

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة المسيلة
UNIVERSITE DE M'SILA



FACULTEDES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

MEMOIRE: MASTER ACADEMIQUE

DOMAINE: SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE: BIOLOGIE

OPTION:ANALYSES BIOCHIMIQUES

Présenté par
BELBEY Leila

Thème:

**Activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis L.*, et son *in vitro*
effet sur *Penicillium digitatum*.**

DEVANT LE JURY:

M ^{me} BENSEMENE L.	MAA	Présidente
M ^r HENDEL N.	MAA	Promoteur
M ^r TOUMATIA O.	MAA	Examineur
M ^r GUETOUACHE M.	MAA	Examineur

Présenté le 23/06/2014 à 9^h,00

Promotion: 2013-2014

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Allah, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Avant toute aussi mes parents pour m'avoir le courage et l'espoir.

Un grand remerciement aussi à mon encadreur MR. HENDEL Noui pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements à Mm. BENSEMENE Latifa, Mr.TOUMATIA Omrane, Mr. GUETOUACHE Mourad.

Pour la confiance qu'ils nous ont faite en acceptant d'être Jury de ce mémoire

Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance au Mr BENKHALED Chef du Département de Microbiologie et Biochimie à l'université de M'sila tout d'abord pour m'avoir fait confiance et ses conseils.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à tous les ingénieurs des laboratoires de la biologie : MR .SEGHIRI chef de labo, madame BENYETTO et Mlle BAALI, et pour les ingénieurs de laboratoire de microbiologie, pour leur précieuse aide et leurs conseils

Mes remerciements à Mr SELLOUM et, Mme BENABEDDALLAH, Mr. SARRI M. et à tout prof. qui me donne une information et/ou un conseil.

Mes bels remerciements à mes collègues et mes amies qui me donnent tout l'aide et le courage.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : les plantes et la médecine

1-La phytothérapie.....	2
2-Historique.....	2
3. La plante étudiée.	
3.1. Définition et description botanique.....	3
3.2. Systématique.....	3
3.3. Nomenclature:.....	4
4. Distribution géographique.....	4
5. utilisation traditionnelle et propriétés.	4
5.1. Quelques utilisations thérapeutiques.....	4
5.2. Autres utilisations.....	5
5.3. Travaux antérieures	5
6. Principes chimiques trouvés dans le romarin.....	6

Chapitre III : Les substances actives: huiles essentielles, composés phénoliques.

1. Les métabolites secondaires.....	7
1.1. Définition.....	7
1.1. Les polyphénols	7
1.2. Les flavonoïdes	7
1.3. Les coumarines.....	9
1.4. Les tanins.....	9
1.5. Les alcaloïdes.....	9
2. Les huiles essentielles.....	9
2.1. Définition.....	9
2.2. Propriétés des huiles essentielles.....	9
2.3. Mécanisme d'action antimicrobienne.....	10
2.4. Propriétés d'huile de romarin.....	10
2.5. Localisation de l'huile dans la plante.....	10
2.6. Extraction des huiles essentielles.....	11
2.7. Composition chimique.....	11

Chapitre IV : les activités biologiques des plantes.

1. Activité antioxydant.....	12
1.1. Les radicaux libres.....	12
1.2. Le stress oxydatif.....	12
1.3. Les antioxydants.....	13
2. Activité antimicrobienne.	13
2.1 Les champignons.....	14
2.2. <i>Penicillium digitatum</i>	14

Partie expérimentale

Chapitre V : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal :.....	15
----------------------------	----

2. Extraction des huiles essentielles.....	15
3. Extraction par soxhlet.....	15
4. Test de l'activité 'antioxydante.....	15
6. Dosage des poly phénols.....	16
7. Dosage des flavonoïdes.....	16
7. Identification du champignon.....	17
7.1. Isolement et purification.....	17
8. Tests antifongiques	18
8.1. Méthode des disques de diffusion.....	18
8.2. Méthode d'incorporation dans le milieu le milieu de culture	18
8.3. Méthode de fumigation	18
8.4. Méthode des puits.....	19

Partie résultats et discussion.

Chapitre VI : Résultats et discussion.

1. Rendement d'extraction	20
1.1. Rendement en huile essentielle	20
1.2. Rendement en Extrait méthanolique	20
2. Activité antioxydante	21
3. Teneur en poly phénols	23
4. Teneur en flavonoïdes	23
5. Identification du champignon testé	24
6. Tests antifongiques.....	26
6.1. Méthode des disques de diffusion	27
6.2. Méthode d'incorporation dans le milieu PDA	26
6.3.. Méthode de fumigation	27
6.4. Méthode de puits	28

Conclusion	30
-------------------------	----

Références bibliographiques

Annexe.

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
Ac Asc : acide ascorbique.
ARN : Acide ribonucléique
ATP: adénosine triphosphate
BHA: Butylated hydroxyanisole
Cm : centimètre
CYA: Czapek yeast extract agar.
DMSO :dimethyl sulfoxide .
DPPH : Diphényles picrylhydrazyl.
EM: Extrait méthanolique
ERO : Espèces réactives de l'oxygène.
Fig: figure.
G : gramme
G25N:25% glycerol nitrate agar
h : heure
HE: huile essentielle.
HELF : fibroblastes embryonnaires de poumon humain.
HSV : virus herpès simplex
IC : Concentration inhibitrice.
L : litre.
MEA: Malt extract agar.
ml: milliliter.
mM : Milli molaire.
mm : millimètre.
MeOH : Methanol.
Mg : milligramme.
Min : minute.
OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
PDA: potato dextrose agar.
RC : romarin cultivée
RL : radicaux libres
RS : romarin spontanée.
SEM : standard erreur moyen.
Kcal : Kilo calorie.
UV : Ultra Violet.
V/V : Rapport volume par volume
W: Weight
µg : Microgramme.
µl : Microlitre.
% : Pourcentage.
[c]: concentration.

Liste des figures

Figure 1: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	3
Figure2: Structure de base des flavonoïdes	8
Figure3 : structures de quelques flavonoïdes	8
Figure04 : Principales espèces réactive de l'oxygène et enzymes antioxydants.....	13
Figure.5 : Oranges infectées par <i>P. digitatum</i>	14
Figure6 : Forme libre et réduite du DPPH.....	16
Figure7 : Schéma de la méthode de culture d'isolats fongiques destiné à l'identification	17
Figure8: Rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation.....	20
Figure9 : rendement en extrait méthanolique.....	21
Figure 10: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH* en fonction des concentrations de : A) EMRC ; B) EM RS ; C) HE de RS ; D) HE de RC ; E) BHA ; F) acide ascorbique (Ac Asc).....	22
Figure11: IC ₅₀ des antioxydants standards (acide ascorbique (Ac Asc), BHA), des extraits méthanoliques, et des huiles de la plante.....	22
Figure. 12 : courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	23
Figure.13: Courbe d'étalonnage de queurcétine.....	24
Figure.14 : Aspect macroscopique de <i>P. digitatum</i> sur les milieux: A) CYA , B) MEA et C) PDA à 25°C ; et D) CYA à 5°C ; et aspect microscopique :E) conidiophores et conidies, F) phialide et conidies et G) conidies.....	25
Figure.15 : Diamètres des zones d'inhibition de <i>P. digitatum</i> par les HES de RS et RC.....	26
Figure 16 : Méthode d'incorporation : diamètres de colonies de <i>P. digitatum</i> à différentes concentrations d'HE de RC (µl/l) (A) ; et % d'inhibition au 5 ^{ème} jour (B).....	27
Figure17 : Méthode d'incorporation : diamètres de colonies de <i>P. digitatum</i> à différentes concentrations d'HE de RS (µl/l) (A) ; et % d'inhibition au 5 ^{ème} jour (B).....	27
Figure18 : Méthode de fumigation : diamètres de colonies de <i>P. digitatum</i> à différents volumes d'HE de RC (µl) (A) et % d'inhibition au 5 ^{ème} jour (B)	27
Figure19 : Méthode de fumigation : diamètres de colonies de <i>P. digitatum</i> à différents volumes d'HE de RS (µl) (A) ; et % d'inhibition au 5 ^{ème} jour (B).....	28
Figure 20: Pourcentage d'inhibition de croissance de <i>P. digitatum</i> par les extraits ME de RS et RC par méthode des puits.....	28

Introduction

Tout au long de l'histoire et dans le monde, le règne végétal a fourni une variété de médicaments, et un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Actuellement la recherche sur les bienfaits des plantes médicinales dépend de l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydante et antimicrobienne (Sean et Timothy, 2005).

Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, et les huiles essentielles.

Parmi les plantes médicinales de la région de M'sila, nous avons choisi d'étudier le romarin : *Rosmarinus officinalis* L. qui fait un partie des plantes médicinales qui sont en usage depuis l'antiquité et qui, au travers des siècles, avait une place dans la médecine traditionnelle de tout le bassin méditerranéen (Gruenwald *et al.*, 2000).

Notre étude est une comparaison entre la plante à son état spontanée et à l'état cultivée du côté de leur activité antioxydante, activité antifongique, teneur en polyphénols et en flavonoïdes. Elle vise les huiles essentielles et les extraits méthanoliques de la plante.

CHAPITRE I

Les plantes et la médecine

1. La phytothérapie

Plusieurs médicaments sont retirés du marché pour leurs effets secondaires néfastes à la santé humaine, L'engouement vers la médecine traditionnelle est tellement fort qu'il n'a d'égal que la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse. Ce retour au label du naturel s'accroît sachant déjà que, selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (Lt-Colonel et Balouk, 2011).

La phytothérapie moderne est une ramification de la médecine classique. Elle est fondée sur l'emploi de substances actives d'origine végétale : préparations utilisant une plante, en partie ou en totalité ; on parle alors de substance isolée.

Les remèdes de phytothérapie sont traités par la législation de la même façon que les médicaments synthétique dans certains pays (France) (Runwald et Janicke., 2006).

2. Historique

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Plusieurs théoriciens ont entrepris d'expliquer l'action des plantes sur l'organisme ; dans l'antiquité gréco-romaine, mentionnons les grands médecins grecs : Hippocrate (460-v. 377 avant J.-C.) ; Dioscoride (1^{er} siècle après .J.-C.), Galien (v. 131-v. 201); pour sa part, le Romain Pline l'Ancien (23-79), à la fois amiral, écrivain et naturaliste, a écrit une histoire de la nature 37 volumes. Au XVI^e siècle, la célèbre école italienne de Salerne a marqué la médecine de son temps. Elle conseillait au roi « de conserver un esprit gai, de se ménager du repos, et de se contenter d'une alimentation modeste»; aujourd'hui, ces conseils pourraient être suivis judicieusement par chacun d'entre nous. Jusqu'au XIX^e siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la «pharmacie du bon Dieu» pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes. Au début du XX^e siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques. On allait prescrire exclusivement des médicaments issus des plantes (Iserin, 2001).

3. La plante étudiée

3.1. Définition et description botanique

Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., plante commune à l'état sauvage, et, sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante. Cette plante appartient à la famille des *Lamiaceae* (Atik Bekkara *et al.*, 2007).

Le Romarin est un arbrisseau toujours vert à tiges droites, très rameux, dont les branches longues et minces portent de nombreuses feuilles sessiles et opposées de 2,5 cm de longueur environ, à face supérieure dure et verte, tandis que la face inférieure est laineuse, blanchâtre et glanduleuse. Les bords sont enroulés et la nervure centrale fait une forte saillie sur la face inférieure. Le Romarin porte des verticilles de fleurs mauves. Le bord supérieur de la corolle a deux lobes et le bord inférieur trois; seule la paire d'étamines antérieure se développe (Meigs, 1960).



