النباتات الطبية الشعبية (*Marrubium vulgare*) و (*Artemisia herba alba*)، التي تم جمعها من شمال شرق الجزائر (الحامدية والحسناوة من ولاية برج بوعرييج) باستخدام الانتشار على وسط أجار. إن الاستخلاص الهيدروليكي والميثانولي لهذه النباتات يجعل من الممكن الحصول على مركبات نشطة بيولوجيا. العائد الأمثل مع المستخلصات المائية من *M. vulgare* والتي تصل إلى 14.39% و 9.09% على التوالي. أما المستخلصات الميثانولية فقد بلغت نسبة إنتاجها 7.81% للنبات *A. herba alba* و 6.93% للنبات *M. vulgare*. يشير التحليل الكيميائي النباتي النوعي للمستخلصات إلى ثراء الفلافونويدات والصابونين في المستخلصات المائية، في حين تحتوي المستخلصات الميثانولية لـ *A. herba alba* على العفص. كشف القياس الكمي لإجمالي مادة البوليفينول عن قيم أعلى من المستخلص الميثانولي لـ *M. vulgare*، أي 6.23 ملجم / EAG ملجم مستخلص جاف. فيما يتعلق بالفلافونويدات، أظهر المستخلص المائي لـ *M. vulgare* محتوى 0.71 ميكروغرام مكافئ / ملجم من المستخلص، يليه *A. herba alba* بـ 0.67. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها للنشاط المضاد للفطريات أن المستخلصات الميثانولية لنبات *M. vulgare* و *A. herba alba* لها نشاط معنوي ضد *Alternaria sp* و *Penicillium sp* و *Candida albicans* في الواقع، تبلغ مناطق التثبيط القسوى وقيم MIC حوالي 19-18-25-30 ملم عند 300 مجم/مل و 50 مجم/مل على التوالي. بالإضافة إلى المستخلص المائي لـ *A. herba alba* عشبة ألبا نشطة فقط ضد *Alternaria sp* مع MIC 200 ملجم / مل. وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها فإن *A. herba alba* له نشاط مبيد للفطريات، بينما *M. vulgare* له نشاط مثبط للفطريات.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للفطريات، مستخلص الميثانولي، مستخلص مائي، *M. vulgare*, *A. herba alba*.

MIC, MFC

Table des matières

Remerciement

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 01

Chapitre I : matériel et méthode

I .1. Objectif d'étude..... 04

I .2. Matériel..... 04

I .2.1. Matériels non biologique..... 04

I .2.2. Matériel biologique..... 04

I .2.2.1. Matériel végétale..... 04

I .2.2.2. Souches fongiques..... 04

I .3. Méthodes..... 06

I .3.1. Méthodes d'extraction..... 06

I .3.1.1. Extraction méthanolique..... 06

I .3.1.2.Extraction aqueux 07

I .3.1.3. Détermination de rendement d'extraction..... 08

I .4. Tests phytochimiques..... 09

I .4.6. Dosage des polyphénols..... 10

I . 4.7. Dosage des flavonoïdes	10
I . 5. Isolement et identification des agents pathogènes	10
I .5.1. Isolement des moisissures	10
I .5.2. Identification des moisissures	12
I .6. Evaluation de l'activité antifongique des extraits <i>in vitro</i>	12
I .6.2. Activité antifongique.....	12
I .6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	13
I .6.4. Méthode de CMI en milieu liquide	13
I .6.5. CMI en milieu solide	13
I .5.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice fongique (CMI F).....	14

Chapitre II : Résultats et Discussions

II .1.1. Analyse des résultats des extraits	16
II .1.2. Tests phytochimiques	17
II .1.2.1. Tests phytochimiques qualitative	17
II .1.2.2. Analyse quantitative des extraits	19
II .1.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux	19
II .1.2.2.2. Dosage des flavonoïdes	21
II .1.3. Caractéristiques des souches isolées	22
II .1.4. Résultats d'Activité antifongique	25
II .1.4.1. Teste de sensibilité des extraits des plantes contre les champignons	25
II .1.5. Résultats de la concentration minimale inhibitrice CMI	27
II .1.6. Résultats de la concentration minimale inhibitrice fongiques CMI F	29

II .2. Discussion	30
Conclusion et Perspectives	35
Liste des références	
Annexe	

Liste des tableaux

Tableau I : Tests phytochimiques des extraits aqueux et méthanoliques 18

Liste des figures

Figure 01 : Localisation géographique des zone de récolte.....	05
Figure 02 : Matériel végétal de <i>Marrubium vulgare</i> et <i>Artemisia herba alba</i>	05
Figure 03 : Matériel végétal broyé.....	06
Figure 04 : Les étapes de préparation d'extraits méthanolique.....	06
Figure 05 : Étapes de la préparation des extraits méthanolique.....	07
Figure 06 : Expérimentation d'extractionles extraitesaqueux.....	08
Figure 07 : Étapes de préparation des extraits aqueux.....	08
Figure 08 : Dosage des polyphénols.....	10
Figure 09 : Isolement des champignons à partir la tomate.....	11
Figure10 : Purification et repiquage des champignons	11
Figure 11 : L'examen microscopique effectué par la technique de scotche	12
Figure 12 : Test de sensibilité.....	13
Figure 13 :Schéma représentatif de la CMI F sur milieu liquide	14
Figure 14 : Les différents extraits préparant d' <i>A. herba alba</i> et <i>M. vulgare</i>	16
Figure 15 : Représente le rendement d'extraction de <i>M. vulgare</i> et <i>A.herba alba</i>	17
Figure 16 : Résultats de test phytochimique des extraits aqueux et méthanolique d' <i>A.herba alba</i> et <i>M. vulgaire</i>	19
Figure 17 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique	20
Figure18 : Teneur des polyphénols totaux dans les extraits.....	20
Figure 19 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	21
Figure20 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits.....	21
Figure 21 :Les caractères morphologiques de souche 01.....	22

Figure 22 : Les caractères morphologiques de souche 02.....	22
Figure 23 : Les caractères morphologiques de souche 03.....	23
Figure 24 : Les caractères morphologiques de souches 04.....	23
Figure25 : LesCaractère morphologique de souche 05.....	24
Figure26 : Les Caractères morphologiques de souche 06.....	24
Figure 27 : Les caractères morphologiques de souche 07.....	25
Figure 28 : Histogramme de test de sensibilité.....	25
Figure 29 : Les résultats obtenus de test de sensibilité contre <i>Penecillium.sp</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Alternaria.sp</i>	26
Figure30 : Résultats de concentration minimale inhibitrice dans milieu liquide	27
Figure31 :Les résultats de (CMI) sur milieu solide.....	28
Figure 32 :Histogrammes de CMI des extraits <i>M. vulgare</i> et <i>A. herba alba</i>	29
Figure 33 : Les résultats obtenus de test de CMF des champignons fongicide (<i>Alternaria.sp</i> , et <i>Penicillium.sp</i>).....	30

Liste des abréviations

Ø: diamètre

A.AQ/A (méth) : *Artemisia herba alba* aqueux

A. herba alba: Artemisia herba alba

Alt : *Alternaria*

A.MH/Art (méth) : *Artemisia herba alba* méthanolique

C.albicans: Candida albicans

Can : *Candida*

B. cinera: Botrytis cinerea

CMI : concentration minimale inhibitrice

CMI F : concentration minimale inhibitrice fongique

D.O : densité optique

E : extraits

EAG : équivalent d'acide gallique

EQ : équivalent de quercétine

G : gramme

M.AQ/ Mar (aq): *Marrubium vulgare* aqueux

Me : la masse d'extraits

Mg : milligramme

M.MH /Mar (méth): *Marrubium vulgare* méthanolique

Mv : la masse de la poudre végétale

M. vulgare: Marrubium vulgare

PDA : Potato Dextrose Agar ou pomme de terre gélosée

PDB : Potato Dextrose Brouth ou bouillon dextrose à la pomme

Pnc : *Penicillium*

R : rendement

Rpm : Rotation par minute

Sp : espèce

T° : température

Tm : témoin

µg : microgramme

µl : microlitre

×40 : grossissement fois 40



Introduction

Introduction générale

Les infections fongiques, comme celle provoquées par *Aspergillus Alternaria*, *Botrytis* et *Candida*, représente un problème de santé publique croissant, avec une résistance accrue aux traitements conventionnels et une incidence en hausse. La résistance émergente aux antibiotiques et la transformation de souches environnementales en agents pathogènes contribuent à ces recrudescences. La recherche actuelle se tourne vers l'utilisation naturel et traditionnel en mettant en avant les plantes médicinales qui ont montré diverses activités biologiques, telle que des effets antifongique, antibactériens et antioxydants, utilisées largement dans des secteurs comme l'alimentation, les parfums, les cosmétiques, la pharmacie et l'agroalimentaire, ces extraits végétaux peuvent inhiber la croissance et la production de toxines de divers agents pathogènes responsables d'infections alimentaires (Aoudadhi et al., 2013). Les métabolites secondaires des plantes sont bien connus depuis longtemps pour leurs bienfaits phytothérapeutiques, mais récemment, leur activité biologique et leurs propriétés antioxydants suscitent également un intérêt croissant (Bouchenak et al., 2018). Pour cette raison, l'intérêt d'utilisation des antifongiques et antimicrobiens d'origine naturelle a considérablement augmenté. Dans diverses plantes médicinales, différentes molécules bioactives, terpénoïdes, ont été identifiées.

Marrubium vulgare L. (*Lamiaceae*), généralement connue sous le nom « Horehound », riche essentiellement en composés phénoliques, est employée couramment dans la médecine traditionnelle pour guérir certaines maladies (Berroughui et al., 2006, Elberry et al., 2011, Pukalskas et al., 2012). *Marrubium vulgare* possède des effets hypoglycémiant et hypolipidémiant (Elberry et al., 2011) (par une stimulation de sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatique), vasorelaxant et antihypertensif (El-Bardai et al., 2004), anticholinestérase contre l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase (Orhan et al., 2010), antioxydant et antimicrobien (Pukalskas et al., 2012), antispasmodique, anti-inflammatoire, analgésique (Pukalskas et al., 2012, Stulzer HK et al., 2006). Il possède les activités tonique, aromatique, stimulante, expectorante, diaphorétique et diurétique (Ahmed et al., 2008). C'est également un ingrédient des pastilles contre la toux, par exemple, Ricola® (Pukalskas et al., 2012). Il a été très employé dans les affections hépatiques (Ahmed et al., 2006). Le principe actif principal de cette plante a été identifié en tant que marrubiine, un diterpène labdane furanique (Stulzer et al., (2006).

D'autres composés sont présents dans la plante, parmi lesquels on peut citer l'acide caffeoylmalique, l'actéoside, l'arénarioside, le forsythoside B et le ballotétroside (Sahpaz et

al., 2002), le vulgarol, le β sitostérol (Ahmed et *al.*, 2008) , le lupéol, l'apigénol et la ladanéine (Nawwar et *al.*, 1989 , Pukalskas et *al.* , 2012) . De même, les extraits de *M .vulgare* riche en polyphénols et flavonoïdes (Ghedadba et *al.*, 2014).

Ce genre comporte quelque 40 espèces, en Algérie, on trouve 6 espèces différents au sein de ce même genre : *Marrubium vulgare* appelée marrube blanc, répandue au nord du pays, à l'est Algérien est appelée El marioua" *Marrubium supinum*, *Marrubium peregrinum*, *Marrubium alysson*, *Marrubium alyssoides* et *Marrubium destri de Noé* très présente au Sahara utiliser surtout dans la région de Ghardaïa et Ouargla contre les piqûres des scorpions (Quezel et Santa,1963, Ghedadba, 2017).

Artemisia herba alba est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, mesurant 30 à 50 cm hauteur, très feuilles et possèdent une souche épaisse. Ses feuilles sont petites, blanches et laineuses, donnant un aspect argente. Les fleurs sont regroupées en grappes avec des capitules très petites et ovoïdes, mesurant de 1.5 à 3 mm de diamètre (Bezza, 2010). Les armoises qui sont d'un genre polymorphe comportent près de 250 espèces dans le monde. Sur les 47 taxons : 20 sont présent au Maghreb et au Sahara (12 au Maroc, 10 en Algérie, 6 en Tunisie 5 en Libye, et 4 en Egypte). Ce sont des d'abord les espèces communes aux rivages nord et sud du bassin méditerranéen : *Artemisia arborescens*, *A.herba-alba*, *A.absinthium*, *A.vulgaris*, *A.campestris* subsp. *glutinosa*, *A.verlotorum*, *A.scoparia* puis les espèces de rivages sud : *A.atlanticavar.typica*, *A.judaica* subsp. *saharensis*, *A.alba* subsp. *chitachensis* . *A.atlanticavar . maroccana*, *A.flahautti*, *A.ifranensis*, *A.mesatlantica*. *A.negrei*. *A.reptans*. *A.alba* subsp. *Kabylica*, *A.varia-billis*, *A.monosperma* (Elazzouzi et *al.*, 2018).

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de *l'Artemisia herba alba* dont les plus importantes sont les sesquiterpènes lactones tels que les eudesmanolides et les germacranolides (Abou El-Hamd et *al.*, 2013). Les flavonoïdes détectés dans l'armoise présentent une large gamme de structures, allant des types communs comme les flavones glycosides et les flavonols jusqu'aux des flavonoïdes méthyles, qui sont assez inhabituels .les flavonoïdes incluent des o-glycosides comme les quercitine-3-glucoside, ainsi que c-glycoside qui sont rares dans le genre *Artemisia*, et dans l'ensemble de la famille des astéracées (Salah et Jager, 2005). En plus des sesquiterpènes lactones et des flavonoïdes l'analyse phytochimique sa montre que la composition des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba* est riche en mono terpènes, tri terpènes penta cycliques, santonines, coumarines et tanins (Abou El Hamd H et *al.*, 2010).

La plante *Artemisia herba alba* utilisée dans La médecine traditionnelle arabo-musulmane, qui est réputée pour ces propriétés bénéfiques pour les désordres gastriques et comme vermifuge pour le bétail. C'est intéressant de voir comment différentes cultures ont développées leurs propres traitements pour les problèmes de santé similaires. L'armoise blanche semble être une plante aux propriétés pharmacologiques diverses, selon les études ethnopharmacologiques citées. Ses bienfaits potentiels incluent son efficacité contre le diabète en raison de ses propriétés hypoglycémiantes, ainsi que contre l'hypertension. De plus, elle pourrait avoir des effets emménagogues, utiles dans certaines situations. Les extraits aqueux de cette plante montrent également un large éventail d'activités bénéfiques, notamment contre la leishmaniose, les dommages génétiques, les infections bactériennes et les spasmes musculaires (Bezza et al., 2010). *A. herba alba* présente une efficacité d'activité antifongique de certains champignons phytopathogènes (*Alternaria.sp* et *Fusarium sp*), ces substances naturelles doivent être développées comme des alternatives à l'utilisation de produits chimiques en agriculture (Salhi et al., 2017).

L'objectif principal de notre étude est d'élucider *in vitro* l'activité antifongique du *Marrubium vulgare* et *Artemisia herba alba* (des feuilles) contre quelques espèces fongiques. Le deuxième but de cette étude est de déterminer leurs compositions phytochimiques.



Chapitre I :
Matériels et Méthodes

Chapitre I . Matériels et méthodes

I .1.Objectif d'étude

L'objectif de notre travail est de tester *in vitro* l'activité antifongique des extraits (aqueux et méthanolique) de deux plantes spontanées : *Marrubium vulgare* et *Artémisia herba alba* à l'égard de certains champignons. Il s'agit d'une étude s'étendant sur une durée de trois mois, réalisée au sein des laboratoires de Microbiologie et de Biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers (Mohamed El Bachir El Ibrahim, Bordj Bou Arreridj).

I.2. Matériels

I .2.1. Matériels non-biologiques

L'ensemble de matériels non biologiques utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans l'annexe 01.

I .2.2. Matériels biologiques

I .2.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé de feuilles de *Marrubium vulgare* et d'*Artemisia herba alba*. Ces plantes ont été récoltées dans la région de Bordj Bou Arreridj, située au nord-est de l'Algérie, entre les latitudes 35° et 37° nord et les longitudes 4° et 5° est. *M. vulgare* a été récolté dans la région de Hasnaoua, au nord de Bordj Bou Arreridj (figure01). Cette plante est couramment utilisée dans la médecine traditionnelle de la région. De plus, le climat de cette région, caractérisé par des étés chauds et des hivers modérés, favorise également la croissance de *M. vulgare*. Quant à *A. Herba alba*, elle a été récoltée dans la région d'El Hamadia, située au sud de Bordj Bou Arreridj. Cette région bénéficie d'un sol fertile avec du bon drainage, ce qui favorise la croissance de cette plante. Le climat méditerranéen de la région, caractérisé par des étés chauds et secs ainsi que des hivers doux et humides, crée des conditions idéales pour obtenir une bonne qualité et un bon rendement. Les deux plantes ont été récoltées en février 2024. Une fois le matériels végétal a été lavé et séché à l'air libre dans un endroit sec pendant 15 jours (figure 02).

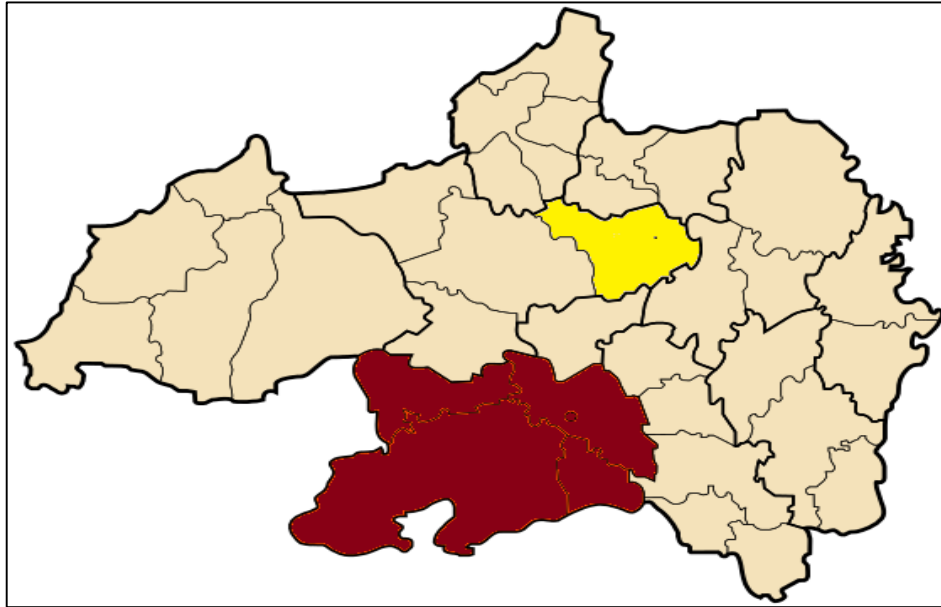


Figure 01 : Localisation géographique des zone de récolte de : ■ *Marrubium vulgare* (Hasnoua), ■ *Artemisia herba alba* (El hammadia).

