

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

Mr ADDA Aymen Khaled

M^{elle} BRAHMI Fatima Zohra

M^{elle} CHAÏB Hadjer

Thème

Optimisation d'extraction des huiles essentielles de *Carum carvi* et *Anethum graveolens* et évaluation de leurs effets antifongiques

Soutenu publiquement le : 14/07/2021

Jury

Président : Mr. ALINEHARI Abdelkader

Encadreur : Mr. FETOUHI Bekhaled

Examineur : Mr. BENS Aid Ouassini

Grade

MCA

MCB

MCA

Année universitaire 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciement

Ce modeste mémoire est le résultat d'un long travail de recherche.

En préambule ou Avant toute chose, on tient à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la force, la patience, la miséricorde, et la bénédiction ainsi que pour la santé, le courage qu'il nous a donné dans la réalisation de ce présent mémoire.

On tient à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès et qui nous ont aidés lors de la rédaction de ce mémoire de près ou de loin.

Un remerciement particulier aux membres du laboratoire de biotechnologie végétale et protection des végétaux dirigé par Mlle ATIKA, ASMA, Mme SALIHA et sans oublier la doctorante BOUKHALOUA Asma pour tous ses efforts, et sa constante présence durant la réalisation de cette étude.

Merci beaucoup.

Tout d'abord, nous remercions sincèrement monsieur **FETOUHI Bekhaled** maître de Chimie à Tiaret qu'il trouve ici l'expression de notre profond reconnaissance pour nous avoir accordé sa confiance a aidé énormément à traverser cette étape merveilleuse de la vie académique et dirigé ce travail de recherche, il a donné beaucoup de son temps pour approfondir notre travail et le guidé tout au long de cette année, ses compétences et l'humanismes qui le caractérisent, ses précieux conseils, et sa gentillesse. Vous avez tous notre respect.

L'exprime de nos respectueux remerciements à Monsieur **YEZLI Wassim** : maître de mycologie pour sa disponibilité, son intérêt pour ce travail et pour les nombreux conseils avisés qu'il a pu nous donner au long de la thèse.

L'exprime de mes respectueux remerciements vont également à :

Les membres du jury : **ALINEHARI Abdelkader, BENSALID Ouassini**, qui ont fait l'honneur pour avoir accepté d'examiner ce travail et de le juger, votre suggestions et remarques sont un apport pour la suite de la carrière du chercheur. On s'adresse un grand merci à tous les enseignants qui ont assisté durant nos études, et aussi à tous nos anciens professeurs.





Je dédie ce mémoire

À mes parents ; pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apporté durant mes études.

Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

ADDA. A.K





Je dédie ce mémoire

Où j'attribue également mes profondes reconnaissances
À mes très chers parents.

À ma très chère mère : Vous êtes un exemple du
dévouement qui ne cesse de m'encourager.

À mon père ; Rien au monde ne mérite plus de
remerciements pour les efforts qu'il a fait pour moi jour et
nuît pour mon éducation et mon bien être, et qui m'ont
tant donné sans jamais me lasser, et pour le désir qu'il
m'a transmis et toujours accompagné moi tout au long de
mes études avec amour, soutien, compréhension et
encouragements, et m'a permis de devenir ce que je suis,
Ce travail est le fruit des sacrifices qui m'ont été faits
pour mon éducation et ma formation et aussi pour les
personnes qui ont participé de près ou de loin, directement
ou indirectement. A commencer par mes ingénieurs : le
laboratoire de protection des végétaux, le laboratoire de
Biotechnologie et Microbiologie avec qui j'ai pu échanger et
qui m'ont aidé et soutenu dans la préparation de ce
mémoire, parmi eux : M^{lle}. BOUKHALOUA Asma, M^{lle}.
BOURIAH Nacira, M^{lle}. ABDELJEBBAR Fatima, Mr.
YEZLI Wassim et mes collègues qui ont partagée avec
moi les moments difficiles de ce travail, que Dieu le tout
puissant les préserve, et leur accorde santé, longue
vie et bonheur.

BRAHMI.F



Je dédie ce mémoire

À ma chère maman et à mon père, pour leurs sacrifices, leur confiance, leur soutien, leur encouragement et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit.

À mes sœurs et mes frères surtout Mohamed, pour leur tendresse, leur complicité et leur présence.

À tous mes collègues pour leur présence dans les moments difficiles et les excellents moments que j'ai passés avec eux tout au long de cette année et au cours de ma carrière universitaire surtout MADJOUJ Fatah Gaïa.

CHAIB. H



Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. L'objectif et le lieu de travail.....	6
1.1 Matériels biologiques.....	6
1.1.1 Matériels végétaux.....	6
1.1.1.1 Généralité sur la famille des Apiaceae.....	6
1.1.2 Carvi (<i>Carum carvi</i>)	7
1.1.3 Aneth (<i>Anethum graveolens</i>)	8
1.1.4 Souches fongiques.....	10
1.1.4.1 <i>Fusarium oxysporum</i>	10
1.1.4.2 <i>Candida albicans</i>	11
1.2 Matériels de laboratoire.....	11
2. Méthodes.....	12
2.1 Méthode d'extraction des huiles essentielles : hydrodistillation.....	12
2.1.1 Mode opératoire.....	12
2.1.1.1 Détermination du rendement d'extraction.....	16
2.2 Teste antifongique.....	16
2.2.1 Méthode de diffusion en milieu gélosé, la méthode des disques ou l'aromatogramme.....	16
2.2.2 Le mode opératoire.....	17
2.2.2.1 La préparation de l'inoculum.....	17
2.2.2.2 Préparation des dilutions.....	21
2.2.2.3 Ensemencement des boîtes.....	21
2.2.2.4 Application des disques.....	24

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Caractérisation organoleptique des HEs de Carvi et l'Aneth.....	28
2. Rendement des HEs.....	28
2.1 Discussion.....	29
3. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles.....	30
3.1 Résultats.....	30
3.2 L'activité antifongique de l'huile essentielle de carvi.....	30
3.3 L'activité antifongique d'huile essentielle de l'Aneth.....	35
3.3.1 Discussion.....	38
3.3.1.1 Pour le Carvi.....	38
3.3.1.2 Pour l'Aneth.....	40
4. Discussion générale.....	41
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des abréviations

CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
cm :	Centimètre
°C :	Degré Celsius
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
EDS :	Eau Distillée Stérile
g :	Gramme
HEs :	Huiles Essentielles
h :	Heure
L :	Litre
ml :	Millilitre
µl :	Microlitre
mm :	Millimètre
PDA :	Potato Dextrose Agar
% :	Pourcentage
RHE :	Rendement en huile essentielle

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification botanique de Carum Carvi.....	8
Tableau 02 : Classification botanique d'Anethum graveolens.....	10
Tableau 03 : Caractéristiques organoleptiques des deux HEs.....	28
Tableau 04 : Rendement des HEs par les deux dispositifs.....	28
Tableau 05 : L'effet d'HE de Carvi sur la souche <i>Candida albicans</i> et le diamètre des zones d'inhibitions.....	38
Tableau 06 : L'effet d'HE de Carvi sur la souche <i>Fusarium oxysporum</i> et le diamètre des zones d'inhibitions.....	39
Tableau 07 : L'effet d'HE d'Aneth sur la souche <i>Candida albicans</i> et le diamètre des zones d'inhibitions.....	40
Tableau 08 : L'effet d'HE d'Aneth sur la souche <i>Fusarium oxysporum</i> et le diamètre des zones d'inhibitions.....	40

Liste des figures

Figure 01 : Ombelle simple (1), ombelle composée (2), structure d'une ombelle d'Apiaceae (3)	6
Figure 02 : Structure chimique de l'acide pétrosélinique.....	7
Figure 03 : <i>Carum carvi</i> (gaines et herbe)	7
Figure 04 : <i>Anethum graveolens</i> (graines et herbe)	9
Figure 05 : <i>Fusarium oxysporum</i> sous le microscope.....	10
Figure 06 : <i>Candida albicans</i> sous le microscope.....	11
Figure 07 : Ancienne unité de distillation.....	12
Figure 08 : Montage d'hydrodistillation normal (photo originale)	13
Figure 09 : Montage d'hydrodistillation DAIHAN.....	14
Figure 10 : La méthode d'aromatogramme.....	17
Figure 11 : La souche <i>candida albicans</i>	17
Figure 12 : La souche <i>Fusarium oxysporum</i> (a) et (b)	18
Figure 13 : Les cellules de la souche <i>C.albicans</i> sur la lame de Malassez sous microscope dans quatre rectangles à l'objectif 40X.....	19
Figure 14 : Les cellules de la souche <i>F.oxysporum</i> sur la lame de Malassez sous le microscope dans quatre rectangles à l'objectif 40X.....	20
Figure 15 : L'antifongique Fluconazole utilisé.....	22
Figure 16 : L'antibiotique Céfazal.....	22
Figure 17 : Rendement d'extraction des huiles essentielles.....	29
Figure 18 : L'effet de l'HE de Carvi sur la souche <i>C.albicans</i>	30
Figure 19 : L'effet de l'HE de Carvi à la dilution 10^{-1} sur la souche <i>C.albicans</i>	31
Figure 20 : L'effet de l'HE de Carvi à la dilution 10^{-2} sur la souche <i>C.albicans</i>	31
Figure 21 : L'effet de fluconazole sur la souche <i>C.albicans</i>	32
Figure 22 : L'effet de l'eau distillée stérile sur la souche <i>C.albicans</i>	32
Figure 23 : L'effet de DMSO sur la souche <i>C.albicans</i>	32
Figure 24 : L'effet d'HE de Carvi sans dilution sur la souche <i>F.oxysporum</i>	33
Figure 25 : L'effet d'HE de Carvi à la dilution 10^{-1} sur la souche <i>F.oxysporum</i>	33
Figure 26 : L'effet d'HE de Carvi à la dilution 10^{-2} sur la souche <i>F.oxysporum</i>	34
Figure 27 : L'effet de DMSO sur la souche <i>F.oxysporum</i>	34
Figure 28 : L'effet de l'eau distillée stérile sur la souche <i>F.oxysporum</i>	34

Figure 29 : L'effet de fluconazole sur la souche <i>C.albicans</i>	35
Figure 30 : L'effet d'HE de l'Aneth sur la souche <i>C.albicans</i>	35
Figure 31 : L'effet d'HE de l'Aneth à la dilution 10^{-1} sur la souche <i>C.albicans</i>	36
Figure 32 : L'effet d'HE de l'Aneth à la dilution 10^{-2} sur la souche <i>C.albicans</i>	36
Figure 33 : L'effet d'HE d'Aneth sur la souche <i>F.oxysporum</i>	37
Figure 34 : L'effet d'HE d'Aneth à la dilution 10^{-1} sur la souche <i>F.oxysporum</i>	37
Figure 35 : L'effet d'HE d'Aneth à la dilution 10^{-2} sur la souche <i>F.oxysporum</i>	38
Figure 36 : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibitions pour l'HE de carvi sur les deux souches testées.....	39
Figure 37 : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibitions pour l'HE d'Aneth sur les deux souches testées.....	40

Introduction
générale

L'homme et les plantes vivent côté à côté depuis des dizaines de milliers d'années, l'usage des plantes que ce soit par hasard, la superstition, les religions, ou par l'expérience relève d'une philosophie déjà exprimée depuis la plus haute antiquité.

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques, les épidémiologies des infections fongiques et les phytopathologies, ont changé au cours de ces vingt dernières années (**Garnica.M, 2009**).

Pour cela des alternatives de traitement ont vu le jour justifie la recherche intense de nouveaux médicaments plus efficaces et moins toxiques que les médicaments existants.

Aujourd'hui les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques, les antifongiques (qui sont considérés comme la solution quasi universelles aux infections graves) décroît, et a abouti à l'émergence et la propagation des organismes multirésistants et à d'autres inconvénients divers en termes de toxicité, de mauvais usages, des effets secondaires, de pollution et le coût élevé (**Collectif, 2001**).

En effet la plante n'est pas une « recette magique » dotée d'une action unique, mais un ensemble complexe constitue une source inépuisable d'agents thérapeutiques grâce aux principes actifs qu'elles renferme : les phénols, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes, les anthraquinones, les coumarines, les saponines, les vitamines, et les huiles essentielles ou essences végétales comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes du fait de leurs multiples et diverses applications (**Jean-Luc et Sallé, 1991; Collectif, 2001**).

Il existe plusieurs expressions pour définir une huile essentielle mais selon la 7^e édition de la Pharmacopée européenne, les HEs sont défini comme : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale de définition botanique, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par une méthode mécanique sans chauffage » (**El Asbahani. A, 2015**).

Elles pourraient être extrait par différentes méthodes : par hydrodistillation, par entraînement à la vapeur d'eau, par les solvants organiques, par CO₂ supercritique, par radiation ultrasonique, extraction assistée par micro-ondes et par expression à froid (**Mohamed Nadjib.B, 2019**).

