

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université des Frères Mentouri Constantine**



جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

UNIVERSITÉ DES FRÈRES  
MENTOURI CONSTANTINE

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et**  
**Cellulaire**

**Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Option Biochimie Appliquée

*Thème*

**Évaluation de quelques activités biologiques de deux genres de la  
famille des Astéracées : *Centaurea papposa* bleu et *Hypochaeris laevigata*  
var *hipponensis***

**Présenté par :**

- BOUAKKAZ Nadia Sara
- AOUADI Djihad

**Devant le jury :**

- |                 |                      |       |
|-----------------|----------------------|-------|
| - Présidente:   | Dr.MOSBAH Asma       | (MCA) |
| - Examinatrice: | Dr.BENCHIHEUB Meriem | (MCB) |
| - Encadrante :  | Dr. BELLIL Inès      | (MCA) |

**Année universitaire 2021/2022**

## Remerciements

*Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.*

*Nos remerciements les plus dévoués vont aux membres du jury : **Dr. BENCHIHEUB MERIEM** et **Dr. MOSBAH ASMA** pour nous avoir honoré de leur présence et leur participation à ce jury.*

*Au terme de ce travail nous adressons également nos sincères remerciements à : **Mme BELLIL INES** et la **doctorante Mlle Bennouchene Djamila** pour avoir dirigé ce travail et accepté de nous encadrer, pour leur conseils et leur orientations.*

*Nous remercions également tous les enseignants du Département des Sciences de La nature et de la vie.*

# *Dédicace*

*Avant tout, je remercie le **BON DIEU** le tout miséricordieux Qui m'a donné la patience et la volonté pour arriver à ce stade et*

*réaliser ce travail, que je dédie aux êtres les plus chères à mon cœur :*

*A la meilleure de toutes les mères, source d'amour et d'affection **JOLANTA MARIA***

*A la prune de mes yeux, l'homme de ma vie mon très cher père **NACER EDDINNE***

*A mon très cher fiancé , qui ma soutenu tout au long de mon travail*

***KHETTABI ANIS HOCINE***

*Mes chers et tendres parents, merci merci et milles merci pour vos prières, pour tout le soutien que vous me portez depuis mon enfance, pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, pour votre amour infini et votre bienveillance jour et nuit, j'espère que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés. Puisse dieu, vous garder à mes côtés le plus longtemps possible. Je vous adore*

*A mon très cher frère : **IMED SKANDER***

*A ma chères sœur : **KARIMA SONIA***

*Que dieu nous garde si tendres et aimants les uns envers les autres*

*Un grand merci et une forte pensée a tous mes autres amis*

*Et collègues que je ne pourrais citer en entier, merci pour Ces merveilleuses années passées  
ensembles*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment ( **NADIA SARA**)*

## **DEDICACES**

**Tout au début, je tiens à remercier le bon DIEU de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce travail que je dédie à:**

**Mes deux mères Arib Sonia , Arib Salima pour leur sacrifice, leurs multiples soutiens, et pour leur affection quotidienne, merci d'être présents dans toutes circonstances. Je pris le tout puissant de vous donner une longue vie et de représenter votre fierté.**

**Ma chère sœur : Khaoula**

**Mon cher frère : wail**

**Mon cher ami : Abd El Rahmane**

**Mes meilleures amies : Oussoua , Batoul**

**Mon binôme et chère amie : Sara**

**Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.**

**Aouadi Djihad**

**Listes des figures**

<b>Figure 1:</b> <i>Centaurea Papposa</i> .....	02
<b>Figure 2:</b> <i>Hypochaeris Laevigata Var</i> .....	04
<b>Figure 3:</b> Une représentation schématique des tannins hydrolysables et condensés ( <b>Krause et al., 2005</b> ). .....	10
<b>Figure 4:</b> La structure de base des anthocyanes.....	10
<b>Figure 5:</b> Quelques exemples des alcaloïdes ( <b>Badiaga, 2011</b> ).....	12
<b>Figure 6:</b> Molécule isoprène .....	13
<b>Figure 7:</b> Préparation des milieux de culture.....	20
<b>Figure 8:</b> Préparation des dilutions d'extrait de plantes.....	20
<b>Figure 9:</b> Ensemencement et dépôt des disques .....	21
<b>Figure 10:</b> préparation de milieu de culture.....	23
<b>Figure 11:</b> Ensemencement et formation des puits dans le milieu de culture .....	24
<b>Figure 12:</b> Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane ( <i>Hypochaeris Laevigata var</i> ).....	27
<b>Figure 13:</b> Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol ( <i>Hypochaeris Laevigata var</i> ).....	28
<b>Figure 14:</b> Activité antibactérienne de l'extrait Acétate-d'éthyle ( <i>Hypochaeris Laevigata var</i> ).....	29
<b>Figure 15:</b> Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	33
<b>Figure 16:</b> Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	34
<b>Figure 17:</b> Activité antibactérienne de l'extrait Acétate-d'éthyle ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	35
<b>Figure 18:</b> Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane ( <i>Hypochaeris Laevigata var</i> ).....	39
<b>Figure 19:</b> Activité antifongique de l'extrait N-butanol ( <i>Hypochaeris Laevigata var</i> .....	40
<b>Figure 20:</b> Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	42

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification systématique de l'espèce <i>Centaurea Papposa</i> .....	03
<b>Tableau 2:</b> Classification systématique de l'espèce <i>Hypochaeris laevigata</i> var.....	05
<b>Tableau 3:</b> Structures des squelettes de base des flavonoïdes ( <b>Crozier et al., 2006 Panche et al., 2016</b> ) .....	08
<b>Tableau 4:</b> La structure des différentes classes des anthocyanes ( <b>Sava et al., 2006</b> ) .....	11
<b>Tableau 5:</b> Classification scientifique du <i>Fusarium</i> .....	18
<b>Tableau 6:</b> Classification des souches bactériennes Gram + / Gram -.....	25
<b>Tableau 7:</b> Activité antibactérienne de Dichlorométhane ( <i>Hypochaeris Laevigata</i> Var).....	25
<b>Tableau 8:</b> Activité antibactérienne de N-butanol ( <i>Hypochaeris Laevigata</i> Var).....	26
<b>Tableau 9:</b> Activité antibactérienne D'acétate-d'éthyle ( <i>Hypochaeris Laevigata</i> Var).....	26
<b>Tableau 10:</b> Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Dichlorométhane .....	30
<b>Tableau 11:</b> Activité antibactérienne de Dichlorométhane ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	31
<b>Tableau 12:</b> Activité antibactérienne de N-butanol ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	31
<b>Tableau 13:</b> Activité antibactérienne D'acétate-d'éthyle ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	32
<b>Tableau 14:</b> Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait acétate d'éthyle.....	36
<b>Tableau 15:</b> Activité antifongique de Dichlorométhane ( <i>Hypochaeris Laevigata</i> Var).....	37
<b>Tableau 16:</b> Activité antifongique de N-butanol ( <i>Hypochaeris Laevigata</i> Var).....	38
<b>Tableau 17:</b> Activité antifongique de Dichlorométhane ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	41
<b>Tableau 18:</b> Activité antifongique de N-butanol ( <i>Centaurea Papposa</i> ).....	41

**Liste des abréviations**

**H.V** : Hypochaeris Laevigata Var

**C.P** : Centaurea Papposa

**OXY** : Oxysporum

**CER** : Cerealis

**CUL** : Culmorum

**F** : Fusarium

**ROS** : Espèces réactives d'oxygènes

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**SM** : Solution mère

**E AC** : Extrait Acétate déthyl

**E N-but** : Extrait Butanol

**E Dich** : Extrait Dichlorométhane

**PDA**: Potato dextrose Agar

# *Sommaire*

<b>Introduction</b> .....	01
---------------------------	----

## **Synthèse Bibliographique**

### **Chapitre 01 : Présentation des plantes étudié**

<b>I – Généralités sur le genre <i>Centaurea</i></b> .....	02
<b>I – 1 – Monographie de l'espèce <i>Centaurea papposa</i></b> .....	02
<b>I – 1 – 1 - Description botanique et répartition géographique dans la méditerranée</b> .....	02
<b>I – 1 – 2 - Classification systématique</b> .....	03
<b>I – 1 – 3 - Travaux antérieurs et usage thérapeutique</b> .....	03
<b>II – Généralités sur le genre <i>Hypochaeris</i></b> .....	04
<b>II – 1 – Monographie de l'espèce <i>Hypochaeris laevigata var.</i></b> .....	04
<b>II – 1 – 1 – Description botanique et répartition géographique dans la méditerranée</b> .....	04
<b>II – 1 – 2 - Classification systématique</b> .....	05
<b>II – 1 – 3 - Travaux antérieurs et usages thérapeutique</b> .....	06

### **Chapitre 2 : Métabolites secondaire**

<b>I – Généralités</b> .....	07
<b>II – Les composés</b> .....	07
<b>II – 1 – Les acides phénoliques simple</b> .....	07
<b>II – 2 – Les flavonoïdes</b> .....	08
<b>II – 3 – Les tannins</b> .....	09
<b>II – 3 – 1 – Tannins hydrolysables</b> .....	09
<b>II – 3 – 2 - Tannins condensés</b> .....	09

II – 4 – Les anthocyanes.....	10
II – 5 – Les alcaloïdes.....	11
II – 6 - Les terpènes .....	12

### Chapitre 3 : les activités biologiques

I – Etude de l'activité antibactérienne .....	14
I – 1 – Généralités sur les souches bactériennes.....	14
I – 1 – 1 – Bactéries à Gram (+) .....	14
I – 1 – 2 – Bactéries à Gram (-) .....	15
I – 2– Différentes méthodes de l'évaluation de l'activités antibactérienne.....	16
I – 2 – 1 – La méthode par diffusion.....	16
I – 2 – 2 – La méthode de dilution .....	17
II – Etude de l'activités antifongique.....	17
II – 1 – Généralités sur les champignons phytopathogènes.....	17
II – 2 – Le <i>Fusarium</i> .....	18
II – 2 – 1 – Classification scientifiques de <i>Fusarium</i> .....	18

### Partie expérimental

#### Chapitre 1 : Matériel et méthodes

I – Activité antibactérienne.....	19
1- Revivification des souches .....	19
2- Stérilisation du matériels.....	19
3- Milieu de culture .....	19
4- Préparation des dilutions des extraits de plantes .....	20
5- Préparation d'inoculum .....	20
6- Ensemencement et dépôt des disques .....	21
7- Lecture .....	21

<b>II – Activité antifongique</b> .....	22
1- Préparation de champignons.....	22
2- Stérilisation du matériels.....	22
3- Préparation de milieu de culture.....	22
4- Préparation des extraits.....	23
5- Ensemencement et formation des puits.....	23
6- Lecture.....	24

## **Chapitre 2 : résultats et discussions**

<b>I- Évaluation de l'activité antibactérienne</b> .....	25
1. Les souches bactériennes.....	25
<b>II- Évaluation de l'activité antifongique</b> .....	37
- Conclusion et perspectives.....	45
- Références bibliographique	

# *Introduction*

## Introduction générale

L'homme ont développé d'extraordinaire plantes médicinales dont la connaissance et l'utilisation [1] thérapeutique sont basées sur l'analyse et l'observation connues sous le nom de la phytothérapie Pendant longtemps les plantes médicinales et leurs préparations constituent la seule source de médicaments. La nature diversifiée par ces habitants est considérée comme une grande usine de fabrication de plantes, celles-ci très diversifiées à leur tour pour la guérison de nos maladies.

En effet il existe environ 500000 espèces de plantes sur terre dont 80000 possèdent des propriétés Médicinales [2]. L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou..., le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres de façon empirique [3].

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. L'Algérie avec ses 237 639 100 ha , ses différentes régions bioclimatiques, écologiques, ainsi que sa diversité spécifique remarquable se classe moyennement avec les connus pour leur diversité taxonomique , écosystémique , paysagère et culturelle , sa position biogéographique privilégiée entre méditerranéens , paléarctiques , Éthiopiens et d'espèces endémiques, ce brassage des espèces constitue à environ 3139 espèces de plantes sauvages , dont plus de 600 espèces possèdent des propriétés médicinales [4].

En se basant sur l'utilisation des plantes appartenant au genre *Centaurea* et *Hypochaeris* en médecine traditionnelle et sur leur grande richesse et diversité en métabolites secondaires essentiellement des composés phénoliques, thérapeutiques, et lignanes, faisant d'elles une source Enfin essentielle de principes actifs, notre recherche a été effectuée dans le but de l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits n-butanol, acétate diethyl et dichlorométhane de ces deux plantes médicinales locales appartenant à deux genres différents en l'occurrence les espèces *Centaurea papposa* et *Hypochaeris laevigata* var.

Notre travail se divise en deux parties : la 1 ère partie est une synthèse bibliographique où nous apportons des généralités sur les plantes étudiées, les métabolites secondaires et les activités biologiques. La 2 ème partie expérimentale est consacrée à l'étude de l'effet antibactérien et antifongique des extraits n-butanol, acétate diethyl et dichlorométhane des plantes *Centaurea papposa* et *Hypochaeris laevigata* var. Enfin une conclusion qui permettra de tirer les perspectives nécessaires pour mieux approfondir ce travail sera donnée.