Fig. 1 *Rosmarinus officinalis* L.

3.2. Systématique

Rosmarinus officinalis L. : le nom provient du latin (*Rosmaris*) qui signifie rosée de la mer, *Officinalis* rappelle les propriétés médicinales de la plante, sa classification est la suivante :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Sous-embranchement : *Magnoliophytina*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L. (Goetz et Ghedira, 2007).

3.3. Nomenclature

Tamazight: Azir, Assir. أزير، يزير

Arabe: Iklil Al Jabal, hassaelben. إكليل الجبل، حصا ا

Français : Romarin.

Anglais: Rosemary (El Rhaffari, 2008).

3.4. Distribution géographique

Originaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs (Iserin, 2001). Le romarin est commun dans toutes les régions méditerranéennes, au Maghreb où il est très fréquent, commun dans toute l'Algérie, floraison toute l'année (Kaddem, 1990)

3.5. Utilisation traditionnelle et propriétés

Le romarin est connu à l'échelle mondiale comme plante aromatique et médicinale qui fait l'objet d'usages multiples allant du simple usage de la médecine traditionnelle aux multiples usages industriels: pharmacologie, agroalimentaire, cosmétique et autres.

Selon le dosage, le romarin est un stimulant ou un calmant mais c'est surtout un remède diurétique, cholagogue et un stimulant digestif ; il est également employé contre les coliques néphrétiques, les vers et les rhumatismes. En usage externe, il combat la règle irrégulière, les pertes blanches, accélère la cicatrisation, guérit les entorses, les foulures et les contusions (Djerroumi et Nacef, 2004)

3.5.1. Quelques utilisations thérapeutiques

- La tisane de romarin était employée en médecine populaire pour stimuler le cœur, soulager les maux de tête, faciliter le sommeil et traiter toute une gamme de maux, dont l'asthme, la calvitie, la bronchite, les ecchymoses, le cancer, les frissonnements, le rhume, la toux ; les pellicules, la fièvre, le rhumatisme, et les entorses (Small et Deutsch, 2001).
- Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées contre le diabète à raison de 500 grammes par un litre (Ghourri *et al.*, 2013).
- Les feuilles, en infusion ou en décoction, sont utilisées contre les douleurs d'estomac. En usage externe, les feuilles fraîches et les compresses de la décoction concentrée sont

appliquées comme vulnéraire et résolutif des contusions, des plaies et des abcès (Lahsissene *et al.*, 2009).

- Comme un bain circulatoire ; Il est indiqué pour les jambes grosses et douloureuses (Goetz, 2007).

3.5.2. Autres utilisations

- Il est possible de soigner la peau ; un bain de formulation d'huile essentielle (HE) romarin seulement ou avec autre huile. Pour nettoyage de la peau ; nécessitant une préparation d'infusion des fleurs de romarin. Si l'on veut désinfecter la peau, on remplace l'eau de rose par une infusion de romarin. Il est possible de réaliser des massages de peau avec un soluté tonique aromatique, circulatoire par le romarin avec mélange d'autre plantes (Goetz, 2007).
- Son huile possède de propriété antibactérienne est employée commercialement dans divers produits de toilette, parfums, shampoings pour cheveux gras et les conditionneurs servant à faire ressortir les reflets des chevelures foncées (Small et Deutsch, 2001).
- Dans le domaine de l'agroalimentaire ; utilisation d'extrait de romarin comme un additif alimentaire : agent antioxydant (The EFSA, 2008).
- Le romarin est populaire en cuisine dans toute la région méditerranéenne et même plus au nord, les feuilles et les sommités fleuries servent à révéler de nombreux plats, des salades, desserts (Couplan, 2009).
- Le romarin est un arbrisseau très utile aux apiculteurs: produisant, tout au long de l'année des fleurs il génère un miel très parfumé. Grâce à ses propriétés antioxydantes, le romarin est utilisé dans l'industrie de fabrication des produits à base de viande (Lt-Colonel *et al.*, 2011).

3.5.3. Travaux antérieurs

- Un extrait à l'éthanol de romarin et HE ont été testés pour leur activité contre le virus herpès simplex (HSV) se propageant dans fibroblastes embryonnaires du poumon humain (HELFL) des cultures de cellules. L'extrait à l'hexane a été montré qu'avoir une activité contre le HSV-2 et n'était pas cytotoxique pour les cellules HELFL (Villa et Veiga-Crespo, 2013).
- L'huile essentielle possède selon les travaux de recherche une activité insecticide (Khalfi-Habes, 2007).
- L'HE de romarin a montré une grande activité de ses composantes à des systèmes de test anticancéreux, et les activités ont été principalement liés à leurs concentrations (Wang *et al.*, 2012).

3.6. Principes chimiques trouvés dans le romarin

Les feuilles de romarin contiennent de la résine 8,4% de tanin, une substance amère et environ 1,5% d'une essence spéciale à odeur aromatique, saveur chaude et camphrée, composée de pinène, de camphène, de bornéol, d'acétate et de valériante de bornyle, de cinéole et de camphre ordinaire (Beloued, 2001).

CHAPITRE II

Les substances actives dans les plantes

1. Les métabolites secondaires

1.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des substances dont les fonctions ne sont pas indispensables à la plante, aux protéines, à l'ADN et à l'ARN. La plupart des métabolites secondaires interviennent dans la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd *et al.*, 2002).

1.2. Les polyphénols

Groupe de métabolites secondaires caractérisés par la présence au moins d'un noyau aromatique (six atomes de carbone liés en un hexagone) possédant un ou plusieurs groupes hydroxyles substitué ou non.

Les polyphénols constituent un groupe des substances ubiquistes et variés, allant de molécules simples jusqu'à des structures très complexes. Ils ont des fonctions différentes dans les différentes espèces (Marrouf et Reynand, 2007):

- Défense contre les pathogènes.
- Molécules de dissuasion alimentaire.
- Attraction des pollinisateurs.
- Protections des rayonnements UV.
- Molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes
- Rôle structurel (exemple: lignine, constituante du bois)

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes (Dacosta., 2003):

- Les flavonoïdes
- Les tanins
- Les stilbènes
- Les lignanes et les coumestanes
- Autres phytoestrogènes
- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols

1.2.1. Les flavonoïdes

Ces substances de structure C₆-C₃-C₆ sont biosynthétisées à partir de phloroglucinols et d'un acide phénylpropanique (Fig.2 et Fig.3). Elles augmentent la résistance de la paroi cellulaire et diminuent la perméabilité capillaire, ce sont aussi des antiagrégants plaquettaires non toxiques et empêchent l'addition du thrombus à la paroi vasculaire (Wichtl et Anton, 2003).

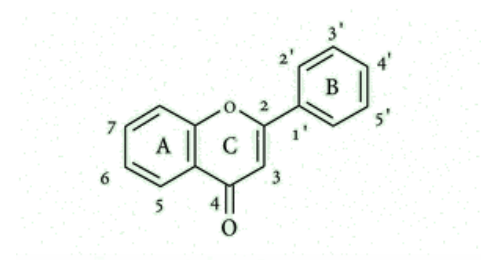


Fig. 2 Structure de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005)

Les mécanismes d'action proposés sont multiples (inhibiteurs de phosphodiesterase, de l'ATP ase membranaire, activité anti radicalaire) leurs indications thérapeutiques concernent principalement les créneaux vasculotropes, veinotropes et protecteurs capillaires, mais leur intérêt première pourrait très bien concerner le maintien d'un certain équilibre de la santé, car les flavonoïdes présents dans les parties vertes de nombreux végétaux sont consommés chaque jour à des doses de l'ordre de gramme (Wichtl et Anton, 2003).

Ils sont capables d'exercer une multitude d'activité biologique notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, antihépatotoxique, antiallergiques, anti-inflammatoire, anti-ulcéreuses, et même anti tumorales significatives (Ghedira, 2005).

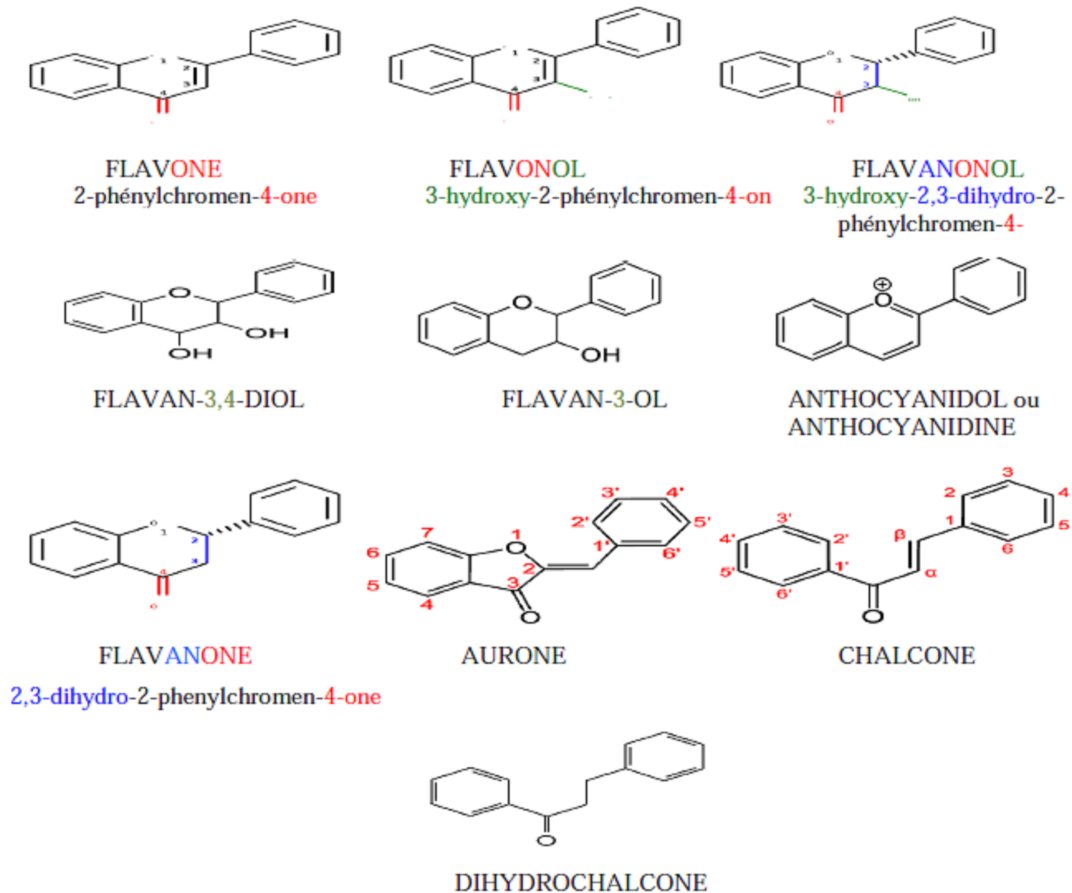


Fig. 3 Structures de quelques flavonoïdes (Qyvind et Kenneth, 2006)

1.2.2. Les coumarines

Les coumarines sont des esters internes des acides composés. Ce sont des lactones phénoliques faisant partie, dans les plantes qui nous intéressent, des acides-phénols. Le nom de coumarine vient d'un arbre d'Amérique du sud, le *Dipteris odorata*, qui produit la fève tonka et que les indigènes nomment coumarou. La coumarine est une substance que l'on trouve dans beaucoup de plantes, on en connaît déjà plus de cent formes différentes (Schauenberg et Paris, 2005). Elles contribuent à fluidifier le sang, soignent les affections cutanées est un puissant vasodilatateur coronarien (Iserin, 2001).