En général, les constituants des huiles essentielles sont les terpènes d'hydrocarbures (isoprènes) et les terpénoïdes. Les premiers composés sont des monoterpènes et des sesquiterpènes. Les seconds, également appelés isoprénoïdes. Elles sont les dérivés oxygénés de terpènes hydrocarbonés tels que les alcools, aldéhydes, cétones, acides, phénols. Certains HEs contiennent une autre classe de molécules oxygénées qui sont les phénylpropanoïdes et leurs dérivés (**Bakkali. F, 2007**).

Les HEs sont des liquides aromatiques huileux volatils extraits de plantes aromatiques. Ils pourraient être biosynthétisés dans différents organes végétaux comme métabolites secondaires, accumulés et stockés dans des structures histologiques (les glandules sécrétoires). Leurs rendements d'extraction varient selon les espèces et les organes. Ils restent toutefois très faibles (environ 1%), ce qui en fait des substances rares très précieuses (**Svobodo. K.P, 2003**).

Elles font l'objet d'études actives dans le monde entier pour ; leur emploi possible en vue de la préservation des aliments contre l'oxydation et comme remèdes contre les infections, et pour leurs diverses applications intéressantes telles que le diagnostic in vitro, la thérapie, la cosmétique, le textile, etc. (**El Asbahani. A, 2015**).

Dans ce sens, l'Aneth et le Carvi de leurs noms scientifiques : d'*Anethum graveolens* et *Carum carvi* respectivement font l'objet de notre recherche en raison de leurs richesses en substances intéressantes, et offrent une variété des propriétés médicinales on peut citer : antiseptique, aromatique, anesthésique, anti-anxiété, diurétique, fongicide, antibactérien, anti-inflammatoire, relaxant musculaire, anti-ulcère, et analgésiques muqueux protecteurs (**Jaripa. B, 2008; Huda Jasim.A, 2017**).

L'objectif principal de cette étude est l'extraction des huiles essentielles de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Anethum graveolens* et *Carum carvi* par hydrodistillation simple et hydrodistillation par le dispositif DAIHAN et en deuxième point évaluation de l'effet de ces dernières vis-à-vis deux souches fongiques : *Candida albicans* et *Fusarium oxysporum* par la méthode de diffusion en milieu solide.

Ce manuscrit, est développé en deux chapitres.

Le premier chapitre est consacré pour les différents méthodes utilisées durant notre partie expérimentale.

Le deuxième chapitre est conservé pour les différents résultats et discussion obtenus au cours de notre travail.

En terminant par une conclusion générale qui fait l'objet d'une appréciation de différents résultats et perspectives de l'utilisation des huiles essentielles vis-à-vis les différentes souches en aspect antifongique.

Partie
expérimentale

Chapitre I
Matériel et
méthodes

1. L'objectif et le lieu de travail :

L'objectif de notre travail est d'une part, l'exploitation de deux plantes de la famille des Apiaceae : le carvi (*Carum carvi*) et l'aneth (*Anethum graveolens*) à travers l'extraction de ses HEs. D'une autre part les utiliser comme alternatives aux antibiotiques et aux pesticides par l'évaluation de leurs effets antifongiques.

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de protection des végétaux au sein de Département des Sciences Biologiques et le laboratoire B de microbiologie, à l'Université Ibn Khaldoun – TIARET- : durant une période allant du : 12 avril 2021 au 12 mai 2021.

1.1 Matériels biologiques :

1.1.1 Matériels végétaux :

1.1.1.1 Généralité sur la famille Apiaceae :

Les Apiacées autrefois appelées Ombellifères, comprennent 300–455 genres et 3000–3750 espèces réparties dans l'hémisphère nord. Ses membres comprennent des légumes économiquement importants (par exemple, carotte, panais, céleri) et des condiments (par exemple, coriandre, carvi, cumin, persil et aneth). Ils ont des saveurs distinctives qui sont en grande partie dues à divers composés volatils dans les fruits et les feuilles qui expliquent non seulement leur utilisation culinaire étendue, mais aussi de larges applications en médecine traditionnelle (Nurhayat .T, 2006).

Les caractéristiques principales des membres d'Apiaceae sont : la nature herbacée aromatique, les feuilles non stipulées et disposées d'une façon alterne, les tiges creuses, les petites fleurs, faciles à reconnaître grâce à ses inflorescences typiques : les ombelles simples ou composées (Fig.01).

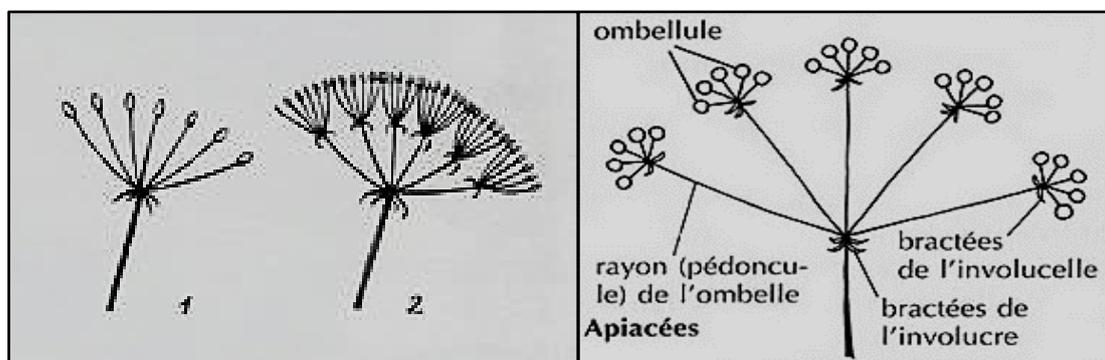


Figure 01: ombelle simple (1), ombelle composée (2), structure d'une ombelle d'Apiaceae (3) (Jacon.G, 2015)

La famille des Apiaceae comprend un grand nombre de plantes qui sont utilisées pour différentes fins, y compris la nutrition, la médecine, les boissons, les épices, les répulsifs, les colorants, les cosmétiques, les parfums, etc... (Aćimović. M et Kostadinović. L, 2015).

Les graines de cette famille sont considérées comme une source prometteuse de l'acide gras peu courant l'acide pétrosélinique (C₁₈H₃₄O₂) (Fig.02) : sa teneur dans les huiles de graines d'Apiaceae est généralement supérieure à 50% (Bagci, 2007).

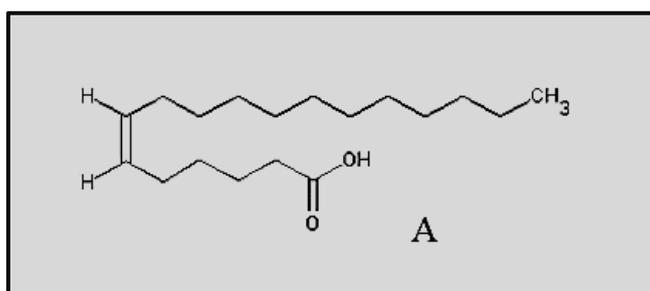


Figure 02: Structure chimique de l'acide pétrosélinique (Wik)

Les graines de deux plantes testées ont été achetées à partir d'une épicerie.

1.1.2 Carvi (*Carum carvi*) :

Nom vernaculaire en Algérie : Karwia

Nom usuel français : Carvi, Cumin des prés, Cumin de montage, faux anis. (David.B)

1.1.2.1 Description :

Plante herbacée bisannuelle et aromatique. Sa racine est pivotante, en fuseau, charnue et odorante, sa tige est sillonnée, anguleuse et ramifiée dès la base. Ses feuilles sont finement découpées et les fleurs, petites et blanches, roses ou encore rouges (Fig.01) et elles sont disposées en ombelles. Le fruit est un schizocarpe qui se sépare en deux akènes et il est très parfumé (Arvy .M, 2003).



Figure 03 : carum carvi (gaines et herbe) (jar)

1.1.2.2 Habitat et culture :

Le carvi est cultivé en Europe, en Russie, en Afrique du Nord, en Asie et aux Etats-Unis. Il pousse dans les endroits ensoleillés jusqu'à 2 000 m d'altitude. Ses graines sont récoltées à maturité à la fin de l'été (**Collectif, 2001**).

1.1.2.3 Constituants :

Huile essentielle à haute teneur en carvone (env. 50%), limonène, flavonoïdes, polysaccharides, protéines et furano-coumarines (**Collectif, 2001**).

1.1.2.4 Histoires et traditions :

Le carvi est utilisé couramment en cuisine comme condiment ou épice grâce à sa saveur (**Rasooli.A-I, 2016**).

1.1.2.5 Effets et usages médicaux :

Les graines soignent l'appareil digestif et agissent directement sur les muscles intestinaux pour soulager coliques, ballonnements et flatulences. Elles améliorent le souffle, stimulent l'appétit, régularisent le rythme cardiaque perturbé par des troubles digestifs et soulagent les règles douloureuses. De plus, elles sont diurétiques, expectorantes et fortifiantes (**Claude.L, 2008**).

Tableau 01 : Classification botanique de Carum Carvi (Michel.B, 2010)

Carvi	
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnolipsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Carum
Espèce	Carvi

1.1.3 Aneth (Anethum graveolens) :

Nom commun : Aneth, fenouil puant, ou fenouil bâtard.

Nom connu en arabe : Shibth (**Esmail, 2014**)

1.1.3.1 Description :

Plante annuelle aromatique, à tige creuse, à feuilles soyeuses et à nombreuses fleurs jaunes en ombelles. Le fruit, très léger, est acre (75 cm de haut) (**Fig.04**).



Figure 04 : *Anethum graveolens* (graines et herbe)

1.1.3.2 Habitat et culture :

L'aneth est originaire de l'Europe du Sud, de l'Asie centrale et méridionale. A l'état sauvage, il pousse sur les friches. On le cultive notamment en Europe et en Amérique du Nord. Les feuilles sont utilisées en cuisine comme aromate (**Collectif, 2001; Shekhawat.G, 2010**).

1.1.3.3 Constituants :

Les graines de l'aneth contiennent jusqu'à 5% d'huile essentielle (carvone et limonène), des flavonoïdes, des coumarines, des xanthonés et des triterpènes (**Shekhawat.G, 2010**).

1.1.3.4 Histoires et traditions :

Dans une ancienne recette égyptienne, on recommande l'aneth, associé à d'autres ingrédients, pour faire un mélange employé contre la douleur. Les Grecs recouvraient leurs yeux avec des feuilles d'aneth pour s'endormir plus vite. Au Moyen Age, l'aneth éloignait le mauvais sort (**Collectif, 2001; Shekhawat.G, 2010**).

1.1.3.5 Effets et usages médicaux :

L'aneth a toujours été prisé pour ses effets bénéfiques sur l'estomac, soulageant notamment les flatulences et facilitant la digestion. Son huile essentielle soigne les spasmes intestinaux et les coliques. Mâcher des graines d'aneth rafraîchit l'haleine.

L'aneth est un précieux complément aux remèdes contre la toux, le rhume et la grippe ; c'est aussi un diurétique léger (**Claude.L, 2008**).

Tableau 02: Classification botanique d'*Anethum graveolens* (Michel.B, 2010)

Aneth	
Règne	Plantae
Division	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Ordre	Apiale (ombellale)
Famille	Apiaceae
Genre	Anethum
Espèce	Graveolens

1.1.4 Souches fongiques :

Nous avons utilisé la souche *Fusarium oxysporum* qui a été fournie par le laboratoire de microbiologie de notre université et la souche *Candida albicans* qui a été fournie par le laboratoire d'analyses médicales de GHOULAMALLAH -TIARET-. Le choix de ces souches fongiques comme modèle pour l'étude est basé sur le fait qu'une est phytopathogène et l'autre est pathogène pour l'homme.

1.1.4.1 *Fusarium oxysporum* :

Fusarium oxysporum est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des Nectriaceae. Comme c'est le cas de tous les *Fusarium*, il s'agit de la forme de reproduction asexuée. *F. oxysporum* est un complexe d'espèces telluriques, ubiquistes, parasites de plantes, comprenant de nombreuses formes spéciales (f. sp.), qui infectent collectivement plus de 100 hôtes différents, provoquant des pertes économiques importantes chez de nombreuses plantes cultivées comme le bananier, le melon, la tomate, etc (Yezli.W, 2018).



Figure 05: *Fusarium oxysporum* sous le microscope

1.1.4.2 *Candida albicans* :

Candida albicans est une espèce de champignons microscopiques (levure), c'est un organisme unicellulaire (**Fig.06**) qui se multiplie par bourgeonnement, un saprophyte exclusif des muqueuses (respiratoires, vaginales, digestives) et n'est jamais trouvé sur la peau saine, les autres espèces peuvent se trouver normalement sur la peau et les muqueuses. Ce champignon peut causer des infections chroniques sévères (**Laverdière. M, 2006**).