# Synthèse bibliographique

*Chapitre 01 :*  
*Généralités sur le genres*  
*Centaurea et Hypochaeris*

## **I-Généralités sur le genre *centaurea***

Le genre *Centaurea* est un genre polymorphe, comprend 400 à 700 espèces de plantes herbacées annuelles, bi annuelles et vivaces, rarement des variétés naines, et sa distribution est principalement en Europe et en Asie .

Le genre *Centaurea* est caractérisé par sa capacité à synthétiser les flavonoïdes. qui présentent une activité élevée dans les systèmes vivants, donc avoir un fort intérêt pharmacologique, ce qui explique l'utilisation à long terme du genre en médecine populaire.

### **I-1-Monographie de l'espèce *Centaurea***

#### **I-1-1-Description botanique et répartition géographique dans la méditerranée**

La *Centaurea papposa* est une plante vivace à souche ligneuse, endémique et très rare , son aire de répartition est de la wilaya de Skikda jusqu'au frontières Tunisiennes , mais se localise au niveau de Cape de garde d'Annaba. La tige et les feuilles sont tomenteuses blanchâtres, les feuilles très découpées, les inférieurs bipinnatifides à lobes oblongs, les bractées moyennes de l'involucre lanceolée aiguës : à appendice comprenant des denticulations régulières, non épineuses et en petit nombre.L'inflorescence est un capitule petit de 1 à 1.5 cm de diamètre, disposés en corymbe composé les corolles roses, le fruit est un petit akène, strié à stries blanchâtres et bien apparentes, l'aigrette présente et courte (**1/3 environ de l'akène**) [5].



**Figure 1 :** *Centaurea Papposa*

### **I-1-2-Classification systématique**

Selon **Dupont F. & Guignard J.-L.,2012.** la *Centaurea papposa* appartient à la classification suivante :

**Tableau 1 :** *Classification systématique de l'espèce Centaurea Papposa*

Règne	Plante
Embranchement	Embryophytes
Sous embranchement	Trachéophytes
Super classe	Spermatophytes
Classe	Angiospermes
Grade	Triporéesévoluées
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées

Sous famille	Carduoidées
Tribu	Carduées
Sous tribu	Cardopaturées
Genre	<i>Centaurea</i>
Espèce	<i>Centaurea papposa</i> (coss) Gruttes

### **I-1-3- Travaux antérieurs et usages thérapeutique**

De nombreuses études chimiques antérieures ont été enregistrées sur des espèces appartenant au même genre *Centaurea*, sur les lactones ses quiterpéniques, les flavonoïdes et les alcaloïdes.

## **II- Généralités sur le genre *hypochaeris***

Selon [7]. *Hypochaeris* est un petit genre qui convient environ 50 espèces d'autres part, a rapporté dans une revue systématique de la lactuceae, a proposé 100 espèces pour *Hypochaeris*, dont la plus grande partie sont originaires d'Amérique du sud .

Le genre *Hypochaeris* possède deux centre de diversification : la région Méditerranéenne et l'Amérique du Sud [8]. il émet une hypothèse basée sur l'étude du nombre et de la morphologie des chromosomes, que le genre était le plus probablement originaire de la région méditerranéenne et que l'Amérique du Sud était le second centre de diversification. Le genre *Hypochaeris* est un bon exemple à cet effet : il a deux centres de diversification : les espèces européennes possèdent une gamme de différents nombres de chromosomes alors que les espèces de sud-américaines ont un chromosome basique à nombre unique.

## II-1-Monographie de l'espèce *Hypochaeris*

### II-1-1-Description botanique et systématique de l'espèce *Hypochaeris laevigata* var



**Figure 2 :** *Hypochaeris Laevigata* Var

*Hypochaeris laevigata* var est une plante vivace à souche capiteuse endémique de l'Algérie très commune partout et sur le littoral, se développe généralement sur les roches humides [9].

Les feuilles glauques , radicales en rosette , pétiolées , oblongues , dentées , glabres ou hispides , parfois pinnatifides, les tiges grêles dressés, glabres , et rameuses. L'inflorescence en capitule homogène, multiflore, cylindrique, campanulé, médiocre sur des pédoncules grêles, et non épaisses au sommet , les fleurs hermaphrodites, ligulées, jaunes sombres, les intérieurs deux fois comme l'involucre à bractée soit glabre , soit hispides et parfois hérissé . Le réceptacle plan, paléacé , à écailles caduques. Le pédoncule glabre ou presque. L'akéne côtelé, glabre scarbe ou plus au moins long, les marginaux parfois tronqués l'aigrette formée de soies plumeuses dilatées à la base unisériées, parfois absentes dans les akènes externes [10].

## II-1-2-Classification systématique

Selon Dupont F. & Guignard J.-L.,2012. *Hypochaeris laevigata* var appartient à la classification suivante :

**Tableau 2 : Classification systématique de l'espèce *Hypochaeris laevigata* var**

Règne	Plante
Embranchement	Embryophytes
Sous embranchement	Trachéophytes
Super classe	Spermatophytes
Classe	Angiospermes
Grade	Triporées
Grade	Triporées évoluées

Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Sous famille	Cicoracées/ liguliflores
Tribu	Lactuceae
Sous tribu	Leontodontinae/ Hypochaerinidae
Genre	<i>Hypochaeris</i>
Espèce	<i>Hypochaeris laevigata</i>
Variété	<i>Hypochaeris laevigata</i> var. <i>Hipponensis</i> maire

## II-1-3-Travaux antérieurs et usage thérapeutique

*Hypochaeris Laevigata* Var est importante sur le plan médical, elle a des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuse, antioxydantes [12]. antibactériennes [13]. antifongiques [14]. et antidiurétiques, elle est utilisée pour le traitement de la jaunisse, des rhumatismes, de la dyspepsie, de la constipation, de l'hypoglycémie et des problèmes rénaux dans la pratique médicinale traditionnelle du Tamil Nadu en Inde [15]. Cependant aucune validation scientifique n'a été faite pour cette espèce à des fins médicinales.

*Chapitre 2 : Métabolites  
Secondaires*

## **I- Généralités**

Les plantes synthétisent des composés organiques dits métabolites secondaires (flavonoïdes, tannins , anthocyanes ,....). Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes : d'où la dénomination de métabolites secondaires , par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal et sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Ils ont la capacité de piéger les radicaux libres ou bien les espèces réactives d'oxygène (ROS) [16].

Les métabolites secondaires sont trouvés dans les différentes parties de la plantes (racines, feuilles, graines). En fonction de leur effets biologiques , ils jouent des rôles très importants et très diversifiés de protection , d'attraction et de régulation chez les plantes [17].

Parmi les composés organiques synthétisés par les plantes , on trouve les métabolites secondaires qui ont différentes structures et fonctions notamment dans la protection des plantes contre le stress et les agressions extérieures. Ils ne sont pas aussi importants que les métabolites primaires (carbohydrates , lipides et acides aminés) qui assurent la survie, la croissance et le développement de la plante . Les métabolites secondaires sont répartis en trois principaux groupes : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes [18-19].

## **II- Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des molécules organiques de différentes structures chimiques et rôles physiologiques trouvés essentiellement chez les végétaux . Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et sont présents dans toutes les parties de la plante [20].

### **II-1- Les acides phénoliques simples**

Les acides phénoliques désignent les phénols qui possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles , ils sont considérés comme des bio-précurseurs des autres métabolites secondaires . Ils jouent un rôle très important dans la protection contre le stress oxydatif qui provoque des pathologies dégénératives comme : le cancer, les maladies cardiovasculaires, Alzheimer .... etc.

Les acides phénoliques sont présents en abondance dans les aliments et divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique.

Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide p- coumarique- caféique férulique et sinapique [21].

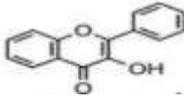
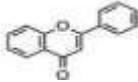
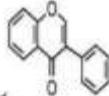
## II-2- Les flavonoïdes

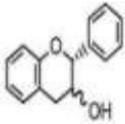
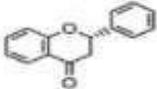
Les flavonoïdes sont des principaux métabolites secondaires des végétaux . Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques ayant une structure benzo- gamma payron et sont omniprésents dans les plantes , ils sont formés à partir des acides aminés aromatiques : phénylalanine , tyrosine et du malonate .La structure de base de flavonoïdes est le noyau flavan , qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles ( C6 ,C3 ,C6 ) [22].

Plus de 4000 molécules de flavonoïdes ont été identifiées, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes de fleurs, de fruits et de feuilles ainsi que d'autre parties végétales, ils ont également un rôle très important pour la santé humaine. A titre d'exemple, ils sont efficaces pour l'inflammation chronique, les maladies allergiques, les maladies coronariennes et le cancer [23-24].

Les flavonoïdes se subdivisent à leur tour en plusieurs types dont les squelettes de base sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau 3 :** Structures des squelettes de base des flavonoïdes [25].

Flavonoïdes	Structure	L'aliment
Flavonol		Les fruits et les végétaux
Flavone		Carottes, poivre vert, thym
Isoflavone		Pois-chiche, légumes

<b>Flavan-3-ol</b>		Noix, fruits et végétaux
<b>Flavanone</b>		Orange, citron
<b>Anthocyane</b>		Raisin, pomme de terre

### II-3- Les tannins

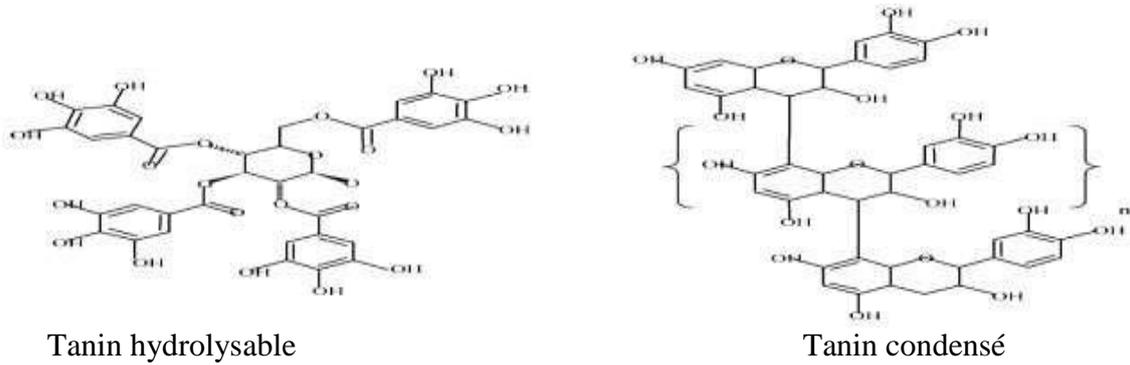
Les tannins ( ou tanins ) sont des substances d'origine végétale , appartiennent aux polyphénols [26]. solubles dans l'eau [27]. leur poids moléculaires [28]. s'étendent de 500 à 3000 DA . Les tannins présentent aussi des propriétés antiseptiques , antibiotiques , astringentes , anti inflammatoires , anti diarrhéiques , hémostatiques et vasoconstrictrices [29]. D'après les tannins jouent également un rôle dans la protection des plantes contre la lumière UV et les radicaux libres et la défense contre les agent pathogènes ( animaux , insectes , champignons et bactéries ).Sur le plan structurel les tannins sont divisés en deux catégories : les tannins hydrolysables et les tannins condensés [30-31-32].

#### II-3-1- Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou ses dérivés en particulier l'acides ellagique [33-34]. (ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase ) [35].

#### II-3-2- Les tannins condensés

Les tannins condensés, polymères d'unité flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysables mais peuvent être oxydées par les acides forts, libérant des anthocyanidies [36]. les tannins condensés sont caractérisés par l'absences de sucre [37].



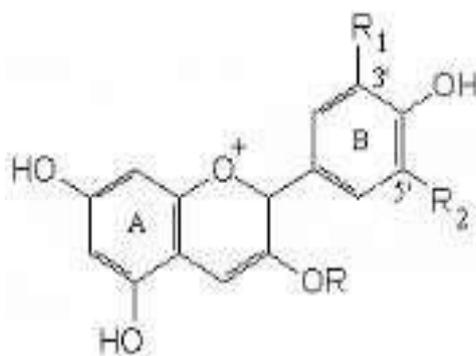
**Figure 3:** Une représentation schématique des tannins hydrolysables et condensés [38].

#### II-4- Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments issus du métabolisme des flavonoïdes. Ils sont responsables de la couleur des feuilles et fruits auxquels ils donnent leur teinte bleu , violet et pourpre [39].

Ils sont localisés dans les vacuoles de cellules de l'épiderme. La dénomination des anthocyanes provient du ( grec anthos = fleur et kianos = bleu ) [40].

les anthocyanes sont des antioxydants qui jouent un rôle important dans le nettoyage de l'organisme des radicaux libres [41].