1.2.3. Les tanins

Tanin ou tannin, substance naturelle qui se trouve dans de nombreuses plantes. Elles sont des glucosides de l'acide gallique (tanins galliques) ou de la pyrocatechine (tanins catéchique). Par hydrolyse avec des acides, des bases, ou encore l'enzyme tannase, on obtient les composants du glucoside, les tanins sont employés dans le mordantage des tissus et pour colorer le papier; de plus, ils sont utilisés en médecine comme astringents (Lecourt, 1999).

1.2.4. Les alcaloïdes

Produits d'origine végétale, basiques, contenant azote et pharmacologiquement actifs formant un groupe très large, certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées employés pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine ont une action directe sur le corps: activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (Iserin, 2001).

2. Les Huiles essentielles (HEs)

2.1. Définition

Une huile essentielle est un liquide aromatique issu de plantes. On l'extrait de certaines organes-fleurs, feuille, écorce, racine, graine-de plantes dites aromatiques. Car riche en essence odorante, elle a des actions différentes par rapport aux autres extraits de plantes. Encore appelées « essences », « essences aromatiques », ou « huiles volatiles ». On peut dire que ce sont des super-concentrés de plantes (Festy, 2012).

2.2. Propriétés des huiles essentielles

Elles sont tous antiseptiques des intoxicantes revitalisantes et électives, de plus, elles ont chacune des propriétés spécifiques, les mélanges d'HEs en synergie augmentent les bienfaits des HEs par rapport à une indication donnée (Grosjeau, 2010).

2.3. Mécanisme d'action antimicrobienne

Les principaux mécanismes antimicrobiens et sites d'action des différents constituants des HEs sont :

- l'altération de la paroi cellulaire;
- la dégradation de la membrane cytoplasmique ;
- l'altération des protéines membranaires;
- la fuite du contenu cellulaire;
- la coagulation du cytoplasme;
- l'épuisement de la force de mouvement des protons.

Une caractéristique importante des HEs et de leurs constituants est leur caractère hydrophobe, ce qui leur permet de s'insérer dans les couches lipidiques de la membrane cellulaire bactérienne et des mitochondries, perturbant les structures et les rendant plus perméables. La fuite des ions et autres constituants de la cellule peut alors se produire (Goetz et Ghedira, 2012).

De nouvelles applications des HEs ont été développées dans le domaine de conservation alimentaire, d'industrie des parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire (Bencheqroun *et al.*, 2012).

2.4. Propriétés d'huile de romarin

- l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. fournit une HE qui, selon les lieux de production, comporte une empreinte chimique différente (1,8-cineole, camphre, verbenone);
- l'HE de romarin combinant un antalgique par action sur les TRP (camphre), d'un anti-inflammatoire potentiel (1,8-cinéole) et d'un antioxydant, piègeur de radicaux libres est plus que prometteuse. L'agranulocytose des mastocytes et autres provoque sur la libération d'histamine, de sérotonine, de facteurs de l'inflammation, mais aussi de radicaux libres (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

2.5. Localisation de l'huile dans la plante

L'HE se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage. Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poils sécréteurs (*Lamiacées*). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

2.6. Extraction des huiles essentielles

L'HE est obtenue par hydrodistillation à la vapeur d'eau d'une plante riche en essences. L'appareil à distiller comporte ballon relié avec un réfrigérant; le ballon contient de l'eau et la plante source des HEs. La vapeur générée par l'eau en ébullition dans l'appareil, chargée d'essences, se condense dans le réfrigérant ; on observe deux couches distinctes : en haut l'HE de densité peu élevée, en bas l'hydrolat aromatique (Scimeca et Tétan; 2005).

2.7. Composition chimique

Comme toute substance, les HEs se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Festy, 2012).

CHAPITRE III

Les activités biologiques des plantes

Les principales activités biologiques relevées sont liées à la recherche de nouveaux composés antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoire, antiviraux, antidiabétiques,...etc. Là; on cite quelques activités.

1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant d'une plante dépend de présence des métabolites secondaires ; surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir.

1.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des atomes ou des molécules présentant un électron célibataire sur leur orbite externe. Pour retrouver une structure stable, les RL doivent réapparier leur électron isolé. Pour cela, ils arrachent un électron à d'autres molécules. L'espèce agressée devient à son tour radicalaire, initiant un processus en chaîne.

Il existe des radicaux libres soufrés, nitrogènes, phosphorés ou carbonisés. Mais les principaux radicaux libres sont les formes activées de l'oxygène. On en distingue six :

- L'anion super oxyde O_2^- .
- L'eau oxygénée H_2O_2 .
- Le radical hydroxyle HO^\cdot .
- L'oxygène singlet O_2 .
- L'oxyde nitrique NO.
- L'acide hypochloreux ClHO.

Ce sont des agents oxydants très agressifs. Ils ont, selon les circonstances, des effets favorables ou des effets nocifs, constituant le stress oxydant (Seignalet., 2004).

1.2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif ou radicalaire est l'un des facteurs qui participe à l'installation du dysfonctionnement important au niveau du système cardiovasculaire. Les radicaux libres ont été associées directement ou indirectement à de nombreuses pathologies, nous citons ici quelques exemples dans lesquels un stress oxydatif a été caractérisé et impliqué dans les altérations liées à la pathologie ainsi, les RL ont été impliqués dans la genèse de certains cancers, l'effet cancérigène des RL résulte de pouvoir oxydant qu'ils exercent sur les chaînes d'ADN (mutagenèse), sur les protéines (dysfonctionnement enzymatique, perte de structure) ou les lipides membranaires (lipoperoxydation). Ces composés oxydants peuvent être d'origine exogène (rayonnement, intoxication) ou endogène (Lacolly, 2007).

1.3. Les antioxydants

L'organisme produit les radicaux libres, mais il s'en protège aussi avec le plus grand soin grâce à des molécules appelées antioxydants qui ont deux origines, le corps sait en fabriquer certaines comme l'acide urique ou la mélatonine (Fig. 4), mais une grande partie est apportée par l'alimentation (Causse., 2007).

Les antioxydants contenus de manière générale dans l'alimentation permettraient de lutter contre l'oxydation des lipides, grâce à leur capacité à lutter contre les radicaux libres, générés au cours d'un stress oxydant. Les antioxydants pourraient participer à un de nombreuses pathologies, plus de 200 maladies seraient liées à un déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libres. Les recherches disent que les maladies de cancer et cardiovasculaires semblent fortement corrélées à un excès de RL. Un déséquilibre peut être liée à un manque d'antioxydants dans l'alimentation, mais il est également dû à des facteurs extérieurs qui vont entraîner une augmentation de quantité de RL (l'exposition aux rayonnements UV, la cigarette, pollution, ...), les vitamines C et E, les polyphénols, le bêta-carotène et le sélénium sont des antioxydants plus puissants qui permettent de lutter contre les RL en excès et ainsi les antioxydants alimentaires qui parviennent dans le sang protègent les lipides de l'oxydation (Massy, 2006).

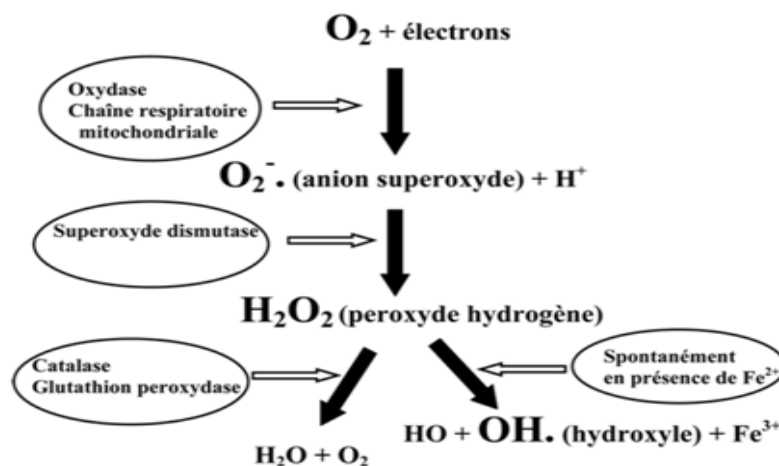


Fig. 4 Principales espèces réactive de l'oxygène et enzymes antioxydants (Ichai *et al.*, 2011)

2. Activité antimicrobienne

Il a été rapporté que les plantes riches en métabolites ont une activité antibactérienne et une activité antifongique. Aujourd'hui, la recherche destinée à trouver des nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptée par l'organisme d'autre part, beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des plantes médicinales, ils ont trouvé que ces plantes sont actives non

seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (Pebret, 2003).

2.1. Les champignons

Les champignons ou mycètes constituent un règne très important, dont seul un petit nombre sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des eucaryotes, possédant un noyau et une paroi cellulaire composée de chitine. Les champignons peuvent se présenter sous forme unicellulaire (levure) ou pluricellulaire, lorsque les cellules s'allongent pour former des filaments ou hyphes (qui constituent le mycélium) (Hart et Shears, 1999).

Un petit nombre de champignons sont pathogènes pour l'homme mais un grand nombre sont phytopathogènes dont les champignons de stockage comme *Penicillium digitatum*.

2.2. *Penicillium digitatum*

Ce champignon pathogène est très important car il est responsable de 90% de pertes d'orange (Fig. 5) et de citron au cours de la période de stockage. Il cause de sérieux dommages économiques. Peu de travaux de recherche sur *P. digitatum* et sur les traitements contre les symptômes d'infection, et la littérature au sujet des métabolites fongiques sont rares (Ariza *et al.*, 2002).



Fig. 5 Oranges infectées par *P. digitatum* (Photo de Hendel, 2014)

CHAPITRE IV

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

La plante à l'état spontané (RS) a été récoltée au mois de Mars 2014 de la région de Hammam Dhalâa.

La plante à l'état cultivé (RC) a été récoltée durant la période Février-Mars 2014 du campus du pôle universitaire de M'sila auprès du département des sciences de la nature et de la vie. La plante, fraîchement récoltée, est laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Devenues sèches, les parties aériennes (feuilles et fleurs) sont récupérées dans des sacs de papier propres puis conservées jusqu'à utilisation.

2. Extraction des huiles essentielles (HE)

Les huiles essentielles du romarin ont été obtenues par hydrodistillation pendant 3 heures dans un appareillage de type Clevenger. Au cours de chaque essai, 100g de matière première sèche a été mise à ébullition dans 1L d'eau distillée. Après sa récupération, l'HE est déshydratée par le sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 , puis stockée à température de réfrigération 4°C (Mansouri *et al.*, 2011).

Trois répétitions ont été réalisées par échantillon. Les rendements en huiles essentielles (V/V) sont déterminés par rapport à 100 g de la matière sèche.