Figure 06: *Candida albicans* sous le microscope

1.2 Matériels de laboratoire :

Appareillages	Verreries et autres matériels
<ul style="list-style-type: none"> • Agitateur « vortex » • Autoclave • Bec bunsen • Balance • Hydrodistillateur • Incubateur • Microscope 	<ul style="list-style-type: none"> • Ampoule à décanter • Anse de platine • Ballon à fond rond de 1L et 2L • Barreau magnétique • Bêchers • Boîtes de Pétri • Chauffe ballon • Disques • Eppendorfs • Éprouvette graduée • Flacons • Lames simples, de Malassez et lamelle • Micropipette • Pipettes de Pasteur • Pince • Réfrigérant • Tubes à essai • Verre de montre
Produits et Milieux de culture utilisés	
<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée et EDS • Gélose Sabouraud • PDA • Antibiotique Céfazal • Antifongique Fluconazole • DMSO 	

2 Méthodes :

2.1 Méthode d'extraction des huiles essentielles : hydrodistillation

L'extraction des HEs a été réalisée au niveau du laboratoire de protection des végétaux de la faculté SNV de l'Université IBN KHALDOUN à Tiaret par la méthode d'hydrodistillation normale.

Cette méthode est la plus simple et la plus ancienne (**Fig.07**) utilisée pour l'extraction. Historiquement, Avicenne (980-1037) a été le premier à développer l'extraction à travers l'alambic. Il a extrait la première huile essentielle pure celle de la rose (**El Asbahani.A, 2015; Benjakul, 2014**).

Le principe consiste à immerger directement le matériel végétal (graines) dans l'eau distillée à l'intérieur d'un ballon à raison de 100 ml d'eau distillée pour 10 g de matière végétale et l'ensemble est ensuite porté à ébullition. Les constituants volatiles de matériel végétal sont vaporisés puis condensés au contact du froid pour obtenir un mélange non miscible après une décantation (**El Asbahani.A, 2015**).

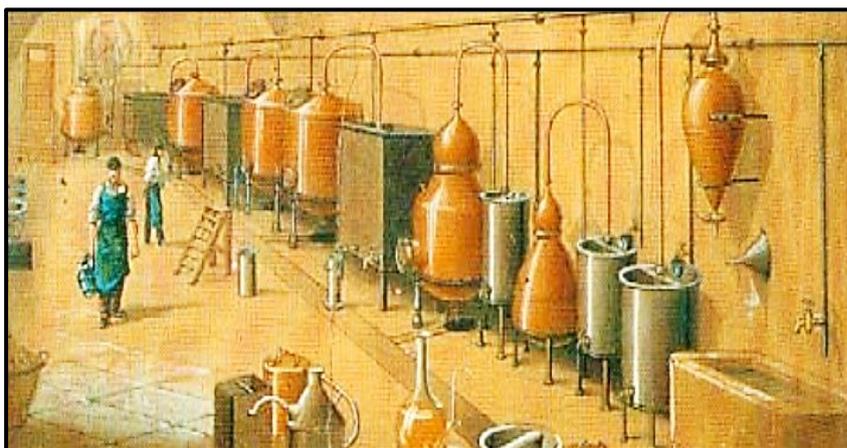


Figure 07 : Ancienne unité de distillation

2.1.1 Mode opératoire :

Le processus d'extraction a été réalisé en suivant le protocole qui se résume en sept étapes (**El Asbahani.A, 2015**) :

- 1) Peser une quantité de 50g de graines de chaque plante (*Carum carvi* et *Anethum graveolens*).



- 2) On verse cette quantité dans 500 ml d'eau distillée dans un ballon relié avec un réfrigérant.



- 3) Placer un b cher à la sortie du réfrigérant pour récupérer le distillat.
4) Le mélange est porté à l'ébullition pendant 3 heures.

La vapeur d'eau produite entraine les constituants volatiles, pour les recueillir après une condensation.



Figure 08: Montage d'hydrodistillation normale (photo originale)



Figure 09 : Montage d'hydrodistillation DAIHAN

- 5) Le distillat recueilli est transvasé dans une ampoule à décanter placée sur un support.
- 6) Après 24h deux phases se répartissent (s'apparaitre) : une phase aqueuse (hydrolat) et une phase huileuse.



- 7) Passé maintenant à la procédure de la décantation pour obtenir nos HES, ces dernières sont conservées dans des Eppendorfs ou des flacons en verre enveloppés de papier aluminium à température située entre 4 à 6 °C pour empêcher la dégradation des HES.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

(a) Eppendorf vide déjà pesé.

(b) Récupération d'HE par décantation.

(c) Le pesage de l'Eppendorf contenant l'HE.

(d) HE est prête pour la conservation ou l'utilisation.

(e) Conservation d'HEs par l'aluminium sur un portoir et les mettre dans le réfrigérateur à une température de 4 à 6°C.

2.1.1.1 Détermination du rendement d'extraction :

Le rendement c'est le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la plante, il est exprimé en pourcentage par la formule suivante (Abdelaziz.B, 2019).

$$\text{RHE}\% = \frac{M'}{M} \times 100$$

Avec :

RHE : Rendement en huile essentielle en %,

M' : Masse d'huile essentielle en g,

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en g

2.2 Teste antifongique :

L'activité antifongique des huiles et de leurs constituants est étudiée depuis plus d'un quart de siècle. De nombreuses études ont été réalisées pour étudier leurs effets bénéfiques contre les infections fongiques et les phytopathogènes.

Dans le même principe et afin de tester cette activité, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur gélose en milieu solide en déterminant le diamètre des zones d'inhibitions.

Les milieux de culture utilisés sont :

- ✓ PDA (Potato Dextrose Agar) : est favorable pour la croissance des champignons phytopathogènes
- ✓ Sabouraud : c'est une gélose qui favorise la culture et l'isolement des levures et des moisissures.

2.2.1 Méthode de diffusion en milieu gélosé, la méthode des disques ou l'aromatogramme :

« L'aromatogramme est à la Phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la Pharmacopée française des antibiotiques et à la médecine » (Belaiche, 1979).

C'est une modification de la méthode de l'antibiogramme où les disques d'antibiotiques sont remplacés par des disques imbibés d'huile essentielle (Fig.10).

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une géloseensemencée avec une suspension de la souche à étudier. Chaque produit à tester diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire, appelée

zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la souche est résistante (Marie. C, 2005)

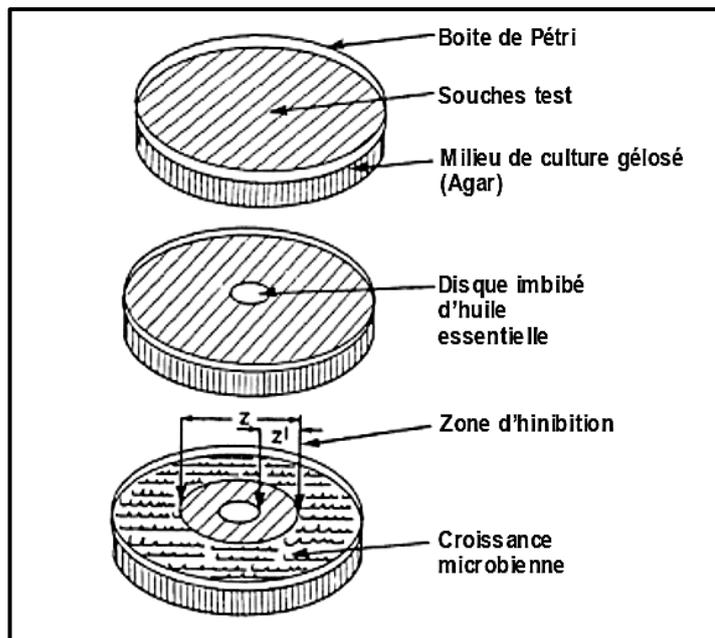


Figure 10: la méthode d'aromatogramme

2.2.2 Le mode opératoire :

2.2.2.1 La préparation de l'inoculum :

Elle a été réalisée en cinq étapes suivantes :

1. À partir d'une culture jeune de 48h pour la souche *C.albicans*; on a réalisé des suspensions troubles en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées à l'aide d'une anse de platine stérilisée et on les dépose dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérilisée.



Figure 11 : La souche *candida albicans*

2. Pour la souche *F.oxysporum* :on a prélevé à l'aide de la partie supérieur d'une pipette pasteur trois disques fongiques et les mettre dans un tube contenant 9ml d'eau distillée stérilisée.

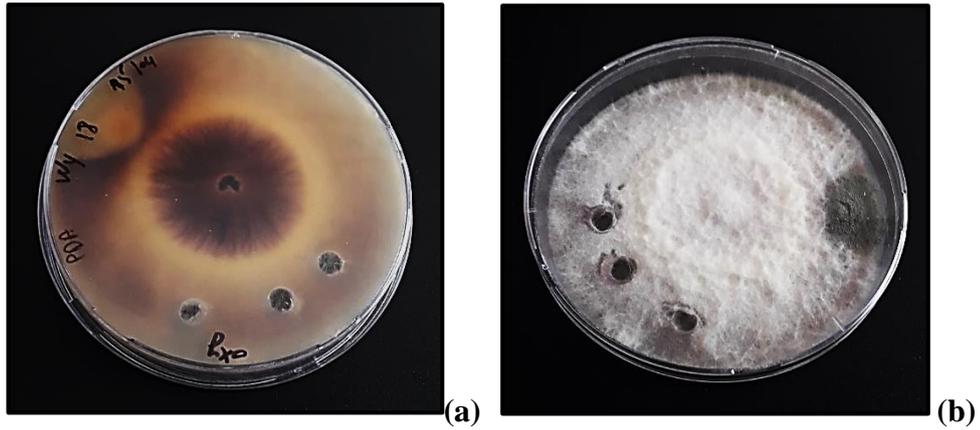


Figure 12: La souche *Fusarium oxysporum* (a) et (b)

3. Une agitation des tubes au vortex .



4. Ensuite une observation microscopique a été réalisé :

On préleve à l'aide d'une pipette pasteur une goutte de la suspension et la déposée sur une lame contenant de bleu méthylène.



5. Après on a utilisé une lame de Malassez pour un dénombrement de cellules :

- Une vérification par l'objectif **10X** de l'homogénéité dans un rectangle.

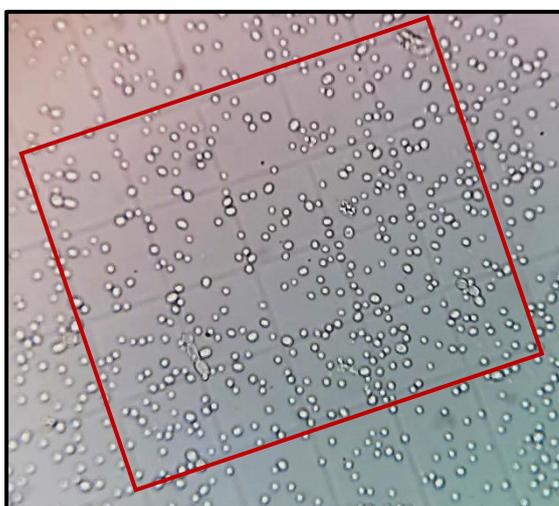
On considère que les cellules de 4 rectangles à l'objectif **40X**, puis on a pris la somme des cellules observées dans chaque rectangle (**Fig 13**). Deviser ce nombre par 4(nombre de rectangles comptés) pour l'obtention le nombre moyen des cellules. Le nombre de la cellule à été déterminé par la relation suivante (**Mostefa. N, 2017**):

$$\text{Nombre de cellules} = NM \times F \times 10^5$$

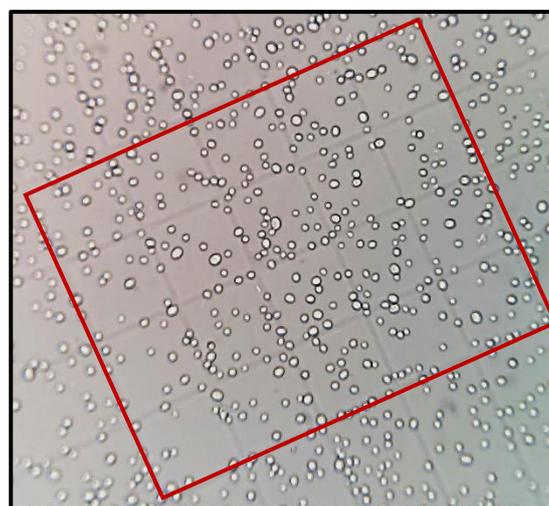
Où :

NM : le nombre moyen de cellules.