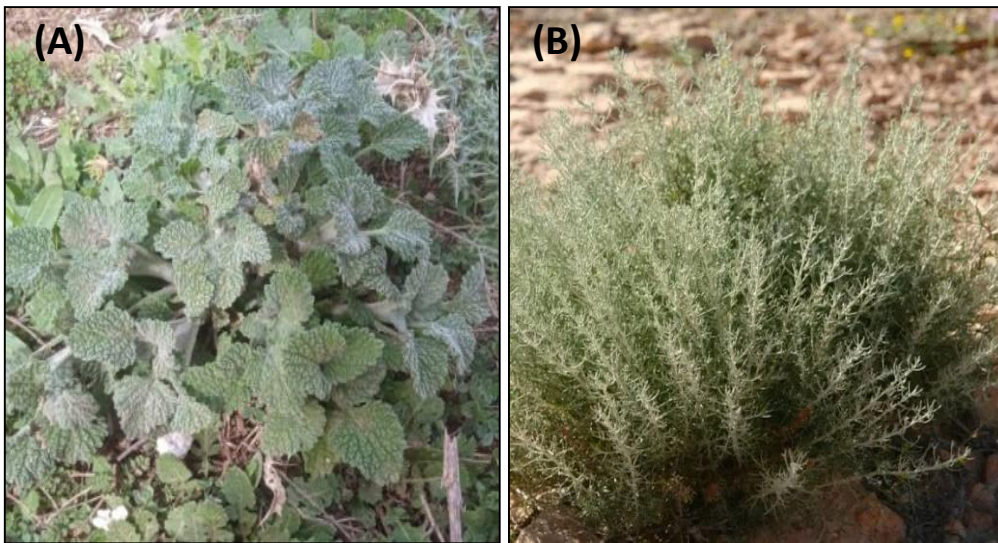


Figure 02 : Matériels végétal : *Marrubium vulgare* (A), *Artémisia herba alba* (B).

Après le séchage, les deux plantes sont broyées en poudre (figure 03). Cela permet d'augmenter la surface de contact avec le solvant, ce qui favorise de meilleurs rendements d'extraction sans nécessiter un temps d'extraction prolongé.

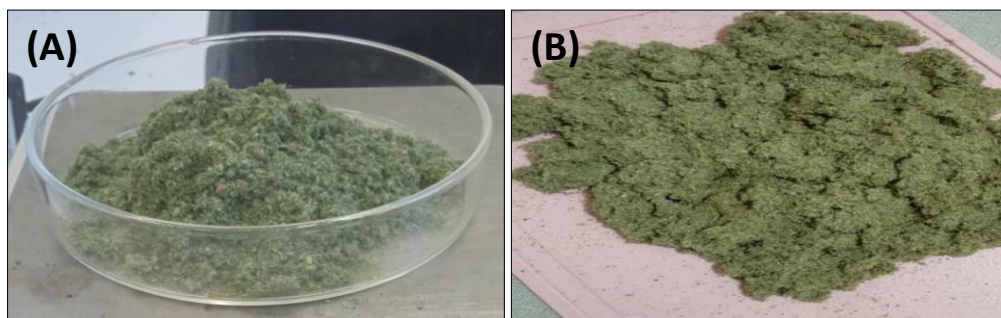


Figure 03 : Matériel végétal broyé de *Marrubium vulgare* (A) et *Artémisia herba alba*(B).

I .2.2.2.Souches fongiques

La souche fongique (*Candida albicans*) est issue de prélèvement d'un patient à partir le laboratoire d'analyses médicale Djoudi à Bordj Bou Arreridj. Les souches (*Penicillium. sp*, *Aspergillus. sp*, *Alternaria. sp*, *Cladosporium. sp* et *Botrytis. sp*) sont isolées des fruits infectés présentant les pourritures au niveau de laboratoire de Microbiologie de Faculté.

I .3. Méthodes

I .3.1. Préparation des extraits

I .3.1.1. Préparation des différents extraits méthanolique

À partir de la poudre obtenue après broyage des deux plantes (*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*), nous avons préparé les différents extraits méthanolique. Un gramme de broyat a été extrait séparément en l'agitant avec 10 ml de méthanol pur pendant 30 min. Chaque extrait a ensuite été conservé pendant 24 h à 4° C, filtré à travers un papier filtre et stocké dans des boites en verre stériles. Ensuite, les extraits ont été sécher à une température de 40°C et l'extrait obtenu a été récupéré après grattage (figure 04). (Aouadhi et *al.*,2013).

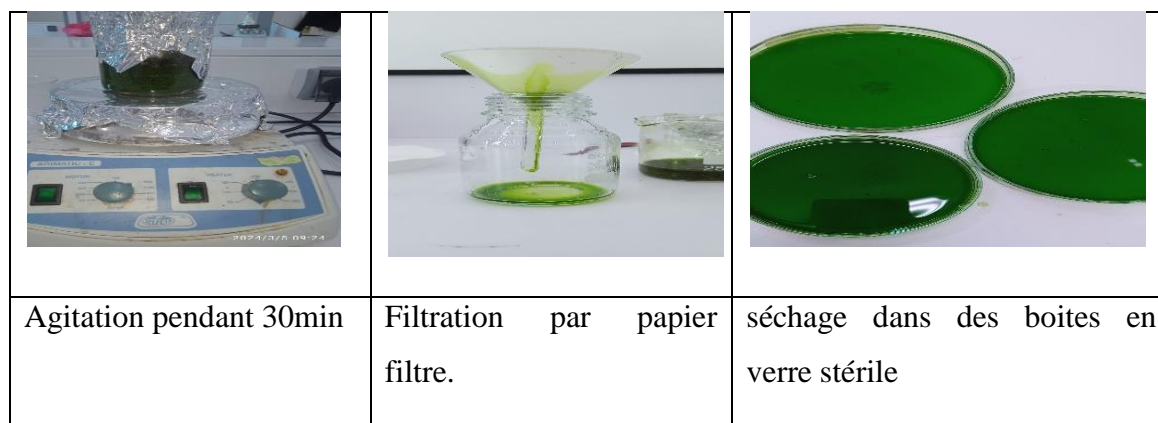


Figure 04 : Étapes de préparation d'extraits méthanoliques.

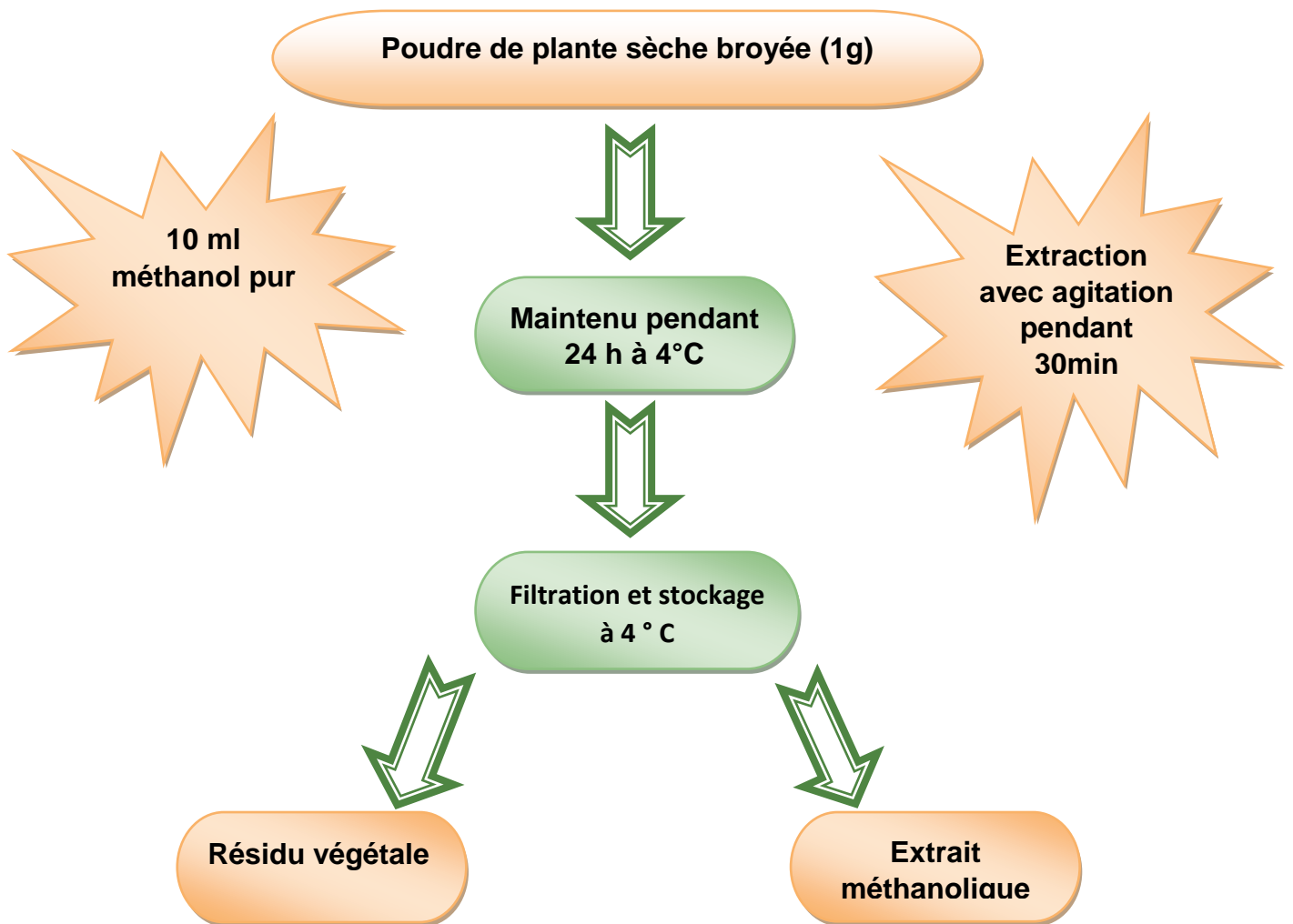


Figure 05 : Étapes de la préparation des extraits méthanoliques.

I .3.1.2. Préparation des différents extraits aqueux

Après avoir séché et broyé la partie aérienne des deux plantes (*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*), prendre 10 g de poudre végétale et l'ajouter à 100 ml d'eau distillée. Laisser pour l'extraction avec une agitation (200rpm/min) pendant 2 heures (Razak et *al.*, 2009). Filtrer le mélange à travers un filtre en papier et récupérer le filtrat. Transférer le liquide obtenu dans des boîtes en verre stériles, puis sécher à une température de 40°C. Enfin, récupérer l'extrait obtenu en le grattant (figure 06).

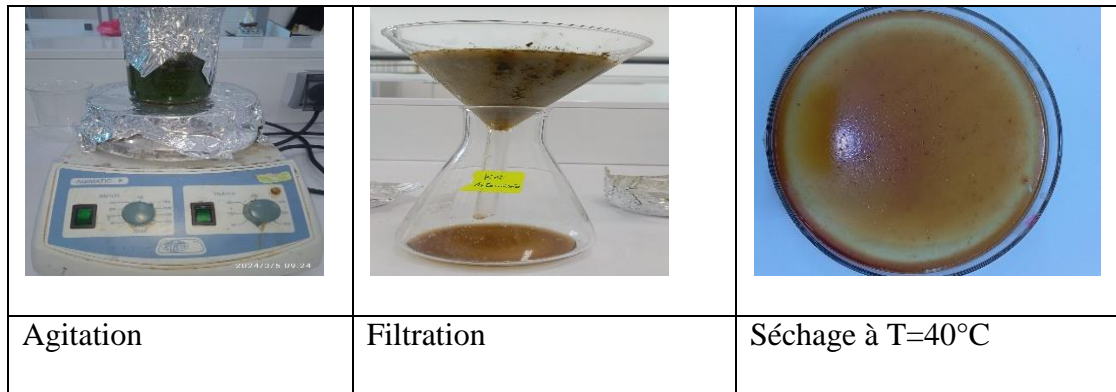


Figure 06 : expérimentation de macération d'extrait aqueux

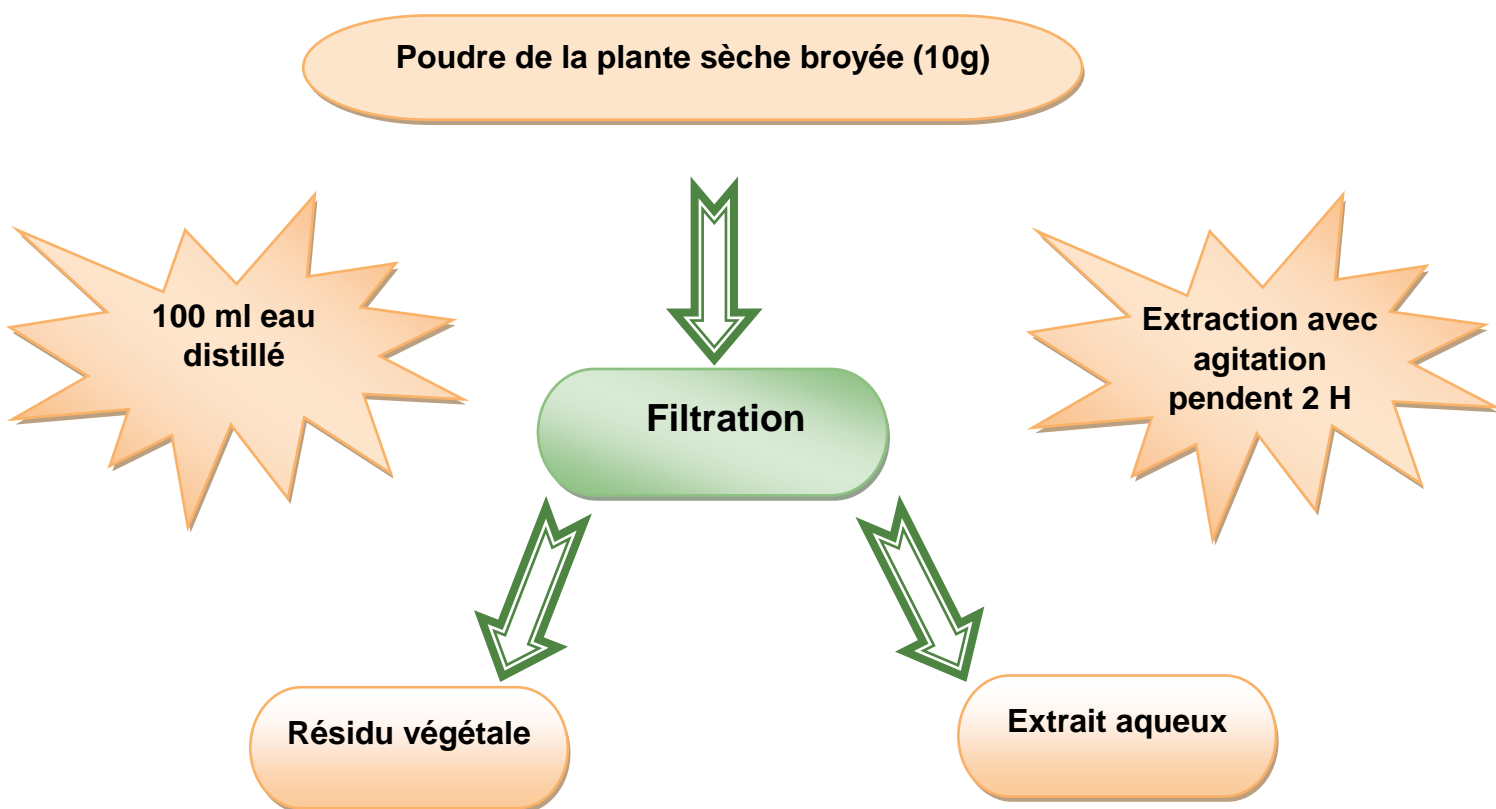


Figure 07 : Étapes de préparation des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*.

I .3.4. Détermination du rendement des extraits

Selon (Abe et *al.*,2010) Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant et la masse de la poudre végétale utilisée il est calculé par l'équation suivante :

$$R(\%) = [Me/Mv] \times 100$$

R% : rendement des extraits exprimés en pourcentage (%).

Me : La masse de l'extrait sec.

Mv : La masse de la poudre végétale.

I .4. Tests phytochimiques

Ce sont des techniques permettant d'identifier les divers groupes chimiques présents dans un organe végétal grâce à des réactions physicochimiques, on peut mentionner les alcaloïdes, les polyphénols (tels que les flavonoïdes, les anthocyanes et les tannins), les saponosides, les stéroïdes et les terpènes (Sanogo et al. ,2016).

I .4.1 Détection des polyphénols

I .4.1.1. Détection des tanins

Ajouter 0,5ml d'extrait à 1ml d'eau distillée, puis ajouter environ 1à 2 gouttes de solution de FeCL₃ (1%). Si une couleur bleu foncé apparait, cela indique la présence des tanins galliques, tandis qu'une couleur bleu indique la présence de tanins

I .4.1.2. Détection des anthocyanes

Ajouter 1 ml de l'extrait à 3 ml de H₂SO₄ (10%) et 1ml de NH₄OH (10%). Si une couleur bleue apparait, cela indique la présence d'anthocyanes.

I .4.1.3. Détection des flavonoïdes

Ajouter 3 ml de l'extrait à 4 ml de chlorure d'aluminium (1% méthanol). Une coloration jaune foncée indique la présence de flavonoïdes.

I .4.1.4. Détection des saponosides

2 ml d'eau distillée + 2 ml d'extrait. Après l'agitation, l'apparition d'une mousse indique la présence de saponosides.

I .4.1.5. Détection des terpènes (stéroïdes)

Mélanger 5 ml d'extrait avec 5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. Le changement de la couleur, passant du violet au bleu puis au vert, indique la présence des stéroïdes (Sanogo et al.,2016).

I .4.6. Dosage des polyphénols

Selon la méthode de Folin-Ciocalteu, 200 μ l de chaque extrait et de standard ont été mélangés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dix fois et à 2 ml d'eau puis incubés à température ambiante pendant 4 minutes. Après l'ajout de 0,8 ml de bicarbonate de sodium à 7,5 % dans le mélange, les polyphénols ont été déterminés après 2 heures d'incubation à température ambiante. L'absorbance de la couleur bleue a été mesurée à 765 nm (figure8). La quantification a été effectuée en utilisant une courbe standard d'acide gallique.