**Figure 4 :** La structure de base des anthocyanes

Les différentes classes des anthocyanidines sont présentées dans le tableau suivant.

**Tableau 4 :** La structure des différentes classes des anthocyanes [42].

Anthocyanidine	Structure
Cyanidine	
Delphinidine	
Pélagonidine	
Malvidine	
Péonidine	
Pétunidine	

## II-5- Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique à base azotée, basique. Plus souvent hétérocyclique très majoritairement d'origine végétale. Leur dénomination provient (de l'arabe « al kaly » la soude, et du grec « eidos » aspect) et fait référence à leur caractère « alcalin » ou « basique » [43].

Les alcaloïdes sont répartis en 3 types qui sont :

- **Alcaloïdes vrais** : ils sont toxiques et présentent une activité biologique. Ils dérivent d'acides aminés et contiennent un atome d'azote dans un système hétérocyclique [44].
- **Pseudo-alcaloïdes** : ont les mêmes caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne dérivent pas des acides aminés [45]. Ils dérivent de la voie de l'acétate et

d'isoprénoïdes [46].

- **Proto-alcaloïdes** : Ils sont élaborés in vivo à partir des acides aminés, sont des aminessimples. L'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique et ils sont souvent appelés « amines biologiques ». Ils sont solubles dans l'eau [47].

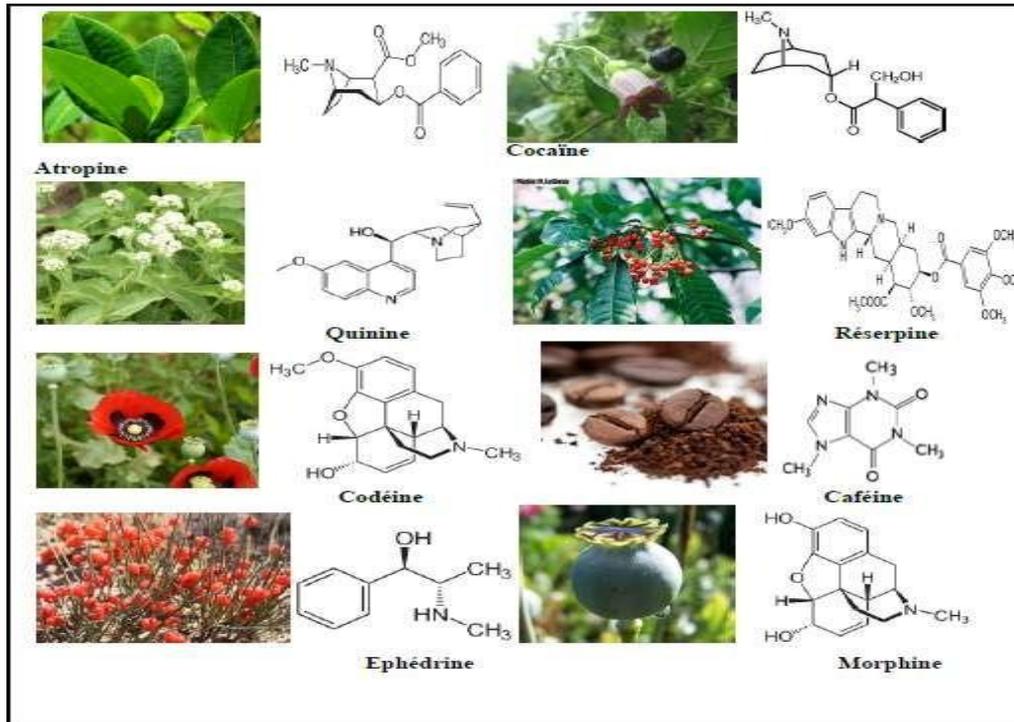
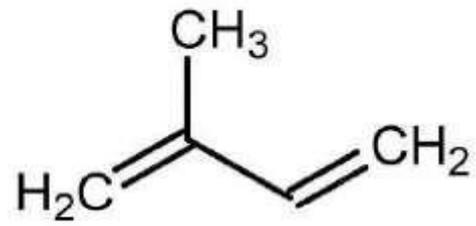


Figure 5 : Quelques exemples des alcaloïdes [48].

## II-6- Les terpènes

Les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires.

Les terpénoïdes sont des composés synthétisés à partir de l'acétyl coa ou malonyl coa . Dans la nature, les terpènes peuvent présenter diverses fonctions chimiques : alcools , oxydes , aldéhydes , cétones, acides carboxyliques et esters. Ils constituent le plus important groupe des produits et comprennent environ 300000 composés [49]. cependant , un grand nombre d'entre eux possède des propriétés antiseptiques [50].



**Figure 6** : Molécule isoprène

## *Chapitre 3 : Activités Biologiques*

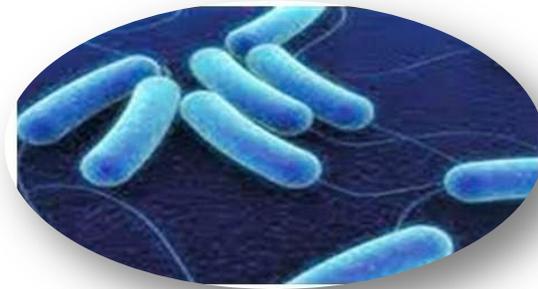
## I – Etude de l'activité antibactérienne

### I – 1– Généralités sur les souches bactériennes

#### I –1-1- Bactéries à gram (+)

##### A) Bacillus :

Les bacillus sont des germes telluriques aérobies stricts ou anaérobies sporogènes , se présentent sous forme de bâtonnets à gram positifs généralement mobiles .Considéré comme inoffensive pour l'homme , pousse rapidement ( 24h ) à température optimale de 37°C [51].



*Bacillus subtilis*

##### B ) Staphylocoque

Il s'agit de cocci réguliers à gram positif , disposés en amas , ces germes cultivent très bien sur milieux ordinaires à 37°C en 24h.Se sont des bactéries sphériques de 0.8 à 1 Um de diamètre, immobiles sporulés , habituellement sans capsule .Ces bactéries sont aérobies et



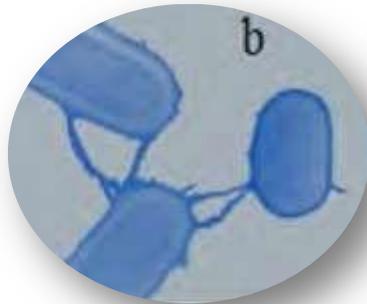
anaérobies [52]

*Staphylococcus aureus*

## I-1-2 – Bactéries à gram ( - )

### A ) *Escherichia coli* ( E.coli )

*E.coli* est un bacilli à Gram négatif le plus souvent mobile et gazogène , ces bactéries sont aérobies et anaérobies , constituant la majeure partie de la flore microbienne aérobie de tube digestive de l'homme et de nombreux animaux . *E.coli* croit après 24h d'incubation à 37°C en donnant des colonies S de 2 à 3 mm de diamètre typiques de celle des entérobactéries [53].



*Escherichia coli*

### B ) *Pseudomonas*

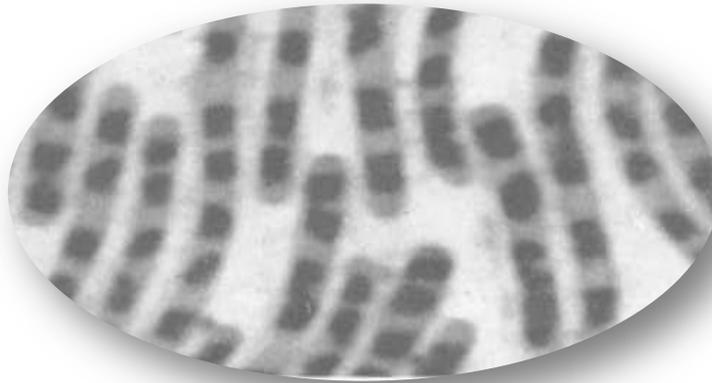
*Pseudo* sont des petit bacilles à Gram négatif , très mobile , capsulés , donnant en 24h à 37°C sur milieux ordinaires des colonies oxydase positives , lisses , petites , rondes , bombées , responsables de deux maladies grave , la morve et la mélioïdose , actuellement rarement rencontrées [54].



*Pseudomonas aeruginosa*

### C ) Proteus

Les Proteus sont des entobactéries , bacilles à Gram négatifs aéro-anaérobies à métabolisme respiratoire et fermentaire , oxydase négatif , nitrate réductase positif , cultivant très facilement sur milieux ordinaires et aussi sur milieux sélectif , sont des entérobactéries : rondes , lisses , à bords réguliers 2-3mm de diamètre en 18-24h à 37°C [55].



*Proteus vulgaris* [56].

## I – 2 - Différentes méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

### I – 2 – 1 – La méthode par diffusion

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'évaluation du pouvoir antibactérienne d'extrait de plantes d'huiles essentielles ou de produits purs parmi elles :

#### A – La méthode de diffusion à partir de disques imprégnés ( méthode de Kirby – bauer )

Cette méthode consiste à imprégner des disques de papier en une quantité définie d'agent antibactérien , puis à les placer sur un milieu de gélose uniformément ensemencé avec l'organisme d'essai . Un gradient de concentration des antibiotiques se forme par diffusion à partir du disque de la croissance de l'organisme d'essai est inhibée à une distance du disque qui est liée entre facteurs à la sensibilité de l'organisme .

## **B- la méthode de diffusion à partir des puits**

Le principe de cette méthode est similaire à celui de la méthode des disques : il consiste à réaliser de puits dans la gélose de 2.5mm de profondeur , qui sont par la suite remplis d'extraits ou d'antibiotique à tester [57-58-59].

La lecture des zones d'inhibition se fait de la même manière que dans la méthode des disques .

### ***I-2-2- Méthode de dilution***

Les techniques de dilution sont utilisés en milieu solide ou liquide . le principe de ces méthodes consiste à mettre en contact un inoculum bactérien standardisé avec des concentration croissantes de la substance antibactérienne testé selon une progression bien définie afin de déterminer la CMI de cette dernière [60].

### **Remarque :**

- S'il ya une croissance bactérienne : l'extrait à un effet bactériostatique sur la souche testée
- S'il ya une absence de la croissance bactérienne : l'extrait présente un effet bactéricide vis-à-vis cette souche

## ***II- Etude de l'activité antifongique***

### ***II-1- Généralités sur les champignons phytopathogènes***

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes . Ces champignons appartiennent au règne des eumycocètes , regroupant un large éventail de groupe des organismes pluricellulaires qui sont les moisissures [61]. Les champignons reste de potentiels producteurs de mycotoxines [62]. et elles sont moins sensibles que les bactéries aux conditions du milieu et résistent bien aux conditions acides du sol [63].

## ***II-2-Le Fusarium***

Les Fusarium sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs , causant des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées [64]. Ces champignons contaminent les céréales , les légumes , les arbres fruitiers provoquant des maladies nommées fusarioses . Ils sont responsables des fontes de semis et contaminent les sols [65].

### ***II-2-1-Classification***

**Tableau 5 : Classification scientifique du *Fusarium* [66].**

<b>Embranchement</b>	<i>Thallophytes</i>
<b>Classe</b>	<i>Deutéromycètes</i>
<b>Ordre</b>	<i>Monodiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Tuberculariacées</i>
<b>Genre</b>	<i>Fusarium</i>

*PARTIE*  
*EXPERIMENTALE*

# *Chapitre 1 : Matériel et Méthodes*

## **I – Activité antibactérienne**

- **Méthode de diffusion sur disque**

L'activité antibactérienne des extraits Dichlorométhane , N-butanolique , Acétate d'éthyle est réalisée *in vitro* par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé selon le protocole décrit par [67].

- **Principe de la méthode**

Le principe de cette méthode se résume en un disque de papier imprégné de l'extrait à différentes concentrations, déposé directement sur la gélose, uniformémentensemencée avec le germe à tester. La croissance du germe est inhibée à une distance du disque par rapport à sa sensibilité à l'extrait diffusé. La limite de la zone d'inhibition est détectée à l'œil nu et s'accorde à l'endroit où la croissance bactérienne commence [68]. L'interprétation de la zone d'inhibition se fait à l'aide d'une règle en fonction des diamètres donnés dans un tableau, ainsi les germes sont classés en « sensibles », « intermédiaires » ou « résistants » [69].

### **1-Revivification des souches**

Dans le milieu gélose nutritive pendant 24h

### **2-Stérilisation du matériels**

Le matériels ( les tubes à essai , les disques en papiers Wattman , la gélose nutritive , les eppendorfs , les embouts des micropipettes ) à été stérilisé en premier à l'aide d'une cocotte-minute

### **3- Milieu de culture**

Le milieu de culture utilisé est le Muller-Hinton . La gélose est bouillie jusqu'à la dissolution complète dans un bain marie , le milieu de culture est par la suite coulé dans les boites de pétri , puis laissé se refroidir



**Figure 7 :** Préparation des milieux de culture

#### **4- Préparation des dilutions des extraits de plantes**

Les extraits des plantes obtenus sont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) , pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100 mg/ml.