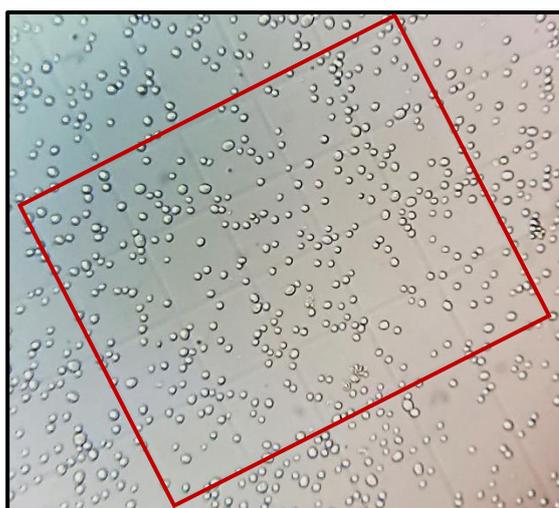
F : le facteur de dilution.



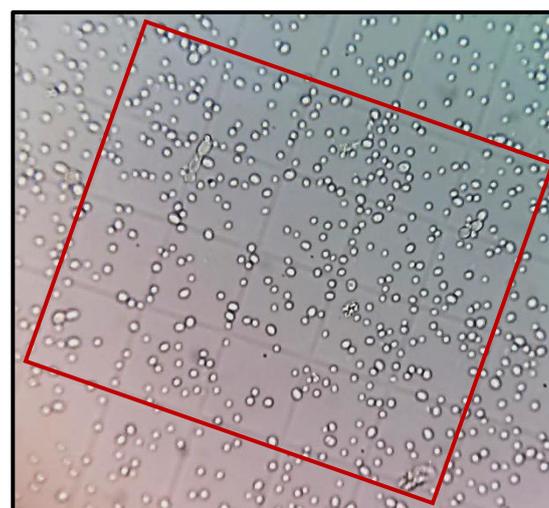
Rectangle 1 subdivisé en 20 petits carrés



Rectangle 2



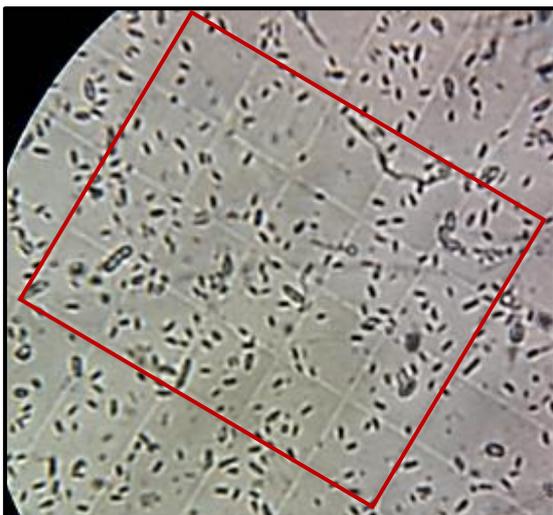
Rectangle 3



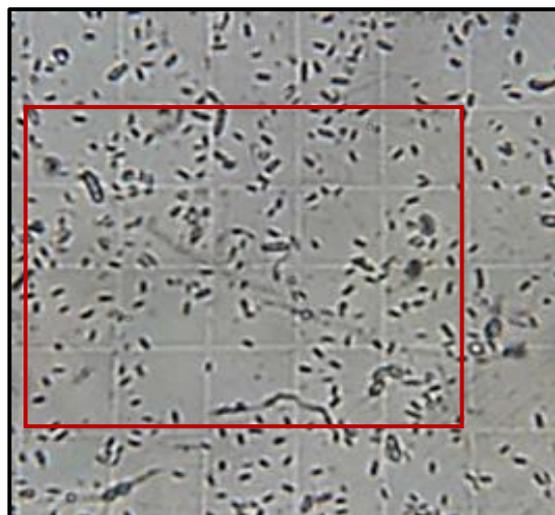
Rectangle 4

Figure 13: les cellules de la souche *C.albicans* sur la lame de Malassez sous microscope dans quatre rectangles à l'objectif **40X**.

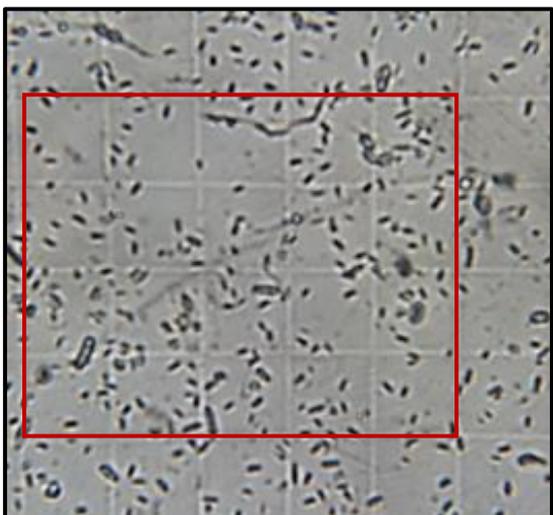
Les mêmes étapes ont été réalisées pour la deuxième souche (*Fusarium oxysporum*).



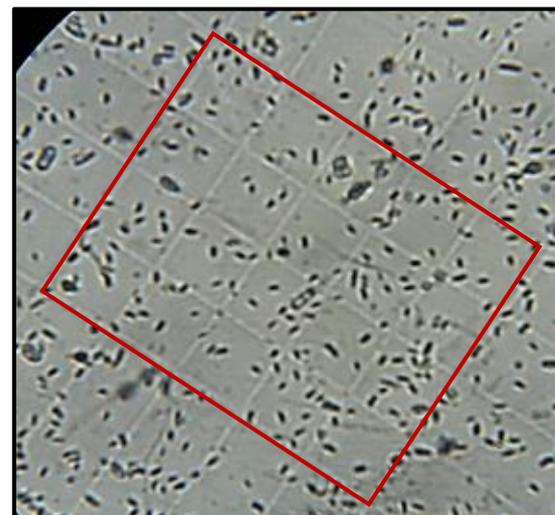
Rectangle 1 subdivisé en 20 petits carrés



Rectangle 2



Rectangle 3



Rectangle 4

Figure 14: les cellules de la souche *F.oxysporum* sur la lame de Malassez sous le microscope dans quatre rectangles à l'objectif **40X**.

2.2.2.2 Préparation des dilutions :

Par l'utilisation :

- Un témoin positif c'est l'antifongique Fluconazole 150 mg/1 ml.
- Deux témoins négatifs : EDS (Eau Distillée Stérile) et DMSO (diméthylsulfoxyde).

Le DMSO est un solvant utilisé pour la solubilisation des huiles essentielles.

L'HE de Carvi et l'Aneth sont considérés comme des solutions mères.

La dilution 10^{-1} a été préparé par l'introduction de 100 μ L de l'HE dans un Eppendorf contenant 900 μ L du solvant DMSO. Une quantité de 100 μ L a été prélevé à partir de la première dilution (10^{-1}) et la mettre dans un Eppendorf contenant 900 μ L de DMSO: c'est la dilution 10^{-2} .



2.2.2.3 Ensemencement des boîtes :

L'ensemencement a été réalisé en suivant les six étapes suivantes :

1. Pour la souche *C.albicans*:

On a coulé la gélose Sabouraud contenant 1 ml l'antibiotique Céfazal dans les boîtes de pétri, et on a les laissé se refroidir et se solidifier,



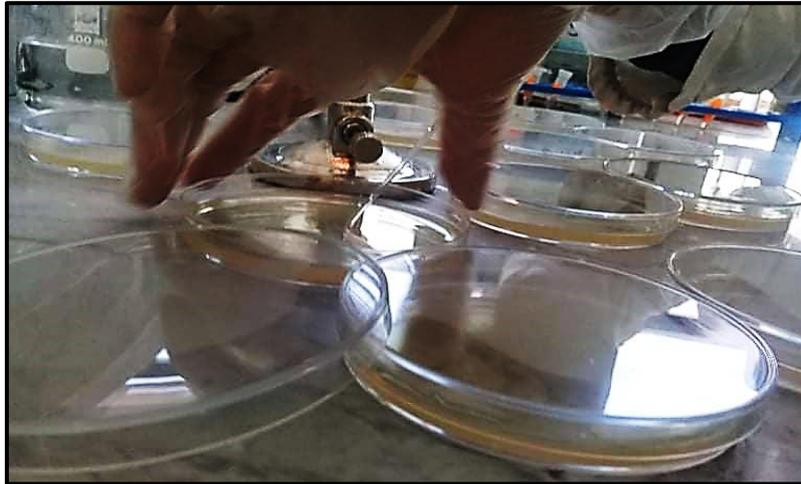


Figure 15: l'antifongique Fluconazole utilisé comme témoin positif utilisé



Figure 16: l'antibiotique Céfazal

2. Deux gouttes de la suspension ont été déposés et à l'aide d'un étaloir on a réalisé un ensemencement en surface pour cette souche.



3. Un ensemencement en profondeur a été réalisé pour *F.oxysporum* : Deux gouttes ont été prélevées et déposées sur les boîtes de pétri.



4. Un coulement d'un volume d'environ de 15 ml du milieu PDA .



5. Ensuite, les boîtes ont été homogénéisé en formant doucement le chiffre huit .



6. Solidification de milieu.



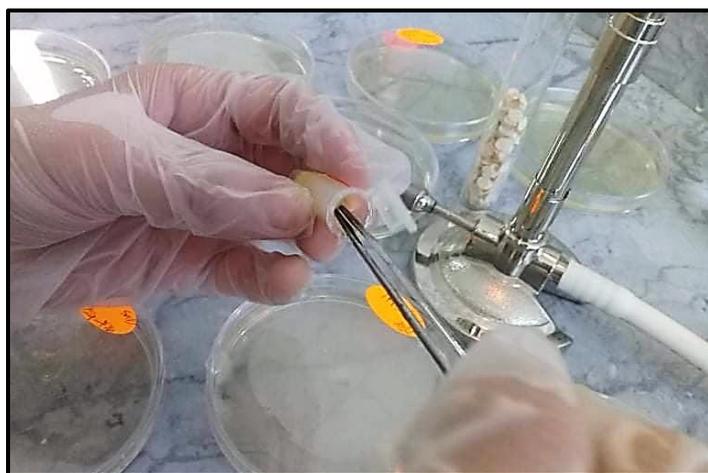
2.2.2.4 Application des disques :

À l'aide d'une pince stérile, différents disques ont été pris: le premier est imbibé dans l'HE, le deuxième est imbibé dans l'antifongique Flucanazole, le troisième est imbibé dans les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} , et le dernier est imbibé dans l'EDS et DMSO. Ces disques imbibés ont été déposés au centre de chaque boîte de pétri.

Une incubation de ces boîtes est enregistrée à une température de 28°C pendant 24h à 72h.



(a)



(b)

(a) : Quatre tubes à essais contenaient l'antifongique Flucanazole après leur préparation, les disques utilisés, les deux souches préparées sous forme des suspensions.

(b) : Disque imbibé dans l'huile essentielle à l'aide d'une pince stérile.



(c)



(d)

(c) et (d) : Le dépôt des disques au centre des boîtes de pétri.

Les essais sont faits en duplicata pour chaque concentration des huiles essentielles. à la fin du temps approprié d'incubation aux conditions décrites, La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.



Chapitre II
Résultats et
discussion

1. Caractérisation organoleptique des HEs de Carvi et l'Aneth :

Tableau 03 : Caractéristiques organoleptiques des deux HEs

		Huiles essentielles	
Propriétés	Carum carvi	Anethum graveolens	
Photo			
Couleur	Jaune claire	Jaune foncé	
Aspect	Liquide	Liquide	
Odeur	Forte et Puissante	Puissante	

2. Rendement des HEs :

Calculs du rendement des HEs obtenues par hydrodistillation normale et de type DAIHAN :

Le calcul du rendement est fait à partir :

- ✓ La mesure de la masse des graines.
- ✓ La mesure de l'Eppendorf vide et Eppendorf contenant l'HE et on fait la différence entre les deux masses pour obtenir la masse d'huile essentielle en gramme.