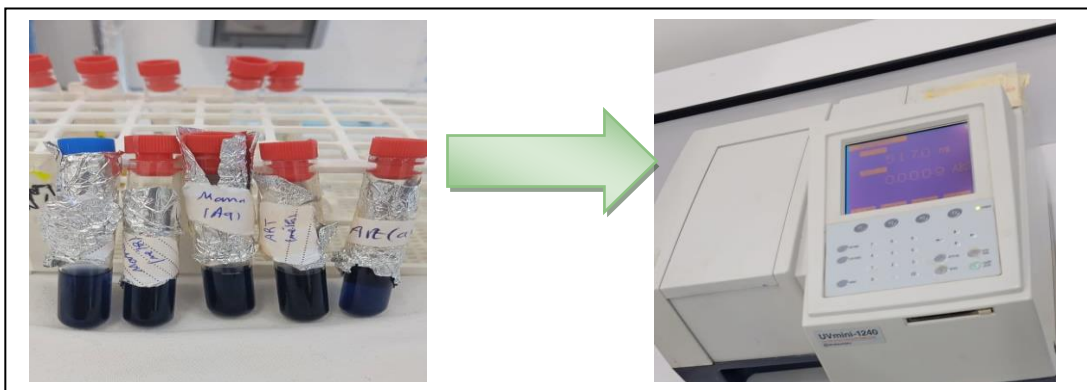


Figure 08 : Dosage des polyphénols

I .4.7. Dosage des flavonoïdes

1 ml de chaque extrait et de standard a été ajouté à 1 ml de solution d' $AlCl_3$ (2% dissous dans le méthanol). Après 5 minutes, l'absorbance a été mesurée au $\lambda = 430nm$. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercitrine (5-20 μ g/ml) (Ghedadba B et al.,2014).

I .5. Isolement et identification des agents pathogènes

I .5.1. Isolement des moisissures

Des échantillons de moisissures ont été identifiés à partir de morceaux de tomates infectées (figure09). Les échantillons de tomates ont été découpés en petits morceaux de moins de

10 mm de diamètre, comprenant à la fois des zones saines et blessées, à l'aide d'un rasoir stérilisé. Ces fragments de tissus obtenus ont ensuite été déposés de manière aseptique dans des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture à base de pomme de terre et de glucose (PDA) (Annexe2) avec quelques gouttes d'antibiotique gentamicine pour empêcher la croissance des bactéries, à raison de quatre à cinq morceaux par boîte. Le PDA est utilisé pour ensemercer et purifier les souches fongiques. Les boîtes sont ensuite fermées avec du para-film et incubées à 28 °C pendant 72 heures (Bessadat et *al.*, 2014).

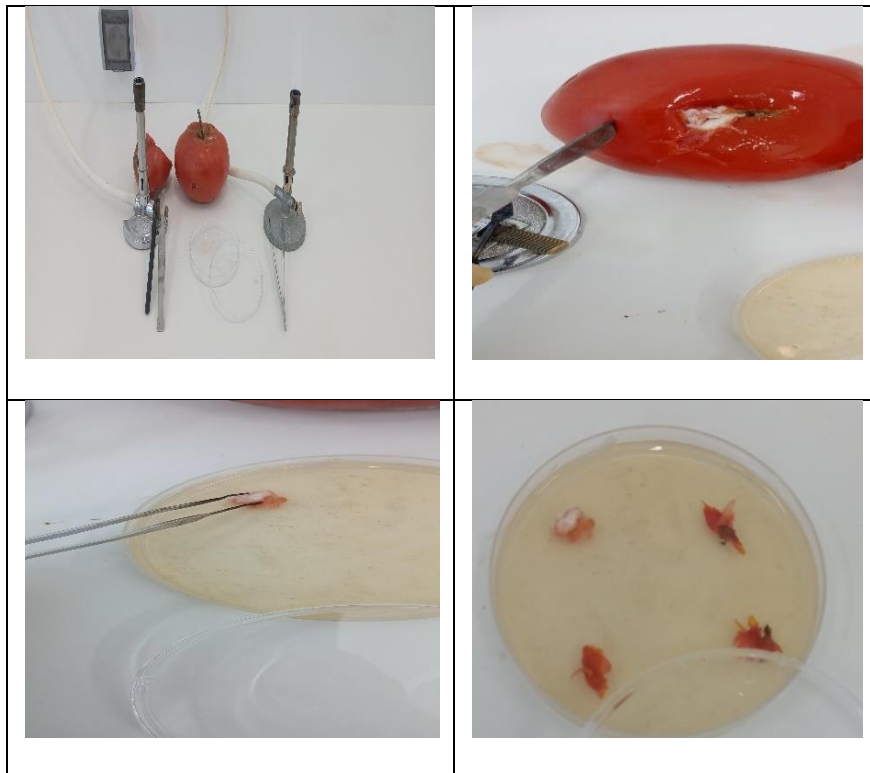


Figure 09 : isolement des champignons à partir la tomate

La purification des isolats obtenus est réalisée afin d'obtenir des souches pures. Chaque isolat développé est d'abord purifié dans des boites de pétri contenant le milieu PDA sans antibiotiques et ensuite conservé à 4°C (figure10).

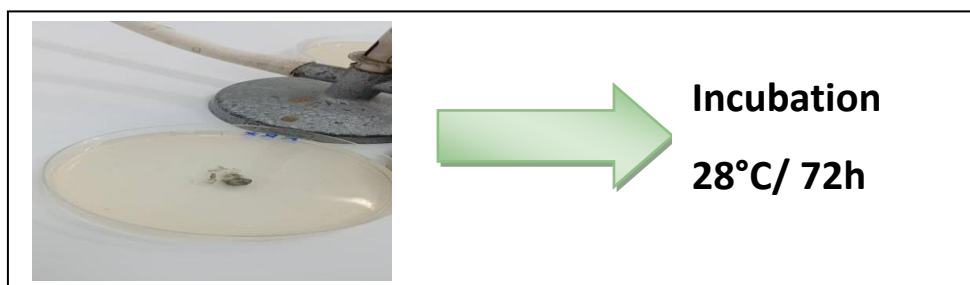


Figure10 : purification et repiquage des champignons sur PDA

I .5.2. Identification des moisissures

Les isolats d'intérêt ont été caractérisés et identifiés au niveau du genre à partir des caractères macroscopiques culturaux (forme, taille, couleur, aspect, contour), complétée par un examen microscopiques effectué entre lame et lamelle/scotch des cultures ayant servi à l'étude des caractéristiques culturales (aspect du mycélium, les spores, des conidiospores) (figure 11). (Compaore et *al.*,2016).

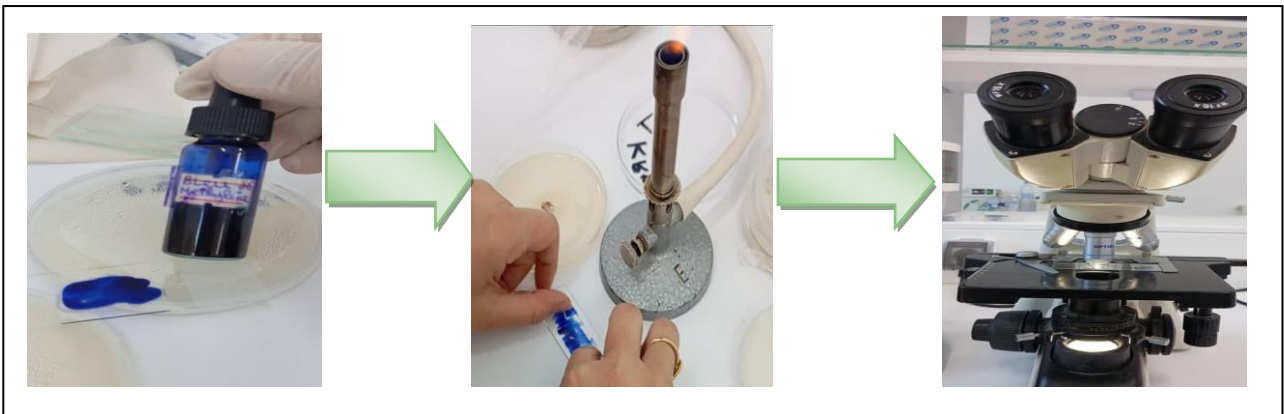


Figure 11 : L'examen microscopique effectué par la technique de scotch

I .6. Évaluation de l'activité antifongique des extraits *in vitro*

I .6.1. Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure sur milieu d'isolement on prépare une suspension sporale dans l'eau physiologique stérile. La charge sporale doit être équivalente à une densité optique de 0,5 à 1, ce qui correspond approximativement à une concentration de 10^5 spore/ml (selon la norme Mac Farland), mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 525$ nm.

I .6.2. Activité antifongique

En utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé (méthode des puits), des boites de Pétri contenant du milieu Sabouraud ont étéensemencées par une suspension microbienne (fongique). Après avoir laissée sécher la surface de la boite, des puits ont été formés à l'aide d'une pipette Pasteur et chaque puits a été rempli avec $10\mu\text{l}$ de chaque extrait (aqueux et méthanolique), chaque extraits est dilué dans les solvants utiliser pour l'extraction en ce qui concerne l'eau distillée stérile pour l'extraits aqueux et le méthanol pour l'extrait méthanolique. Les biotes de Pétri ont ensuite été incubées à une température de 28°C pendant 48 heures, et le

pouvoir antifongique des extraits a été évalué en mesurant le diamètre d'inhibition (figure 12) (Benabdelkader et Dellaoui, 2023).

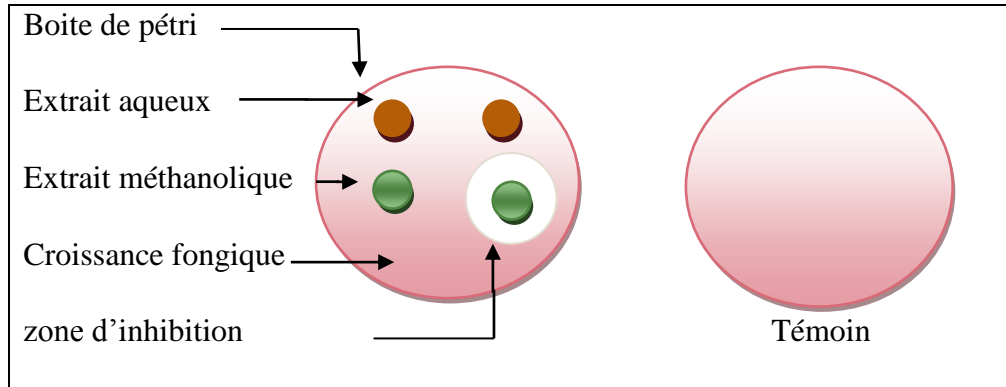


Figure 12 : test de sensibilité (méthode des puits).

I .6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La CMI ou la concentration minimale inhibitrice, désigne la concentration la plus faible d'une substance où aucune croissance visible des micro-organismes n'est détectable à l'œil nu après une période d'incubation de 18 à 24 heures. La CMI est déterminée en observant le trouble provoqué par la croissance des micro-organismes dans chaque tube, et correspond à la concentration minimale où aucun trouble n'est perceptible visuellement (Toty et *al.*,2013).

I .6.3.1. Méthode de CMI en milieu liquide

La préparation d'une série de concentrations de quatre extraits est nécessaire (quantité d'extrait / volume de solvant approprié). Les concentrations requises sont les suivantes : 50mg/ml, 100mg/ml, 200mg/ml, 250mg/ml, 300mg /ml. (Benmeddour et *al.*,2015). La méthode consiste à transfère 100µl de chaque dilution préparée dans cinq tubes à essai contenant le milieu de culture PDB (5ml), ainsi que 100µl de chaque souche fongique, un tube témoin contenant 100µl de suspension fongique et 5ml de milieu PDB. La CMI est déterminée après une incubation de 48h à 28°C (figure 13).

I .6.3.2. CMI en milieu solide

La méthode des puits est la plus utilisée et la plus facile pour évaluer l'efficacité antifongique des extraits. On utilise le milieu PDA avec une addition d'antibiotique, placé dans des boîtes Pétri. Ensuite, on applique 1ml de suspension sporale à la surface de la gélose . Une fois le séchage terminé, on réalise 5 puits de 5mm dans chaque boîte afin d'y introduire une quantité

spécifique d'extrait . chaque puits contient une quantité de 10µl d'extrait de concentration différente (50mg/ml, 100mg/ml, 200mg/ml, 250mg/ml, 300mg/ml). Une boîte témoin est également préparée, contenant seulement la souche à tester (Sanogo et al.,2016).

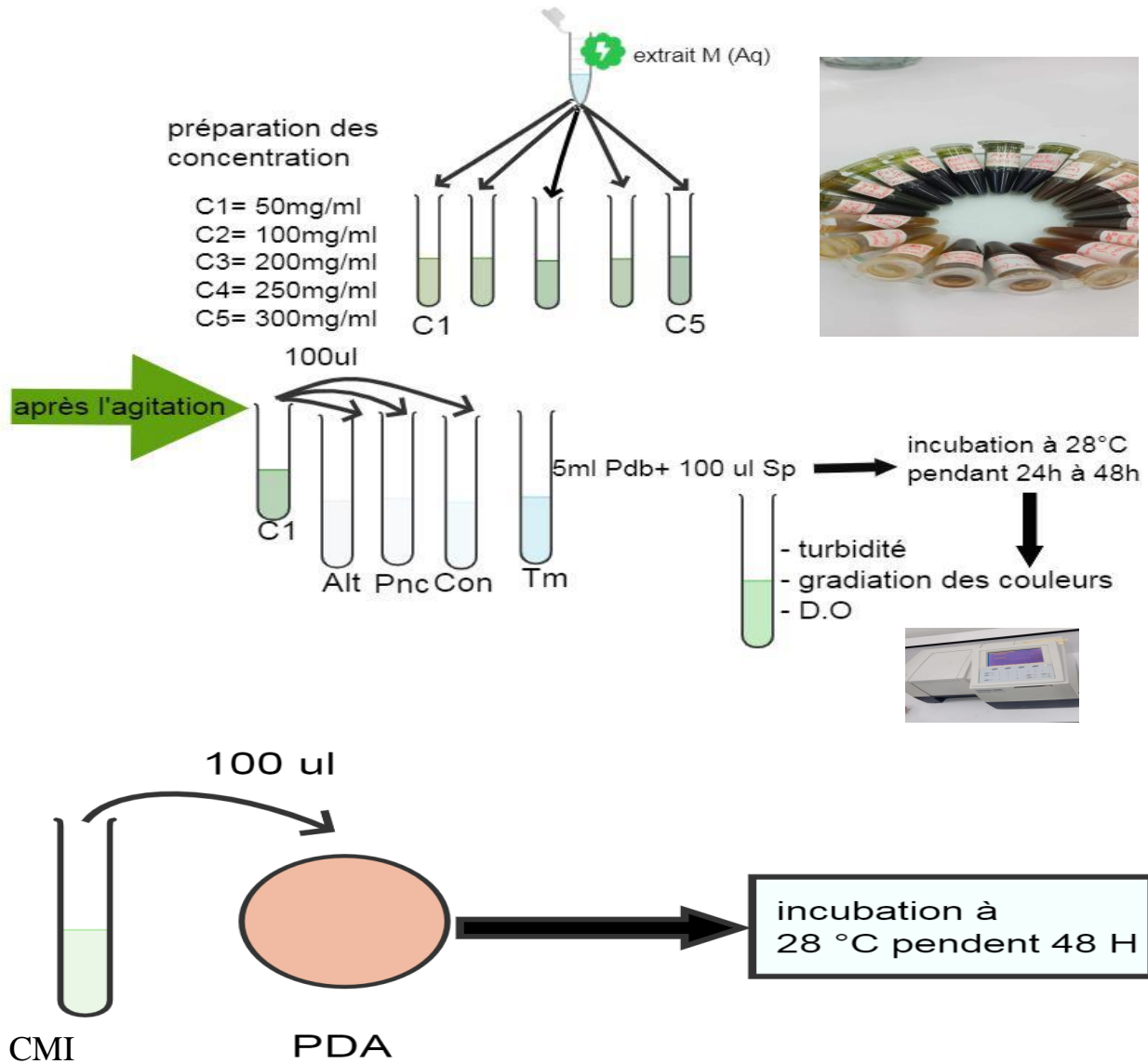


Figure 13 :Schéma représentatif de la CMI F (concentration minimale inhibitrice fongique) sur milieu liquide. (**Alt** :*Alternaria*, **Pnc** :*Penicillium*, **Con** :*Condida*, **Tm** : Témion, **Sp** : Suspension sporale, **D.O** : Donsité optique, **extrait M(aq)** : l'extrait aqueux de Marrubium vulgare) .

I .6.4. Concentration minimale fongicide

La CMF correspond à la plus petite concentration à partir de laquelle aucune croissance mycélienne n'est observée dans le tube, ce qui représente une inhibition de 99,99% par rapport au tube témoin de contrôle de croissance ou inversement, il s'agit du tube qui laisse

une survie de 0.01 % par rapport au tube témoin de contrôle de croissance. Elle est déterminée par un test de stérilité du tube correspondant à la CMI en ensemençant un échantillon prélevé à la concentration de la suspension de ce tube sur une boîte de Petri contenant le milieu PDA (Yapi et *al.*,2018).



Chapitre II :
Résultats et discussions

Chapitre II : résultats et discussions

II.1. Résultats

II.1.1. Analyse des résultats des extraits de *Marrubium vulgare* et *Artemisia herba alba*

Chaque extrait a été caractérisé par son rendement, son aspect et sa couleur par rapport à la poudre séché. Ces éléments sont présentés dans la (figure 14).

En ce qui concerne l'aspect, on observe que les extraits aqueux de *M. vulgare* ont une apparence huileuse tandis que les extraits méthanolique des plantes ont une texture visqueuse. L'extrait aqueux d'*A.herba alba* se présente sous forme de poudre. En ce qui concerne la couleur, on remarque que les extraits aqueux et méthanolique de *M. vulgare* sont respectivement de couleur vert olive et brune, tandis que les extraits aqueux et méthanolique d'*A. herba alba* ont une couleur miel et vert foncé, respectivement.