3. Extraction par Soxhlet

L'extrait méthanolique (EM) parties aériennes de la plante a été obtenu par Soxhlet : une quantité de 30g du matériel végétal broyé est placée dans une cartouche puis exposée au solvant d'extraction (300ml de méthanol) à une température de 40°C pendant 8 heures. L'extrait méthanolique est filtré par papier Watman puis récupéré pour être concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. Après séchage dans une étuve; l'extrait est conservé à 4°C jusqu'à son utilisation. Trois répétitions ont été réalisées par échantillon. Les rendements en extrait méthanolique (W/W) sont déterminés par rapport à 30g de la matière sèche (Erkan *et al.*, 2008).

4. Test de l'activité antioxydante

Dans notre étude, l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits et des HES a été réalisée par le piégeage du radical libre DPPH*. Ce radical libre, 2,2-Diphenyl picryl hydrazyl, ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$) ; PM: 394.33, possède une coloration violet foncé et lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle (Fig. 6) (Mohammedi et Atik Bekkara, 2012).



Fig. 6 : Forme libre et réduite du DPPH (Mohammedi et Atik Bekkara., 2012)

Tous les extraits et les huiles, sont solubilisés dans le méthanol absolu. Ces solutions, dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations de l'ordre de microgrammes par ml. Un volume de 50µl de chaque concentration est ajoutée à 2ml d'une solution méthanolique de DPPH* (60µM). Même procédure est appliquée pour les antioxydants standards (acide ascorbique et BHA) à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517nm. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante

*Pourcentage d'inhibition I (%) = $[(A_c - A_t) / A_c] \times 100$

A_c : absorbance du contrôle.

A_t : Absorbance du test.

Les valeurs IC₅₀ ont été calculées par les régressions linéaires du pourcentage d'inhibition (Hazzit *et al.*, 2013):

5. Dosage de poly phénols

Les polyphénols ont été déterminés spectrophotométriquement par l'utilisation du Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par Yakhlef *et al.* (2011). Leur quantification à été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = a.x$) réalisée par un extrait d'étalon, acide gallique (1mg/ml), à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80, 120, 160, 200µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Après l'ajout du Folin en incubé pendant 6 min, puis on ajoute de l' Na_2CO_3 et en incubé pendant 2h. La concentration des extraits et des huiles en polyphénols totaux est évaluée en remplaçant l'acide gallique par l'extrait et l'huile. Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide gallique (EAG).

6. Dosage de flavonoïdes

1ml de l'extrait méthanolique de *R.officinalis* est ajouté à 1ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%). Après incubation de 15min à température ambiante, les absorbances sont lues à 415 nm. La même opération est effectuée pour la quercétine à différentes concentrations. Le blanc est représenté par le méthanol additionné à l' AlCl_3 , toutes les opérations sont réalisées en triplicata. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits

méthanoliques sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine par gramme de matière sèche (Khlifi *et al.*, 2013).

7. Identification du champignon

Les extraits et l'huile essentielle de la plante sont testés pour leur activité sur un seul champignon isolé et identifié au laboratoire. L'application est réalisée selon plusieurs méthodes.

7.1. Isolement et purification

Le champignon de contamination alimentaire *Penicillium digitatum* a été isolé des oranges commercialisées au marché local. Il a été purifié par repiquage continue sur le milieu PDA (Potato : extrait de 250g, Dextrose : 20g, Agar : 15g), identifié et testé pour son effet pathogène sur le fruit.

L'identification est réalisée selon Pitt et Hocking (1985) : trois milieux de culture différents sont ensemencés et incubés à des températures différentes, CYA (Czapek Yeast Extract Agar) aux températures : 5, 25 et 37°C; MEA (Malt Extract Agar) et G25N (25% Glycerol Nitrate Agar) à la température 25°C (fig.7). Après 7 jours d'incubation, les cultures fongiques sont décrites en prenant en considération les diamètres des colonies, leurs couleurs, odeurs, aspects macroscopiques et microscopiques ...etc.

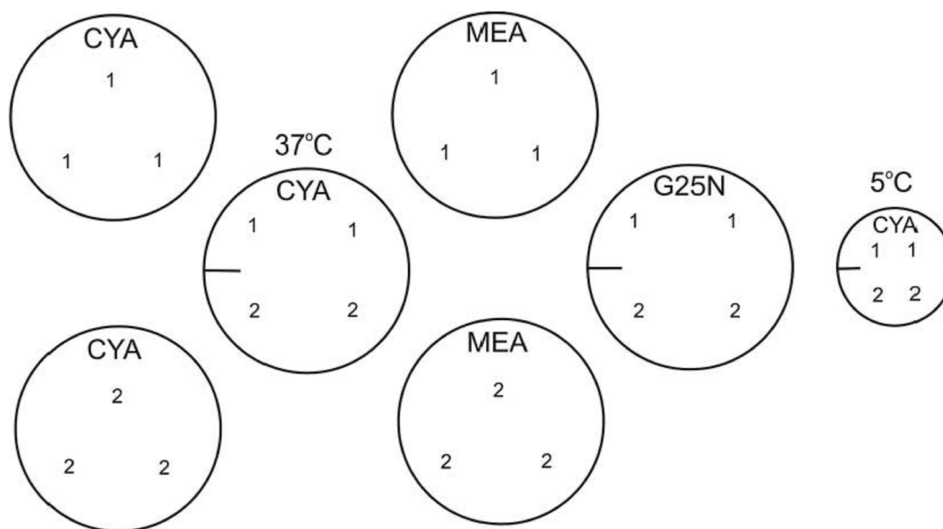


Fig.7 schéma de la méthode de culture d'isolats fongiques destinée à l'identification (Pitt et Hocking; 1985)

8. Tests antifongiques

Différentes méthodes ont été appliquées sur le champignon *P. digitatum* : 03 méthodes par l'utilisation des HEs et une méthode par l'utilisation de l'extrait méthanolique.

8.1. Méthode des disques de diffusion

La méthode des disques de diffusion est utilisée pour mettre en évidence l'activité antifongique des huiles essentielles vis-à-vis du champignon.

Après avoirensemencé le champignon sur milieu PDA par l'étalement de suspension sporale de 10^6 spores/ml (le nombre est défini par hématimètre), les HEs sont ajoutées directement aux disques de papier Watman (6mm) stériles déposés sur la gélose. Des volumes croissants de 15, 20, 25 et 20, 25, 30 μ l pour RC et RS respectivement ; les disques témoins sont imbibés d'eau distillée. L'ensemble est incubé pendant 48 à 72 heures à 25°C. La lecture est faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour de chaque disque. (Hosni *et al.*, 2013 ; Zaouali *et al.*, 2010).

8.2. Méthode d'incorporation dans le milieu de culture

Pour ce test antifongique, l'HE solubilisée dans le diméthylsulphoxide (DMSO) est incorporée dans le milieu de culture PDA avant sa solidification (45°C). Les concentrations finales appliquées sont : 1000, 2000, 3000 et 3500 μ l/l. Les boîtes de Pétri contenant 15 ml du milieu sont aseptiquementensemencées au centre par un disque de la culture du champignon âgée de 07 jours.

Les boîtes témoins ne sont pas supplémentées de l'HE. Chaque test est réalisé en triplicata. Les milieux inoculés sont incubés à 25°C pendant 7 jours. Le taux d'inhibition est mesuré par la comparaison des diamètres du témoin avec ceux du test selon la relation (Mohammedi *et al.*, 2010):

$$I(\%) = \frac{D - D_i}{D} \times 100$$

I(%) : inhibition de la croissance fongique en pourcentage.

D : diamètre de la croissance mycélienne sans HE (témoin).

D_i : diamètre de la croissance mycélienne en présence HE (essai)

8.3. Méthode de fumigation

Sur le milieu PDA solide (15ml par boîte de Pétri 90mm), est déposé un disque de 6mm d'une culture jeune du champignon. Les boîtes de Pétri sont inversé et un disque de papier Watman stérile de 9 mm de diamètre est déposé au centre de couvercle puis imbibé de l'HE à différents volumes. Les boîtes sont enveloppées par le parafilm puis incubées à 25°C pendant 7

jours. Les boîtes témoins ne sont pas supplémentées de l'HE. Chaque test est réalisé en triplicata (Feng *et al.*, 2010).

8.4. Méthode des puits

Dans cette méthode les extraits sont solubilisés dans le DMSO. Des puits sont réalisés dans le PDA solide à l'aide d'un porte-pièce stérile (8mm). Le milieu est aseptiquement ensemencé au centre par un disque de la culture du champignon âgée de 07 jours. Des volumes de 10 et 15µl (0,7g/ml) de l'extrait méthanolique de RC et RS respectivement sont déposés au niveau des puits. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 7 jours. La lecture est faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour de chaque puits (Tepe *et al.*, 2005).

Le taux d'inhibition est mesuré par la comparaison des diamètres du témoin avec ceux du test selon la relation précédente.

CHAPITRE V

Résultats et discussions

1. Rendement d'extraction

1.1. Rendement en huile essentielle

La plante a donné une huile limpide de couleur jaune clair et d'une odeur aromatique. Le rendement en huile essentielle du romarin spontané (RS) était plus élevé que celui du romarin cultivé (RC) (Fig. 8).

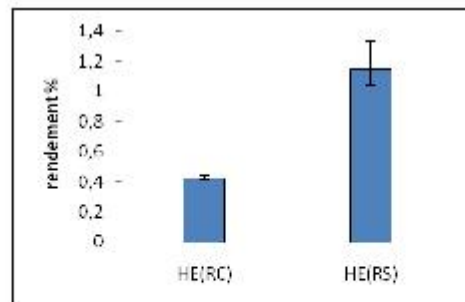


Fig.8: Rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

Par rapport à certains travaux, le rendement en huile essentielle de *Romarinus officinalis* étudié montre quelques différences ; Atik Bekkara *et al.* (2007) ont mentionné des rendements en HEs des feuilles et fleurs du RC et du RS allant de 0.6% et 0.8 % respectivement. Djeddi *et al.* (2007) ont évalué une teneur en huile essentielle de parties aériennes fraîches récolté au stade de la floraison en mois de Mars dans une zone à climat subhumide, de 0,82 %. Bousbia *et al.* (2009) ont montré que le romarin cultivé a donné un rendement variant de $0.33 \pm 0.09\%$ à $0.35 \pm 0.07\%$ selon la méthode d'extraction. Les rendements du romarin des régions voisines de notre site de récolte (les Bibans, région de Bordj Bou Arreridj) varient entre 0.44 et 1.5% (v/w) (Boutekedjiret *et al.* 1998; 2003). Des études ont montré une différence de rendements en HE du romarin selon la variété de la plante et les caractéristiques écologiques de la zone de récolte (Zaouali *et al.*, 2010 ; Jamshidi *et al.*, (2009). Ojeda-Sana *et al.* (2013) ont signalé une différence de rendement selon le phénotype cultivé.

Cela suggère l'influence de différents facteurs tels la région d'habitat, le climat, la nature de la plante elle-même sur le rendement en HE et plus probablement sur sa composition.

1.2. Rendement en Extrait méthanolique

Le rendement en extrait méthanolique varie selon la procédure d'extraction et selon le contenu en métabolites. Selon la procédure appliquée, le rendement en extrait méthanolique du romarin cultivé (RC) était plus élevé que celui du romarin spontané (RS) (fig.9). L'extrait final était une poudre vert-foncé.

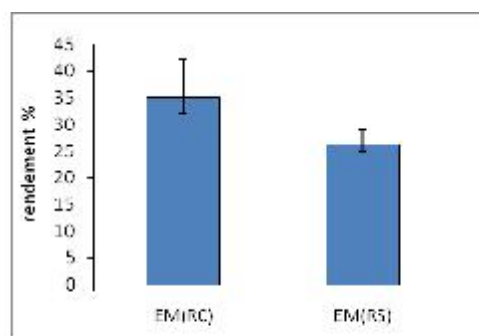


Fig. 9 : rendement en extrait méthanolique.