**Figure 8 :** Préparation des dilutions d'extrait de plantes

#### **5 – Préparation d'inoculum**

Les souches bactériennes ont été mises en culture dans les bouillons nutritifs , leur densité doit être équivalente à 0.5Mc Ferland . L'inoculum peut être donc ajusté , soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort .

## 6 – Ensemencement et dépôt des disques

Les suspensions bactériennes ont été étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide des écouvillons. Les disques imprégnés des extraits (10 microlitre) sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile ainsi que les disques imprégnés de DMSO ( témoins négatif ) Les boites de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C , l'expérience est répétée deux fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.



*Figure 9* : Ensemencement et dépôt des disques

## 7- Lecture

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibition au tour des disques . Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (Ponce et al., 2003)

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- ✓ Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm.

## II – Activité antifongique

L'activités antifongique des différents extraits des plantes (*H.V*), (*C.P*) à été évaluée sur la croissance des champignons phytopathogène

### 1-Préparation de champignon

Les isolats de *Fusarium* ont été cultivés sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour être réactivés et incubés durant 3 jours à 27°C à l'obscurité .

### 2- Stérilisation du matériels

### 3-Préparation de milieu de culture

Le choix d'un milieu de culture adéquat est indispensable au bon développement du pathogène, dans notre expérimentation on à utilisé le milieu PDA car il assure de bonnes conditions de cultures pour le *fusarium* . Un volume de 150 ul de solution de DMSO pour chaque concentration d'extrait sec a été ajouté à 20 ml de milieu PDA préalablement préparé . De même 150 ul de DMSO a été ajouté à 20 ml de milieu PDA elle à été considéré comme un contrôle positif.

Le mélange (PDA + extrait) / ( PDA + DMSO ( témoin )) a été coulé dans des boîtes de Pétri , ces dernières sont mises se refroidir à température ambiante . Pour préparer les différentes concentrations utilisées dans le test antifongique , on procède à une série de dilution de 140 mg.ml<sup>-1</sup> ,70 mg.ml<sup>-1</sup> , 35mg.ml<sup>-1</sup> des extraits N.E but / E AC / Dich avec 150 ul de DMSO



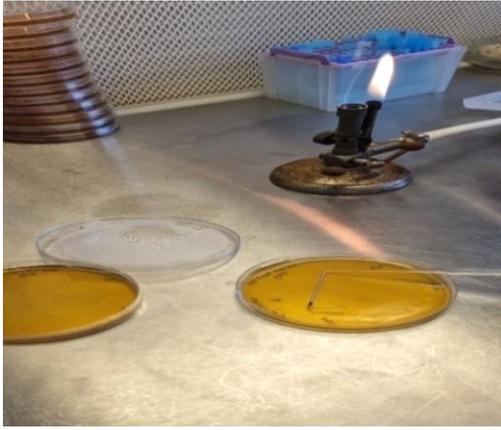
**Figure 10** : préparation de milieu de culture

#### **4-Préparation des extraits**

Pour préparer les différentes concentrations utilisées dans le test antifongique, on procède à une série de dilution de  $140 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $70 \text{ mg.ml}^{-1}$ ,  $35 \text{ mg.ml}^{-1}$  de manière à obtenir une gamme de concentration finale dans les cupules comprises entre 140 et 35  $\text{mg.ml}^{-1}$  pour les extraits EBut / EAc / Dich, Chaque concentration d'extrait préparé avec 150ul de DMSO dans des tubes à essai puis le contenu a été agité pour être homogénéisé ensuite a été mise en contact avec 20 ml de milieu PDA.

#### **5-Ensemencement et formation des puits**

Ensemencement de la surface de milieu de culture PDA avec la solution qui contient les trois souches fongiques (*Cerealis*, *Culmorum*, *Oxysporum*) Après refroidissement et solidification de milieu de culture des puits mycéliens de 08mm de diamètre d'une jeune colonie des souches fongiques sont déposés dans la boîte de Pétri sur le milieu PDA semi-solide et stérile contenant l'extrait préalablement stérilisé + DMSO (4 puits par boîte). Il est à signaler que chaque concentration a été répliquée 3 fois Les boîtes de pétri ont été incubées à  $37^\circ \text{C}$  de 24H.



*Ensemencement*



*formation des puits*

*Figure 11* : Ensemencement et formation des puits dans le milieu de culture

## 6-Lecture

La croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée à l'échelle millimétrique et les résultats ont été exprimés en diamètre moyen des colonies de champignon.

*Chapitre 2 : Résultats  
et discussion*

## I- Evaluation de l'activité antibactérienne

### 1- Les souches bactériennes

**Tableau 6** : Classification des souches bactériennes Gram + / Gram -

<i>Bactéries à Gram +</i>	<i>Bactéries à Gram -</i>
<i>Les Bacillus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Les Staphylocoques</i>	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Proteus</i>

### Activité antibactérienne des extraits concentrés (*Hypochoeris Laevigata Var*).

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition sont observées. Les résultats notés sont les moyennes des ensembles des diamètres du même essaie.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 7** : Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata Var*)

représentée par les zones d'inhibition mesurées en mm

<b>DICH</b>	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques</i>	<i>Proteus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Pseudomonas</i>
SM	15.5	14	11	12.5	11
½	12.5	7	7.5	12	10.5
¼	11.5	6	7	8.5	9

**Tableau 8** : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata Var*)

représentée par les zones d'inhibition mesurées en mm

<b>N-but</b>	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SM	8	6	7.5	10	7
½	7.5	6	8.5	8.5	6.5
¼	6	6	6.5	10	6.5

**Tableau 9** : Activité antibactérienne de l'extrait D'acétate-d'éthyle (*Hypochoeris Laevigata Var*) représentée par les zones d'inhibition mesurées en mm

<b>ACE T</b>	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques aureus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SM	8.5	11	11	12	12
½	7	7	9.5	8.5	10.5
¼	6.5	6.5	7.5	6.5	9

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition sont observées indiquant que tous les extraits concentrés ont une activité antibactérienne.

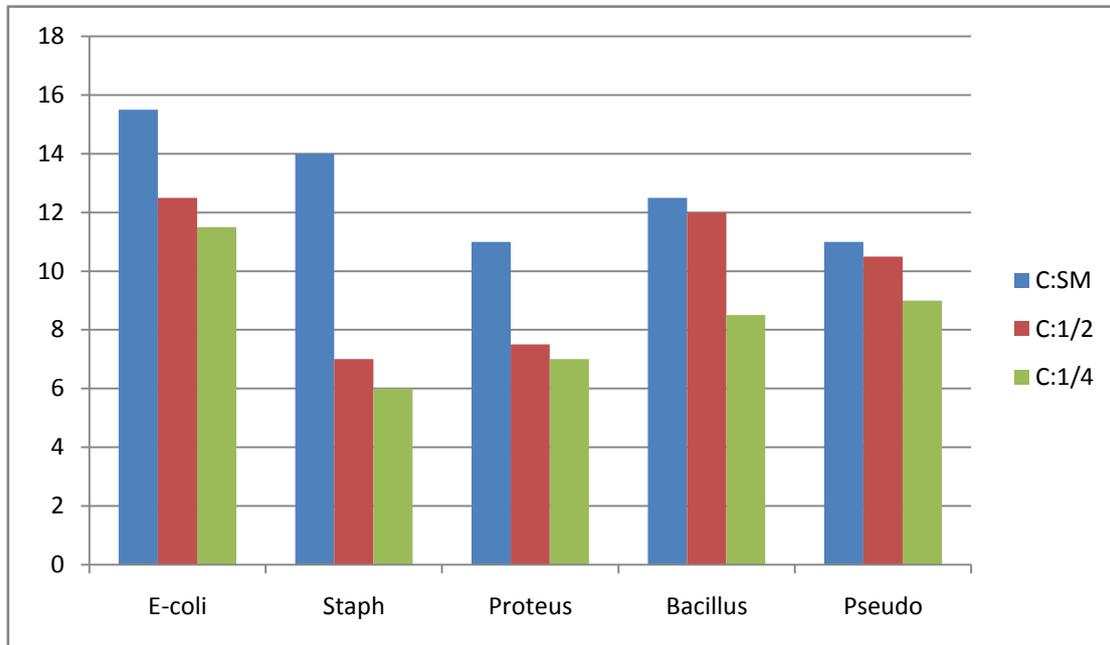
Les diamètres d'inhibition obtenus se trouvent entre 6,0 à 15,5 mm, les extraits sont actifs à différents degrés sur l'ensemble des bactéries testées.

La plus grande zone d'inhibition est celle de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata Var*) envers la souche bactérienne *Escherichia Coli* avec un diamètre de 15.5 mm .

La plus petite zone d'inhibition est celle de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata Var*) vis-à-vis de la souche *Staphylocoques* avec 6.0 mm de diamètre.

### Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata* Var)

L'activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane de l'espèce *Hypochoeris Laevigata* Var est représentée dans la figure suivante :



**Figure 12 :** Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata* var).

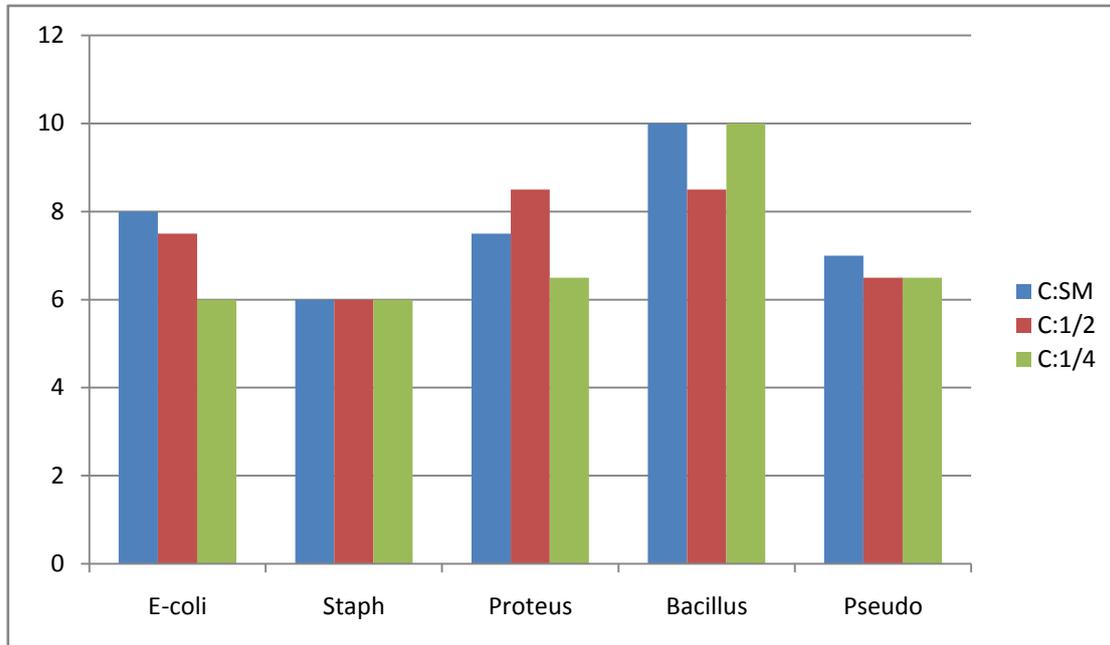
Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2, 1/4,) montrent que ces derniers ont un effet envers les souches testées *E-Coli* , *Bacillus* et *Pseudo* .

On observe un meilleur effet antibactérien envers les souches *E-Coli* avec la concentration initiale (SM) de l'extrait qui présente l'effet maximal d'inhibition (15.5 mm )

Les autres dilutions du même extrait pour la même souche possède une activité car le diamètre est supérieure à 8 mm ; seuil à partir duquel on peut parler d'une activité antibactérienne

### Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata* Var)

L'activité antibactérienne de l'extrait *N-butanol* de l'espèce *Hypochoeris Laevigata* Var est représentée dans la figure suivante :



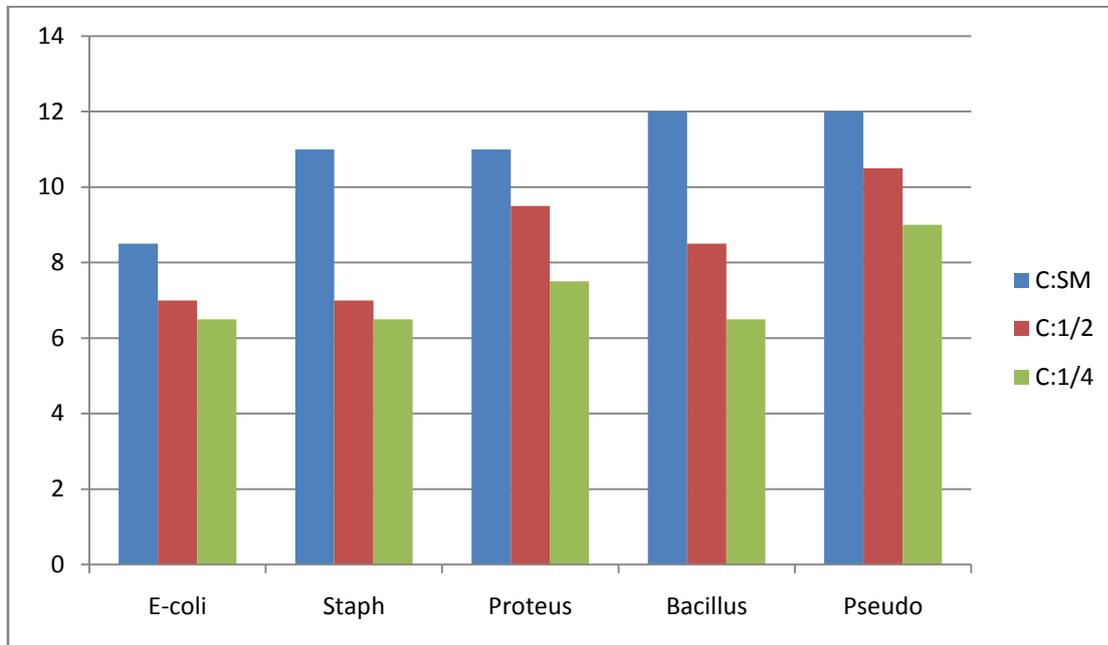
**Figure 13 :** Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata* var).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2 , 1/4 ) montrent que ces derniers n'ont aucun effet antibactérien envers les souches testées.