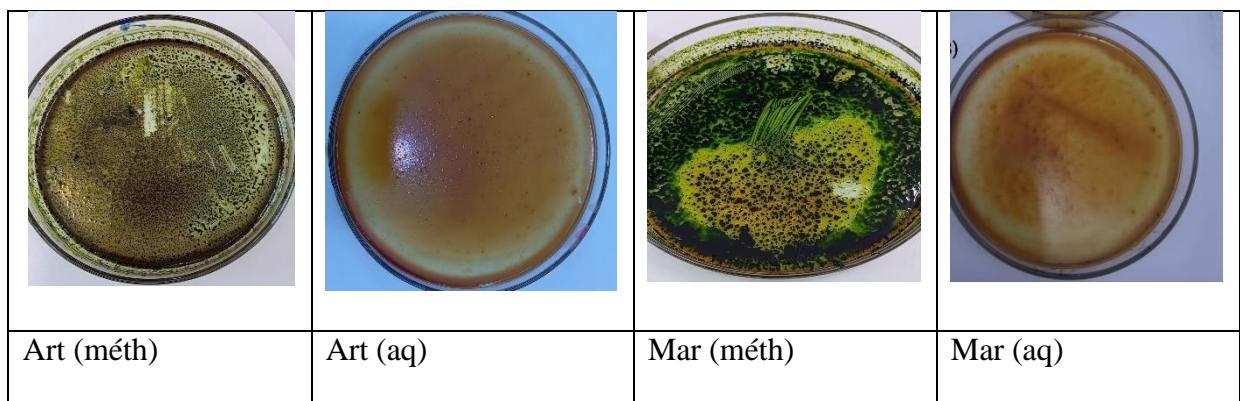


Figure 14 : les différents extraits préparés d'*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*.

Art (méth) : *Artemisia herba alba* méthanolique, **Art (aq)** : *Artemisia herba alba* aqueux, **Mar (méth)** : *Marrubium vulgare* méthanolique, **Mar (aq)** : *Marrubium vulgare* aqueux.

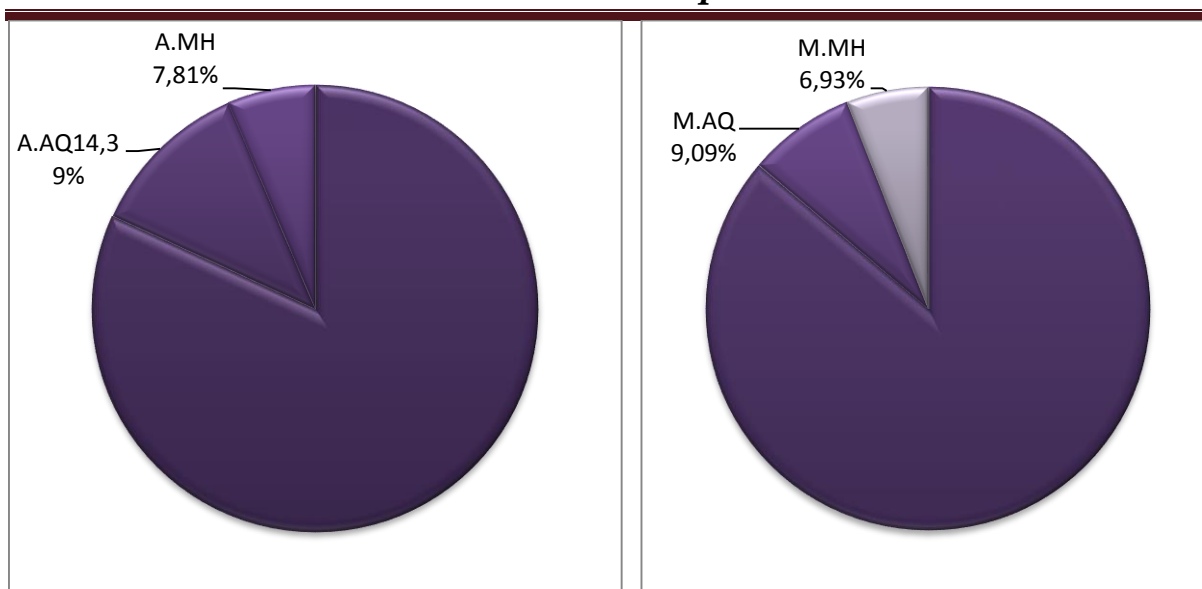


Figure 15 : Représente le rendement d'extraction de *M. vulgare* et *A. herba alba*.

Les résultats présentés dans (la figure 15) montrent que l'extrait aqueux donne les rendements les plus élevés (14.39%) et (9.09%) pour la plante *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare* respectivement. Cependant, l'extraction à méthanol a conduit à un rendement faible de (7.81%) et (6.93%) pour *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*, respectivement. Nous pouvons dire que les solvants polaires ont la capacité de se diffuser à l'intérieur de la poudre végétale, d'atteindre la matrice végétale et donc de récupérer un maximum des métabolites. En revanche, les solvants apolaires, ne sont pas miscibles avec l'eau, ne sont pas capables d'extraire autant des molécules bioactives en raison de la présence d'eau dans les tissus végétaux.

II .1.2. Testes phytochimiques

II .1.2. 1. Testes phytochimiques qualitative

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorées ou des précipitations par des réactifs chimiques spécifiques réalisées sur les extraits aqueux et méthanoliques d'*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*. Le résultat de ce criblage phytochimique est résumé dans le tableau 01. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaire. Nous avons effectivement testé cinq groupes de composés bioactifs, à savoir : tanins, anthocyanes, flavonoïdes, saponines et stéroïdes.

Nous remarquons que les extraits aqueux d'*A. herba alba* et *M. vulgare* sont riches en flavonoïdes et en saponines, et contiennent une faible quantité de stéroïdes. En revanche, l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* est riche en tanins, et contient une quantité de stéroïde

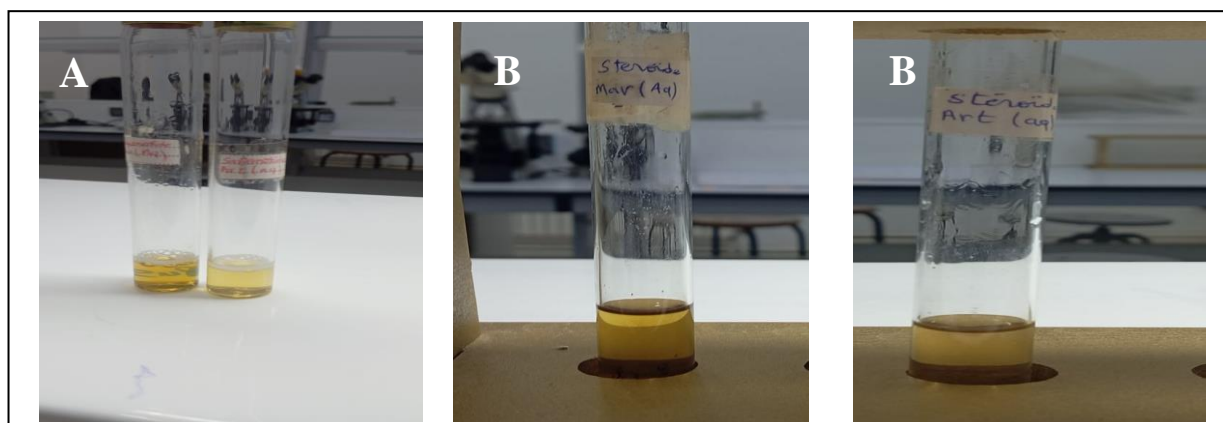
Chapitre II: Résultats et discussions

tandis que l'extrait méthanolique de *M. vulgare* ne contient que des stéroïdes, sans aucune trace d'anthocyanes.

Tableau I : Teste phytochimiques des extraits aqueux et méthanoliques d'*A. herba alba* et *M. vulgare*.

G. chimiques	Colorations	A (aq)	A (méth)	M (aq)	M (méth)
Flavonoïdes	Jaune foncée	++	-	+++	-
Tanins	Bleu noir	-	+++	-	-
Saponines	L'apparition d'un mousse	+++	-	+++	-
Stéroïdes	changement de la couleur violette qui vire au bleu puis ou vert	+	+	+	+
Anthocyanes	Bleu	-	-	-	-

+++ : Fortement positif ++ : Moyennement positif + : faiblement positif - : négatif



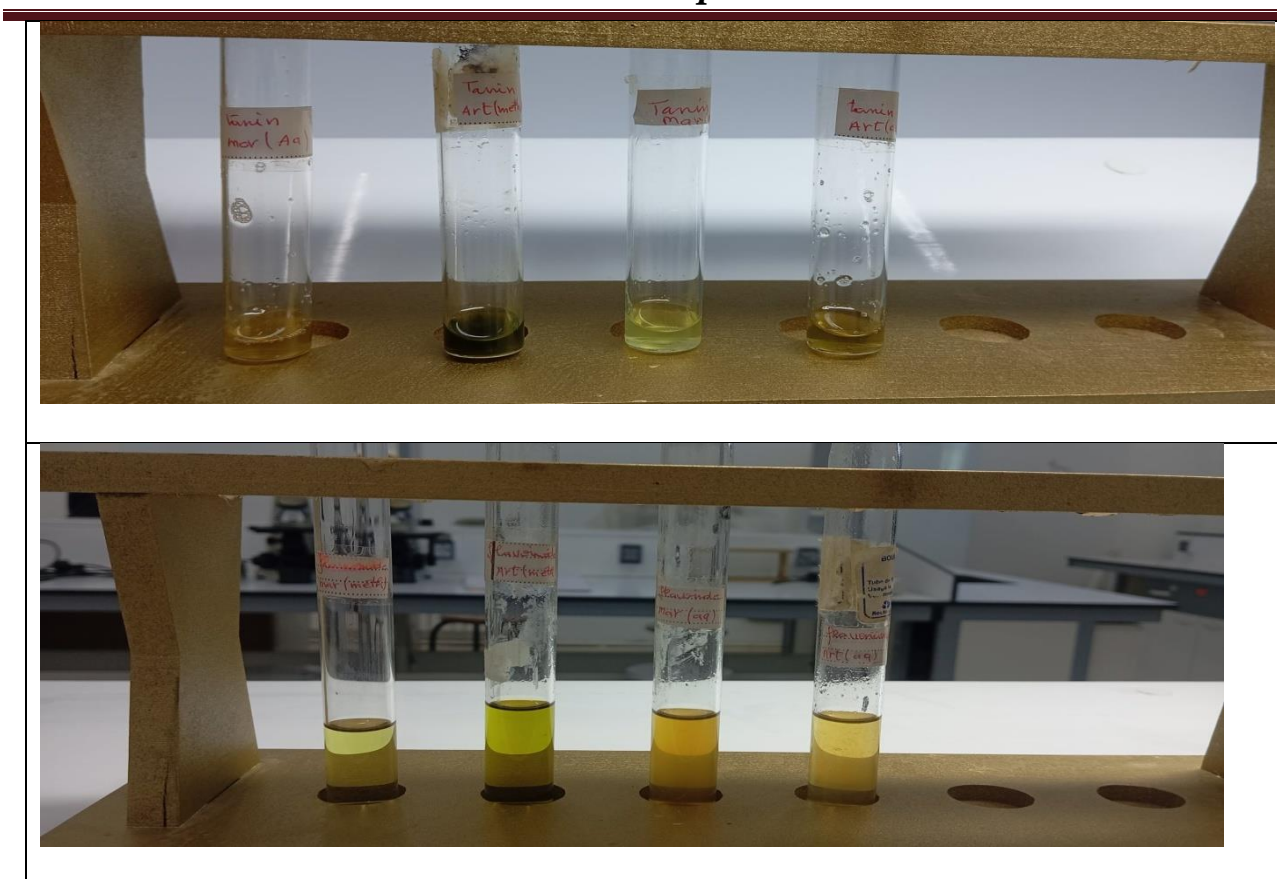


Figure 16 : Résultats de test phytochimique des extraits aqueux et méthanolique *d'Artémisia herba alba* et *Marrubium vulgare*.

A : Saponines, **B :** Stéroïdes, **C :** Tanins, **D :** Flavonoïde

II .1.2.2. Analyse quantitative des extraits de *M. vulgare* et *A. herba alba*

Afin d'obtenir des informations précises sur la concentration de certains principes actifs présents dans les extraits, un dosage quantitatif a été réalisé. Les molécules bioactives mesurées incluent les flavonoïdes et les polyphénols, car ils sont largement répandus dans le règne végétal et responsable de la plupart des activités biologiques étudiées.

II .1.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols a été réalisé selon la méthode de Folin-Ciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique dont la concentration a été établie en (mg/l) (Ghedadba B et *al.*,2014). La teneur en polyphénols totaux des différents extraits préparés à partir de *M. vulgare* et *A. herba alba* est déduite à partir de la droite d'étalonnage établie par l'acide gallique (figure17), Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (EAG) par mg d'extrait.

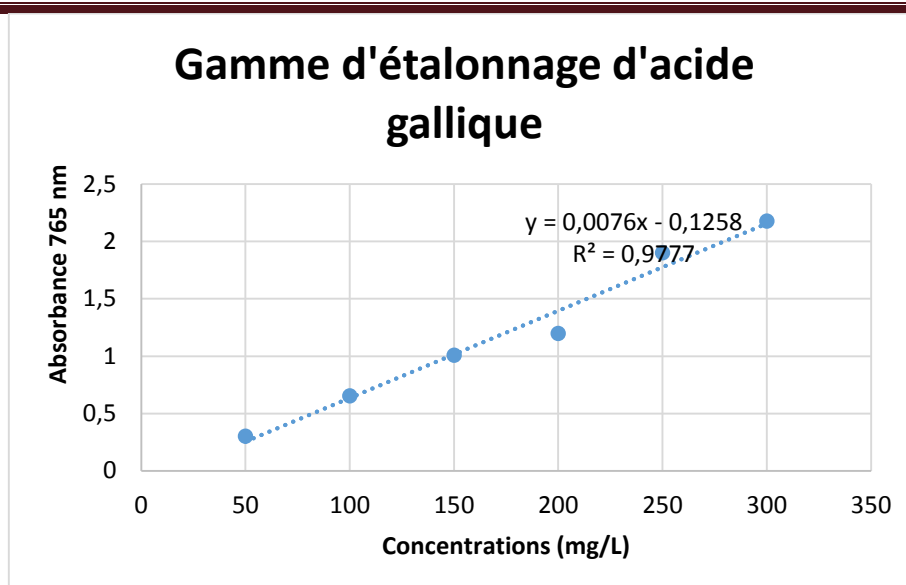


Figure 17 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans les extraits des plantes *M. vulgare* et *A. herba alba* sont présentés dans l'histogramme (figure18) On remarque que l'extrait méthanolique de *M.vulgare* contient une teneur élevée de 6.23 mg EAG/mg d'extrait sec, suivi par l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* avec 5.67 mg EAG/mg d'extrait. L'extrait aqueux de *M.vulgare* et l'extrait aqueux d'*A. herba alba* présentent une teneur moyennement faible de 5.65 mg EAG/mg d'extrait et 5.6 mg EAG/mg d'extrait, respectivement.

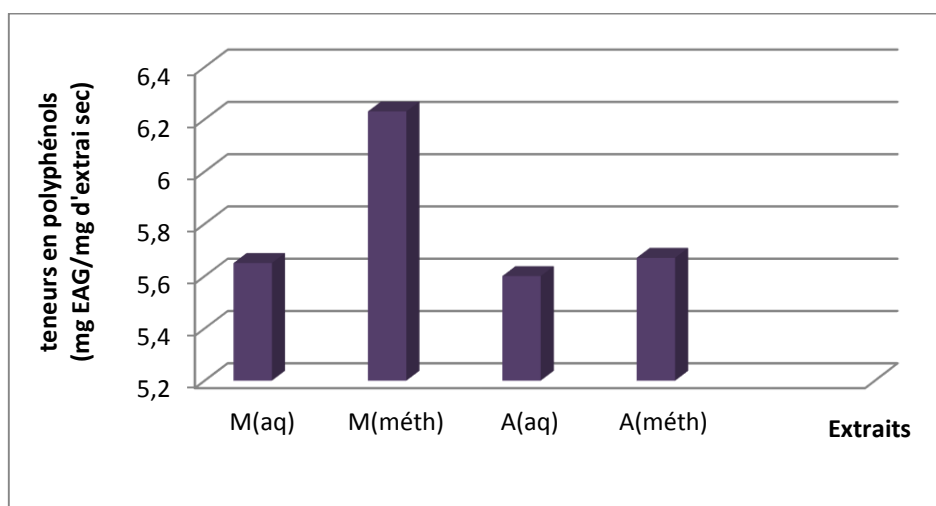


Figure18 : Teneur des polyphénols totaux dans les extraits de *M. vulgare* et *A. herba alba*.

Mar (aq) : *M. vulgare* aqueux, **Mar (méth)** : *M. vulgare* méthanolique, **Art (aq)** : *A. herba alba* aqueux, **Art (méth)** : *A. herba alba* méthanolique.

II. 1. 2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïde, déterminée à partir de la gamme étalonnage établie par quercétine à 430 nm (figure19), est exprimée en µg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extraits (µg EQ/mg d'extrait).

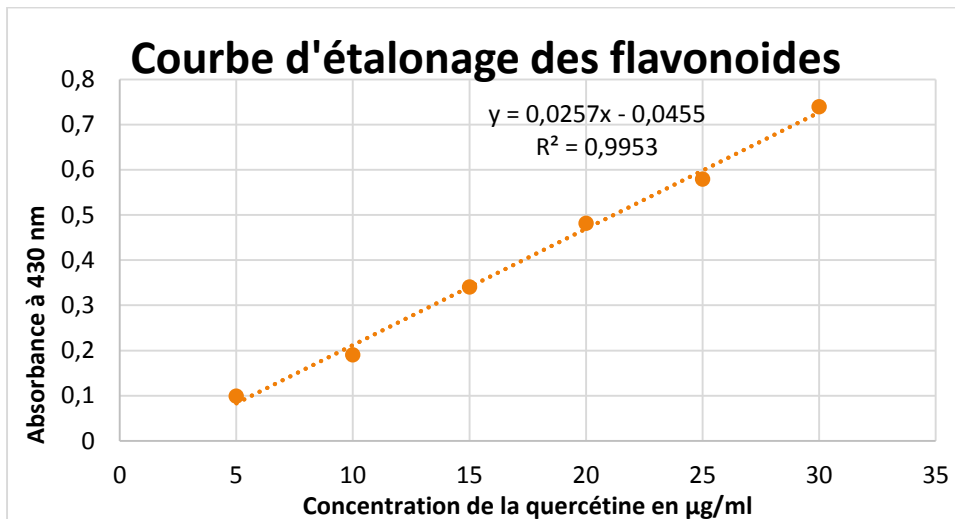


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Le taux des flavonoïdes dans les feuilles de *M. vulgare* montre que l'E Mar(aq) très riche qui contient 0.71µg EQ/mg d'extrait, suivi par l'E Mar(méth) avec 0.471 µg EQ/mg d'extrait, par contre le taux des flavonoïdes dans les feuilles de *A. herba alba* révélé que l'E Art(méth) présent une quantité de 0.67 µg EQ/mg d'extrait suivi par l'E Art(aq) contient un teneur faible de 0.478 µg EQ/mg d'extrait (figure20).