Et par le rapport suivant on obtient le rendement :

$$RHE\% = \frac{M'}{M} \times 100$$

Tableau 04 : Rendement des HEs par les deux dispositifs

Type de dispositif d'hydrodistillation	Normale		DAIHAN	
	Carvi	Aneth	Carvi	Aneth
Graines				
Masse des graines en g	600 g	450 g	200 g	100 g
Masse d'HE en g	1.656	3.04	0.421	0.508
Rendement en %	0.28 %	0.68 %	0.21 %	0.51 %

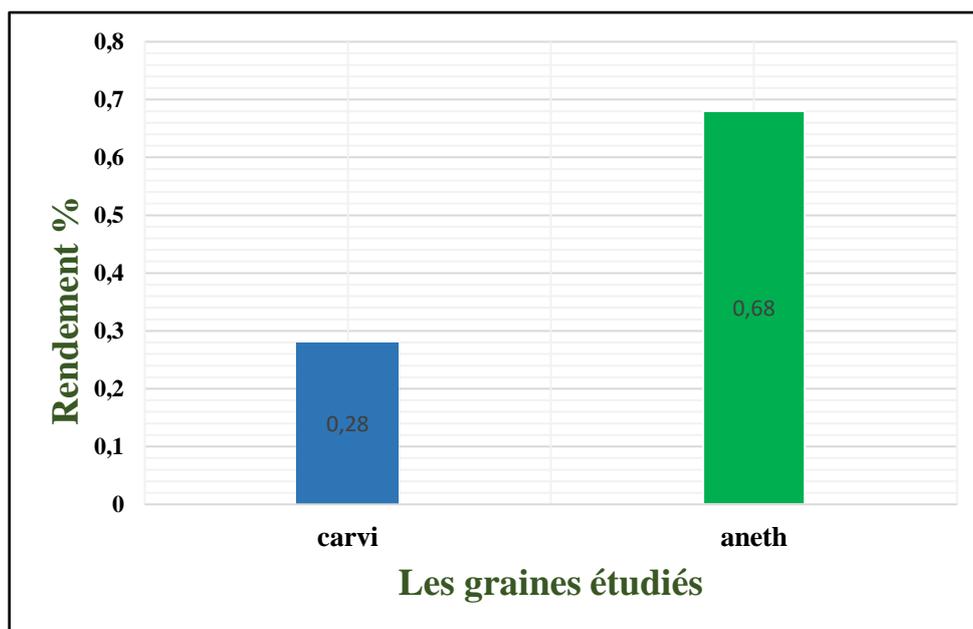


Figure 17 : Rendement d'extraction des huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles issues des graines de *Carum carvi* était de **0,28%** alors que celui obtenu à partir des graines d'*Anethum graveolens* était de **0,68%**.

Le meilleur rendement en HEs obtenu par la méthode d'hydrodistillation simple est enregistré chez l'aneth avec **0,68%**.

2.1 Discussion :

L'espèce d'Aneth a présenté le rendement le plus élevé **0,68%** par rapport à celui de l'espèce carvi **0,28%**.

Le rendement obtenu de Carvi a été relativement proche à celle obtenu par (Nacira.B et Fadhila.R, 2018) qui est de **0,75%** et faible par rapport à celle obtenu par (Samiha.Y et Rania.D, 2016) qui a été de **1,3%**. Pour l'Aneth notre résultat a été plus élevée par rapport à celle obtenu par (Youcef. A, 2012) qui a été de **0,16%** et très faible par rapport à ceux obtenus par (Chen.Y, et al, 2013 ; Tian et al, 2012) qui a été de **3,5%**.

Cette différence de rendement en HE peut être attribuée à plusieurs variables en fonction :

- De l'origine considéré (racines, feuilles et graines).
- Variabilité due aux caractéristiques écologiques : nature du sol, pluviométrie.
- La durée et les techniques utilisées pour l'extraction et la conservation.
- Les conditions de travail.

3. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles :

3.1 Résultats :

L'évaluation de l'activité antifongique de différentes huiles essentielles a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide. L'activité antifongique est traduite en zones d'inhibition correspondes aux diamètres des zones formées au tour des disques. Elle est estimée comme suit :

- Extrêmement forte lorsque le diamètre est supérieur à 28 mm
- Forte pour un diamètre supérieur à 18 mm ;
- Moyenne pour des valeurs entre 14 et 17 mm ;
- Faible, pas plus de 10 mm ;
- Si la colonie est en contact avec un diamètre de 6 mm (équivalent au diamètre d'un disque), rien n'indique qu'il n'y a pas d'effet (**Dridi, 2005**).

3.2 L'activité antifongique de l'huile essentielle de carvi :

Les résultats obtenus concernant l'effet de l'huile essentielle de Carvi sur la souche *C.albicans* sont illustrés dans les (**Fig18, 19, 20, 21, 22, 23**).

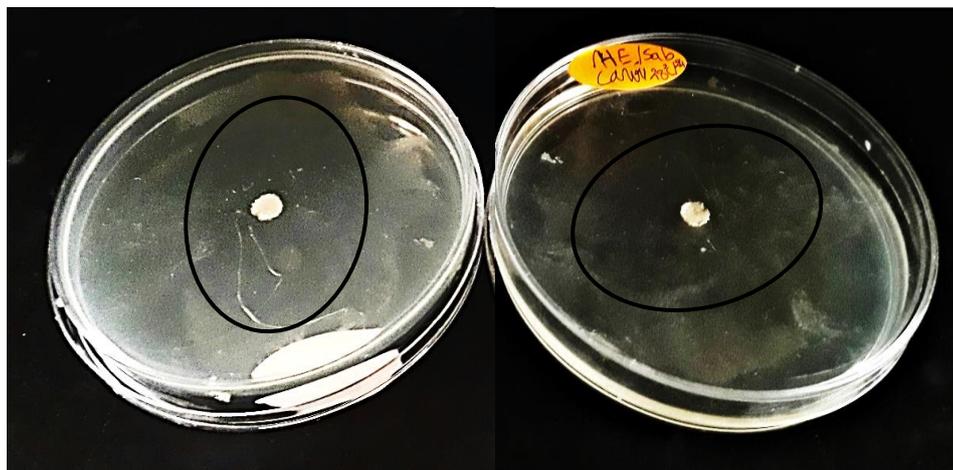


Figure 18 : L'effet de l'HE de Carvi sur la souche *C.albicans*

La figure montre que l'huile de Carvi a une forte activité contre *C.albicans* d'où on remarque la formation d'une zone d'inhibition très intéressante autour de disque imbibé que avec l'HE de Carvi sans dilution.

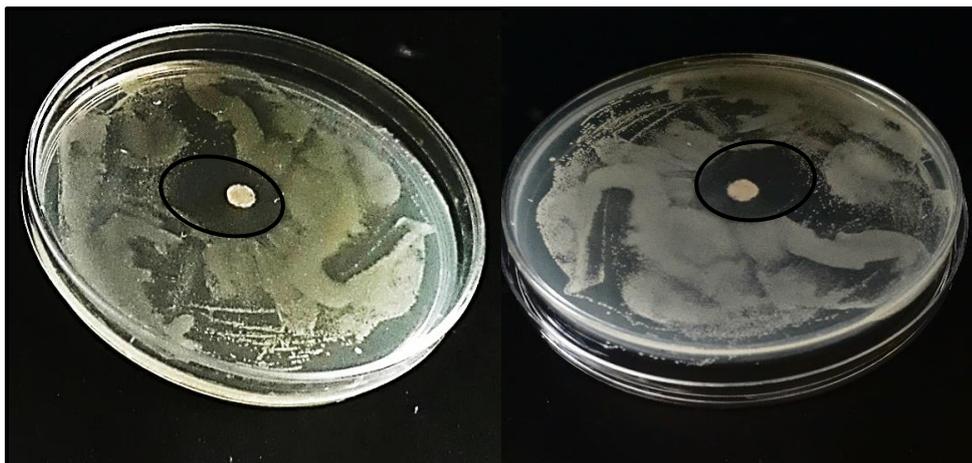


Figure 19 : L'effet de l'HE de Carvi à la dilution 10^{-1} sur la souche *C.albicans*

L'examen de la figure montre la formation d'une zone d'inhibition autour de disque donc l'huile de Carvi à la dilution 10^{-1} a aussi une forte activité contre *C. Albicans*.



Figure 20 : L'effet de l'HE de Carvi à la dilution 10^{-2} sur la souche *C.albicans*

L'huile de Carvi semble efficace en contact avec *C.albicans*, même à dilution 10^{-2} car on observe une zone autour de disque et puisque que nous nous sommes arrêtés à cette dilution, donc la CMI est supérieur à la valeur **1 μ g/ml**.

Selon les résultats obtenus on peut dire que la souche *Candida albicans* se distingue par une sensibilité très élevée à l'huile essentielles de *Carum carvi*.

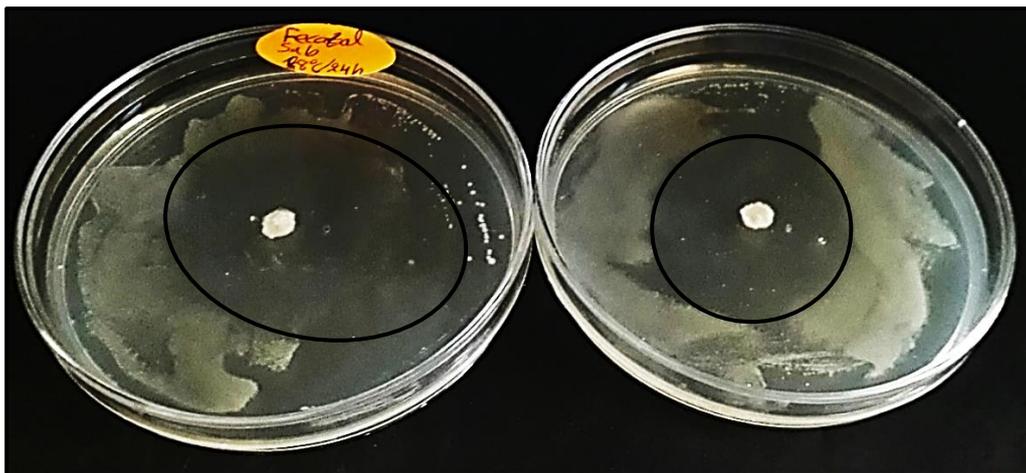


Figure 21 : L'effet de fluconazole sur la souche *C.albicans*

Pour fluconazole puisque c'est un antifongique : témoin positif, donc il montre aussi un effet extrêmement fort.



Figure 22 : L'effet de l'eau distillée stérile sur la souche *C.albicans*



Figure 23 : L'effet de DMSO sur la souche *C.albicans*

Remarque :

Concernant les disques des témoins négatifs : EDS et DMSO il est important de préciser l'absence de la zone d'inhibition dans le cas de deux souches étudiées, d'où la fiabilité de nos résultats.

Les résultats obtenus concernant l'effet de l'huile essentielle de Carvi sur la souche : *F.oxysporum* sont illustrés dans les (Fig24, 25, 26, 27, 28, 29).

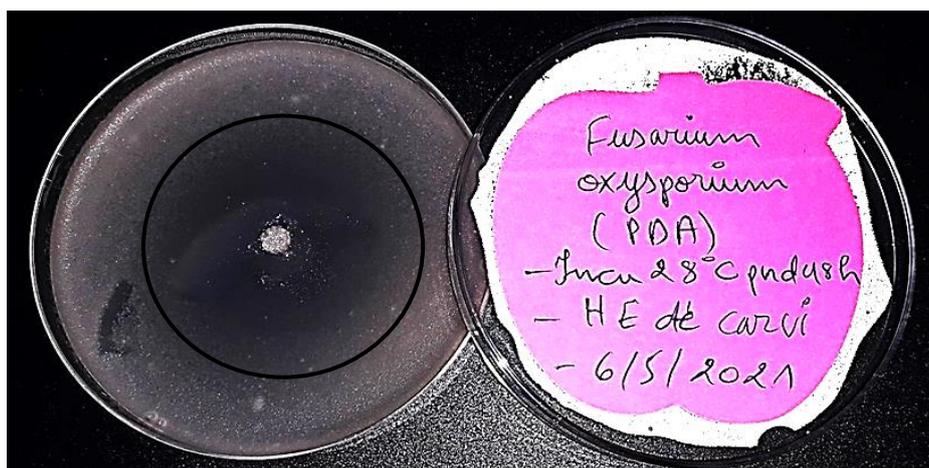


Figure 24 : L'effet d'HE de Carvi sans dilution sur la souche *F.oxysporum*

La figure montre que l'huile de Carvi a aussi une forte activité contre la deuxième souche *F.oxysporum* d'où on remarque la formation d'une zone d'inhibition très intéressante autour de disque imbibé que avec l'HE de Carvi sans dilution.