On observe un effet antibactérien envers les souches *E-Coli* et *Bacillus* testées avec la concentration initiale (SM). Egalement un effet antibactérien est positif avec la dilution 1/2 contre deux souches (*Proteus* , *Bacillus* ).

### Activité antibactérienne de l'extrait Acétate- d'éthyle (*Hypochoeris Laevigata Var*)

L'activité antibactérienne de l'extrait *Acétate- d'éthyle* de l'espèce *Hypochoeris Laevigata Var* est représentée dans la figure suivante :



**Figure 14 :** Activité antibactérienne de l'extrait Acétate-d'éthyle (*Hypochoeris Laevigata var*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2, 1/4,) montrent que ces derniers n'ont aucun effet envers les souches testées *E-Coli* , *Staph* , *Proteus* et *Bacillus* .

On observe effet antibactérien envers toutes les souches avec la concentration initiale (SM) de l'extrait ( $\geq 8$  mm) .

Egalement un effet antibactérien est positif avec la dilution 1/2 contre les souches (*Proteus* , *Bacillus* et *Pseudo* ) , et (*Pseudo* ) avec la dilution 1/4

**Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Dichlorométhane ( *Hypochoeris Laevigata Var* )**

**Tableau 10 :** Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Dichlorométhane

	<b>Souches bactériennes</b>	<b>Dichlorométhane</b>
<b>Gram +</b>	<i>Staphylocoques</i>	14 mm
	<i>Bacillus</i>	12.5 mm
<b>Gram -</b>	<i>Escherichia coli</i>	15.5 mm
	<i>Proteus</i>	11 mm
	<i>Pseudomonas</i>	11 mm

Selon le tableau ci-dessus, les souches bactériennes testées sont apparues de sensibles à très sensibles vis-à-vis de l'extrait Dichlorométhane . Cela montre clairement que cet extrait exerce une activité antibactérienne sur les cinq souches étudiées, *Bacillus* , *Proteus* et *Pseudomonas* avec une zone d'inhibition de 12.5 mm , 11mm , 11 mm respectivement et *Escherichia coli* et *Staphylocoques* se sont montrées très sensibles au même extrait , avec un diamètre d'inhibition de 15.5 mm , 14 mm respectivement. Cela peut être expliqué par le fait que l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante *Hypochoeris Laevigata Var* est due aux différents métabolites présents dans cet extrait y compris les composés lipidiques , et les pigments qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs [70] .D'autres chercheurs ont montré que l'activité antibactérienne est dûe à la nature des bactéries de Gram- ou Gram+ qui est liée à la différenciation dans la structure membranaire de ces bactéries et aussi au mode d'extraction ( La variation du rendement d'extraction donc peut être expliqué par la différence de solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, à leur degré de polymérisation ) .

L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié traduit l'action bactériostatique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait à une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm [71].

#### Activité antibactérienne des extraits concentrés (*Centaurea Papposa*)

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition sont observées. Les résultats notés sont les moyennes des ensembles des diamètres du même essaie.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 11** : Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*)

représentée par les zones d'inhibition mesurées en mm

<b>DICH</b>	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques</i>	<i>Proteus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SM	12	11.5	11.5	12.5	15
½	6	7.5	9	8.5	11.5
¼	6	7.5	8	8.5	8

**Tableau 12** : Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Centaurea Papposa*)

représentée par les zones d'inhibition mesurées en mm

<b>N-but</b>	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SM	8.5	7.5	10	7.5	9.5
½	7	7	8	6.5	8
¼	6.5	7	6	6.5	6.5

**Tableau 13** : Activité antibactérienne de l'extrait D'acétate-d'éthyle (*Centaurea Papposa*) représentée par les zones d'inhibition mesurées en mm

<b>ACE T</b>	<i>Escherichia. Coli</i>	<i>Staphylocoques</i>	<i>Proteus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SM	7	11	15.5	15.5	14
½	6	6	12	8.5	11.5
¼	6.5	6	10	9	11. 5

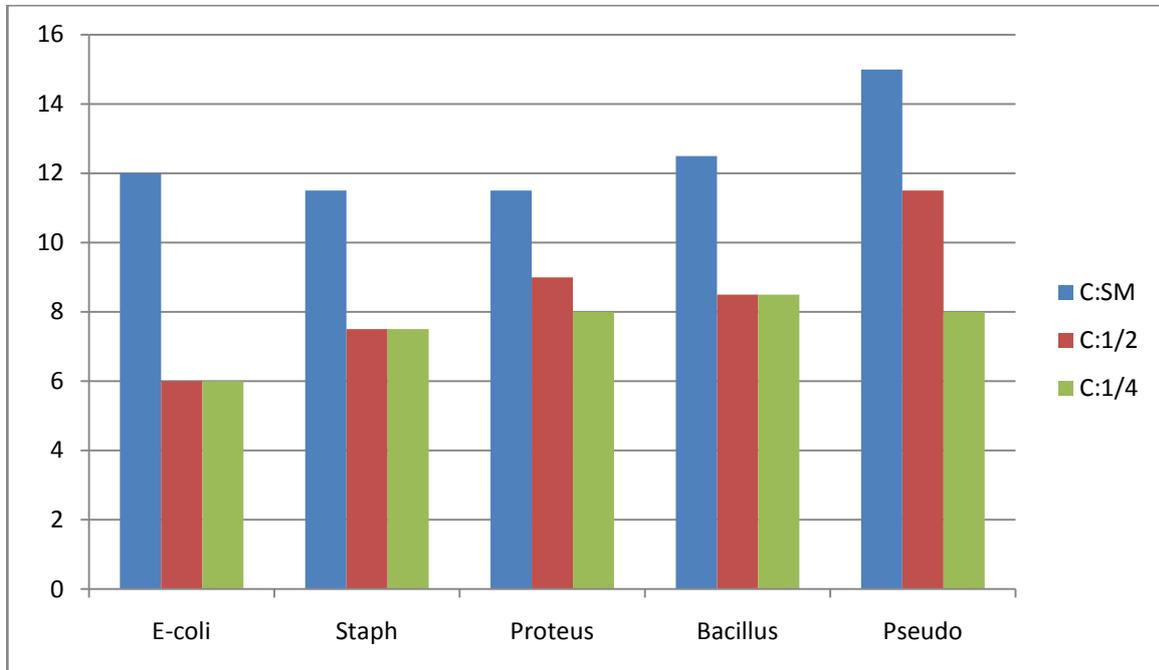
Les diamètres d'inhibition obtenus se trouvent entre 7,0 à 15,5 mm, les extraits sont actifs à différents degrés sur l'ensemble des bactéries testées.

La plus grande zone d'inhibition est celle de l'extrait Acétate d'éthyle (*Centaurea Papposa*) envers les deux souches bactériennes *Proteus* et *Bacillus* avec un diamètre de 15.5 mm .

La plus petite zone d'inhibition est celle Acétate d'éthyle (*Centaurea Papposa*) vis-à-vis de la souche *Escherichia coli* avec 7.0 mm de diamètre.

### Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*)

L'activité antibactérienne de l'extrait *Dichlorométhane* de l'espèce *Centaurea Papposa* est représentée dans la figure suivante :



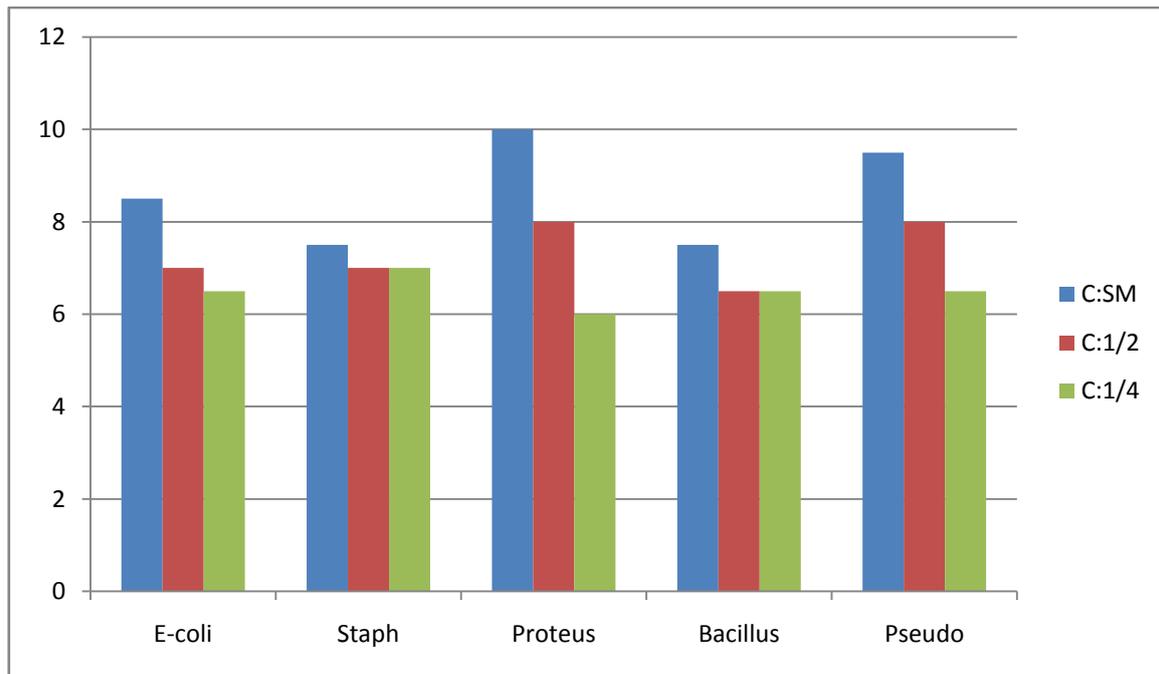
**Figure 15 :** Activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2, 1/4,) montrent que ces derniers ont un effet envers les souches testées *Proteus*, *Bacillus* et *Pseudo*.

On observe un effet antibactérien envers toutes les souches avec la concentration initiale (SM) de l'extrait ( $\geq 8$  mm).

### Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Centaurea Papposa*)

L'activité antibactérienne de l'extrait *N-butanol* de l'espèce *Centaurea Papposa* est représentée dans la figure suivante :

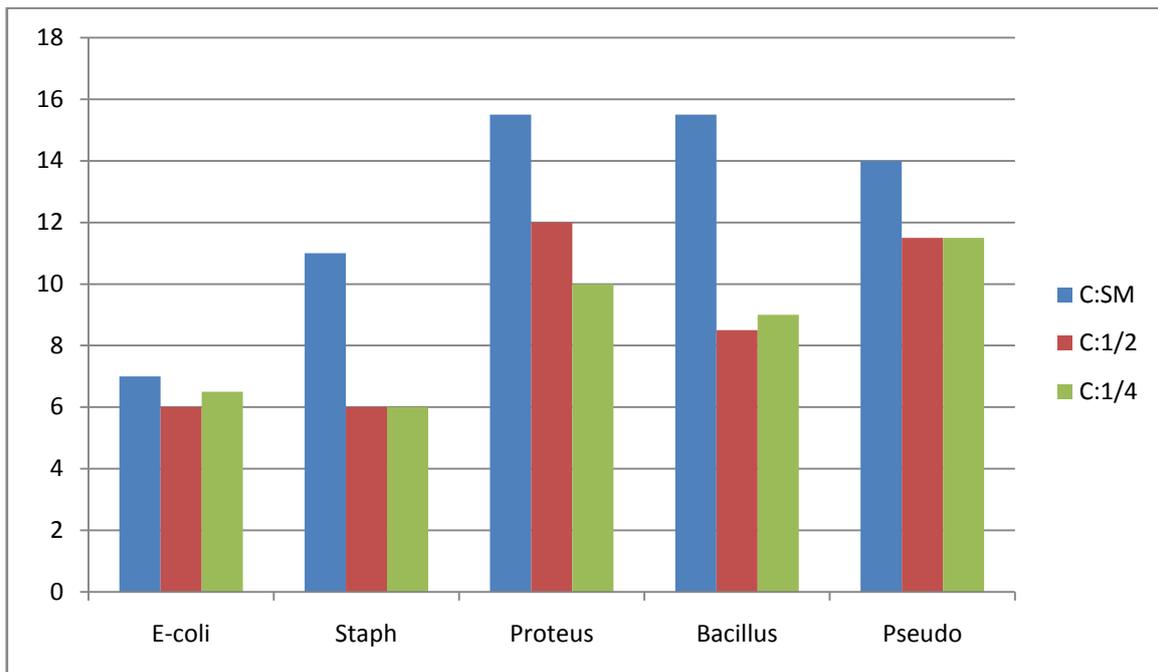


**Figure 16 :** Activité antibactérienne de l'extrait N-butanol (*Centaurea Papposa*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2 , 1/4 ) montrent que toutes les souches n'ont aucun effet antibactérien envers les souches testées.