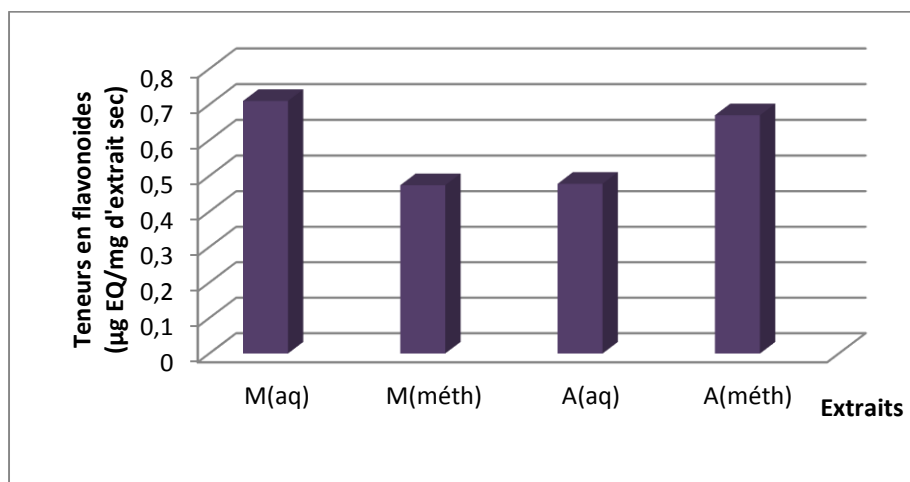


Figure 20 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits de *M. vulgare* et *A. herba alba*.

II.1.3. Caractéristiques de souches isolées

L'isolement a permis d'obtenir 4 souches fongiques pures, les caractéristiques macroscopiques et microscopiques ont été décrites comme suit :

Souche 01 : les colonies ont un aspect cotonneux, bombé et a une croissance moyenne sur le milieu PDA, d'une couleur au recto rose au centre et blanche à la périphérique, mycélium cloisonné, macroconidies incurvés et libre, les microconodies sont ovales absence des chlamydospores. (figure21)



Figure 21 : Caractère morphologique de souche 01 et les colonies fongiques, B2 photo de référence (jagdish et *al.*,2010)

Souches 02 : les colonies ont une croissance rapide et aspect cotonneux. La surface des colonies est souvent hétérogène, présentent des zones blanches constituées exclusivement d'hyphes aériennes et des zones sombre rasantes renferment les spores asexués mélanisés, les hyphes sont septes .les conidiophores sont bruns, septés et souvent de l'aspect << zigzag >>, il porte des conidies simples ou ramifiées. Les conidies présentent des cloisonnements transversaux et longitudinaux. (Figure22) (Abdiche et Khireddine,2016).

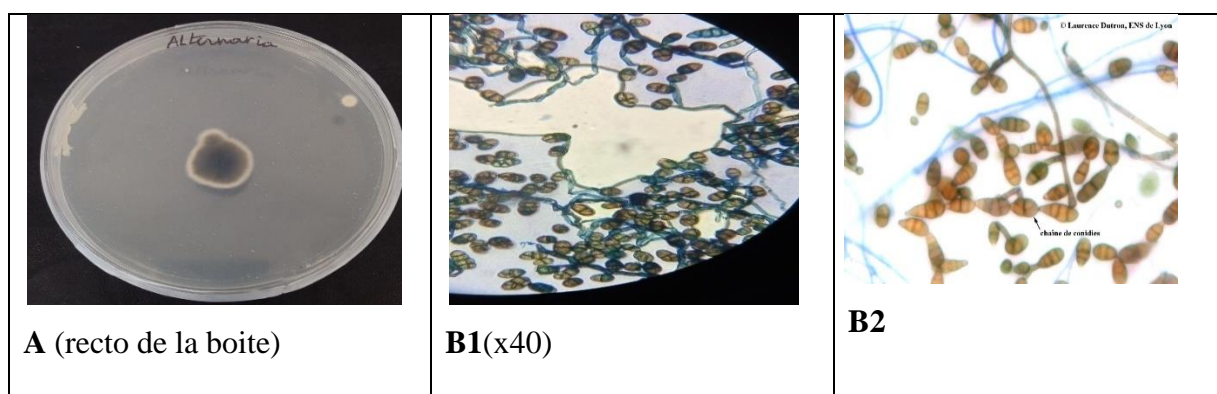


Figure 22 : les caractères morphologiques de souche 02, et les colonies fongiques, B2 photo de référence (Département de biologie, ENS de Lyon)

Souche 03 : les colonies sont d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires. Le revers est blanchâtre ou jaune pales. Le conidiophore est lisse, hyalin ou brunâtre dans sa moitié supérieure, et très longue. Les fialides insérés sur les vésicules par l'intermédiaire des métules disposés sur tout le pourtour de la vésicule. Les conidies sont globuleuse brunes, colorés, rugueuses. (figure23) (Sellal et *al.*,2012)

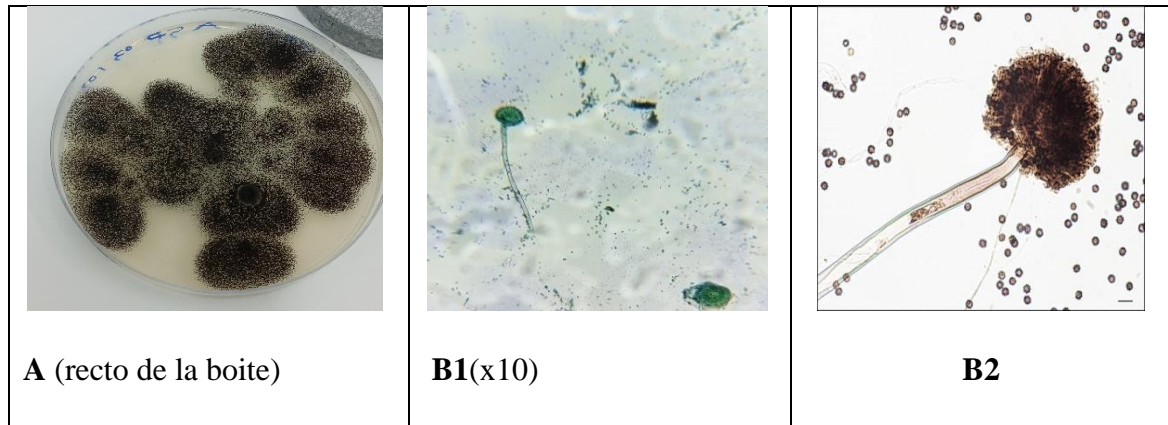


Figure 23 : les caractères morphologiques de souche 03 et les colonies fongiques, **B2** photo de référence (institut national de santé publique du Québec).

Souches 04 : la couleur des colonies est de vert olivâtre à noire, le revers de la colonie est noir. Les conidies sont en général de forme elliptique unicellulaire, sont brun. Les conidies sont produites en chaîne ramifiées, et les parois des conidies sont lisses (figure24) (Bensch et *al.*,2012).

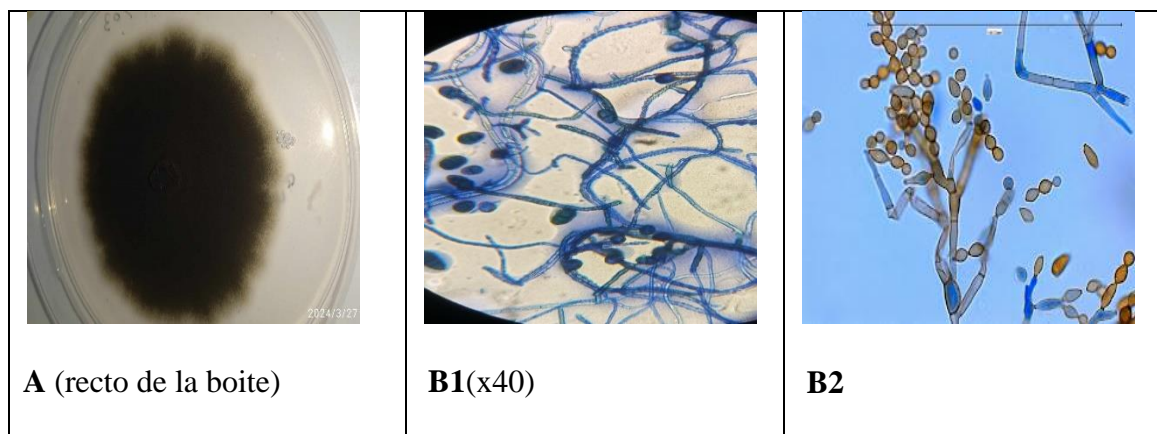


Figure 24 : les caractères morphologiques de souches 04 et les colonies fongiques, B2 photo de référence (site web).

Chapitre II: Résultats et discussions

Souche 05 : sont des champignons filamenteux, la colonie de cette souche développe rapidement une couleur vert (la couleur des phialides), mycélium cloisonné, caractérisé par la présence de conidiophore dressés, qui sont plus ou moins ramifiés et se terminent par des phialides. Ces phialides, serrées les unes contre les autres, forment un ensemble évoquant un pinceau. Les conides, produites en grande nombre par les phialides, restent attachées en chaînes (figure 25).

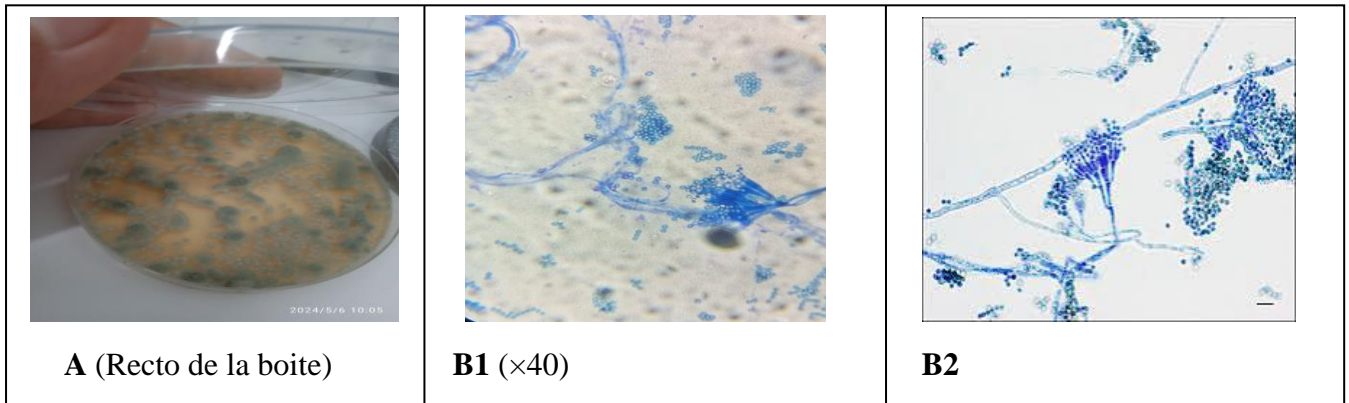


Figure25 : Caractère morphologique de souche 05 et les colonies fongiques. B2 photo de référence (<https://www.inspq.qc.ca>).

Souche 06 : sont des levures unicellulaires présentent sous forme blastospores (blastoconidies), chlamydoconidies (critère de diagnostic) ce sont de petites cellules de 2 à 5 μm , globulaires, ovoïdes ou cylindrique. Apparaissent macroscopiquement sous forme de colonies blanches à crémeuses de 1 à 3mm (figure26)

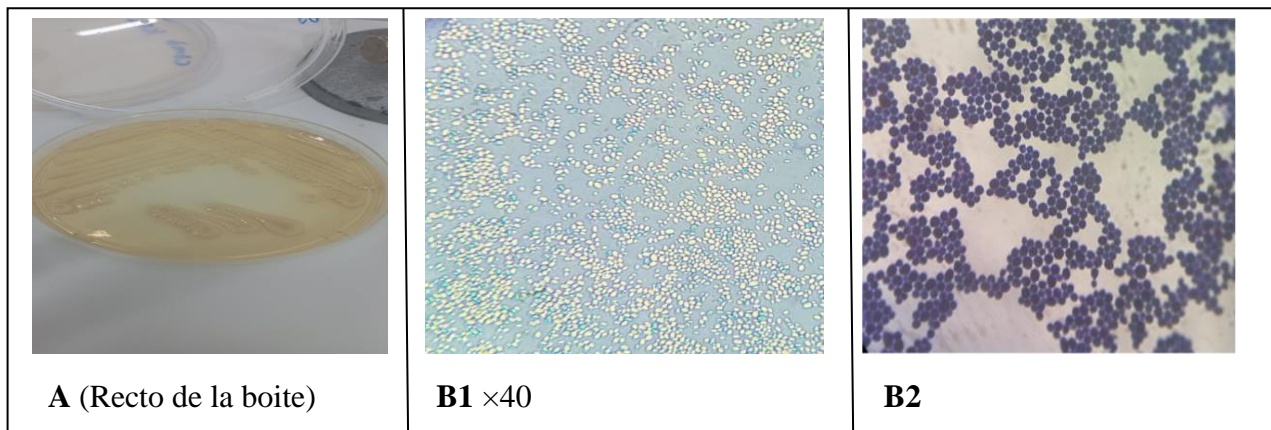


Figure26 : les Caractères morphologiques de souche 06, et leur aspect microscopique, B2 photo de référence (Hemant et *al.*,2018).

Souche 07 : la colonie apparaît de couleur blanche, sur ces conidiophore se forment des conidies hyalines, unicellulaire, ovoïdes de 8 – 10 μm , le mycélium est faiblement coloré et apparaît

souvent tortueux, en forme de ruban. Les spores apparaissent colorées en bleu (le couleur de bleu de méthylène) (figure27).

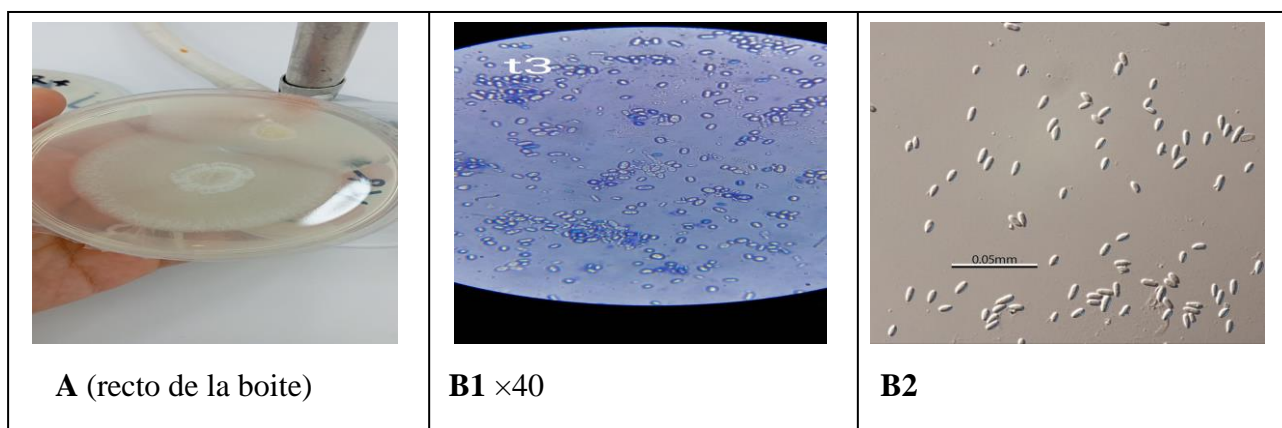


Figure 27 : Les caractères morphologiques de souche 07 et les colonies fongiques, B2 photo de référence (<https://www.naro.go.jp>).

II . 1.4 Résultats d'activité antifongique

II .1.4.1. Test de sensibilité des extraits des plantes contre les champignons

Lors de cette étude, on a examiné le potentiel antifongique des extraits méthanoliques et aqueux des deux plantes suivantes : *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*, vis-à-vis des souches isolées à partir des fruits de tomates : *Aspergillus sp*, *Botrytis sp*, *Penicillium sp*, *Alternaria sp*, *Fusarium sp*, et autre souche : *Cladosporium sp*, et une levure *Candida albicans*. Ces diamètres montrent le degré de sensibilité des souches en se basant sur les normes qui suit : $\emptyset < 10\text{mm}$: non sensible, $10 \leq \emptyset \leq 15\text{mm}$: sensible, $15 \leq \emptyset \leq 20\text{mm}$: très sensible et $\emptyset \geq 20\text{mm}$ extrêmement sensible. (Razzouk et al.,2022)

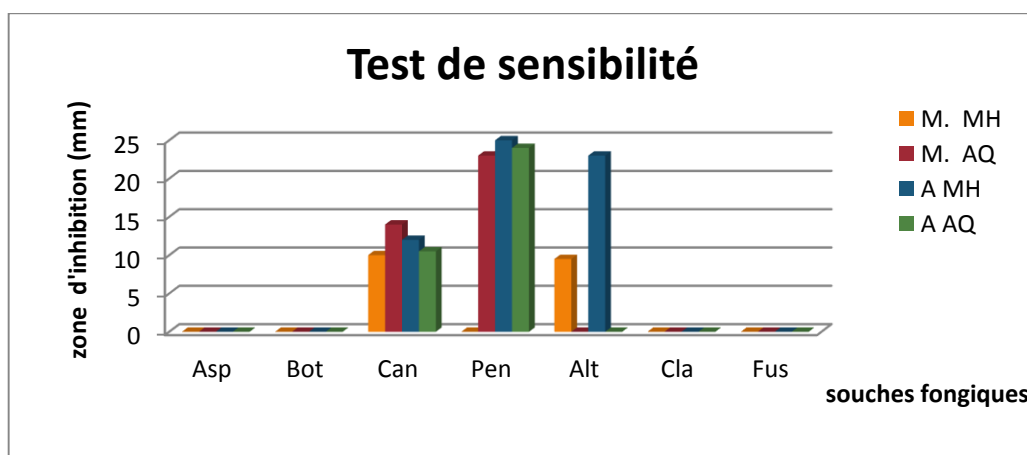


Figure 28 : histogramme de test de sensibilité des extraits de *Marrubium vulgare* et *Artemisia herba alba*.

Chapitre II: Résultats et discussions

D'après les norme réduire par (Razzouk et *al.*,2022) trouvée que *Penicillium sp* extrêmement sensible à deux plantes, *Alternaria sp* extrêmement sensible à l'extraits méthanolique d'*A. herba alba* et pour *Candida albicans* sensible pour presque tous les extraits, par contre *Aspergillus sp*, *Botrytis sp*, *Fusarium sp*, *Cladosporium sp* sont non sensible.