2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'EM et de l'HE de la plante vis-à-vis du radical DPPH^{*} a été évaluée spectrophotométriquement suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne de son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires. Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit le paramètre IC₅₀ qui est défini comme la concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution.

En utilisant la courbe de régression linéaire $Y = ax + b$ (Fig. 10), les valeurs d'IC₅₀ des différents EMs, HEs, et des standards ont été estimées (Fig. 11).

L'HE de RC a montré une activité anti radicalaire très puissante avec IC₅₀ de l'ordre de mg/ml ; supérieur aux antioxydants standards testés (BHA IC₅₀ = mg/ml ; Ac Asc IC₅₀ = 0,), et l'HE de RS a montré une activité proche du standard BHA (IC₅₀ = mg/ml). Pour les extraits méthanoliques , l'extrait RC est le plus actif (IC₅₀ est de mg/ml) que l'extrait de RS (IC₅₀ = 0. mg/ml).

L'HE marque une activité antioxydante très puissante et supérieure à celle des extraits méthanoliques. La capacité antioxydante des extraits et des HEs de plante est largement dépendante des composants antioxydants tels que l'acide carnosique, l'un des constituants phénoliques principaux du romarin, qui possède une activité antioxydante environ trois fois plus haute que le carnosol et sept fois supérieure que l'antioxydant synthétique (BHA) (Nieto *et al.* , 2011).

Hussain et al. (2010) montrent que l'IC₅₀ d'HE du romarin est de 20.9µg/ml (0.02mg/ml)

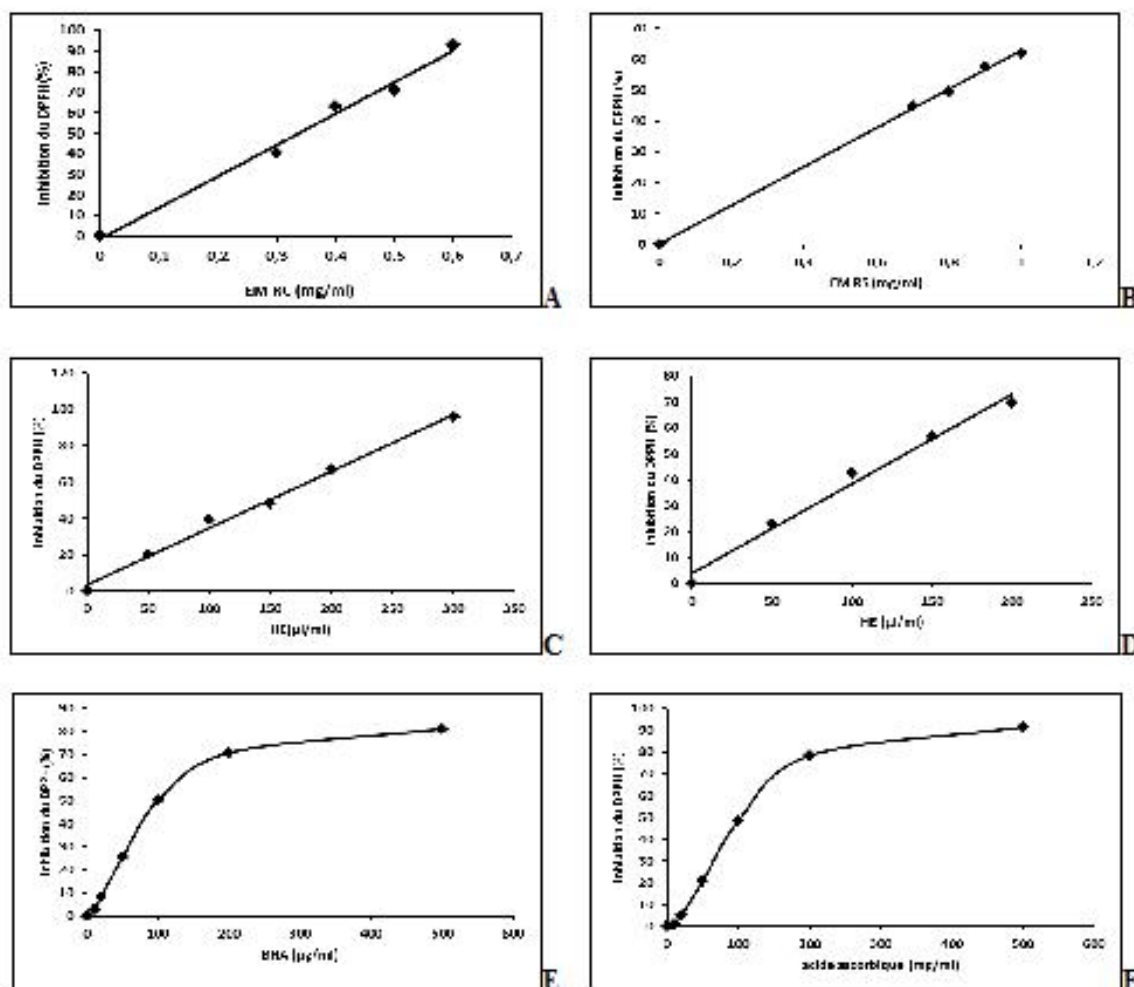


Fig 10: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] en fonction des concentrations de : A) EMRC ; B) EMRS ; C) HE de RS ; D) HE de RC ; E) BHA ; F) acide ascorbique (Ac Asc)

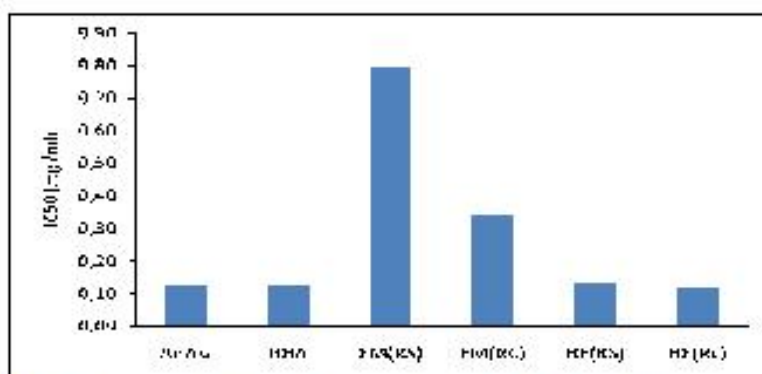


Fig. 11: IC₅₀ des antioxydants standards (acide ascorbique (Ac Asc), BHA), des extraits méthanoliques, et des huiles de la plante.

c'est une très forte capacité antiradicalaire par rapport à notre résultat (5fois plus élevée), on note

que cette HE est extraite des feuilles de romarin cultivé au Pakistan et récolté pendant l'hiver ; cette différence peut être due à un facteur géographique et climatique.

Les résultats de l'activité antiradicalaire de nos extraits du romarin s'accordent avec ceux obtenus par Almela *et al.* (2006). Ces derniers ont constaté que les extraits méthanoliques du romarin présentent une activité antiradicalaire inférieure à celle du BHA.

Cette activité pourrait être liée à leur richesse en polyphénols tel que la teneur en polyphénol de HE de RC est supérieur à la teneur chez l'HE de RS. Par ailleurs, l'effet antioxydant des extraits étudiés dépend, non seulement de la concentration, mais aussi du procédé d'extraction et du solvant (Hernandez *et al.*, 2009).

3. Teneur en poly phénols

L'étude quantitative de l'extrait brut méthanolique et de l'huile essentielle au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur totale en polyphénols. Une courbe d'étalonnage (Fig.12) a été tracée en utilisant différentes concentrations d'acide gallique. La densité optique pour chaque extrait est mesurée à 765 nm.

Les quantités des polyphénols correspondantes ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par g du poids sec de l'extrait.

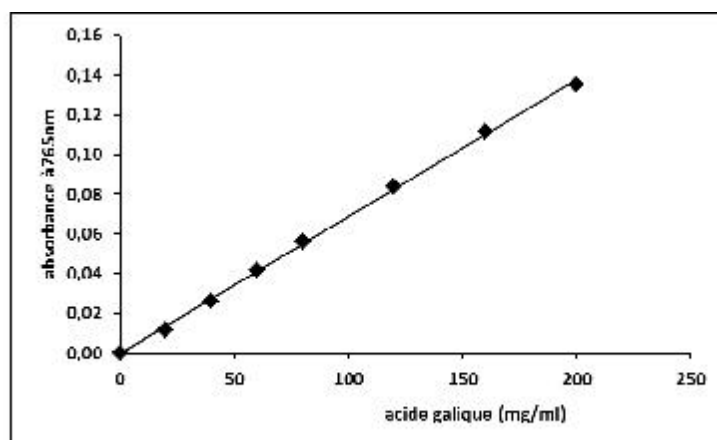


Fig 12 : courbe d'étalonnage d'acide gallique.

La teneur en polyphénols d'extrait méthanolique de RS est supérieur à celle de RC. Les extraits méthanoliques présentent une forte teneur en polyphénols par rapport aux HEs du RS et RC respectivement. Ces résultats sont proches de ceux évoqués par Erkan *et al.* (2008) : 162 mg de polyphenol par gramme.

4. Teneur en flavonoïdes

Les extraits méthanoliques bruts de la plante ont subi des dosages spectrophotométriques afin de déterminer leurs teneurs en flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage (Fig.13) a été réalisée en utilisant la quercétine à une longueur d'onde 415 nm. Les résultats indiquent une légère différence de teneur en flavonoïdes entre les deux types d'extraits ; pour RS et RC respectivement.

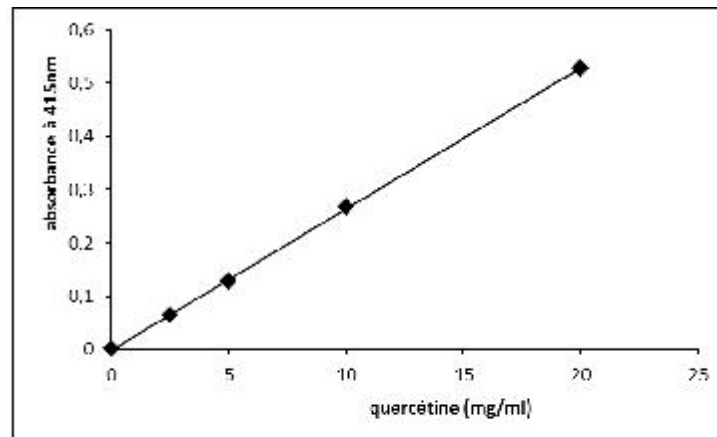


Fig.13 : Courbe d'étalonnage de quercétine.