On observe un effet antibactérien envers les souches *E-Coli* et *Proteus* et *Pseudo* testées avec la concentration initiale (SM). Egalement un effet antibactérien est positif avec la dilution 1/2 contre deux souches (*Proteus* , *Pseudo* ).

### Activité antibactérienne de l'extrait Acétate d'éthyle (*Centaurea Papposa*)



**Figure 17 :** Activité antibactérienne de l'extrait Acétate-d'éthyle (*Centaurea Papposa*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2, 1/4,) montrent que ces derniers ont un effet envers les souches testées *Proteus*, *Bacillus* et *Pseudo*.

On observe un meilleur effet antibactérien envers les souches *Proteus* et *Bacillus* avec la concentration initiale (SM) de l'extrait qui présente l'effet maximal d'inhibition (15.5 mm)

Les autres dilutions du même extrait pour la même souche possèdent une activité car le diamètre est supérieure à 8 mm ; seuil à partir duquel on peut parler d'une activité antibactérienne.

**Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait Acétate d'éthyle ( *Centaurea Papposa* )****Tableau 14 :** Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'extrait acétate d'éthyle :

	<b>Souches bactériennes</b>	<b>Acétate d'éthyle</b>
<b>Gram +</b>	<i>Staphylocoques</i>	11 mm
	<i>Bacillus</i>	15.5 mm
<b>Gram -</b>	<i>Escherichia coli</i>	7 mm
	<i>Proteus</i>	15.5 mm
	<i>Pseudomonas</i>	14 mm

Selon le tableau ci-dessus et les figures ci-dessous, les souches bactériennes testées sont apparues de sensibles à très sensibles vis-à-vis de l'extrait Acétate d'éthyle . Cela montre clairement que cet extrait exerce une activité antibactérienne sur les cinq souches étudiées, *Staphylocoques* et *Pseudomonas* avec une zone d'inhibition de 14 mm , 11mm respectivement , *Bacillus* et *Proteus* se sont montrées très sensibles au même extrait , avec un diamètre d'inhibition de 15.5 mm . Cela peut être expliqué par le fait que l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante *Centaurea Papposa* est due aux différents agents chimiques présents dans cet extrait y compris les flavonoïdes, les tannins et les triterpènes principalement les saponosides . D'autres chercheurs ont montré que l'activité antibactérienne est dûe à la nature des bactéries de Gram- ou Gram+ qui est liée à la différenciation dans la structure membranaire de ces bactéries et aussi au mode d'extraction ( La variation du rendement d'extraction donc peut être expliqué par la différence de solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, à leur degré de polymérisation ) et la concentration du principe actif .

L'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié traduit l'action bactériostatique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm [72].

#### Activité antifongique des extraits concentrés (*Hypochoeris Laevigata* Var)

L'activité antifongique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. En effet, les composés antifongiques majeurs chez les végétaux peuvent appartenir à différentes classes de métabolites secondaires telles que : les acides phénols, les quinones, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les terpenoïdes, les alcaloïdes, les saponosides, les lectines ou encore les polypeptides.

Dans cette étude, on a tenté de comparer l'influence de 2 extraits ( n-butanol, dichlorométhane ), sur la croissance mycélienne de champignon pathogène du genre *Fusarium* dans le but d'estimer l'évolution de la croissance mycélienne, par la mesure du diamètre de la colonie mycélienne du champignon.

La lecture a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibition au tour des puits.

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition sont observées. Les résultats notés sont les moyennes des ensembles des diamètres du même essai.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 15** : Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata* Var).

DICH	<i>F. Culmorum</i>	<i>F. Oxysporum</i>	<i>F. Cerealis</i>
SM	16.3	18.6	20.3
½	12.6	11	16.3
¼	10.3	8	11

**Tableau 16** : Activité antifongique de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata Var*).

<b>N-but</b>	<i>F. Culmorum</i>	<i>F.Oxysporum</i>	<i>F.Cerealis</i>
SM	15.6	14	14.6
½	13	12.3	11.6
¼	11.6	10	8.6

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition sont observées indiquant que tous les extraits concentrés ont une activité antifongique.

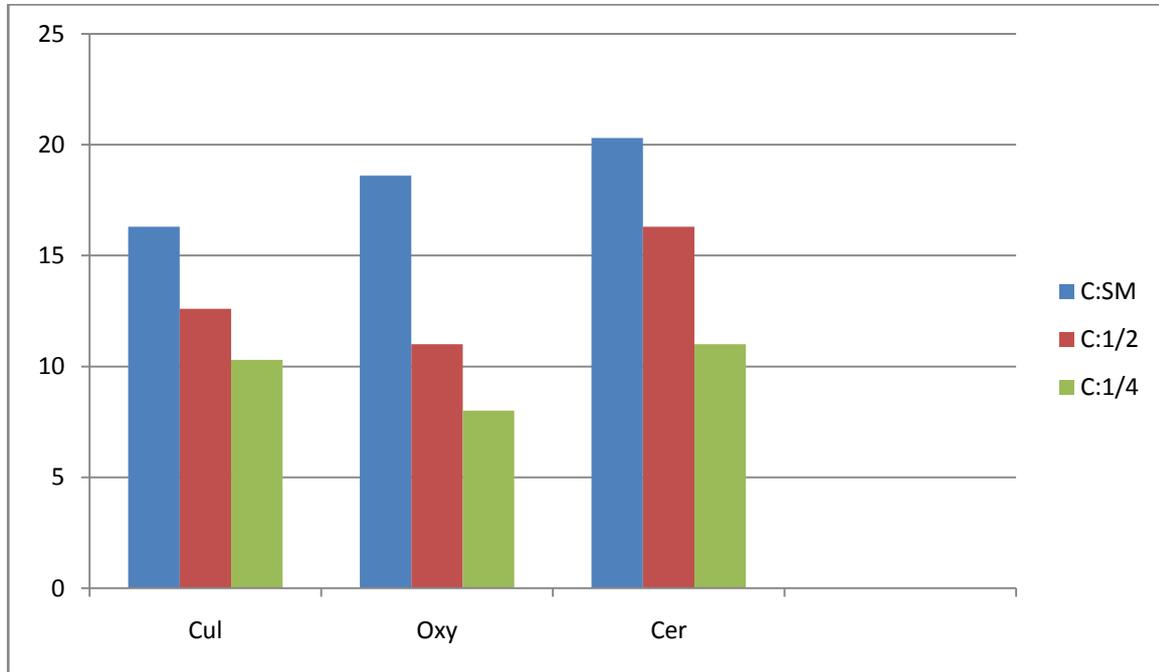
Les diamètres d'inhibition obtenus se trouvent entre 14 à 20.3 mm, les extraits sont actifs à différents degrés sur l'ensemble des champignons testés.

La plus grande zone d'inhibition est celle de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata Var*) envers le champignon *F.Cerealis* avec un diamètre de 20.3 mm .

La plus petite zone d'inhibition est celle du N-butanol (*Hypochoeris Laevigata Var*) vis-à-vis du champignon *F.Oxysporum* avec 14 mm de diamètre.

### Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata* Var)

L'activité antifongique de l'extrait *Dichlorométhane* de l'espèce *Hypochoeris Laevigata* Var est représentée dans la figure suivante :



**Figure 18:** Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochoeris Laevigata* var).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2, 1/4,) montrent que ces derniers ont un effet envers les champignons testées *F.Culmorum* . *F.Cerealis*

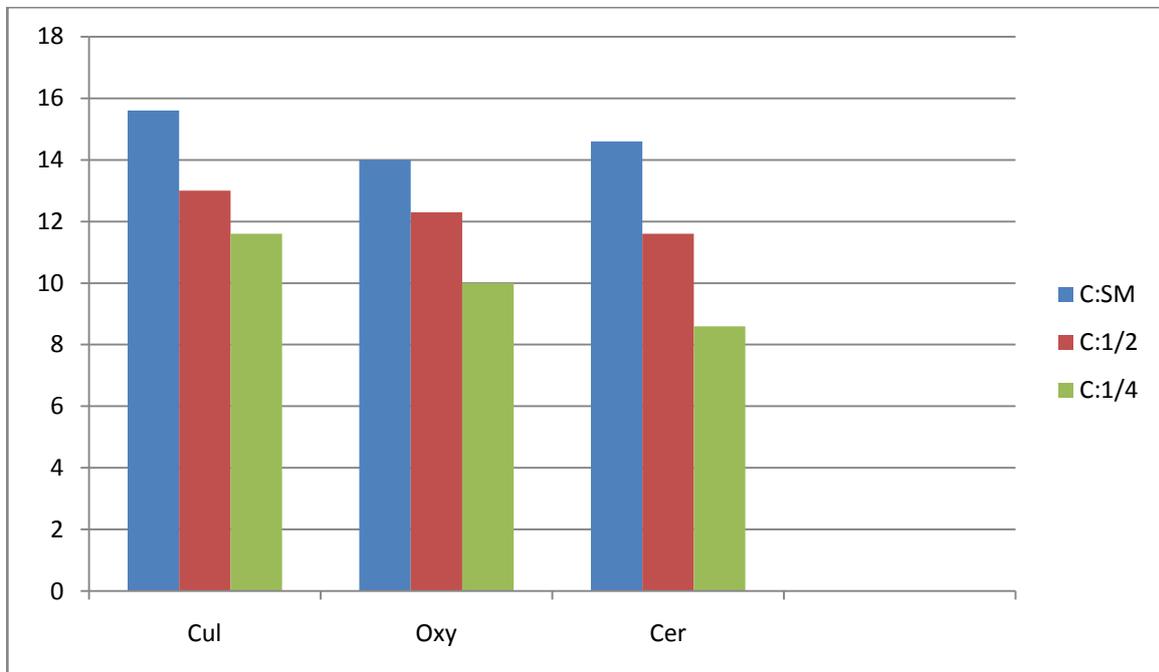
On observe un meilleur effet antifongique envers le champignon *F.Cerealis* avec la concentration initiale (SM) de l'extrait qui présente l'effet maximal d'inhibition ( 20.3 mm )

Les autres dilutions du même extrait pour le même champignon possèdent une activité car le diamètre est supérieur à 8 mm ; seuil à partir duquel on peut parler d'une activité antifongique .

Egalement un effet antifongique est positif avec la dilution 1/2 contre le champignon *F.Oxysporum*.

### Activité antifongique de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata Var*)

L'activité antifongique de l'extrait *N-butanol* de l'espèce *Hypochoeris Laevigata Var* est représentée dans la figure suivante :



**Figure 19** : Activité antifongique de l'extrait N-butanol (*Hypochoeris Laevigata var*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2 , 1/4 ) montrent que tous les champignons ont un effet antifongique .

On observe un effet antifongique envers les champignons *F.Culmorum* .  
*F.Cerealis* et *F.Oxysporum* testés avec la concentration initiale (SM).

- D'après les tableaux et les figures précédents :

On remarque que les meilleurs résultats sont obtenues par l'extrait N-butanol sur les trois souches fongiques testées , la croissance mycélienne de souche fongique testée (*F.Culmorum*) augmente en fonction de concentration (140 mg/ml, 75 mg/ml, 35mg/ml ). D'après les résultats nous avons noté que la concentration de 140 mg/ml donne l'inhibition la plus élevée sur la croissance (15.6 mm), celle du témoin est égale à 8 mm.Ce qui se diffère aux autres concentrations ( 75mg/ml ,35mg/ml ) qui ont montré un effet léger sur la croissance mycélienne (13mm , 11.6mm respectivement).

**Activité antifongique des extraits concentrés (*Centaurea Papposa*)****Tableau 17** : Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*).