Les extraits méthanoliques et aqueux de *Artemisia herba alba* avaient une action inhibitrice moyennes sur la croissance des isolats testés avec des zones d'inhibition allant de 0 à 25 mm. À l'échelle des espèces : *Penicillium. sp* apparait le plus sensible avec une zones d'inhibition égale à 24 et 25 mm aux Art (méth) et Art (aq) respectivement. Une activité antifongique moyenne de 0 à 23 mm pour les extraits de *M. vulgare* contre les souches testées. *Penicillium sp* apparait le plus sensible aux l'extrait de Mar (aq) avec une zone d'inhibition de 23mm. *Aspergillus sp*, *Botrytis sp*, *Cladosporium sp* et *Fusarium sp* sont montré une résistants aux différents extraits.

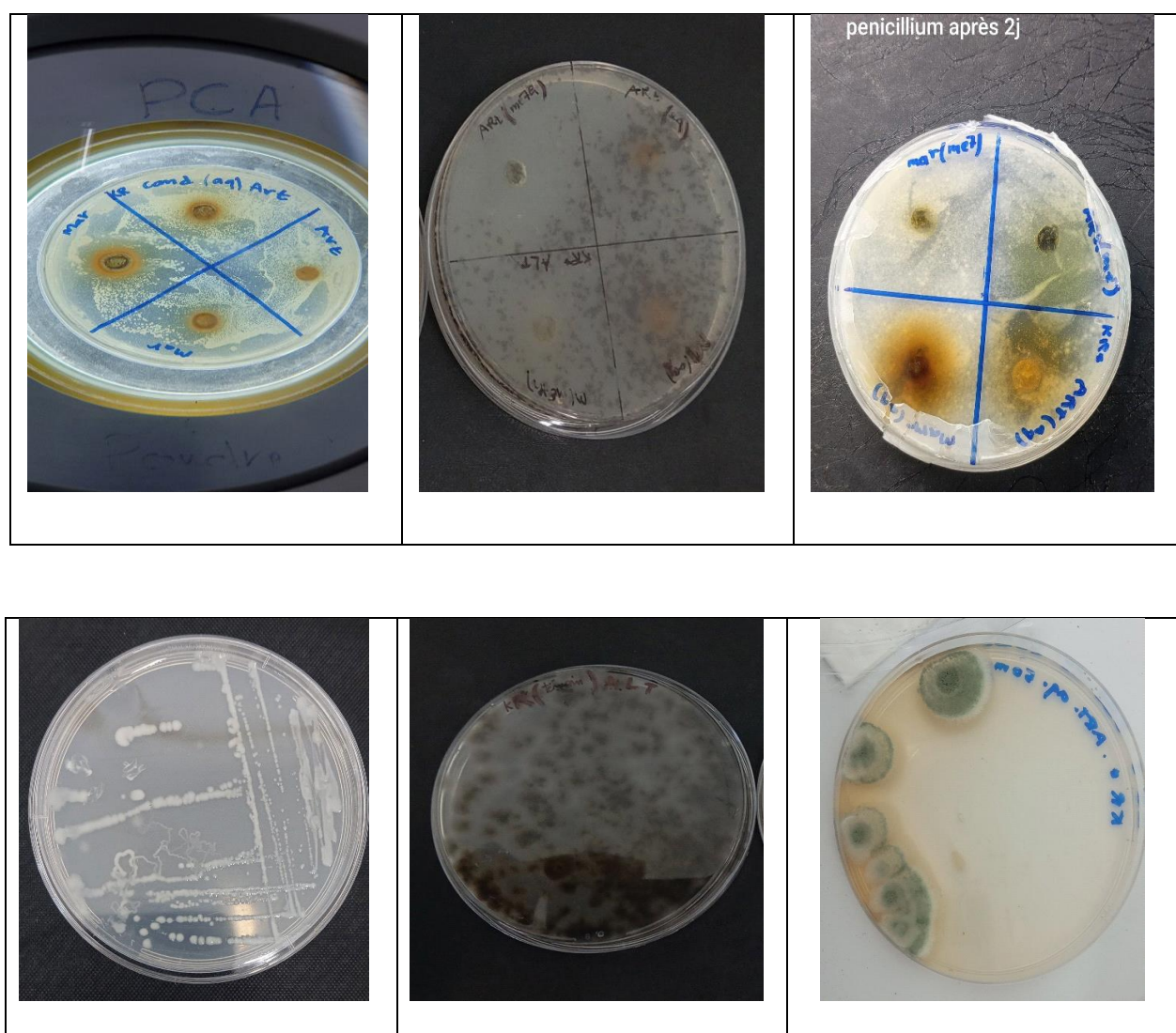


Figure 29 : les résultats obtenus de test de sensibilité contre *Penicillium sp*, *Candida albicans*, *Alternaria. sp*.

II.1.5. Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI relative aux extraits aqueux et méthanoliques de *M. vulgare* et *A. herba alba* a été appliquée comme agent antifongique sur les souches fongiques sensibles : *Alternaria sp*, *Penicillium sp* et *Candida albicans*, en utilisant la méthode de dilution sur milieu liquide PDB. Selon les résultats enregistrés (figure30), nous avons constaté qu'une augmentation de la concentration des deux extraits des deux plantes était inversement proportionnelle au degré de turbidité et à la densité optique du milieu.

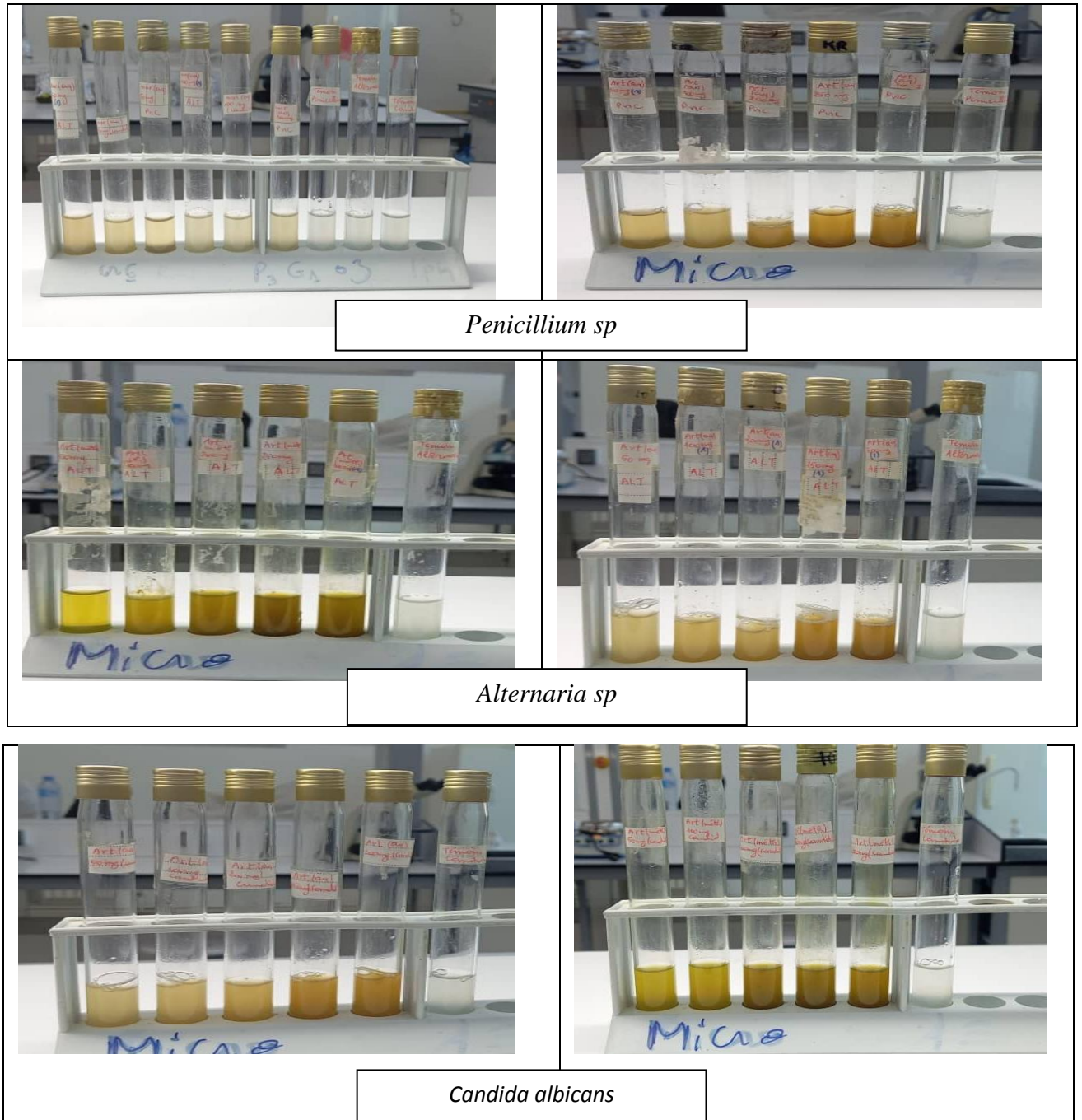


Figure30 : Résultats de concentration minimale inhibitrice dans milieu liquide

Nous allons confirmer les résultats obtenus dans un milieu liquide en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide (technique des puits) et observer les résultats suivants (figure31).

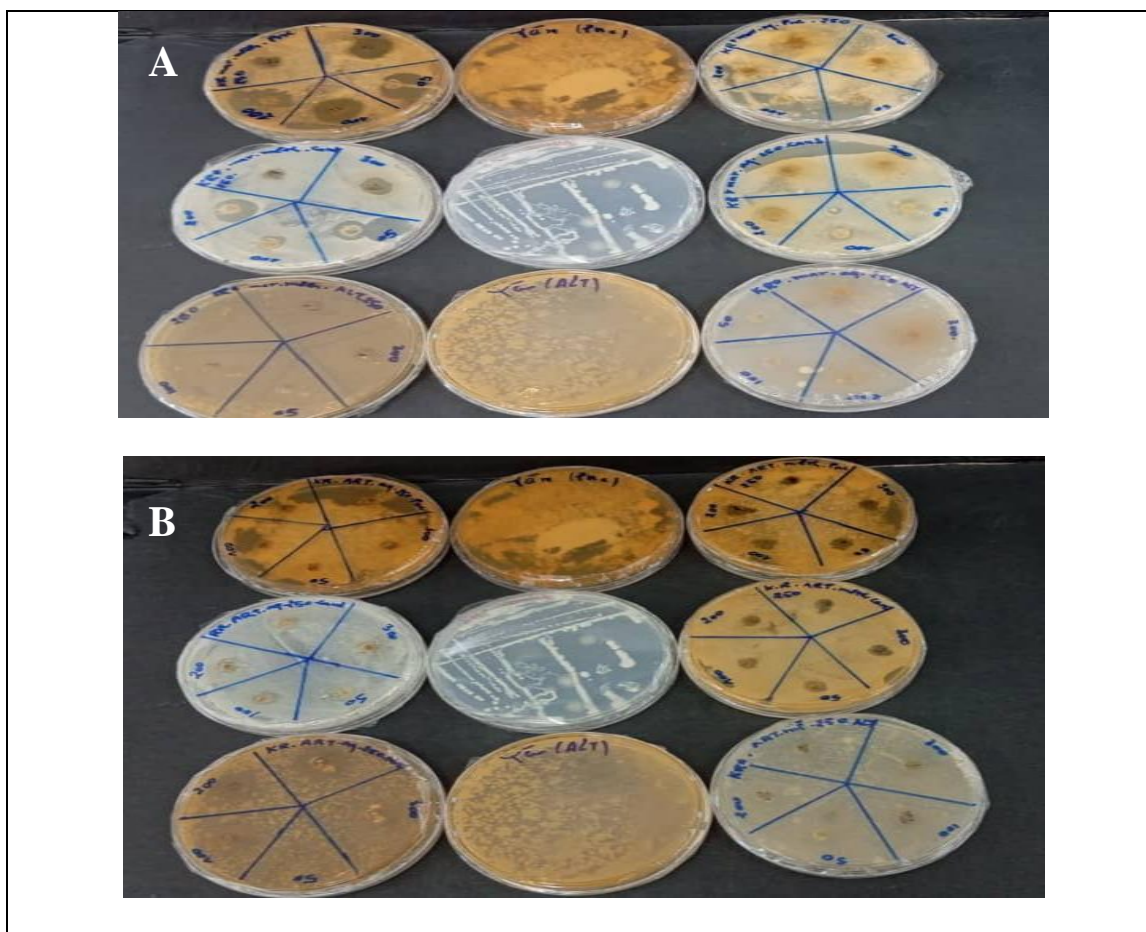


Figure 31 : Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur milieu solide.

A : CMI des trios souche par les extraits *M. vulgare*, **B :** CMI des trios souches par les extraits d'*A. herba alba*.

Le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance mycélienne variait en fonction de la concentration des extraits, comme présenté sur les histogrammes (figure32). On peut observer que l'extrait aqueux de *M. vulgare* présente une grande zone d'inhibition sur *Alternaria. sp* de 30 mm lors de la concentration de 300mg/ml (extrêmement sensible), tandis que les autres souches sont résistantes. Pour l'extrait méthanolique, un diamètre d'inhibition plus élevé de 30mm a été observé chez *Alternaria sp* à une concentration de 300mg/ml, et *candida albicans*, *Penicillium. sp* a enregistré un diamètre d'inhibition élevée de 19 mm, 18mm à une concentration de 50mg/ml et 200mg/ml respectivement.

A. herba alba montre une inhibition 15mm, 18,5mm et 19 mm seulement pour *Alternaria. sp* à des concentrations de 200mg/ml, 250mg/ml, 300mg/ml respectivement pour les

extraits aqueux. Pour les extraits méthanoliques, un diamètre d'inhibition plus élevé de 25mm est enregistré à une concentration de 300mg/ml, avec une résistance pour *Candida albicans* et *Penicillium sp.*

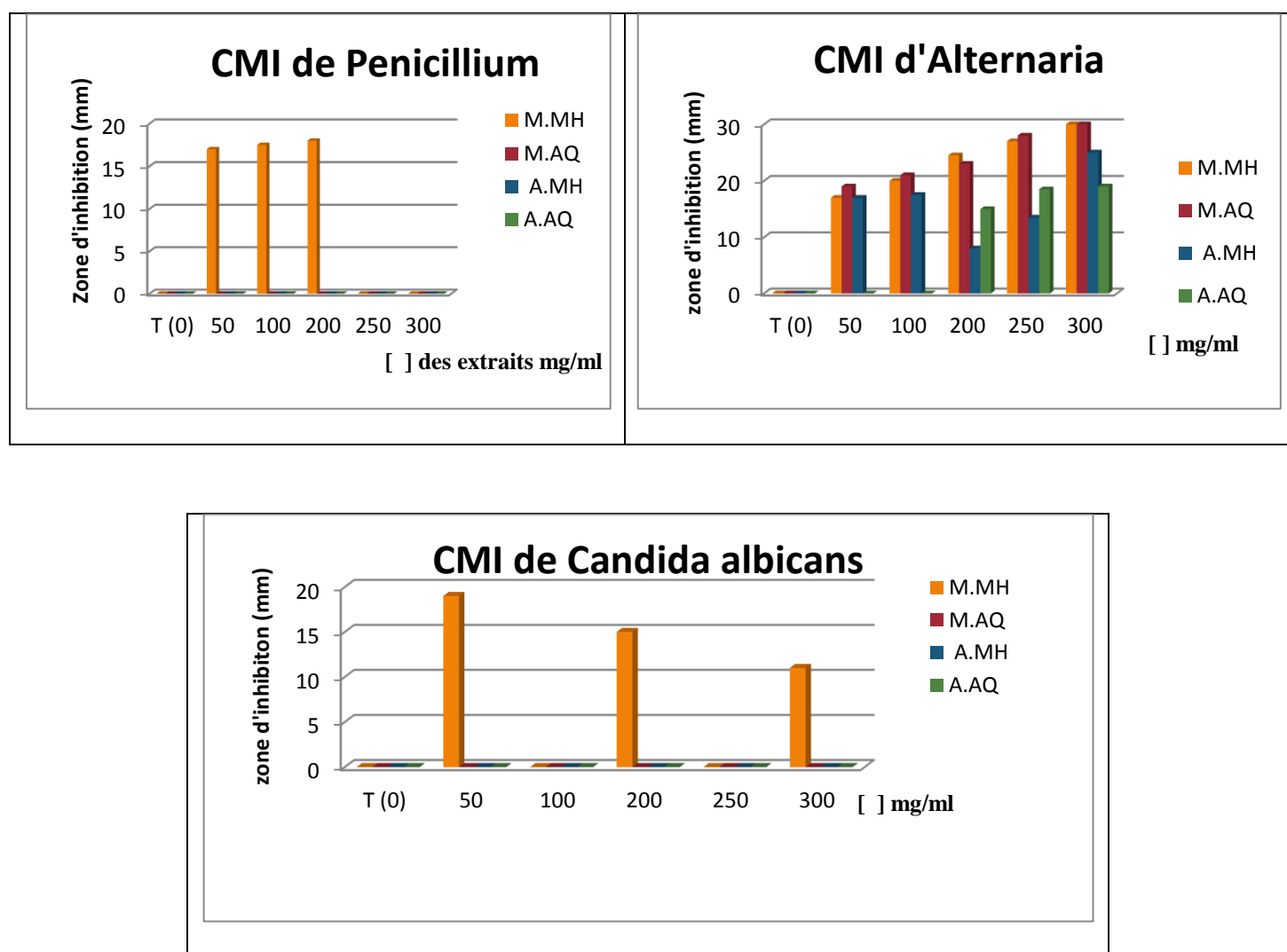


Figure 32 : Histogrammes de CMI des extraits *M. vulgare* et *A. herba alba*.

II .1.6. Concentration minimale inhibitrice fongicide

Les deux extraits d'*Artemisia herba alba* ont une activité fongicide contre *Alternaria sp* et *Candida albicans* à une concentration de 50mg/ml. En ce qui concerne l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare*, il présente une activité fongistatique contre *Penicillium sp* et *Candida albicans* (100 et 200 mg/ml) ainsi qu'une activité fongicide contre *Alternaria sp* (CMF=50mg/ml) (figure32).