Tsai *et al.*, (2007) ont mentionné que l'extrait méthanolique du romarin contient 60.7 ± 1.1 mg/g. Ces teneurs sont très élevées par rapport à nos résultats, cette différence trouve probablement son explication dans la différence du standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes. Les variations, rencontrées dans les teneurs en flavonoïde et en polyphénol dans nos échantillons, comparées à certains travaux antérieurs, peuvent être probablement dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

5. Identification du champignon testé

Après 7 jours d'incubation aux températures différentes, le champignon sur les différents milieux est décrit. La figure 14 présente ses caractères macroscopiques et microscopiques. Les diamètres des colonies à 25°C sont de l'ordre de 2-3, 56 et 62mm sur les milieux G25N, CYA et MEA respectivement. En milieu CYA, à 25°C le champignon présente une faible croissance (3mm) et à 37°C il ne présente aucune croissance. Ces caractères s'accordent bien avec ceux énoncés par Pitt et Honking (1985) : Colonies sur CYA 35-55 mm de diamètre, surface plane, texture veloutée à profondément floconneux; mycélium blanc; la production de conidies modérées à fortes, vert grisâtre à olive; verso pâle ou brun. Les colonies sur MEA sont de diamètre variable, de 35 mm à plus de 70 mm, planes, relativement dispersées, strictement veloutée; la production de conidies modérée, vert olive ou vert jaune terne; verso pâle ou brun.

Colonies sur G25N 6-12mm de diamètre, planes; verso pâle ou olive. A 5°C, au moins la germination, les colonies parfois jusqu'à 3 mm de diamètre. Pas de croissance à 37°C.

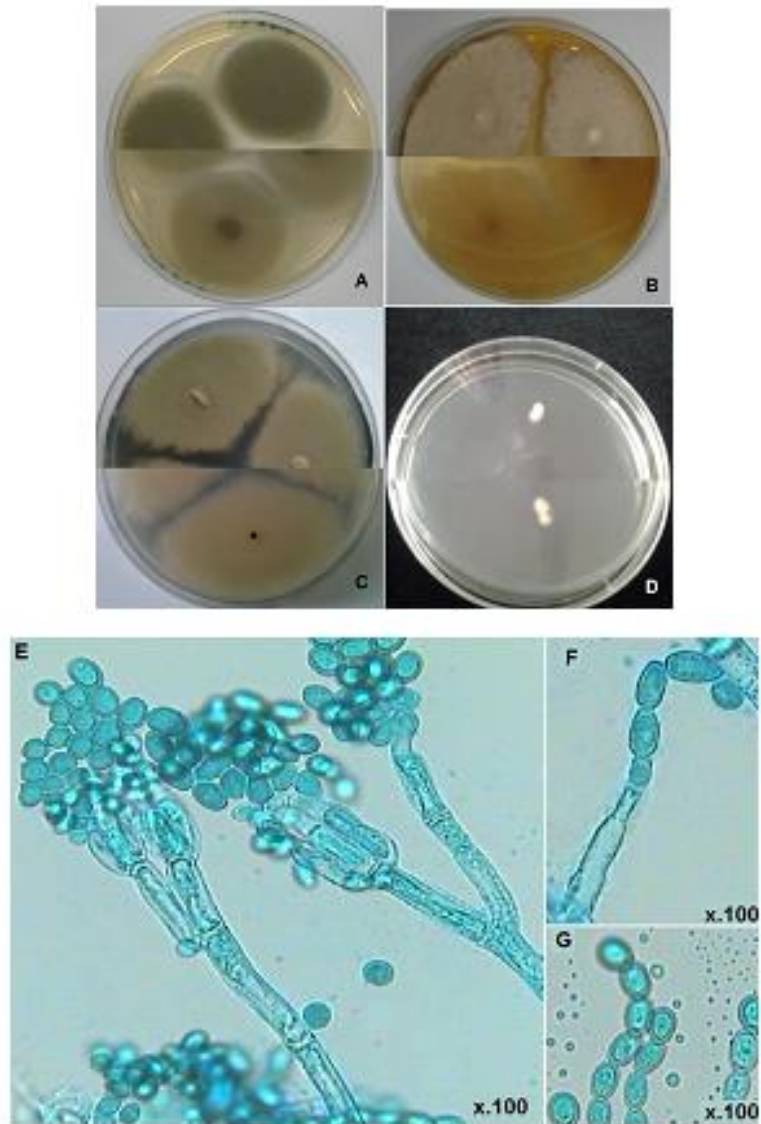


Fig.14 : Aspect macroscopique de *P. digitatum* sur les milieux: A) CYA , B) MEA et C) PDA à 25°C ; et D) CYA à 5°C ; et aspect microscopique E) conidiophores et conidies, F) phialide et conidies et G) conidies.

- Chaque photo des figures A,B,C,D montre la face et le verso de la culture en boîte.

6. Tests antifongiques

On a évalué l'effet de l'extrait et de l'huile essentielle de RC et RS sur la croissance de *P. digitatum* par différentes méthodes.

6.1. Méthode des disques de diffusion

On a remarqué que l'HE du RC est plus efficace sur le champignon : tous les volumes testés ont donné une zone d'inhibition supérieure à 12mm (le champignon est sensible à très sensible). L'HE du RS est moins efficace : les diamètres de la zone d'inhibition moins considérables malgré l'application les volumes élevés (Fig.15).

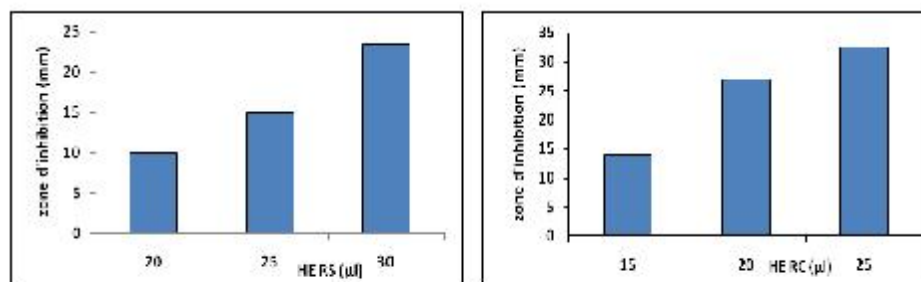


Fig.15 : Diamètres des zones d'inhibition de *P. digitatum* par les HEs de RS et RC

5.3. Méthode d'incorporation dans le milieu PDA

Des figures 16 et 17 qui représentent la cinétique de croissance et le pourcentage d'inhibition du champignon en présence de concentrations croissantes de l'HE.

On remarque que toutes les concentrations de l'HE du RC présentent un effet inhibiteur sur champignon allant de % à plus de % (Fig.16 B)

L'HE du RS est moins efficace par rapport à celle du RC en présentant un pourcentage d'inhibition allant de % à %.(Fig.17 B)

On peut noter que les concentrations de et µl/l des 02 types d'HEs sont puissantes par rapport aux concentrations inférieures. (Fig.16 A) et (Fig.17 A)

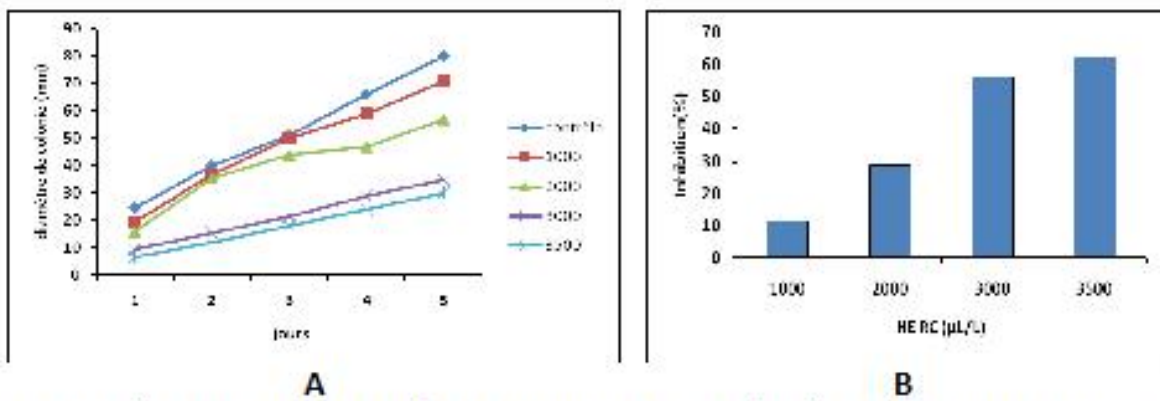


Fig.16 : Méthode d'incorporation : diamètres de colonies de *P. digitatum* à différentes concentrations d'HE de RC ($\mu\text{l/l}$) (A) ; et % d'inhibition au 5^{ème} jour (B)

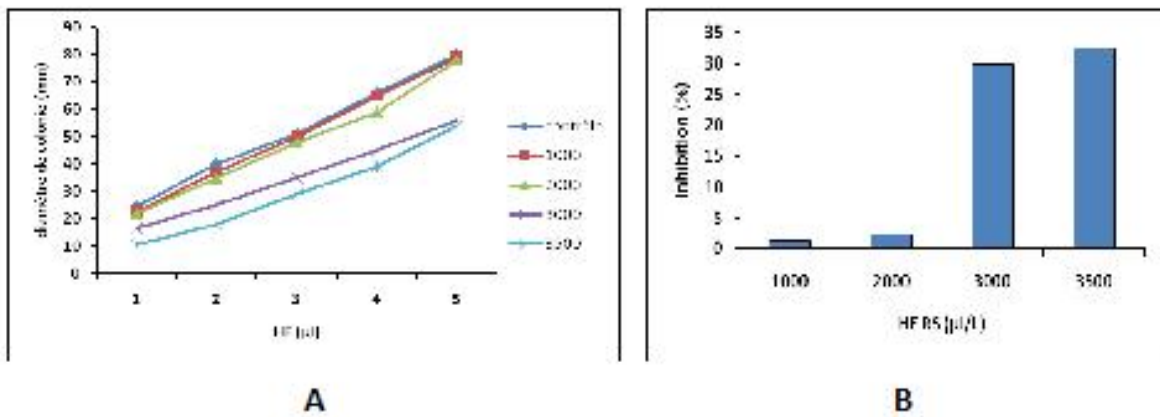


Fig.17 : Méthode d'incorporation : diamètres de colonies de *P. digitatum* à différentes concentrations d'HE de RS ($\mu\text{l/l}$) (A) ; et % d'inhibition au 5^{ème} jour (B)

5.4. Méthode de fumigation

On a remarqué que l'HE du RC est plus efficace sur le champignon : tous les volumes testés ont donné une zone d'inhibition supérieure à 10 mm et atteignant 80 mm (le champignon est sensible à très sensible). L'HE du RS est moins efficace : les diamètres de la zone d'inhibition moins considérables malgré l'application des volumes élevés (Fig.18 et Fig. 19).

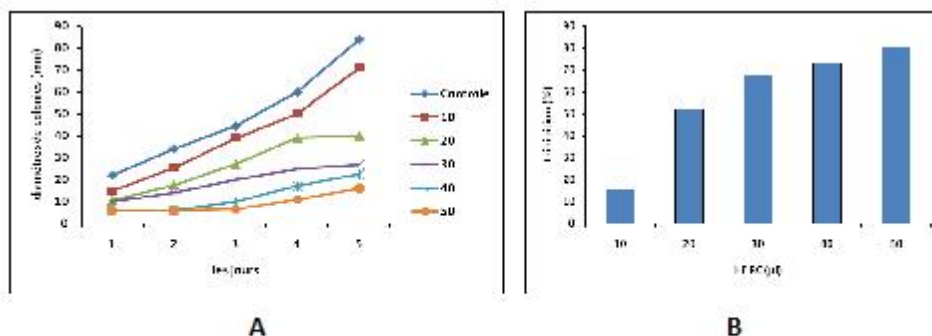


Fig.18 : Méthode de fumigation : diamètres de colonies de *P. digitatum* à différents volumes d'HE de RC (μl) (A) ; et % d'inhibition au 5^{ème} jour (B).