<b>DICH</b>	<i>F. Culmorum</i>	<i>F.Oxysporum</i>	<i>F.Cerealis</i>
SM	14.3	10	8
½	14.6	13.3	10
¼	16.3	13.6	12.3

**Tableau 18** : Activité antifongique de l'extrait N-butanol (*Centaurea Papposa*).

<b>N-but</b>	<i>F. Culmorum</i>	<i>F.Oxysporum</i>	<i>F.Cerealis</i>
SM	13	12	10
½	15.6	14.6	11
¼	13.6	11.6	8.5

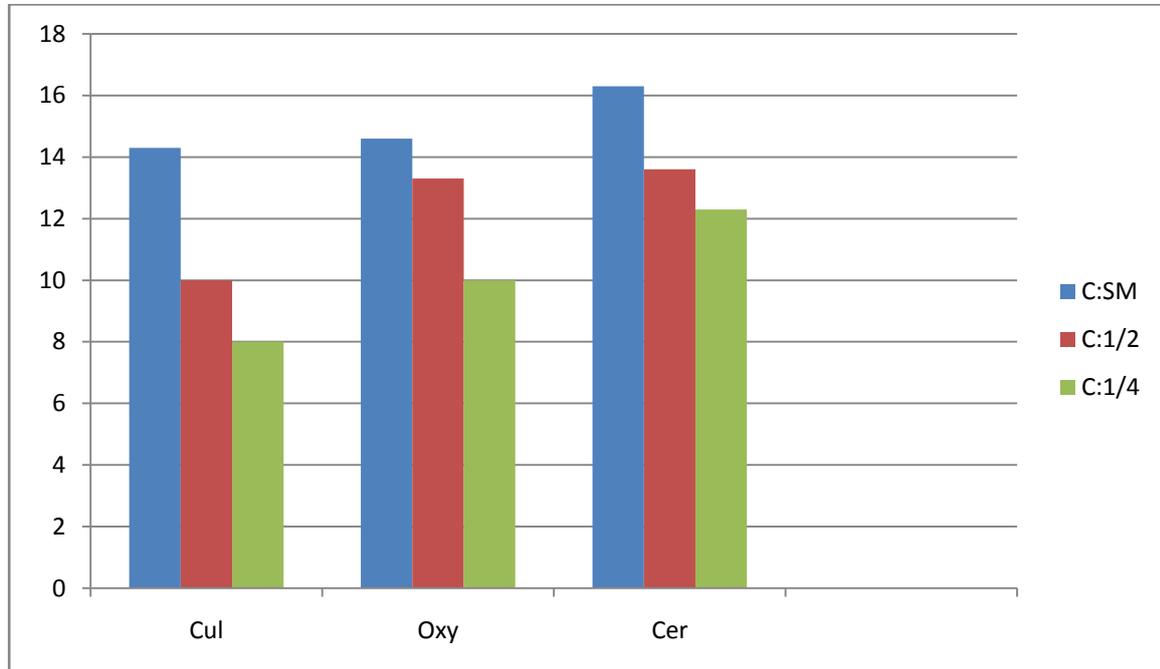
Les diamètres d'inhibition obtenus se trouvent entre 8,0 à 14,3 mm, les extraits sont actifs à différents degrés sur l'ensemble des champignons testés.

La plus grande zone d'inhibition est celle de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*) envers le champignon *F.Culmorum* avec un diamètre de 14.3 mm .

La plus petite zone d'inhibition est celle de même extrait (*Centaurea Papposa*) vis-à-vis du champignon *F.Cerealis* avec 8.0 mm de diamètre.

**Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*)**

L'activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane de l'espèce *Centaurea Papposa* est représentée dans la figure suivante :



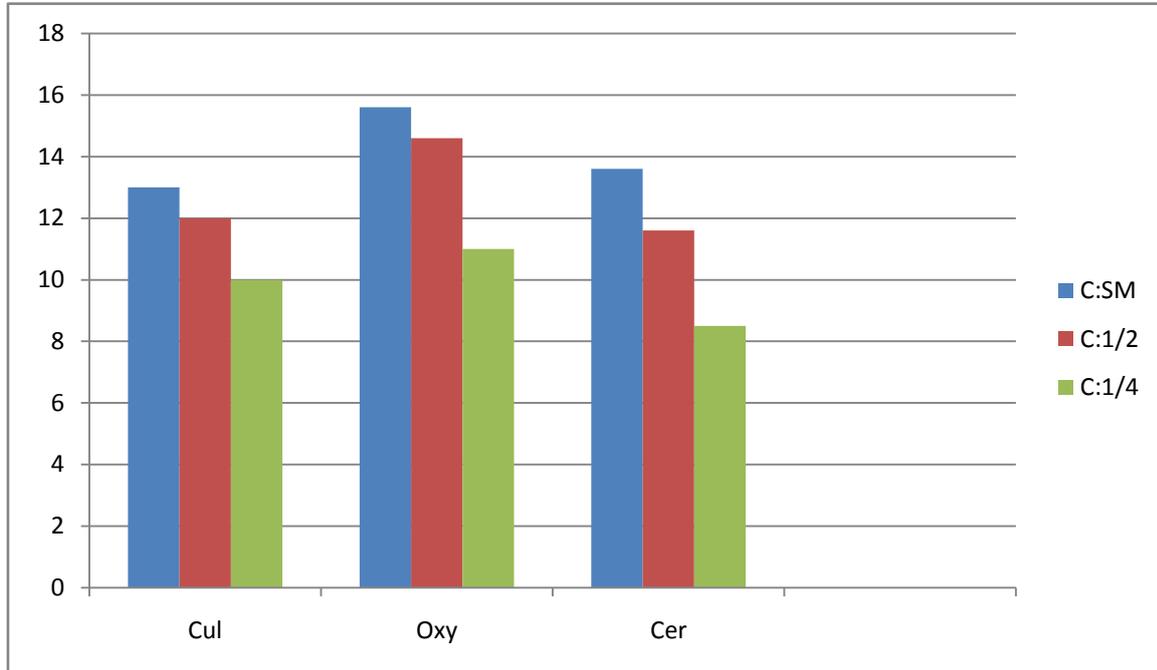
**Figure 20** : Activité antifongique de l'extrait Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2 , 1/4 ) montrent que toutes les dilutions ont un effet antifongique .

On observe un effet antifongique envers les champignons *F.Culmorum* , *F.Oxysporum* testés avec la concentration initiale (SM) ainsi un effet maximal d'inhibition envers le champignon *F.Cerealis* ( 16.3 mm ).

### Activité antifongique de l'extrait N-butanol (*Centaurea Papposa*)

L'activité antifongique de l'extrait *N-butanol* de l'espèce *Centaurea Papposa* est représentée dans la figure suivante :



**Figure 21** : Activité antifongique de l'extrait N-butanol (*Centaurea Papposa*).

Les résultats concernant les extraits non concentrés ou dilués (1/2 , 1/4 ) montrent que toutes les dilution ont un effet antifongique .

On observe un effet antifongique envers les champignons *F.Culmorum* , *F.Oxysporum* , *F.Cerealis* testés avec la concentration initiale (SM) .

- D'après **les tableaux et les figures** précédents :

On remarque que les meilleurs résultats sont obtenues par l'extrait Dichlorométhane sur les trois souches fongiques testées , la croissance mycélienne de souche fongique testée (*F.Oxysporum* ) augmente en fonction de concentration (35 mg/ml, 75 mg/ml, 140 mg/ml ). D'après les résultats nous avons noté que la concentration de 140 mg/ml donne l'inhibition la plus élevée sur la croissance (14 mm), celle du témoin est égale à 8 mm. Ce qui se diffère aux autres concentrations ( 75mg/ml ,35mg/ml ) qui ont montré un effet léger sur la croissance mycélienne (12.3mm , 10 mm respectivement).

*Conclusion et  
perspective*

L'Algérie présente un patrimoine végétal important par sa richesse et sa biodiversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes. Cette richesse floristique est considérable et comporte des milliers d'espèces de plantes qui présentent divers intérêts médicaux et autres. Les plantes médicinales font l'objet des recherches scientifiques en vue de les valoriser comme source de substances naturelles bioactives.

L'activité antibactérienne de l'extrait Dichlorométhane, N-butanol et acétate d'éthyle est évaluée par la méthode des disques contre cinq souches de Gram + et Gram - qui sont les suivantes *Les bacillus*, *Staphylocoques*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*. Les résultats ont indiqué que l'extrait Dichlorométhane (*Hypochaeris Laevigata Var*) et Acétate d'éthyle (*Centaurea Papposa*) ont un effet bactériostatique sur toutes les souches testées ; cette action est traduite par l'apparition des zones d'inhibition autour du disque imprégné.

Ensuite, l'activité antifongique des différents extraits (Dichlorométhane, n-butanol) est testée vis-à-vis des champignons pathogènes *F.Culmorum*, *F.Oxysporum*, *F.Cerealis* par la méthode des puits sur milieu gélosé et la détermination de taux d'inhibition. Nous avons noté que la variation de taux d'inhibition est en fonction de nombreux facteurs, notamment la nature et la concentration de l'extrait. Les résultats ont indiqué que l'extrait N-butanol (*Hypochaeris Laevigata Var*) et Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*) ont un effet antifongique sur les champignons.

En général, on peut conclure que nos deux plantes sont riches en métabolites secondaires ce qui leur confère une valeur thérapeutique et médicinale importante, mais cette étude reste préliminaire et pas indicative sur le mécanisme réel par lequel agissent ces plantes, et elle ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement actives.

Les résultats de la présente étude donnent un aperçu général sur le potentiel antibactérien et antifongique des extraits de ces plantes. Donc des études sur ces extraits méritent d'être poursuivies et les perspectives qui en résultent sont de:

- Poursuivre les études sur les activités biologiques des espèces du genre *Centaurea* et *Hypochaeris* afin d'améliorer des antibiotiques à partir des extraits de ces plantes.

- Etudier d'autres activités de ces genres (anti-inflammatoire, anticancéreuse) afin de confirmer ou d'infirmer l'activité biologique attribuée à ces espèces.
- Déterminer le mode d'action de ces substances. Il serait aussi très utile de tester leur toxicité *in vivo* dans le but de mettre en place des traitements naturels de maladies infectieuses mieux tolérés.

# Références Bibliographiques

- [1] **Dellile L., 2007.** Les plantes médicinales d'Algérie. Edition BERTI . Alger, 122.
- [2] **Quyoun A., 2003.** Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base. Thèse de Doct. Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc. 110p.
- [3] **Satapathy K.K., Mohanty A.K., Natesan U., Prasad M.V and Sarkar S.K., 2009.** Seasonal variation in physicochemical properties of coastal waters of Kalpakkam, east coast of India with special emphasis on nutrients. Environ Monit Assess. 2010 May;164(1-4):153-71. doi: 10.1007/s10661-009-0882-0. Epub 2009 Apr 29.
- [4] **Mokkadem A., 1999.** Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. In Revue Vie et Nature N 07, 199. Pp. 24-26. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen. Algérie.
- [5] **Quézel P. & Santa S., 1962.** Nouvelle Flore d'Algérie et des Région Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.
- [6] **Dupont F. & Guignard J.-L., 2012.** Botanique. Les familles des plantes. Abrégés de Pharmacie. 15<sup>ème</sup> édition. Elsevier Masson. 301p.
- [7] **Stebbins G. L., 1971.** Chromosomal changes, genetic recombination and speciation. Pp. 107-111 in E. ARNOLD, ed. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London.
- [8] **Stebbins G. L., 1971.** Chromosomal changes, genetic recombination and speciation. Pp. 107-111 in E. ARNOLD, ed. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London.
- [9] **Quézel P. & Santa S., 1962.** Nouvelle Flore d'Algérie et des Région Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.
- [10] **Quézel P. & Santa S., 1962.** Nouvelle Flore d'Algérie et des Région Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.
- [11] **Dupont F. & Guignard J.-L., 2012.** Botanique. Les familles des plantes. Abrégés de Pharmacie. 15<sup>ème</sup> édition. Elsevier Masson. 301p.
- [12] **Jamuna S., Paulsamy S., Karthika K., 2012.** Screening of in vitro antioxidant activity of methanolic leaf and root extracts of Hypochaeris (Asteraceae). J Appl Pharm Sci, 2 (7) (2012), pp.149-154.
- [13] **Jamuna S., Paulsamy S. et Karthika K., 2013 a.** In-vitro antibacterial activity of leaf and root extracts of Hypochaeris (Asteraceae) – a medicinal plant species inhabiting the high hills of Nilgiris, the Western Ghats. Int J Pharm Pharm Sci, 5(1)(2013), pp. 175-178.
- [14] **Jamuna S., Paulsamy S. et Karthika K., 2013 b.** In Vitro antifungal activity of leaf and root extracts of the medicinal plant, Hypochaeris L. International Journal of Pharmacy and pharmaceutical Sciences ISSN-0975-1491. Vol 5, Issue 3, 2013. Pp. 785-761.
- [15] **Pullaiah T., 2006.** Encyclopedia of world medicinal plants, Regency publication, New

Delhi (2006), pp. 1-525.