Figure 33 : les résultats obtenus de test de CMF des champignons fongicide (*Alternaria sp.*, et *Penicillium sp.*)

II.2 Discussion

Les résultats de notre expérimentation ont montré que les extraits aqueux ont obtenu un rendement d'extraction de 14,39% pour *Artemisia herba alba* et de 9,09% pour *Marrubium vulgare*, tandis que les extraits méthanoliques ont eu un rendement inférieur, d'environ 7,81% pour *A. herba alba* et 6,93% pour *M. vulgare*. Ces résultats sont concordent avec les travaux réalisées par Ghedadba B et al., (2014), qui ont trouvé que l'extrait aqueux de *M. vulgare* avait un rendement d'extraction plus élevé (12,89%) que l'extrait méthanolique (10,9%). De même Ayad et al., (2022), ont trouvé un rendement d'extraction aqueux de la plante *M. vulgare* égal à 22,19% tandis que le rendement de l'extrait méthanolique plus faible, à 8,58%. En ce qui concerne *A. herba alba*, les travaux de Abla et al.,(2021) ont montré que l'extrait aqueux des parties aériennes de la plante avait un meilleur rendement (11,32 – 0,28) par rapport à l'extrait méthanolique (6,93 – 0,65). De même, les résultats obtenus par Ghanmi et al., (2010) montrent un meilleur rendement a été obtenus à partir des échantillons de l'armoise blanche $1,23 \pm 0,07$ par rapport les autres espèces d'*Artemisia herba alba*, ces différence de rendement peut être expliquée par la nature des espèces et l'effet du stade végétatif de la plante et les condition édaphiques de la région. Majhenic et ces collaborant (2007) dans leur travaux suggèrent que l'extraction par les solvants à température élevée permet d'obtenir des rendements plus élevée en extraits secs lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante et qu'ils sont plus élevés pour l'extraits aqueux que méthanolique.

Nous pouvons dire que les solvants polaires (eau, méthanol ...), donnent des meilleurs rendements que les solvants apolaires (éther ...) étant donné que les solvants polaires sont plus efficaces pour extraire les composés bioactifs des matériaux végétaux car ils peuvent pénétrer la matrice et récupérer un maximum de métabolites Ghedadba B et *al.*, (2014).

De plus l'origine géographique, le climat, le sol, la période d'extraction. Cependant, il reste difficile de comparer les résultats d'extraction avec ceux qui figurent dans la bibliographie car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques ainsi que l'origine géographique, la méthode d'extraction, les conditions et la durée de stockage, la période de récolte ... etc.

Les résultats de tests phytochimique montrée que les deux plantes sont riche en flavonoïde, saponines, tanins et absence d'anthocyanes, confirmés par les travaux de Ghedadba A et *al.*, (2014) qui montre que le screening phytochimique des extraits de *Marrubium vulgare* indique la présence des polyphénols, des flavonoïdes, et des saponines, avec l'absence des anthocyanes. De plus même résultats exprimée par Sekiou et *al.*, (2021) qui montre que la plante *Artemisia herba alba* riche en flavonoïdes et en tanins. De même Salhi et *al.*, (2019) indique que les extraits de *A. herba alba* contiennent les flavonoïdes, tanins, saponine et les stéroïdes et absence de anthocyanine.

Les résultats obtenus par le dosage des polyphénols totaux dans différents extraits de *M. vulgare* sont compatibles avec les travaux de Matkowski et *al.*, (2008), qui ont montré que toutes les plantes de la famille des *Lamiaceae* sont connues pour leurs composés phénoliques Matkowski et *al.*, (2008) ont présenté une teneur en polyphénols de l'extrait aqueux de *M. vulgare* $202,9 \pm 10,9$ mg EAG/g d'extrait, tandis que l'extrait méthanolique présente une teneur de $63,4 \pm 1,7$ mg EAG/g d'extrait. De même des résultats divergents sont rapportés par Ghedadba et *al.*, (2014), qui ont présenté une teneur de 195mg EAG/100g de MS pour l'extrait méthanolique et 160 mg EAG/100g de MS pour l'extrait aqueux de *M. vulgare*. C'est derniers sont conformes à ceux obtenus précédemment. En ce qui concerne *A. herba alba* Bouchenak et *al.*, (2018) ont trouvé une teneur de $24,8 \pm 0,37$ mg EAG/g d'extrait pour les extraits méthanoliques, tandis que Khennouf et *al.*, (2010) ont trouvé une teneur de 133,43 mg EAG/g d'extrait pour les extraits aqueux.

Les résultats de dosage des flavonoïdes varient en fonction du solvant utilisé. Notre expérience a montré une teneur plus élevée en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique d'*A. herba alba* par rapport à l'extrait aqueux, ce qui est en accord avec les travaux de Laouini et *al.*, (2016). En revanche, pour la plante *M. vulgare* l'extrait aqueux plus riche en flavonoïde que l'extrait

Chapitre II: Résultats et discussions

méthanolique qui diffère de ces résultats obtenus par Ghedadba, (2017). Cette différence de résultats peut s'expliquer par les conditions opératoires utilisées lors du dosage.

Les isolats fongiques obtenus à partir des fragments de fruits de tomate montrent une évolution (l'apparition de secteurs mycéliens aux extrémités des fragments) et présentent des colonies duveteuses à cotonneuses ou poudreuses, selon l'espèce. Parmi les moisissures les plus couramment rencontrées dans l'altération des tomates, on peut citer les espèces suivantes : *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Botrytis sp*, ...etc. Les observations culturelles et microscopiques ont été effectuées pour déterminer la classe, l'ordre, le genre et l'espèce des nouvelles souches isolées. Ces observations sont généralement réalisées sur des cultures milieu de culture PDA. Différents groupes de chercheurs ont élaboré des clés d'identification des champignons pour classer les nouvelles souches. Parmi ces clés on peut citer : le mycélium, les spores, les conidies, les phialides, la texture des colonies, la couleur, l'aspect, etc. Jesus (1989) Ce type d'observation a permis d'identifier les souches fongiques suivantes : *Fusarium sp*, *Alternaria sp*, *Aspergillus sp*, *Cladosporium sp*, *Penicillium sp*, *Candida albicans*, *Botrytis sp*.

Selon Adjou et Soumanou, (2013) l'effet des extraits des plantes médicinales sur différents souches fongiques a été étudié en évaluant la présence ou l'absence de croissance mycélienne, la vitesse de croissance du mycélium, la production et la germination des spores. Les résultats de cette étude montrent que l'extrait d'*Artemisia herba alba et Marrubium vulgare* provenant de la région de l'Hammadia et Hasnaoua (Bordj Bou Arreridj), respectivement n'ont pas une activité inhibitrice sur toutes les souches fongiques sélectionnées.

En ce qui concerne la littérature, *A. herba alba* a été signalée parmi les plantes riches en molécules bioactives qui jouent différentes rôles dans différents domaines. Contrairement à l'extrait aqueux, l'huile essentielle d'*A. herba alba* présentait une forte activité inhibitrice, ce qui pourrait être attribué, selon les résultats de notre analyse GC-MS, à la présence de camphor, de thymol, d'eucalyptol, de camphène et de pinocarvone. Selon les recherches menées par El Hajli et al., (2024) le thymol est le composé antifongique le plus virulent contre les quatre champignons testés : *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum* et *Aspergillus niger*.

Les extraits de *Marrubium vulgare* ont montré une forte activité antifongique qui varie selon les champignons, ce qui en fait un potentiel biofungicide. Ces extraits représentent une alternative prometteuse pour prévenir les infections fongiques dans le secteur agricole. Par exemple, une étude réalisée par Mulondo et al., (2023) a montré une inhibition de *Candida albicans* par l'extrait de feuilles de *Marrubium vulgare*. Il convient de noter que les recherches

Chapitre II: Résultats et discussions

sur l'activité antifongique des extraits naturels des plantes sont encore relativement limitées, en particulier en ce qui concerne la plupart des souches sélectionnées Djahra, (2014).

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice indique que les extraits aqueux et méthanolique d'*Artemisia herba alba* ont une action inhibitrice sur les champignons *Alternaria. sp*, et une faible activité sur *Penicillium. sp* et *Candida albicans*.

Ces résultats sont confirmés par des études et des chercheurs. Selon Bouchenak et al., (2018) une bonne activité antifongique des extraits méthanoliques a été démontrée avec un diamètre de $14 \pm 0,7$. D'une autre étude indique la résistance de *Penicillium. sp* aux extraits d'*A. herba alba* aux mois de Avril a des concentrations de 1/500 et 1/1000 Ghanmi et al.,(2010). De plus, selon Salhi et al., (2019). Les extraits aqueux présentent une efficacité remarquable contre *Alternaria sp* avec un pourcentage de 94%. Il est à noter que les périodes de récolte affectent les résultats de l'activité antifongique, le mois de septembre qui a manifesté la plus grande efficacité antimicrobienne. Ghanmi et al.,(2010)

Les extraits aqueux et méthanolique de *M. vulgare* ont montré une inhibition contre les trois souches. L'extrait aqueux présente une inhibition uniquement contre *Alternaria sp*, tandis que l'extrait méthanolique contre *Penicillium sp* et *Candida albicans*. Ces résultats sont confirmés par les travaux de Tabet et al., (2020) qui ont montré l'activité antifongique intéressante de l'extrait de *M. vulgare* contre *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* et *Alternaria alternata*, avec un pourcentage d'inhibition variant de 77% à 89%. De plus, il a été prouvé que l'huile essentielle et l'extrait de *M. vulgare* ont une activité antifongique prometteuse in vivo pour contrôler l'infection des pommes par *Penicillium expansum* pendant 25 jours de stockage, par rapport au groupe témoin. D'autre part, les recherches de Tabet et al., (2020), ont démontré l'activité antifongique de l'huile essentielle de *M. vulgare* in vitro contre *P. expansum* et *A. alternata*, avec des taux d'inhibition de 94% et 100% à 10 ml/L. L'expérience in vivo a montré une diminution significative de la gravité de la maladie observée sur les tomates.

Les résultats de l'activité contre les champignons ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles de *M. vulgare* contiennent des niveaux relativement élevés de polyphénols et de flavonoïdes, ce qui leur confère un bon effet antifongique, notamment contre *Candida albicans* et *Alternaria sp*. Cette découverte suggère que les extraits méthanoliques de *M. vulgare* pourraient d'être utilisés comme matériau de base pour la préparation de médicaments antimicrobiens Benzidane et al., (2020).

L'activité antifongique représentée par les diamètres d'inhibition varie significativement en fonction du type de l'extrait testé et de la localité d'échantillonnage des

feuilles. Généralement, les extraits méthanolique enregistré les diamètres d'inhibition les plus importantes comparés à ceux provoqués par les extraits aqueux Bouterfas., (2016)

Selon les résultats de Bouchenak et *al.*, (2018), l'activité antifongique de *Artemisia herba alba* contre *Alternaria sp* et *Candida albicans* peut être s'expliquer par sa richesse en composés phénoliques et flavonoïde présents dans les extraits méthanolique. Ces composés agissent comme des antiseptiques, anti-inflammatoires et antifongiques. Ces résultats sont en accord avec nos propres résultats. L'extrait méthanolique étudié présente un pouvoir antifongique qui peut être expliqué par la présence des composants ayant une activité antifongiques. Ces composants provoquent des dommages membranaires graves et une perte d'homéostasie, ce qui entraine une inhibition totale ou la mort cellulaire Bouchenak et *al.*,(2018).

L'action antifongique de l'extrait de *Marrubium vulgare* se déroule en trois phases : 1) Les extraits provoquent une augmentation de la perméabilité de la paroi des micro-organismes, entraînant la perte des constituants cellulaires. 2) L'intérieur de la cellule s'acidifie, ce qui bloque la production d'énergie cellulaire et la synthèse des composants structure. 3) Le matériel génétique est détruit, ce qui conduit à la mort de la souche testée Aoudhi et *al.*,(2014)

L'activité biologique des extraits végétaux de *Marrubium vulgare* peut varier en fonction de leur teneur en composés polyphénoliques. La polarité des substances bioactives est associée à leur activité antimicrobienne. Par ailleurs, il a été découvert que les flavonoïdes tri hydroxylés 3',4',5' du cycle B, ainsi que les flavonoïdes substitués en position 3-oh, sont indispensables pour leur activités antimicrobienne importante. La synergie entre le nombre de composants explique sans doute l'effet d'un extrait : lorsqu'ils sont séparés, ils deviennent inactifs individuellement. On peut expliquer cela par le fait que les plantes génèrent une grande quantité de petites molécules antibiotiques avec une grande diversité de structures, comme les terpénoides, les glycostéroïdes les flavonoïdes et les polyphénols. Toutefois, la majorité de ces petites molécules présentent une activité antibiotique faible par rapport aux antibiotiques couramment fabriqués par les bactéries et les champignons. L'activité des principes actifs serait en relation avec les conditions de séchage et de broyage de la plante. Par ailleurs, il semble également préférable de procéder au broyage avec l'azote liquide, car le broyage entraine également la production de chaleur, ce qui entraine la perte des molécules volatiles et la décomposition et l'oxydation des molécules thermolabiles Djahra, (2014).

Enfin, il est important de noter que les différences observées dans les résultats des études et dans l'évaluation du pouvoir antibactérien et antifongique des différents extraits peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que la nature de l'espèce, les conditions ambiantes, les

Chapitre II: Résultats et discussions

facteurs écologiques, les variations saisonnières, les méthodes d'extraction, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, la sensibilité des bactéries et des champignons, les concentrations des extraits et l'organe de la plante utilisé. Même la période de récolte peut influencer l'activité antimicrobienne Bouterfas et *al.*, (2014).

A decorative horizontal banner with a red-to-white gradient, rounded corners, and a scroll-like effect on the left and right sides. The text is centered within the banner.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Actuellement, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales présentent des propriétés biologiques significatives, utilisées dans divers domaines tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture. Ce travail vise à valoriser deux plantes médicinales et aromatiques largement répandue dans le monde et en Algérie : *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*. Notre étude porte sur le potentiel antifongique des extraits de ces plantes, ainsi que sur leur analyse phytochimique in vitro.

Les résultats des méthodes de diffusion sur gélose (technique des puits) et de dilution (CMI) aux extraits aqueux et méthanoliques d'*A. herba alba* et *M. vulgare* ont révélé une sensibilité accrue des différentes souches fongiques testées. Les extraits méthanoliques de ces deux plantes ont démontré une efficacité que les extraits aqueux dans l'inhibition de la croissance des champignons phytopathogènes et de *Candida albicans*. Cela dû à la capacité du méthanol à extraire une gamme plus large et plus concentré de composés bioactifs.

L'analyse de screening phytochimique a mise en évidence diverses classes de métabolite secondaire dans les parties aériennes des plantes, notamment les polyphénols, les tanins et les flavonoïdes. Bien qu'*Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare* possèdent un potentiel antifongique théorique, les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux et méthanoliques, dans des conditions expérimentales testées, n'ont pas démontré une activité antifongique significative. Plusieurs facteurs pourraient expliquer cela : la structure des parois des champignons, leur mobilité dans le milieu gélosé PDA, la concentration des extraits, la nature et la structure des substances actives dans les extraits, la méthode d'évaluation utilisée, et la partie de la plante étudiée.

Des études complémentaires utilisant différentes méthodes d'extraction, ainsi que des analyses approfondies de la composition chimique des plantes provenant de diverses régions géographiques, avec des recherches approfondies in vivo seront nécessaires à l'avenir pour comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactive, leur dose thérapeutique, ainsi que leur site d'action au niveau cellulaire. Cela pourrait conduire à meilleure compréhension et à l'optimisation du potentiel antifongique de ces plantes.



Références bibliographiques

Référence bibliographique

A

1. **Abdiche S et Khireddine I. (2016)** Etude d'antagonisme in vitro de *trichoderma sp* vis –à- vis des ravageur des plantes *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine 39p.
2. **Abla D., Boudraa K et Bouziane R. (2021)** Evaluation de l'activité antioxydante et antihyperglycémiant des plantes *Artemisia herba alba* Asoo et *Ajuga iva* L. Mémoire de Master., Université des Frères Mentouri Constantine 154p.
3. **Abe E., Stanilas GD et Jean CA. (2010)** Extraction liquide-liquide : théorie, application, difficultés. *Annales de Toxicologie Analytique* 22, 51 - 59.
4. **Adjou ES et Soumanou MM (2013)** Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *Journal of Applied Biosciences* 70, 5555-5566.
5. **Abou El-Hamd H. M., Magdi A. EL., Mohamed E.H., Soleiman E.H., Abeer M. E et Naglaa S.M. (2010)** Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba –alba*. *Records of natural products* 4, 1-25.
6. **Ahmed B, Masoodi MH, Siddique AH et Khan S (2008)** A new monoterpene acid from *Marrubium vulgare* with potential antihepatotoxic activity. *Nat Prod Res* 24, 80-1671.
7. **Aoudhi C., Ghazghazi H., Hasnaoui B et Maaroufi A (2013)** comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord – ouest de la tunisie. *Microbiol.Hyg.Alim* 25, 73
8. **Ayad N., Benaraba R., Hemida H et Abedallah F. (2022)** Biological activities of phenolic extracts from *Artemisia herba-alba* Asso grown in western Algeria. *Journals tmkarpinski* 12, 46-61.

B

9. **Bassadat N., Benichou S., Kihal M et Henni DE. (2014)** Aggressiveness and morphological variability of small sporal *Alternaria* species isolated from Algeria. *Jornal of Experimental Biology and Agricultural Sciences* 2, 266 – 278.
10. **Benabdelkader Z et Dellaoui Y. (2023)** Quinoléines à intérêt antifongique. *El Hakim* 41, 28-31.

11. **Benmeddour T., Hocine L., Salah A et Guido F. (2015)** chemical composition and antibactérien activity of essential oil of *Launaea lanifera* Pau grown in Algerian arid steppes. *Elsevier* 11, 960-964
12. **Bensch K., Braun U., Groenewald JZ et Crous P.W. (2012)** the genus *cladosporium*. *Studies in Mycology* 72, 1-401
13. **Benzidane N., Smahl R., Zabouche B., Makrouf A et Arrar L. (2020)** phytochemical study and antimicrobial activity of Algerian *Marrubium vulgare* leaf and stem extracts. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 10, 5-10.
14. **Berroughui H., Maxim I., Cherki M et Khalil A (2006)** *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LDL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol efflux in *THP macrophage*. *Life sciences* 80, 105-12.
15. **Bezza L., Mannarino A., Fatrarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou Fet J. Kaloustian (2010)** composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *phytothérapie* 9, 277-281.
16. **Bouchenak F., Degaichia H., Lamgharbi A et Benrebiha F. (2018)** Evaluation in vitro du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une asteraceae *Artemisia absinthium* L. *Revue Agrobiologia* 8, 886 – 895.
17. **Bouchra N., Senejoux F., Fraisse D., Felgines C., Vasson M.P., Madani K et Rossary A. (2021)** Anti –inflammatory and prolonged protective effects of *Artemisia herba alba* extracts via glutathione metabolism reinforcement. *South African Journal of Botany* 142, 206-215.
18. **Bouterfas K., Mehdadi Z., Latreche A et Aouad L. (2014)** pouvoir antimicrobien des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. en provenance du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie* 12, 6-14.
19. **Bouterfas K., Mehdadi Z., Aouad L., Elaoufi M.M., Khaled M.B., Latreche A et Benchiha W. (2016)** La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Médicale* 607, 2 11.

C

20. **Compaore H., Sawadog –Lingani H., Savadogo A., Dianou D et Traore AS. (2016)** isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrice de substances antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 10, 198-210.