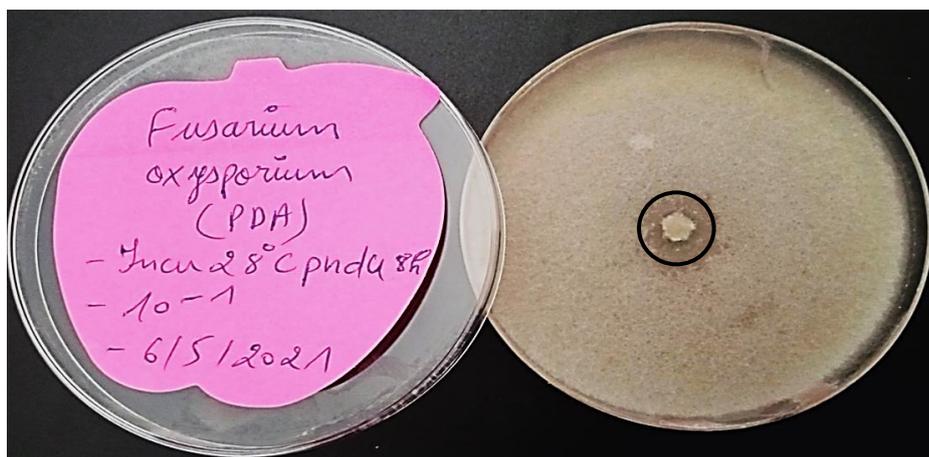


Figure 25 : L'effet d'HE de Carvi à la dilution 10^{-1} sur la souche *F.oxysporum*

L'examen de la figure montre la formation d'une petite zone d'inhibition autour de disque. Donc la souche est sensible à l'Huile de Carvi.

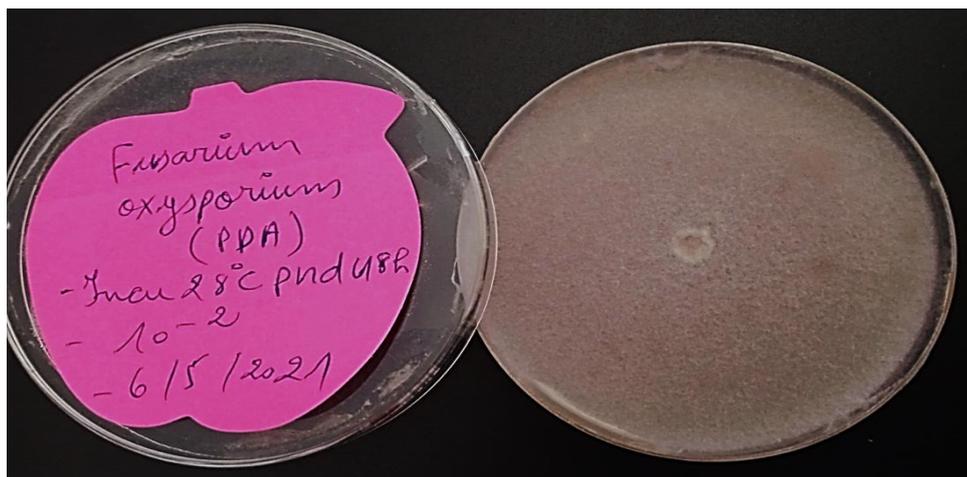


Figure 26 : L'effet d'HE de Carvi à la dilution 10^{-2} sur la souche *F.oxysporum*

La figure illustre la résistance de *F.oxysporum* à l'effet de l'huile essentielle de Carvi donc puisque on voit pas une zone autour le disque, on dit que la CMI est égale **10 μ g/ml**.



Figure 27 : L'effet de DMSO sur la souche *F.oxysporum*

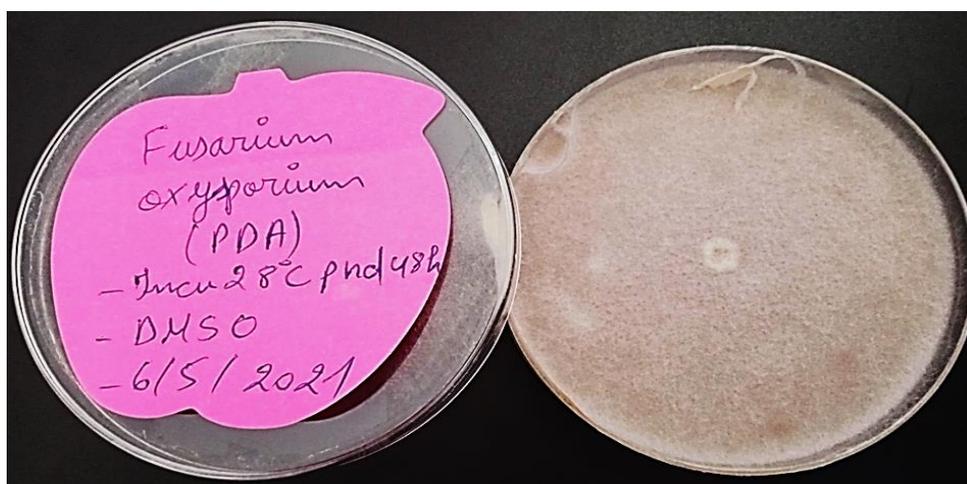


Figure 28 : L'effet de l'eau distillée stérile sur la souche *F.oxysporum*

Remarque :

Concernant les disques des témoins négatifs : EDS et DMSO il est important de préciser l'absence de la zone d'inhibition dans le cas de deux souches étudiées, d'où la fiabilité de nos résultats.

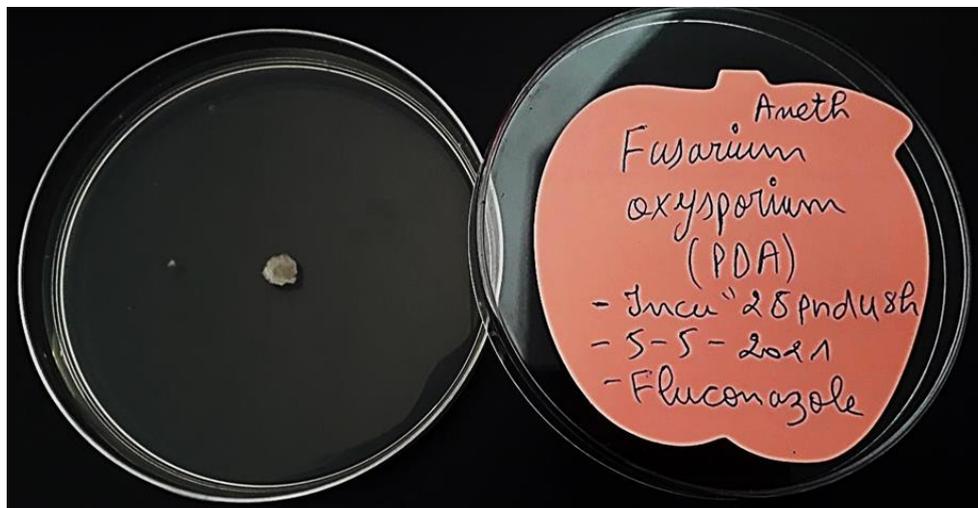


Figure 29 : L'effet de fluconazole sur la souche *C.albicans*

Pour fluconazole puisque c'est un témoin positif, on ne remarque pas une zone autour de disque et donc la très sensibilité de la souche contre cet antifongique.

3.3 L'activité antifongique d'huile essentielle de l'Aneth :

Les résultats obtenus concernant l'effet de l'huile essentielle d'Aneth sur la souche *C.albicans* sont illustrés dans les (Fig30, 31, 32).



Figure 30 : L'effet d'HE de l'Aneth sur la souche *C.albicans*

La figure montre que l'huile d'Aneth semble efficace (une forte activité) contre *C.albicans*. Cette efficacité ressort de fait on remarque une zone d'inhibition très

intéressante autour de disque imbibé qu'avec l'HE d'Aneth sans dilution.



Figure 31 : L'effet d'HE de l'Aneth à la dilution 10^{-1} sur la souche *C.albicans*

L'examen de la figure montre la formation d'une zone d'inhibition autour de disque donc l'huile d'Aneth à la dilution 10^{-1} a aussi une forte activité contre *C. Albicans*.



Figure 32 : L'effet d'HE de l'Aneth à la dilution 10^{-2} sur la souche *C.albicans*

D'après les résultats de la figure 16 l'huile d'Aneth semble efficace en contact avec *C.albicans*, même à dilution 10^{-2} car on observe une zone autour de disque et puisque que nous nous sommes arrêtés à cette dilution, donc la CMI est supérieur à la valeur **1 μ g/ml**. Selon les résultats obtenus on peut dire que la souche *Candida albicans* se distingue par une sensibilité très élevée à l'huile essentielles d'*Anethum graveolens*.

Les résultats obtenus concernant l'effet de l'huile essentielle d'Aneth sur la souche *F.oxysporum* sont illustrés dans les (Fig33, 34, 35).

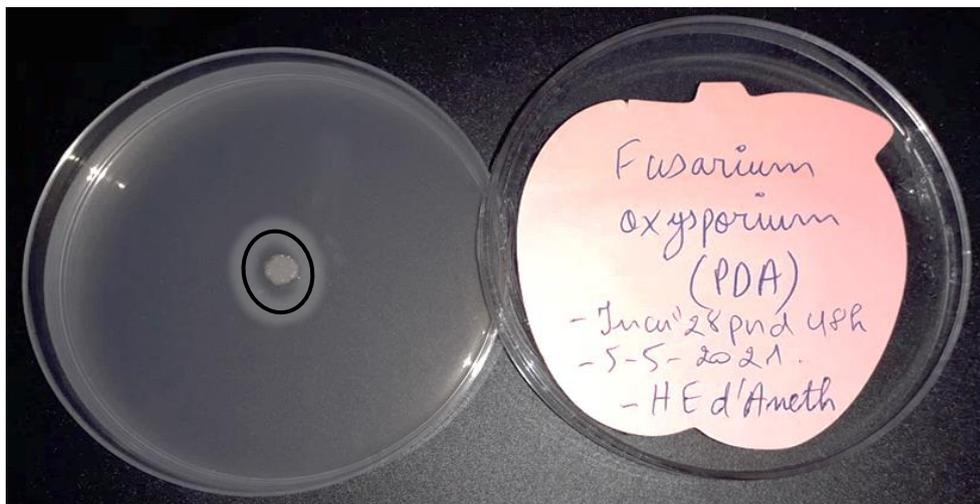


Figure 33 : L'effet d'HE d'Aneth sur la souche *F.oxysporum*

La figure montre que l'huile essentielle de l'Aneth révèle moyennement efficace contre *F.oxysporum*.

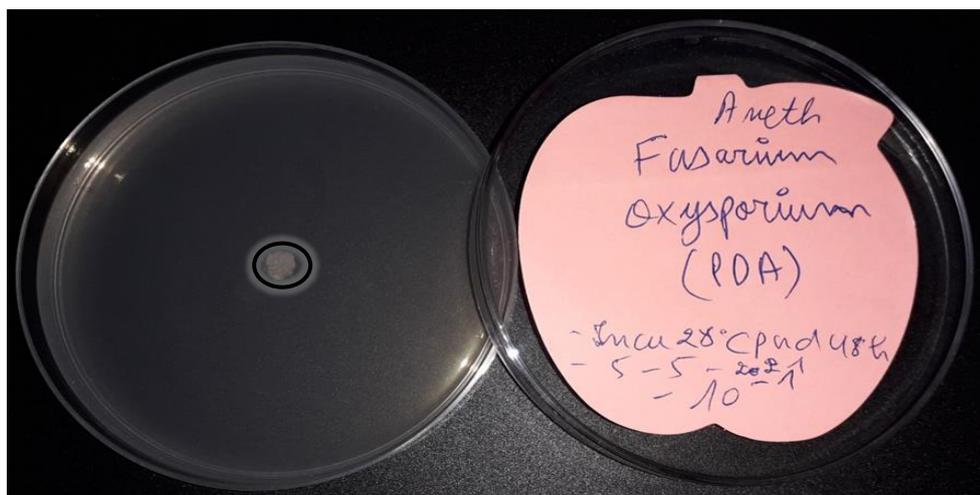


Figure 34 : L'effet d'HE d'Aneth à la dilution 10^{-1} sur la souche *F.oxysporum*

La figure montre que l'huile essentielle d'Aneth à la dilution 10^{-1} révèle faiblement efficace contre *F.oxysporum*.

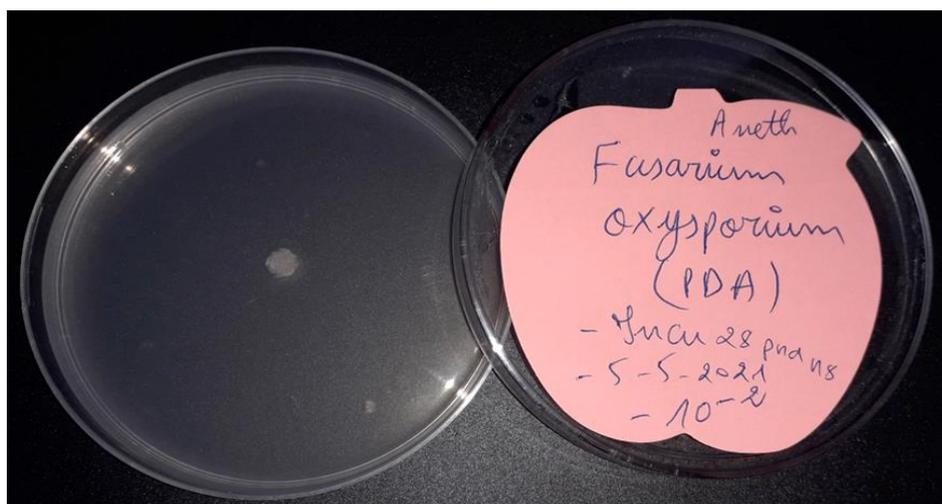


Figure 35 : L'effet d'HE d'Aneth à la dilution 10^{-2} sur la souche *F.oxysporum*

La figure illustre la résistance de *F.oxysporum* à l'effet de l'huile essentielle de l'Aneth donc puisque on voit pas une zone autour le disque, on dit que la CMI est égale **10 $\mu\text{g/ml}$** .