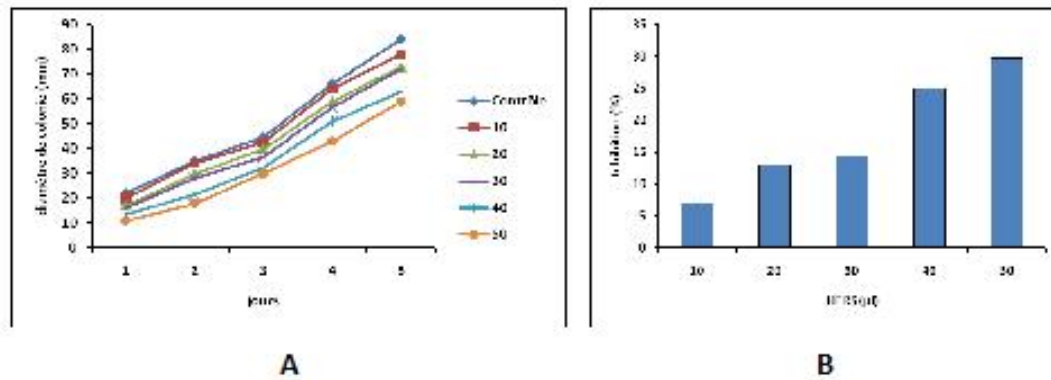


Fig. 19 : Méthode de fumigation : diamètres de colonies de *P. digitatum* à différents volumes d'HE de RS (μ l) (A) ; et % d'inhibition au 5^{ème} jour (B).

5.5. Méthode de puits :

Pour cette méthode on a testé l'extrait de chaque plante avec concentration mg/ml. On a remarqué que l'extrait méthanolique du romarin cultivé est plus efficace du romarin spontané (Fig. 20)

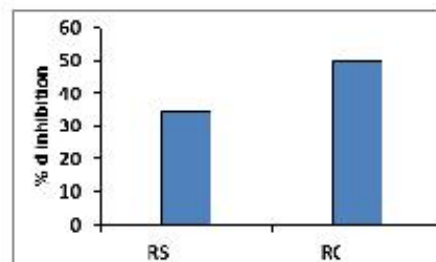


Fig. 20 Pourcentage d'inhibition de la croissance de *P. digitatum* par les extraits ME de RS et RC par méthode des puits.

Les différentes méthodes appliquées ont permis de connaître que le romarin possède une activité antifongique considérable et plus particulièrement l'huile essentielle. Celle-ci a présenté un effet inhibiteur très important par rapport à l'extrait. D'autre part l'HE du romarin cultivé (RC) est plus efficace que celle du romarin spontanée (RS). Beaucoup de plantes, particulièrement celles appartenant à la famille des lamiacées sont reconnues pour leurs activités antimicrobiennes et surtout leurs HES. Des recherches antérieures sur le romarin ont cité l'activité antifongique de ses HES évaluée comme moyenne vis-à-vis *P. digitatum* et autres espèces fongiques, comparée avec celle des HES du thym estimée très active (Benjilali *et al.*, 1986). Néanmoins, l'étude de Marandi *et al.* (2011) montre que l'HE du romarin a un

pourcentage d'inhibition supérieur à celui de l'HE de *Thymus kotschyanus* et d'*Ocimum basilicum* vis-à-vis de *P. digitatum*. Celiktas *et al.* (2007) montrent que l'HE du romarin est très active que l'extrait méthanolique vis-à-vis de *Candida albicans*. Ces activités antimicrobiennes sont dues à la composition chimique des HEs. L'HE des feuilles du romarin contient les composés importants -pinène, bornyl acétate, camphor, 1.8cinéol et acide rosmarinique (Kocic-Tanackov et Dimié, 2013).

Des travaux antérieurs montrent que les huiles essentielles de différentes espèces végétales présentent une activité antifongique très importante ; Kolai *et al.* (2012) montrent que l'huile essentielle d'*Artimesia herba alba* possède une efficacité remarquable sur des souches de *Fusarium oxysporum* et Maridass (2009) montre que l'HE de les espèces de *Cinnamomum* présente une activité antifongique envers quelques champignons. De même les extraits des plantes ont une activité antifongique ; l'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique, par Bougandoura et Bendimerad (2012), de quelques extraits végétaux sur trois souches fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*) montre que l'extrait méthanolique révèle une activité antifongique importante. L'extrait aqueux de Gingembre aussi a une activité antifongique vis à vis *P. digitatum* (Ghassan *et al.*, 2013).

Généralement l'inhibition totale dépend de la nature de l'HE, de sa composition et de la souche considérée. Les résultats révèlent des réponses variables en fonction de la souche, de la concentration de l'extrait testé (HE, extrait méthanolique) et de la sensibilité ou la résistance aux métabolites secondaires générés par les plantes à activités antimicrobiennes.

On note que le romarin spontané a été récolté avec peu de fleurs (période du début de floraison); l'absence des fleurs influe sur la présence de substances actives susceptibles d'être principales envers les microorganismes.

Conclusion

Conclusion

Le Romarin est un genre important dans la famille de *lamiaceae*. Notre étude montre que : les deux échantillons d'huile essentielle et d'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis*. L. (sauvage et cultivé) se différencient par leurs rendements, teneur en polyphénols, en flavonoïdes en IC_{50} et en leur activité antifongique .Ces différences dues à plusieurs facteur: la nature de plante ; sauvage ou cultivée.la période de récolte, la région, le climat, les méthodes d'extraction et les conditions de manipulation.

Grâce à ces activités antioxydante et antifongique remarquables ; le *Rosmarinus officinalis* a réservé une place très importante dans le domaine pharmacologique, et aussi dans l'agroalimentaire, donc il est nécessaire de compléter cette étude par l'identification des composés trouvées dans l'huile essentielle qui possèdent un pouvoir antioxydant très important, et leurs effet sur d'autres germes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Al-samarrai,G ,F., Singh,H .,et Syarhabil, M.(2013). Extract some plants on controlling green mold of orange and on postharvest quality parameters .world applied science journal,22(4),564-570.
 2. Almela, L., Sanchez-Munoz, B., Fernandez-Lopez, J A., Roca, M.J et Rabe, V. (2006) Liquid chromatographic- mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. J Chromatography A, 1120,221-229.
 3. Atik Bekkara, F; Bousmaha,L ;Taleb Bendiab S.A., J.B ;. Boti, J,b ; et Casanova ,J (2007) Composition chimique de l huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé,7 (1),6-11.
 4. Ariza, M., Larsen, T, O., Petersen,B, O., Duus,j et Barrero, A, F.,(2002). *penicillium digitatum* metabolites on synthetic media and citrus fruits *agric. Food Chem.*, 50, 6361-6365.
 5. Beloued,A. (2001)plantes médicinales d'Algérie .office des publication universitaires 5ed.alger . 284 p :184.
 6. Bencheqroun, H, K; Ghanmi, M ; Satrani, B., Aafi ,A.et Chaouch,A .(2012) Activite antimicrobienne des huiles essentielles d'*artemisia mesatlantica*, plante endemique du maroc. Bulletin de la société royale des sciences de liege,81 ,4–21.
 7. Benjilal B ; Tantaoui-Elaraki ,A ;Ismâïli-Alaou,M et Avadi ,A. (1986) méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie ,20 (2) ,155-167.
 8. Bougandoura,N ;et Bendimerad,N.(2012)effet antifongique des extraits aqueux et methanolique de *Satureja calamintha* ssp.(Nepeta) briq .Revue des BioRessources, 2 (1),1-7 .
 9. Bousbia,N; Abert,M; Ferhat,M; Petitcolas,E; Meklati,B et Chemat,F(2009) Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity .Food Chemistry,114,355–362.
 10. Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R.,et Bessière J.M. (1998)The essential oils from Rosmarinus officinalis L. in Algeria, J. Essent. Oil Res,10,680-682.
 11. Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R.,et Bessière J.M(2003) Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. Flavour Fragr. J,18, 481–484.
 12. Causse, C. (2007) les secrets de santé des antioxydants .Alpen.1ed .France .151p :15.
 13. Couplan, F. (2009).le régale végétal : plantes sauvages comestibles. sang de la terre.2éd, paris .404 p :370.
 14. Dacosta,E.(2003)Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta ,1ed.Paris, 317p :200.
 15. Djeddi,S;Bouchenah,N.;Settar,I et Skaltsa ,H D.(2007) composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from algeria .Chemistry of Natural Compounds, 43(4),547-913.
 16. Djerroumi, A et Nacef, M.(2004)100plantes médicinales d'Algérie. Homa.1ed. 158p :128.
 17. EL Rhaffari ,L. (2008).catalogue des plantes Potentielles pour la Conception de tisanes, l'organisation non gouvernementale Italienne :movimondo; 1ed. Maroc .14 p :6.
-

-
18. Erkan,N; Ayranci,G ; et Ayranci,E.(2008).Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* 110:76–82.
 19. European Food Safety Authority. (2008)Utilisation d'extraits de romarin en tant qu'additif alimentaire. Avis du groupe scientifique sur les additifs alimentaires, les arômes, les auxiliaires technologiques et les matériaux en contact avec les aliments. *The EFSA Journal*.,721 ,2-4.
 20. Feng,W ;Chen,J ;Zheng,X ;et Liu,Q .(2010).thymeoil to control alternaria alternata in vitro and in vivo as fumigant and contact treatments .*food control* ,22,78-81.
 21. Festy, D (2012) je ne sais pas utiliser les huiles essentielles. Le duc.s ,1ed. France .155p :9.
 22. Ghedira ,K.(2005)les flavonoides :structure,propriétés biologiques ,role prophylactique et emplois en thérapeutique .*phytothérapie* ,4 ,162-169.
 23. Ghourri,M; Zidane,L ;et Douira ,A. (2013). Usage des plantes médicinales dans le traitement de Diabète Au Sahara marocain (Tan Tan) .*Journal of Animal and Plant Sciences*,17 ,2388-2411.
 24. Goetz,P .(2007).La phytocosmétique thérapeutique .Springer-Verlag, Paris, 216p :123-125.
 25. Goetz,P et Ghedira,K (2012)la phytothérapie anti-infectieuse .Springer-Verlag.1ed . France .341p :194.
 26. Grosjeau, N. (2010) les huiles essentielles. Eyrolles .7éd. Paris.132 p : 17.
 27. Gruenwald, J; Brendler, T ; et Jaenicke ,C.(2000) PDR for Herbal Medicines. Officers of medical economics company.Canada.4ed.858p:284.
 28. Hart, T. Shears,P (1999). Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences Flammarion. 2éd.Paris. 313p :227.
 29. Hazzit, M., Baaliouamer, A. and Latreche, S. (2013). Effect of heat treatment on the chemical composition and the antioxidant activity of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *The Journal of Essential Oil Research*, 25 (4) ,308–314.
 30. Hernandez ,E ;. Ponce-Alquicira ,E ; Flores,j ; et Legarreta, G(2009) Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano(*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters *Meat Science* ,81,410–417.
 31. Hosni,k; Hassen, I; Chaabane, H; Jemli,m;Dallali,S;Sebei,H;et Casabianca,H. (2013)enzyme –assisted extraction of essential oils from thyme(*Thymus Capitatus* L)and rosmarin (*Rosmarinus Officinalis* L):impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity. *Industrial crops and products*,47,291-299.
 32. Hussain,A I; Anwar , F ; Ali Shahid ,S; Mahboob,S;et Nigam ,P,S. (2010) *Rosmarinus Officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *brazilian journal of microbiology* ,41,1070-1078.
 33. Ichai ,C ; Quintard,H ; et Orban ,J ,C.(2011)Désordres métaboliques et réanimation. Springer-Verlag ,1ed, France,. Paris.507p :442.
-