- [16] **Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Kim, S. K. (2002).** Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, 163(6), 1161-1168.
- [17] **Weston, L. A., & Mathesius, U.(2013).** Flavonoids: Their Structure, Biosynthesis and Role in the Rhizosphere, Including Allelopathy. **Journal of Chemical Ecology**, 39(2), 283-297.
- [18] **Crozier, A., Clifford, M.N., & Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. **Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK.** 384p.
- [19] **Naik, PM. Et Al-Khayri, JM. (2016).** Impact of Abiotic Elicitors on In vitro Production of Plant Secondary Metabolites: A Review, **Journal of Advanced Research in Biotechnology.**
- [20] **Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation. Lavoisier. Paris. 1120p.
- [21] **Pandey, K.B., and Rizvi, S.I., 2009.** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. P 270-278.
- [22] **Stalikas, C.D., 2007.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007. 30, 3268–3295.
- [23] **Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K., and Leeuwen, P., 2001.** Flavonoids, a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Society for Clinical Nutrition*. 74: 418-425.
- [24] **Crozier, A., Clifford, M.N., & Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. **Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK.** 384p.
- [25] **Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids : an overview. **Journal of Nutritional Science**, 5.
- [26] **Berthod, A., Billardello, B., and Geoffroy, S., 1999.** Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separational analysis. *EDP sciences, Wiley-VCH*. 27, 750-75.
- [27] **Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O., and Iwatsuki, K., 2001.** Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* jac. 48 (4):487-491.
- [28] **Cowan, 1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 12(4) :564- 570.

- [29] **Ali-dellile, L., 2013.** Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Edition Alger. 6-11.
- [30] **Haslam, E., 1994.** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* 41, 41-66.
- [31] **Clifford, M., and Scalbert, A., 2000.** Ellagitannins-nature, occurrence and dietary burden. *Sci. Food Agric.* 80: 1118-1125.
- [32] **Santos-Buelga, C., and Scalbert, A., 2000.** Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Sci. Food Agric.* 80 :1094-1117.
- [33] **Cowan, 1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.* 12(4) :564- 570.
- [34] **O'Connell, J.E., Fox, and P.F., 2001.** Signification and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk dairy products. *International Dairy Journal.* 11(3) : 103-120.
- [35] **Ribéreau-Gayon, P., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. Paris. Pp : 173-201.
- [36] **Hopkins, W.G., 2003.** Physiologie végétale. 2<sup>ème</sup> édition américaine, de Boeck et Lancier S.A, Paris : 514.
- [37] **Krause, D. O., Smith, W. J. M., Brooker, J. D., & McSweeney, C. S. (2005).** Tolerance mechanisms of streptococci to hydrolysable and condensed tannins. ***Animal Feed Science and Technology.*** 121(1-2),59-75.
- [38] **Allal, A., 2016.** Etude phytochimique et activités antioxydantes de quelques extraits d'une plante de la région de Tlemcen : *Psoralea bituminosa*. Mémoire de master. Chimie. Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaid. Algérie. Page :16.
- [39] **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales, technique et documentation, p.266-275-2<sup>ème</sup> édition. Lavoisier. Paris.
- [40] **Amrani Joutei, K., et Yves Glories. (1994).** « Etude En Condition Modèles de l'extractibilité Des Composés Phénoliques Des Pellicules et Des Pépins de Raisins Rouges. » ***OENO One*** 28(4) : 303.
- [41] **Jachman and Smith. (1996).** Anthocyanins and betalains, in natural food colorants. 2<sup>nd</sup> ed., eds., G.A.F. Hhendry and **J.D Houghton, Glasgow, UK: Blackie Academic and professional,** pp. 244-309.

- [42] Sava, C., Sirbu, R., and Dumitrescu, C. (2006). « Analyse quantitative et qualitative des anthocyanes dan des produits naturels. » **Scientific Study & Research** VII (4) : 785-98.
- [43] Donatien, K. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes – extraction identification d’alcaloïdes –Caractérisation, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydant. Thèse de doctorat : chimie organique. Université Paul Verlaine de METZ-UPV-M. France. Page : 24,65.
- [44] Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.
- [45] Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.
- [46] Rakotonanahary, M. (2012). Thèse présentée pour l’obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d’état, université Joseph Fourier,p16, 19, 27, 28.
- [47] Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.
- [48] Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.
- [49] Janoussi, B., Romdhane, M., Abderraba, A., Ben Hassine, B., El Gadri, A., and Flavour Fragrance, J., 2005. 20,274
- [50] Klaas, C.A., Wagner, G., Laufer, S., Sosa, S., Loggia, R.D., Bomme, U., PAHL, H.L., and Merfort, I., 2002. Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from Arnica flowers, *Planta Med.* 68, 385-391.
- [51] Livre Bactériologie Médicale page 353.
- [52] Livre Bactériologie Médicale page 274.
- [53] Livre Bactériologie Médicale page (316-326).
- [54] Livre Bactériologie Médicale page 224.
- [55] Livre Bactériologie Médicale page 117.
- [56] Robinow, C. F. (1944). Cytological observations on bact. Coli, Proteus vulgaris and various aerobic spore-forming bacteria with special reference to the nuclear structures. **Journal of**

**Hygiene**,43(06), 413-423.

- [57] **Carbonnelle, B. (1988)**. Bactériologie médicale, techniques usuelles. Paris, 330.
- [58] **Collins., Lync. (1976)**. Microbiological methods. 4<sup>th</sup> edition, 234-247.
- [59] **Vandepitte, J., Engbaek, E., Plot, P., Heuk, CC.(1994)**. Bactériologie Clinique : techniques de base pour le laboratoire O.M.S. Genève, 62-64.
- [60] **Burnichon, N., Texier A. (2003)**. L'antibiogramme : la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. **DES bactériologie**.
- [61] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Fungi> (consulté le 12/09/2021).
- [62] **Quillien,J.F., 2002**.Les mycotoxine In “programme 5th Framework Programme under the Quality of Life and Management of Living Resources,key Action 1”.Paris: INRA.24p.
- [63] **Delahaye, N. F., Rusakiewicz, S., Martins, I., Ménard, C., Roux, S., Lyonnet, L., Minard-Colin, V. 2011**. Alternatively spliced NKp30 isoforms affect the prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Nature medicine*, 17(6), 700.
- [64] **Benhamou, N., Rey P., Cherif, M., Hockenhull J., Tirilly, Y., 1997**. Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum f. sp. radicis- lycopersici*. *Phytopathology* 87,108–121.
- [65] **Trenholm, H. L., Prelusky, D. B., Young, J. C. and Miller, J. D., 1988**. « Reducing Mycotoxins in Animal Feed »,Publication 1827E, No. A63-1827/1988E, Agriculture Canada Ottawa,p 22.
- [68] **Massiaen, C.M., Cassini, R., 1981**.Taxonomy of *Fusarium*.In”*Fusarium*;Disease , Biology and Taxonomy”.Pennsylvania State University Park,427-445.
- [69] **Biondi,D.,Cianci,P.,Geraci,C.,Ruberto,G.,&Piattelli,M.(1993)**.Antimicrobialactivityand chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants.*Flavour and fragrance journal*, 8(6), 331-337.
- [70] **Bauer, A., (1966)**. W. and others Antibiotic susceptibility testing by standardised single disc method.*Am. J. Clin. Pathol*, 45, 493.
- [71] **Ericsson, HM., Sherris, JC. (1971)**. Antibiotic sensitivity testing. *Acta Pathol.Microbial,Scand., suppl.*, 217.
- [72] **Marjorie, M. C. (1999)**. Plant products as antimicrobial agents.*Clin Microbiol Rev.* 12 (4):564-582.
- [73] **Sagdiç, O. (2003)**. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols.*Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36: 467-473.

**Sagdiç, O. (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oreganohydrosols.*Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36: 467-473

# *Résumés*

<b>Année universitaire : 2021-2022</b>	<b>Présenté par : Bouakkaz Nadia Sara</b> Aouadi Djihad
<b>Evaluation de quelques activité biologiques de deux genres de la Famille des Astéracées : <i>Centaurea papposa</i> bleu et <i>Hypochaeris laevigata</i> var <i>hipponensis</i></b>	
Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée	

**Résumé :**

*Hypochaeris* et *Centaurea* sont des plantes endémiques appartenant à la famille des *Astéracées*, localisée au niveau de toute l'Algérie pour (*Hypochaeris Laevigata* Var) et de cape de garde d'Annaba pour (*Centaurea Papposa*). leur richesse en métabolites secondaires nous a conduit à procéder à leurs extractions par le méthanol ; puis l'extrait méthanolique est fractionné en utilisant des solvants à polarité croissante.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits : Dichlorométhane, N-butanol et Acétate d'éthyle, utilisant la méthode de diffusion par disques pour l'activité antibactérienne sur cinq souches à Gram- à Gram+, et la méthodes des puits pour l'activité antifongique sur trois souches fongiques phytopathogènes. les résultats ont révélé que les souches bactériennes sont très sensibles vis-à-vis de l'extrait Dichlorométhane (*Hypochaeris Laevigata* var) et Acétate d'éthyle (*Centaurea Papposa*) avec des zones d'inhibitions importantes et les souches fongiques sont sensibles aux extraits N-butanol (*Hypochaeris Laevigata* Var) et Dichlorométhane (*Centaurea Papposa*).

Les deux plantes étudiées et d'après leur effets antibactérien et antifongique sont riche en métabolites secondaires ce qui leur confère une valeur thérapeutiques et médicinales importante.

Les résultats de la présente étude donnent un aperçu général sue le potentiel antibactérien et antifongique des extraits de ces plantes. Donc des études de ces extraits méritent d'êtres poursuivies

**Mots clés :** *Hypochaeris Laevigata* var, *Centaurea Papposa*, Activité antibactérienne, Activité antifongique.

**Membres du jury**

**Présidente : Dr.Mosbah Asma (MCA)**

**Encadrante : Dr.Bellil Ines (MCA)**

**Examinatrice : Dr.Benchiheb Meriem (MCB)**

**Date de soutenance : 22-09-2021**

**Abstract**

*Hypochaeris* and *Centaurea* are endemic plants belonging to the *Asteraceae* family, localized through out Algeria for (*Hypochaeris Laevigata Var*) and as an Annaba guard coat for (*Centaurea Papposa*). Sounds Their richness in secondary metabolites led us to proceed to their extractions by methanol; then the methanolic extract is fractionated using solvents of increasing polarity.

The objective of this study is the evaluation of the antibacterial and antifungal activity of the extracts: Dichloromethane, N-butanol and Ethylacetate, using the method of diffusion by discs for the antibacterial activities on five strains with Gram- and to Gram +, and the method of wells for antifungal activity on three phytopathogenic fungal strains. The results revealed that the bacterial strains are very sensitive to the extract Dichloromethane (*Hypochaeris Laevigata Var*) and Ethylacetate (*Centaurea Papposa*) with significant areas of inhibition and the fungal strains are sensitive to N-butanol (*Hypochaeris Laevigata Var*) and Dichloromethane (*Centaurea Papposa*) extracts.

The two plants studied and according to their antibacterial and antifungal effects are rich in secondary metabolites which gives them an important therapeutic and medicinal value.

The results of the present study provide a general overview of the antibacterial and antifungal potential of extracts from these plants. So studies on these extracts deserve to be continued

**Key words :** *Hypochaeris Laevigata Var*, *Centaurea Papposa*, antibacterial activity, antifungal activity.

## ملخص

*Hypochaeris laevigata var* و *Centaurea Papposa* هي نباتات مستوطنة Asteraceae تنتمي إلى عائلة ( *Centaurea Papposa* ). كعباءة حراسة لعنابة (*Hypochaeris laevigata var*) , توجد في جميع أنحاء الجزائر غنية بالمستقلبات الثانوية مما أدى إلى المضي قدما في استخلاصها بواسطة الميثانول تم يتم تجزئة المستخلص الميثانولي باستخدام مذيبات ذات قطبية متزايدة

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لمستخلصات : Dichlorométhane

N-butanol Acétate d'éthyl

باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص للأنشطة المضادة للبكتيريا على خمس سلالات بالجرام + و الجرام - وطريقة الأبار للأنشطة المضادة للفطريات على ثلاث سلالات فطرية ممرضة للنبات. أظهرت النتائج أن السلالات البكتيرية حساسة للغاية لمستخلص Dichlorométhane بالنسبة ل (*Hypochaeris laevigata var*) و Acétate d'éthyle بالنسبة ل *Centaurea papposa* مع وجود مناطق كبيرة من التثبيط و سلالة الفطرية حساسة لمستخلص N-butanol بالنسبة ل *Hypochaeris laevigata var* Dichlorométhane بالنسبة ل *Centaurea Papposa*.

تمت دراسة النباتين و وفقا لتأثيرهما المضاد للبكتيريا والفطريات فهما غنيتان بالمستقلبات الثانوية التي تمنحهما قيمة علاجية مهمة . تقدم نتائج الدراسة الحالية نظرة عامة على الإمكانيات المضادة للبكتيريا والفطريات لمستخلصات هذه النباتات لذلك تستحق الدراسات على هذه المقتطفات أن تستمر.

كلمات أساسية , *Hypochaeris Laevigata Var*, *Centaurea Papposa* : النشاط المضاد للبكتيريا , النشاط المضاد للفطريات .