3.3.1 Discussion :

Les mesures du diamètre d'inhibition de nos huiles essentielles ont été effectuées à l'aide d'une règle, la souche est dite sensible, lorsqu'une zone d'inhibition circulaire se forme autour de disque, si la souche est résistante, le diamètre de cette zone sera très faible. Nous avons organisé les résultats obtenus envers les souches testées dans le tableau suivant :

3.3.1.1 Pour le Carvi :

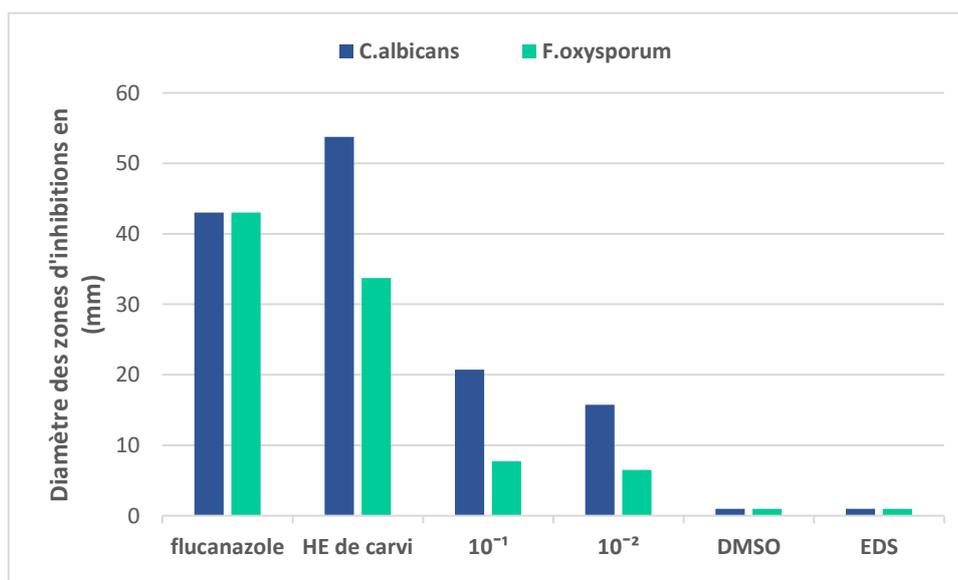
Tableau 05 : l'effet d'HE de Carvi sur la souche *Candida albicans* et le diamètre des zones d'inhibitions

La souche <i>Candida albicans</i>	Les dilutions d'HE de Carvi	HE sans dilution	10^{-1}	10^{-2}
		Le diamètre des zones (mm)	53,75	20,75
	L'effet	Extrêmement fort	Fort	Moyen

Tableau 06 : l'effet d'HE de Carvi sur la souche *Fusarium oxysporum* et le diamètre des zones d'inhibitions

	Les dilutions d'HE de Carvi	HE sans dilution	10 ⁻¹	10 ⁻²
La souche <i>Fusarium oxysporum</i>	Le diamètre des zones (mm)	33,75	7,75	6,5
	L'effet	Extrêmement fort	Faible	Faible

L'huile essentielle de carvi, se distingue par un effet extrêmement inhibiteur contre *C. albicans* et *F.oxysporum* dont les diamètres d'inhibition atteignent 53,75 et 33,75mm respectivement, et on note que plus on augmente le nombre des dilutions (c-à-d : la concentration se diminue), plus le diamètre de la zone se diminue et donc l'effet diminue aussi.

**Figure 36** : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibitions pour l'HE de carvi sur les deux souches testées

D'après la comparaison nous avons constaté que l'huile essentielle de Carvi est très efficace en contact avec *C.albicans* que avec la souche *F.oxysporum*.

Tandis que la souche *Candida albicans* se distingue par une sensibilité très élevée par rapport à celle de *Fusarium oxysporum*.

3.3.1.2 Pour l'Aneth :

Tableau 07 : l'effet d'HE d'Aneth sur la souche *Candida albicans* et le diamètre des zones d'inhibitions

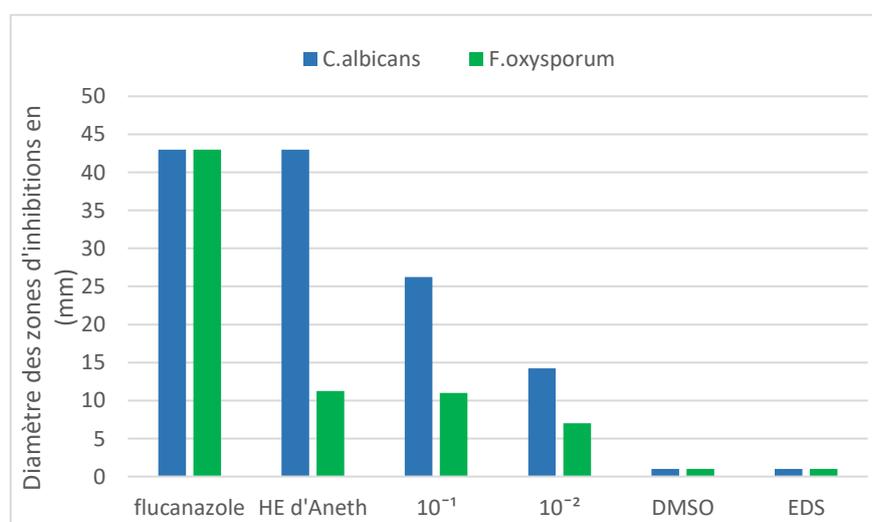
La souche	Les dilutions d'HE de l'Aneth	HE sans dilution	10 ⁻¹	10 ⁻²
<i>Candida albicans</i>	Le diamètre des zones (mm)	43	26,25	14,25
	L'effet	Extrêmement fort	Fort	Moyen

Tableau 08 : l'effet d'HE d'Aneth sur la souche *Fusarium oxysporum* et le diamètre des zones d'inhibitions

La souche	Les dilutions d'HE de l'Aneth	HE sans dilution	10 ⁻¹	10 ⁻²
<i>Fusarium oxysporum</i>	Le diamètre des zones (mm)	11,25	11	7
	L'effet	Faible	Faible	Faible

L'huile essentielle de l'Aneth, se distingue par un effet extrêmement inhibiteur contre *C. albicans* avec un diamètre de 43 mm, et on note que plus on augmente le nombre des dilutions (c'est-à-dire la concentration d'HE se diminue), plus le diamètre de la zone se diminue et donc l'effet diminue aussi. Mais pour la souche *F.oxysporum* l'effet est faible dont le diamètre d'inhibition atteint 11,25 mm, donc cette souche est résistante.

Donc l'HE d'Aneth est plus efficace contre la souche *C.albicans* que la souche *F.oxysporum*

**Figure 37** : comparaison entre les diamètres des zones d'inhibitions pour l'HE d'Aneth sur les deux souches testées

D'après la comparaison nous avons constaté que l'huile essentielle d'Aneth est très efficace contre *C.albicans*, et faible contre *F. oxysporum*.

L'huile essentielle de l'espèce *Anethum graveolens* montre une activité faible sur la souche *Fusarium oxysporum* par rapport à celle pour la souche *Candida albicans*.

4 Discussion générale :

Cette étude antifongique s'est avérée très intéressante, du fait que nous ayons obtenu des résultats positifs dans le cas de deux souches utilisées, et cela en vue de tester nos huiles essentielles.

De nombreuses études ont été effectuées sur l'activité antibactérienne de ces deux HEs de Carvi et l'Aneth. Cependant, rares sont ceux qui ont été consacrés à leur activité contre les champignons.

Les résultats obtenus dans notre étude confirment que les HEs de Carvi et d'Aneth possèdent une activité antifongique très importante.

La souche *Candida albicans* se distingue par une sensibilité très élevée par rapport à celle de *Fusarium oxysporum*.

L'huile essentielle de l'espèce *Carum carvi* a montré une activité plus élevée sur les deux souches par rapport à celle de l'Aneth.

Tandis que L'huile essentielle de l'espèce *Anethum graveolens* a montré une activité faible sur la souche *Fusarium oxysporum* par rapport à celle trouvée pour la souche *Candida albicans*.

L'évaluation de l'activité antifongique de ces HEs a montré que les variations d'inhibition sont en fonction de nombreux facteurs, notamment la nature et la concentration de l'huile essentielle, ainsi que la souche fongique étudiée. En outre, les concentrations d'HEs nécessaires pour inhiber la croissance sont très faibles.

Conclusion

L'étude des huiles essentielles reste toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et le développement exponentiel des biotechnologies végétales, les HEs sont considérés comme la source des matières premières naturelles indispensable pour découvrir de nouvelles molécules nécessaires au développement de futurs médicaments.

Du fait, le travail que nous avons entrepris a pour but de valoriser les ressources végétales algériennes, ainsi que de trouver de nouveaux produits naturels qui peuvent substituer les produits chimiques utilisés pour traiter diverses maladies. Les espèces choisies pour cette étude sont : *Carum carvi* et *Anethum graveolens* deux plantes appartenant à la famille des Apiaceae.

Dans ce travail nous avons utilisé le procédé d'hydrodistillation pour l'extraction des HEs à partir des graines de Carvi et d'Aneth où on a trouvé des rendements de 0,28% et 0,68%, respectivement. Puis l'aspect de l'activité antifongique de ces espèces végétales a été testé sur deux souches fongiques : *Candida albicans* et *Fusarium oxysporum* par la méthode des disques.

Le rendement d'obtention d'HE dépendent non seulement de l'origine et les caractéristiques d'une plante mais aussi du procédé appliqué et la durée d'extraction,

La présence et l'existence des zones d'inhibitions indiquent que l'HE des graines a un effet antifongique, pour cela les résultats, obtenus par la méthode de diffusion des disques, ont montré que la souche *C.albicans* a été la plus sensible vis-à-vis l'HE de Carvi et d'Aneth avec un diamètre d'inhibition de 53,75mm et 43mm respectivement quant à la souche *F.oxysporum* avec une CMI supérieur à la dilution 10^{-2} .

La souche *F.oxysporum* a été sensible vis-à-vis l'HE de Carvi et elle a été résistante vis-à-vis l'HE d'Aneth avec un diamètre d'inhibition de 33,75mm et 11,25mm respectivement avec une CMI égale $10\mu\text{l}$ pour les deux huiles.

L'effet antifongique exercé par les deux HEs a permis de révéler une activité extrêmement fort sur les deux souches et une activité faible pour l'effet d'Aneth sur la souche *F. oxysporum*. Donc à ce moment-là on peut dire que les huiles essentielles des deux plantes étudiées peuvent être des alternatives naturelles pour les pesticides et les molécules chimiques.

Par la suite, en constatant que l'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une initiative de la recherche scientifique, en perspectives nous pourrions suggérer que le domaine d'utilisation des huiles essentielles dans l'aspect antifongique peut prendre pas mal d'autres mesures d'études tels que :

- Tester d'autres méthodes d'extraction pour dévoiler leur influence sur le rendement.

- Pour déterminer d'autres activités biologiques comme la cytotoxicité, anti-inflammatoire.
- Comprendre le mécanisme d'action des HEs sur les champignons.
- Identifier les molécules actives ayant l'effet antifongique.
- Tester les activités biologiques des autres parties de plantes.