-
34. Iserin ,P. (2001).encyclopédie des plantes médicinales. Larousse ,2éd paris.335p :128-6.
 35. Jamshidi,R ,Afzali,Z.et. Afzali ,D(2009) Chemical Composition of Hydrodistillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with Other Countries.American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 5 (1),78-81.
 36. Judd,W;Campbell,C ;kellogg,E. et Stevens,p.(2002). botanique systématique :une perspective phylogénique. Boeck université 1ed. Paris. 200p :20.
 37. kaddem , S. (1990) .les plantes médicinales en Algérie. édition le monde des pharmaciens, ,3ed.Alger.181p :149.
 38. Kaloustian J ; et Hadji-Minaglou,F. (2012)La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie .Springer-Verlag France,1ed. Paris.210 p : 5.
 39. Khalfi -Habes ,o ; Boutekedjiret,C ; et Sellami,s .(2007) Activité biologique de trois huiles essentielles extraites de plantes algériennes sur *Rhy zopertha dominica* (F.) (Coleoptera : Bostrychidae). Africain Journal of Agricultural Research, 2(11),596-600.
 40. Khlifi, D; Sghaier, R; Amouri, S; Laouini,d; Hamdi,m;et Bouajila,J.(2013) Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. Food and Chemical Toxicology,55 ,202–208.
 41. Kocie-Tamackov ,S ;D ;et Dimie ,G,R.(2013)antifungal activity of essential oils in the control of food –borne fungi growth et mycotoxine biosynthesis in food. A.MENDEZ-VILAZ ,1,838-849.
 42. Kolai,N., Saiah, F. ;et Boudia ,A.(2012). Effet inhibiteur *in vitro* de l’huile essentielle d’*artimesia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp.*radicis-lycopersici* .Algerian journal of arid environment .2(1):71-76 .
 43. Lacolly ; P. (2007) biologie et pathologie du cœur des vaisseaux. john libbey eurotext .1éd. paris .401p :318.
 44. Lahsissene ,H ; Kahouadji ,A ; Tijane, M ; et Hseini ,S. (2009)catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de ZAËR (maroc occidental) .revue de botanique. Lejeunia ,186 : 4157-4184.
 45. Lecourt ,D.(1999) encyclopédie des science .La pocheothèque .France .1526 p :1325.
 46. Lt-Colonel ,H ; et Balouk,A .(2011) Les plantes aromatiques et médicinales le Centre de Recherche Forestière et l’Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques , Maroc . 68p : 22.
 47. Mansouri, N ; Satrani, B ; Ghanmi, M ; El Ghadraoui, L ;et Aafi, A.(2011)Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*,15(3),415-424.
 48. Marandi,R,J;Hassani ,A;et Sefidkon ,F.(2011) control *Penicilium expansum* and Botrytis Cinerea on pear with *Thymus kotschyanus* ,*Ocimum basilicium* et *Rosmarinus Officinalis* essential oils. Journal of medicinal plants research ,5(4),626-634.
 49. Maridass,M(2009).screening of antifungal activities of *Cinnamomum* species .thaij.pharm.sci,33,137-143.
-

-
50. Marrouf, A ;et Reynand, j (2007). la botanique ,Dunod, 1ed Paris. p313 :241.
 51. Massy ,Z (2006) le cholestérole .édition du groupe liaisons-le moniteur.1ed France.200p :66.
 52. Meigs,P (1960). Les plantes médicinales des régions arides. l'organisation des nations unies pour l'éducation ; Unesco. 7ed .Paris.99p :52.
 53. Mohammadi,Z ; Bachik,S ;et Belkaroube,N.(2010).Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles d'une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. les technologies de laboratoire, 5 ,10-15.
 54. Mohammadi,Z et Atik Bekkara,F .(2012)Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.Revue Nature et Technologie,06 ,34-39.
 55. Nauciel,j, C ;et Vildé,L .(2005)bacteriologie médicale ,2ed ,Masson .paris 515p :31.
 56. Nieto ,G ;Huvaere ,K et Skibsted ,L, H(2011) Antioxidant activity of rosemary and thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system.Eur .Food Res Technol ,233,11–18.
 57. Ojeda-Sana ,A M ;. van Baren ,C ,M ;. Elechosa ,A,M ;. Juárez ,M, A ;et Moreno, S.(2013) New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components .Food Control ,31,189-195.
 58. Pebret, F .(2003) maladie infectieuses .édition heurs de France 1ed.France.312p :58.
 59. Pitt.,J,I ;et Honking,A,D .(1985)fungi and food spoilage . Springer-Verlag, Paris 429p :43.
 60. Qyvind,M,A;et Kenneth R. M .(2006).Flavonoids :Chemistry, Biochemistry and Applications .Taylor & Francis Group.2ed. Etats-Unis d'Amérique..1176P:79.
 61. Runwald, G ;et Janicke ,C.(2006)Guide de la phytothérapie .MARBOUT , 1ed ,Italie 415 :p24.
 62. Schauenberg,p ;et Paris,f.(2005).guide des plantes médicinales .Delachaux et Niestlé ;2ed.france.420p :120-121.
 63. Scimeca, D ;et Tétan, M .(2005) votre santé par les HE. Alpen ,1ed .France 118p :13.
 64. Sean, H etTimothy, R. (2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH.Réseau canadien d'infotraitement sida (CATIE) 2ed Canada. .54p :1.
 65. Seignalet , J.(2004) l'alimentation ou la troisième médecine . (O.E.I.L.) François-Xavier de Guibert, 5éd. Paris .660 p : 145.
 66. Small, E ; Deutsch, G. (2001) .herbes culinaire pour nos jardin de pays froid. Le conseil national, 3éd, Canada. 205p:157.
 67. Tepe ,b ;Deferera,d ;Sokmen,a ;SOKMEN ,m ; et polissiou,m .(2005).antimicrobial and antioxydant activities of the essential oil and various extracts of *salivia tomentosa* miller (Lamiaceae).food chemistry ,90,333-340.
 68. Tsai, P., Tsai, T., Ho, S. (2007) *In vitro* inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. Food Chem, 70 (1) ,93-97.
 69. Tsimogiannis,D; Samiotaki, M., Panayotou, G ;et Oreopoulou, V. (2007) Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*,12,593 606.
-

-
70. Villa, T, G ; et Veiga-Crespo,P(2013)Antimicrobial Compounds.Springer-Verlag .Berlin.316p :73.
 71. Wang ,W .Li,N; Luo ,M Zu, Y ; et Efferth,T.(2012)Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Compared to That of Its Main Components. *Molecules*, 17, 2704-2713.
 72. Wichtl, M ;et Anton,R.(2003)plantes thérapeutiques .tec et doc ,2 ed..paris .p505 :8.
 73. Yakhlef,G.,Laroui,S.;Hambaba,L.,Aberkane, M.-C. ;et Ayachi,A. (2011).Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle *Phytothérapie* ,9,209-218.
 74. Yesil celiktas,O; Hames Kocabas, F,E; Bedir,e ;Verdar Sucan ,F, Ozek,T;et Baser,K,H,C(2007)antimicrobial activities of methanol extract and essential oils of *Rosmarinus officinalis* ,depending on location and seasonal variations .*food chemistry* ;100 ,553-559.
 75. Zaouli,y;bouzaine,t; et Boussaid ,M.(2010).essential oils composition in tow *Rosmarinus Officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities .*Food and chemical toxicology*,48,3144-3152.
-

Résumé

Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L. appartient à la famille des *Lamiaceae*, très répandu dans les régions méditerranéennes et la plante la plus populaires en Algérie.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antifongique de l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle HE de romarin à l'état cultivé et à l'état spontané puis faire une étude comparative entre les 02 états. La plante à son état cultivé est récoltée du campus du pôle universitaire de l'université de M'sila, et à son état spontané est récoltée de la région de Hammam Dhalâa (Nord-Ouest de la Wilaya de M'sila). Dans un autre temps, la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes des ses extraits a été effectuée.

Le rendement en HE est très important pour les deux échantillons et malgré que le romarin cultivé donne un rendement inférieur à celui la même plante à son état spontané, ses activités antioxydante, antifongique et sa teneur en polyphénols est supérieure.

L'effet antifongique de cette plante sur le *Penicilium digitatum in vitro* est très considérable et surtout celui des HEs de la plante et, en particulier, celui du romarin cultivé qui présenté un effet inhibiteur élevé par l'application de différentes méthodes.

Mots clés : Romarin, *Rosmarinus officinalis*, activité antioxydante, activité antifongique, polyphénols, flavonoïdes, *Penicilium digitatum*, huile essentielle.

إكليل الجبل نبتة من عائلة الشفويات جد منتشر في مناطق البحر الأبيض المتوسط والأكثر شيوعا في الجزائر.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم القدرة المضادة للأكسدة و المضادة للفطريات خاصة الفطر *P. digitatum* المسبب تعفن البرتقال المخزون، للمستخلص الميثانولي و الزيوت الأساسية لإكليل الجبل المزروع و الجبلي ومن ثم إجراء مقارنة بينهما؛ الأولى منتقاة من حديقة الحي الجامعي و الثانية من منطقة حمام الضلعة (شمال غرب ولاية المسيلة). من جهة أخرى تم تقييم معدلات الفلافونويدات و متعددات الفينول لكل نبتة.

مردود الزيوت الأساسية جيد عند النبتتين ورغم انه عال عند الإكليل الجبلي إلا انه سجل قدرة مضادة للأكسدة و مضادة للفطريات و معدل الفلافونويدات و متعددات الفينول اقل من الإكليل المزروع.

أثبت اختبار فعل الزيوت الأساسية و المستخلص الميثانولي في المخبر على *P. digitatum* وجود تثبيط معتبر خاصة النبتة المزروعة، و ذلك باستعمال عدة طرق.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل؛ *Rosmarinus officinalis*؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ النشاط المضاد للفطريات؛ متعدد الفينولات؛ الفلافونويدات؛ الزيوت الأساسية؛ *Penicilium digitatum*

Summary

Rosemary, *Rosmarinus officinalis* L. belongs to family of *Lamiaceae*, widespread in the mediterranean regions and the more popular plant in Algeria.

The objective of this study is to evaluate the antioxydant activity and the antifungal activity of the methanolic extract and the essential oil of rosemary in its cultivated state and the spontaneous one then to make a comparative study between these 02 forms. The cultivated plant was collected from the campus of the university, and the spontaneous form was collected from the area of Hammam Dhalâa (North-West of M'sila). The total polyphenol and falvonoid content of the two extracts was established.

The essential oil yield was very important for the two plant forms and although cultivated rosemary gives the lower yield, it marks a high antioxidative and antifungal activity in addition to its high content of polyphenols.

The *in vitro* antifungal test on *Penicilium digitatum*, blue mold of stored oranges, showed high inhibition effect by use of different methods.

Keywords: Rosemary, *Rosmarinus officinalis*, antioxydant activity, antifungal activity, polyphenols, flavonoids, *Penicilium digitatum*, essential oil.