D

21. **Djahra A B. (2014)** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba 72p.

E

22. **El Azzouzi H., Khabal Y., Bouachrine M., Zair T et Aloui B M. (2018)** Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Artemisia ifranensis* J. Didier essential oil growing wild in Middle Moroccan Atlas. *Journal of Essential Oil Research* 30, 142-151.
23. **El-Bardai S., Lyoussi B., Wibo M et Morel N. (2004)** Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. *Clin Experiment Hypertension* 26, 465-74.
24. **Elberry AA., Harraz FM., Ghareib SA., Gabr SA., Nagy AA et Abdel-Sattar E. (2011)** Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in Streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes Mellitus* 3, 37-44.
25. **El Hajli F., Mohamed RK., Amine A., Riaz U., Ahmad B., Khalil H., Said C., Rachid L., Essaid AB et Ghizlane E. (2024)** Photochemical analysis, in vitro antioxidant and antifungal activities of extracts and essential oil derived from *Artemisia herba alba* Asso. *De Gruyter* 22, 20230200

G

26. **Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Isamili M.R., Houti H., Monfalouti H. El., Benchakroun K.H., Aberchane M., Harki L., Boukir A., Chaouch A et Carrouf Z. (2010)** Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental). *Phytothérapie* 8, 295-301.

27. Ghedadba N. (2017) Contribution à l'étude de l'activité biologique des deux espèces de *Marrubium vulgare* L et *Marrubium deserti* de Noé *in vitro* et *in vivo*. Thèse de Doctorat., Université Mustapha Ben-Boulaïd, Batna 2, 163p.
28. Ghedadba N., Bousselesla H., Hambaba L., Benbia S et Mouloud Y. (2014) (A) Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *phytothérapie* 12, 15-24.
29. Ghedadba N., Hambaba L., Aberkan M.C., Oueld-Mokhtar SM., Fercha N et Bousselesla H. (2014) (B) Evaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural products* 2. 64-74.

H

30. Hamidi A. (2013) Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. Magister en chimie organique. Université Kasdi Merbah Ouargla 48p.
31. Hemant S., Deeksha S., Dep P et Oloyede O. (2018) Germ tube test for Candida: principle, Procedure, results and interpretation. *Microbeonline*.

J

32. Jagdish C., Nidhi S., Neelam G et Sumandan S (2010) *Fusarium sacchari* : A cause of Exogenous Fungal Endophthalmitis . *First Case Report and Review of Literature* 171, 431-434.

33. Jesus A.C.L. (1998) Isolement, identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier II Science et Technologie du Languedoc 248p.

K

34. Khennouf S., Iratni N., Baghiani A., Harzallah D., Arrar L. (2010) Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. Leaves and some phenolic compounds. *Journal of Medicinal Plants Research* 13, 1273- 1280.

L

35. Laouini SE., Ouahrani MR., Segni L. (2016) Influence of solvent extraction on phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory activities of aerial parts extract from Algerian *Artemisia herba-alba*. *Journal of Pharmacy Research* 10, 58 – 64.

M

- 36. Majhenic L., Skerget M et Kenz Z. (2007)** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food chemistry* 3, 1258-1268.
- 37. Matkowski A., Tasarz P et Szyplula E. (2008)** Antioxidant activity of herb extracts from live medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*. *Journal of Medicinal Plants Research* 11, 321- 330.
- 38. Mulondo S., Kimbugwe M., Lassami A et Chelghoum H (2023)** Assesement of Marrubium vulgare hydro-alcoholic extract's biological activities *biosciences* 04, 001-008.

N

- 39. Nawwar MAM, El – Mousallamy AMD, Barakat HH, et al. (1989)** Flavonoids lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. *Phytochemistry* 28, 3201-6.

O

- 40. Orhan IE, Belhattab R, Senol FS, et al. (2010)** Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *Artemisia herba alba*, *Artemisia fragrans*, *Marrubium vulgare*, *Marrubium astranicum*, *Origanum vulgare subsp. Glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* speceies. *Ind Crops Prod* 32, 566-71.

P

- 41. Pukalskas A, Venskutonis PR, Salido S, et al. (2012)** Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania. *Food Chem* 130, 695-701.

Q

- 42. Quezel P et Santa S. (1963)** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques mériionales. *Tom II, Ed: CNRS*. Paris. 360-361p.

R

- 43. - Razak Mf., Aidoo Ke et Cndlish Ag. (2009)** Mixed herbs drugs inhibitory effect on growth of the endogenous myclflore and affixation production mycopathologie. *Mycopathologica* 167, 273-286.

44. **Razzouk S., Mouaad AM., Lamy J., Bacem M., Lahcen O et Mohamed NA. (2022)** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from three mediterranean plants against eighteen pathogenic bacteria and fungi. *Journal pharmaceutics* 14, 1408-1608.

S

45. **Sahpaz S., Garbacki N., Tits M et Bailleul F. (2002)** Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoides esters from *Marrubium vulgare*. *J Ethnopharmacol* 79, 389-92.
46. **Salah SM et Jager AK. (2005)** Two flavonoids from *Artemisia herba alba* Asso with *in vitro* GABA_A –benzodiazepine receptor activity. *J Ethopharmacol* 99,145.
47. **Salhi N., Sultan A.M.S., Valeria T., Iman B., Naima G et Samia B. (2017)** Antifungal Activity of Aqueous Extract of Some Dominant Algerian Medical Plants. *Hindawi BioMed Research International* 6.
48. **Salhi N., Rahmani B., Mehani M., Terzi V., Benouaar., Amraoui K et Bissati S. (2019)** The antifungal activity of *Artemisia herba-alba* aqueous extract and essential oil against storage fungus *Alternaria* ssp and *Fusarium* ssp. *Journal of Applied Biological Sciences* 13, 108-112.
49. **Sanogo Y., Guessennd N.K., Trabi H.F., Kouadio N.J., Konan F.K., Bamba M., Danho N., Bakayoko A., You K et Dosso M. (2016)** Evaluation *in vitro* de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. Et Perr. (Combretaceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical Science* 10, 1139-1152.
50. **Sekiou O., Boumedjel M., Taibi F., Tichati L., Boumendjel A et Messarah M. (2021)** Nephroprotective effect of *Artemisia herba alba* aqueous extract in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 11, 53-61.
51. **Sellal Z., Dahmani J., Benkirane R., Ouazzani T A et Douira A. (2012)** Sudy of the mycoflora associad with *pyrus mamorensis* Trabut, endemic tree to the Mamora forest (Morocco). *Revue Marocaine de Protection des plantes* 3, 71-86 المجلة
52. **Stulzer HK, Tagliari MP, Zampirolo JA, et al (2006)** Antioedematogenic effect of marrubium obtained from *Marrubium vulgare*. *J Ethnopharmacol* 108, 379-84.

T

53. Tabet ZA., Zaoui-Djelloul DM., Chaoui B et Dib M EA. (2023) Seasonal variation in the chemical composition of essential oil and antifungal and larvicidal activities of *Marrubium vulgare*, an aromatic plant growing wild in west-Algeria. *Journal Anti-Infective Agents* 21, 94-101.
54. Toty AA., Guessennd N., Bahi C., Kara A.M., Otokore D.A et Dosso M. (2013) Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Journal Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 82, 12-21.

Y

55. - Yapi A B., Camara D., Coulibaly K et Zirih GN. (2018) Etude botanique, tri phytochimique et évaluation de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae) sur la croissance *in vitro* de trois souches fongiques. *Journal of Applied Biosciences* 125, 12581-12589.

Z

56. Zalta AT., Mami I., Dib M EA et Sifi M EA. (2020) Efficacy of essential oil and hydrosol extract of *Marrubium vulgare* on fungi responsible for apples rot. *Journal Bentham Science Publishers* 18, 285-293.
57. Département de Biologie, ENS de Lyon.
58. Institut Nationale de santé publique du Québec.
59. Site web.
60. <https://www.naro.go.jp>
61. <https://www.inspq.qc.ca>



ANNEXES

➤ **Annexes 01**

Le matériel non biologique utilisé au laboratoire

Verrerie	Appareillage	Milieux de culture	Autre produits	Autre matériels
<ul style="list-style-type: none"> - Bécher - Pipettes Pasteur - Erlenmeyers - Eprouvette graduée - Entonnoir en verre - Flacons en verre - tubes à essais - lames et lamelles 	<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur - Autoclave - Etuve réglable à T° différent - vortex - Balance - Bec Bunsen - Microscope optique - Bain marie - Compteur de colonies - Distillateur 	<ul style="list-style-type: none"> -PDA (Potato Dextrose Agar) - Sabouraud - PDB (Potato Dextrose Broth). 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillé stérile - Bleu de méthylène - Méthanol - Eau physiologie - Eau de javel -chlorure d'aluminium - FeCl₃ - H₂SO₄ - NH₄OH - Anhydride acétique - Acide sulfurique - Folin-Ciocalteu - AlCl₃ 	<ul style="list-style-type: none"> - Pissettes - Anse de platine - Pince

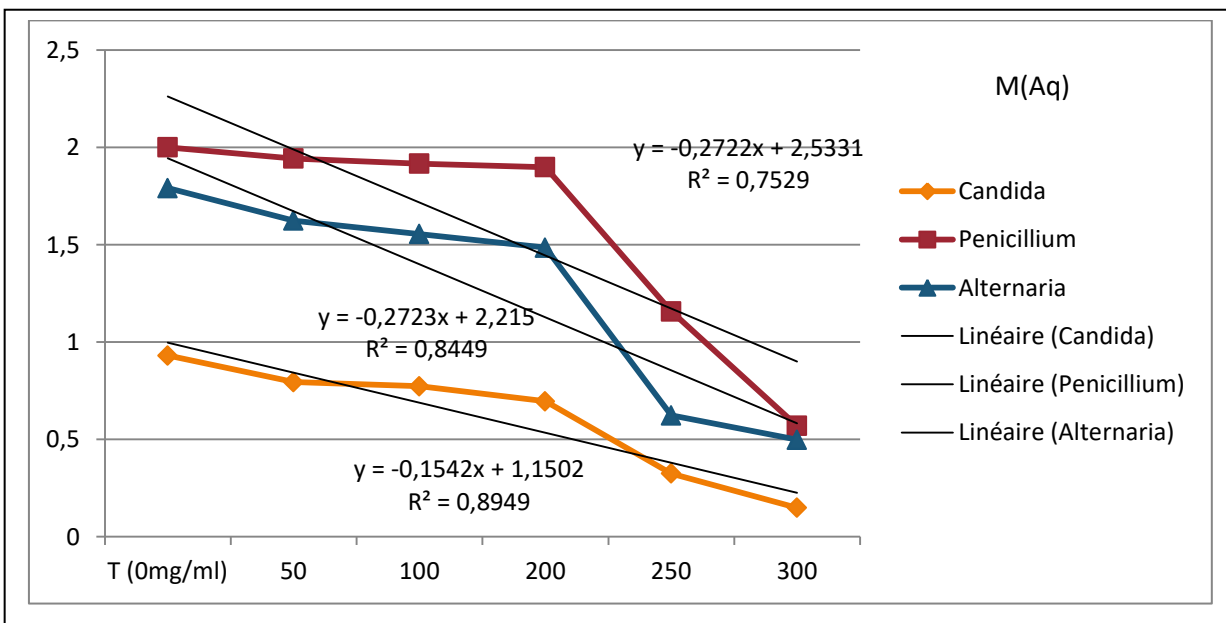
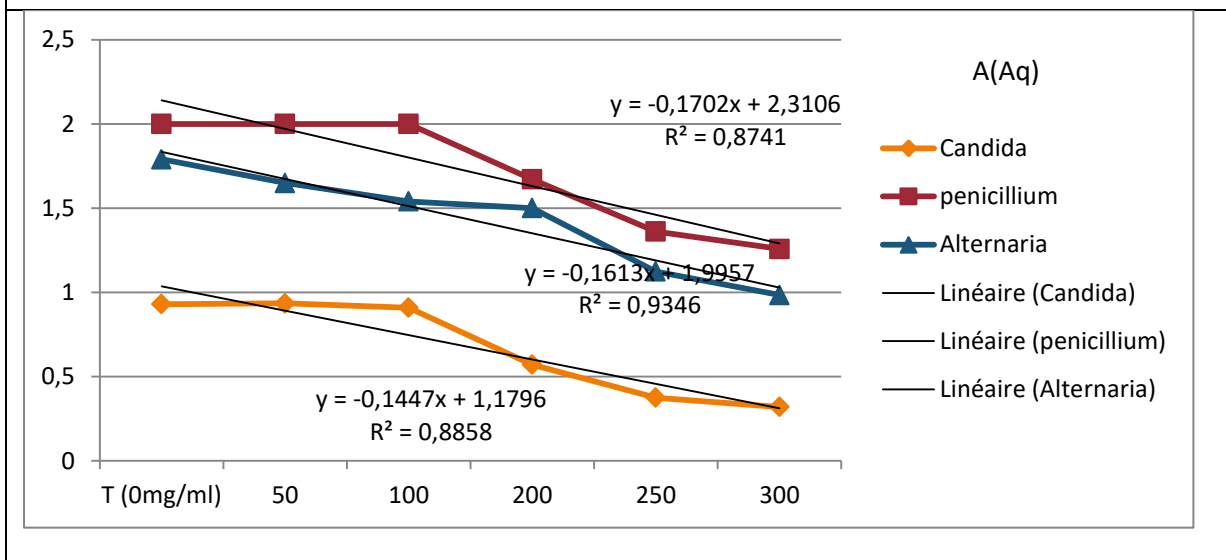
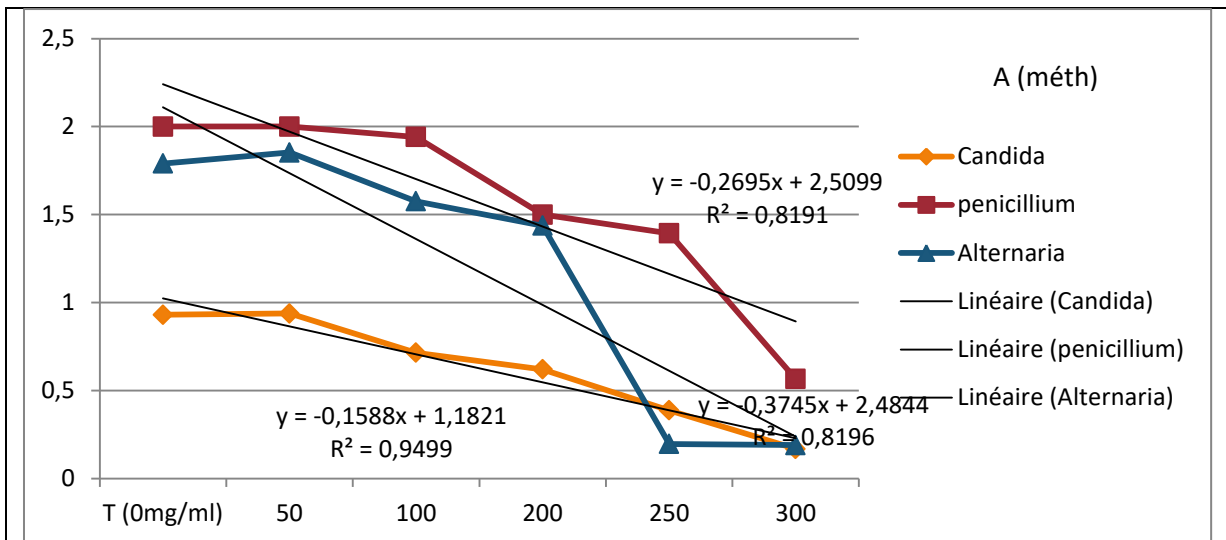
➤ **Annexes 02**

Préparation de milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)

L'infusion de pomme de terre se prépare en faisant bouillir dans l'eau 200g de pommes de terre tranchées (lavées mais non pelées) pendant 20 minutes à 30 min puis en laissant le bouillon, ajoutée 20 g de Saccharose et 15 g d'Agar-agar, ensuite la préparation obtenus est rempliée par l'eau distillé jusqu'à 1litre. Mélangée bien par agitateur avec chaleur jusqu'à solubilité d'Agar-agar ensuite autoclave le milieu.

➤ **Annexes 03**

Résultats de la densité optique de la concentration minimale inhibitrice dans milieu liquide



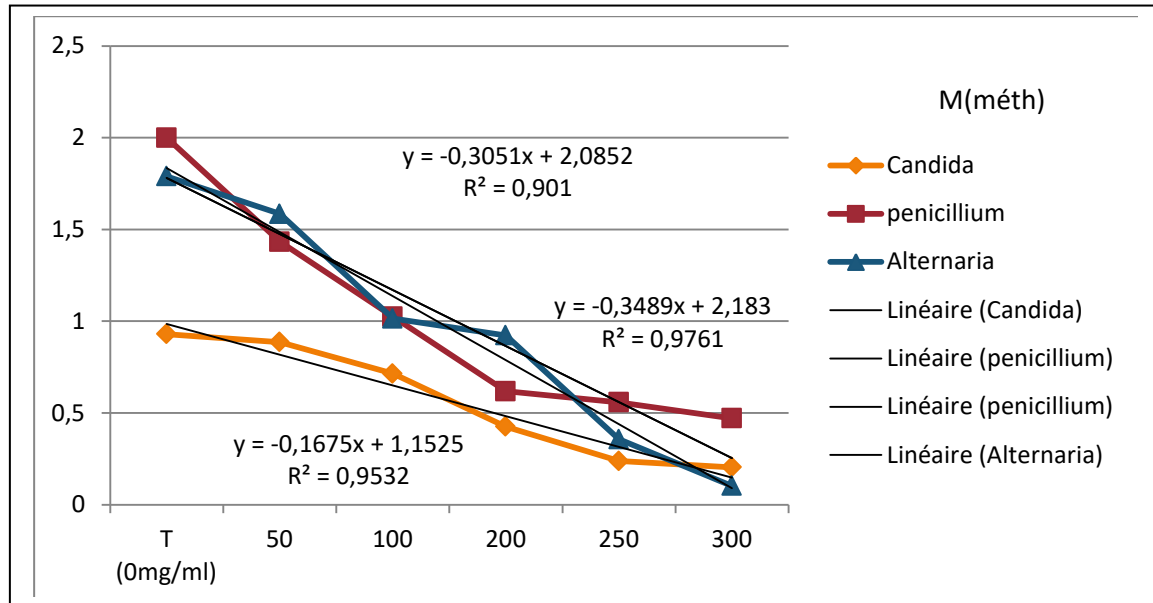


Figure 01 : histogramme représente la densité optique de la concentration minimale inhibitrice (CMI) dans milieu liquide des extraits *M. vulgare* et *A. herba alba*.