Références

bibliographiques

- Aponcea. G, Fritz R, Valle. D, Roura. S.I.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, Swiss Society of Food Science and Technology, Elsevier Science , 2003, pp. 679–684.
- Abdelaziz.B, Chahinez.O, Djamel.E et Zahr-Eddine.D.** Impact de la formulation sur le potentiel antifongique de l'huile essentielle du bigaradier citrus aurantium, 2019, Vol. 9, pp. 1677-1693.
- Aćimović. M et Kostadinović. L, Agric. L.** Apiaceae seeds as functional food, 2015, Vol. 60, pp. 237-246.
- Arvy .M, Gallouin.F.** Épices, aromates et condiments, éd. Belin, 2003.
- Bagci. E.** Fatty acids and tocopherol patterns of some Turkish Apiaceae (Umbelliferae), 2007, Vol. 154, pp. 143-151.
- Bakkali. F, Averbeck. F, Averbeck. D, Idaomar.M.** Biological effects of essential oils, 2007.
- Belaiche. P.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie "L'aromatogramme", éd. S.A Maloine, Paris, 1979.
- Benjakul. P.** Essential Oils : Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation, Journal of food science, 2014, Vol. 79.
- Callery. E.** le grand livre des herbes, france : konemann, 1998.
- Claude.L.** Les plantes aromatiques (découvrir & réussir), Ructica, 2008, Vol. 01, pp. 35-47.
- Collectif.** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, Préparations, Soins, Paris : Larousse, 2001, p. 168.
- Collectif.** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, Préparation et Soins, Larousse, 2001, p. 10/335, 2-03-560252-1.
- Collectif.** Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins, Larousse, 2001, pp. 183-184.
- David.B.** Doctissimo, <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/carvi.htm>.
- Dridi. F.** Extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin formulation d'une pommade décongestionnante, Magister de Chimie Appliquée, Université M'hamed Bouguerra Boumerdes, 2005.
- D.W.Denningb, M.Chekiri - Talbia.** Estimation des infections fongiques en Algérie, Journal de Mycologie Médicale, Algérie, 2017, Vol. 27, pp. 139-145.

El Asbahani.A, Miladi.K, Badri.W, Sala.M, Aït Addi.E.H , Casabianca.H , El Mousadik.A, Hartmann.D, Jilale.A, Renaud.F.N.R, Elaissari.A. Essential oils : From extraction to encapsulation, International Journal of Pharmaceutics, 2015, p. 222.

Esmail Ali. The pharmacological importance of anethum graveolens, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2014, Vol. 6, p. 11.

Garnica.M Nucci.M. Infections fongiques émergentes, 2009, pp. 135–142.

Huda Jasim.A, Imad Hadi.H, Lena Fadhil. Anethumgraveolens : Physicochemical Properties, Medicinal Uses, Antimicrobial Effects, Antioxidant Effect, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects. International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance, Iraq , 29 September 2017, pp. 88-91.

Jaccon.G. Famille des Apiacées : caractères généraux, http://www.gilbertjac.com/4_fleurier/Presentation_familles/Apiacees.html, 2015.

Jardiner avec Binette & Jardin. <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-919-carvi-carum-cumin-pres.html>. - Beautiful Company.

Jaripa. B M Nazrul Islam Bhuiyan, Jasim Uddin Chowdhury, M Nuzmul Hoque and M Nural Anwar. Antimicrobial Activity of Essential Oil from Seeds of Carum carvi and Its Composition, Bangladesh, 2008, Vol. 25, pp. 85-89.

Jean-Luc et Sallé. Le totum en phytothérapie. Paris : Frison-Roche, 1991, 1ère édition .

Laverdière. M, Lalonde. R, Baril. G, Sheppard. C. Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of Candida albicans oesophagitis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006, pp. 705-706.

Michel.B. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Paris : Lavoisier, 2010, p. 1118.

Mohamed Nadjib.B Amine.F, et Abdelkrim.K. Méthodes d'extraction et de distillationn des huiles essentielles, Agrobiologia, 2019, Vol. 9, pp. 1653-1659.

Mostefa Naimi. Cahier technique : Techniques de contrôle microbiologiques. Algérie, 2017, p 14.

Nurhayat .T, Betul.D, Temel. O, Nese. K, Husnu. C, Erdal. B, Ikhlas. A, David. E. Gas chromatographic mass spectrometric analysis of essential oils from Pimpinella species gathered from Central and Northern Turkey, Journal of Chromatography, éd. Elsevier, 2006, Vol. 1117, pp. 194-205.

Pibiri Marie - Cécile. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, 2005.

Références bibliographiques

Rachid Ismaili, Abdeslam Lamiri, and Khadija Moustaid. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques International Journal of Innovation and Scientific Research, Maroc, 2014, Vol. 12, pp. 499-505.

Rasooli.A-I Allameh. (carway: carum carvi .L) Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, éd. Preedy Victor R. 2016, pp. 287-293.

Runyoro D. K, Matee, M. I, Ngassapa, O. D, Joseph, C.C. & Mbwambo, Z. H. Dépistage des plantes médicinales tanzaniennes pour l'activité anti, Candida, 2006, Vol. 6.

Shekhawat.G, Jana.S. Anethum graveolens : An Indian traditional medicinal herb and spice, Pharmacognosy Reviews, India, 2010, Vol. 4.

Svobodo. K.P, Greenaway. R.L. Investigation of volatile oil glands of Satureja hortensis L. (summer savory) and phytochemical comparison of different varieties, International Journal of Aromatherapy, 2003, Vol. 13, pp. 196-202.

Wikipedia. //https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_11eicos%C3%A9no%C3%AF.

Yezli.W. Mycologie Fondamentale et appliquée, polycopie déposé à l'université IBN Khaldoun- Tiaret - faculté des sciences de la nature et de la vie - 2018, p. 82.

Annexe

Préparation et composition des milieux nutritifs :

1. Le milieu PDA :

PDA (Potato Dextrose Agar) :

Pour la culture et l'isolation de levures et moisissures.

Composition :

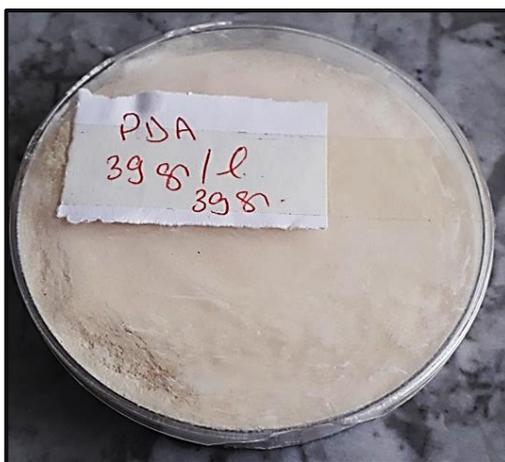
Pour 1 litre de milieu :

- Extrait de pommes de terre 4,0 g
- Glucose 20,0 g
- Agar agar bactériologique 15,0 g

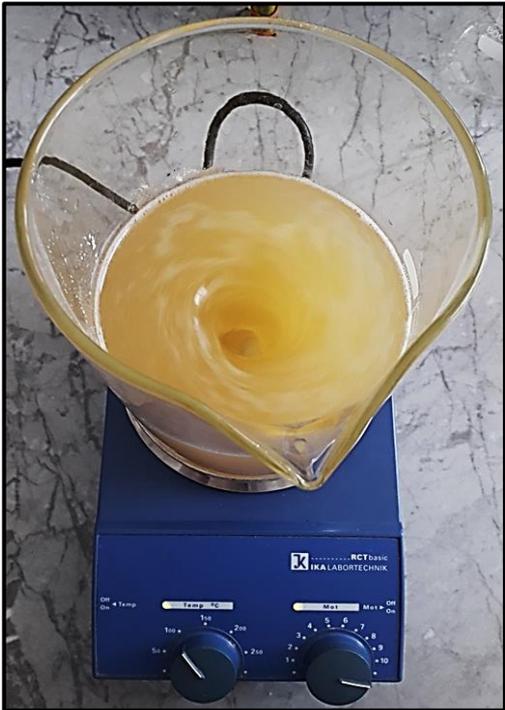
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $5,6 \pm 0,2$.

Préparation :

- Verser 39.0 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.



Le milieu PDA en poudre



2. Le milieu Sabouraud :

La gélose Sabouraud :

Est un milieu qui permet la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures.

Compositions :

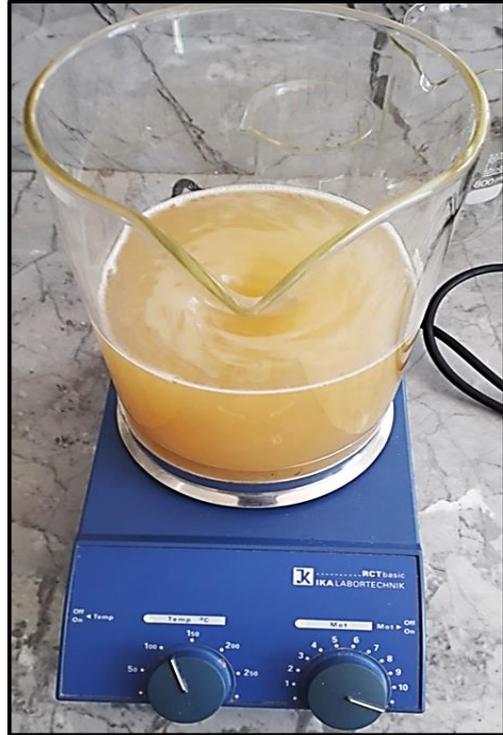
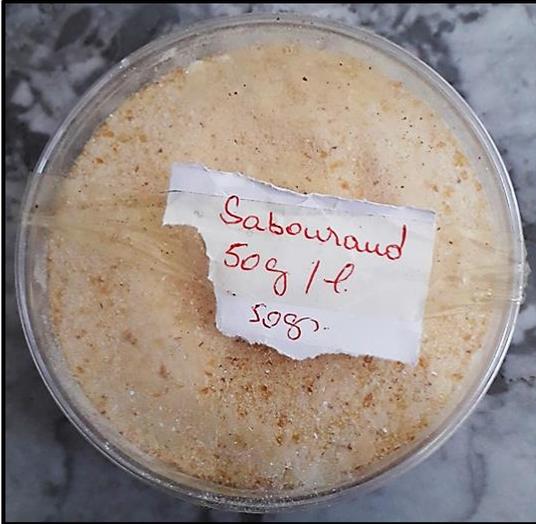
Pour 1 litre de milieu :

- Peptone de caséine5,00g
- Peptone de viande5,00g
- Glucose monohydraté20,00g
- Agar15,00g

pH final à 25°C : $5,6 \pm 0,2$

Préparation :

- Verser 50.0 g de poudre par litre d'eau distillée.
- Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.



Résumé

Parmi les plantes appartenant à la famille des Apiaceae, nous nous sommes intéressés au *Carum carvi* et *Anethum graveolens*, notre étude vise à évaluer l'effet antifongique des huiles essentielles des graines de ces deux plantes par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Dans ce contexte, nous avons obtenu un rendement de 0,68% et 0,28% pour l'Aneth et le Carvi respectivement, pendant une durée de 3h par une hydrodistillation. Les résultats obtenus ont révélé que les deux huiles essentielles ont un effet antifongique qui nous a permis d'évaluer l'activité inhibitrice de nos huiles essentielles vis-à-vis deux souches fongiques : *Candida albicans* et *Fusarium oxysporum*. Par cette conclusion nous pouvons admettre que les huiles essentielles peuvent être exploitées et utilisées dans le but de développer des traitements alternatifs aux antifongiques.

Mots clés : Apiaceae, *Carum carvi*, *Anethum graveolens*, effet antifongique, huiles essentielles, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*.

ملخص

من بين النباتات التي تنتمي إلى العائلة الخيمية، اهتمنا بالكروية (*Carum carvi*) والشبث (*Anethum Graveolens*)، تهدف دراستنا إلى تقييم تأثير الزيوت الأساسية لبذور هذين النباتين ضد الفطريات من خلال طريقة الانتشار على وسط أجار. في هذا العمل تحصلنا على مردود قدر ب 0.68% و 0.28% للشبث والكروية على التوالي خلال فترة 3 ساعات بالتقطير المائي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها على أن للزيوت الأساسية تأثير مضاد للفطريات مما سمح لنا بتقييم النشاط المثبط والمضاد لزيوتنا الأساسية ضد سلالتين من الفطريات *Candida albicans* و *Fusarium oxysporum* من خلال هذا الاستنتاج يمكننا أن نعترف بأنه يمكن استغلال الزيوت الأساسية واستخدامها من أجل تطوير علاجات بديلة لمضادات الفطريات.

الكلمات المفتاحية: العائلة الخيمية، كروية، شبث، تأثير مضاد للفطريات، الزيوت الأساسية، *Candida albicans*، *Fusarium oxysporum*.

Abstract

Among the plants belonging to the Apiaceae family, we interested on *Carum carvi* and *Anethum graveolens*, our study aims to evaluate the antifungal effect of the essential oils of the seeds of these two plants by the method of diffusion on agar medium. In this context, we obtained a yield of 0.68% and 0.28% for Dill and Caraway respectively for a period of 3 hours by hydrodistillation. The results obtained revealed that the two essential oils have an antifungal effect which allowed us to evaluate the inhibitory activity of our essential oils against two fungal strains: *Candida albicans* and *Fusarium oxysporum*. By this conclusion we can admit that essential oils can be exploited and used in order to develop alternative treatments to antifungals.

Key words : Apiaceae, *Carum carvi*, *Anethum graveolens*, antifungal effect, essential oils, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*.