

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة احمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences

Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue d'obtention du diplôme de Master II en Biologie

Spécialité : Biologie des Organismes et des Populations

Thème

**Etude phytochimique de la plante *Inula viscosa* (L)
Ait (Asteraceae) et évaluation des activités
insecticide et antimicrobienne de son extrait
éthanolique brut**

Présenté par : M^{lle} BOUKEMAYA Fatiha

M^{lle} MESSAOUDI Farida

M^{me} Allouane R.

Maître de Conférences B

Présidente

M^{me} Bendifallah L.

Maître de Conférences A

Promotrice

M^{me} Benkortebi H.

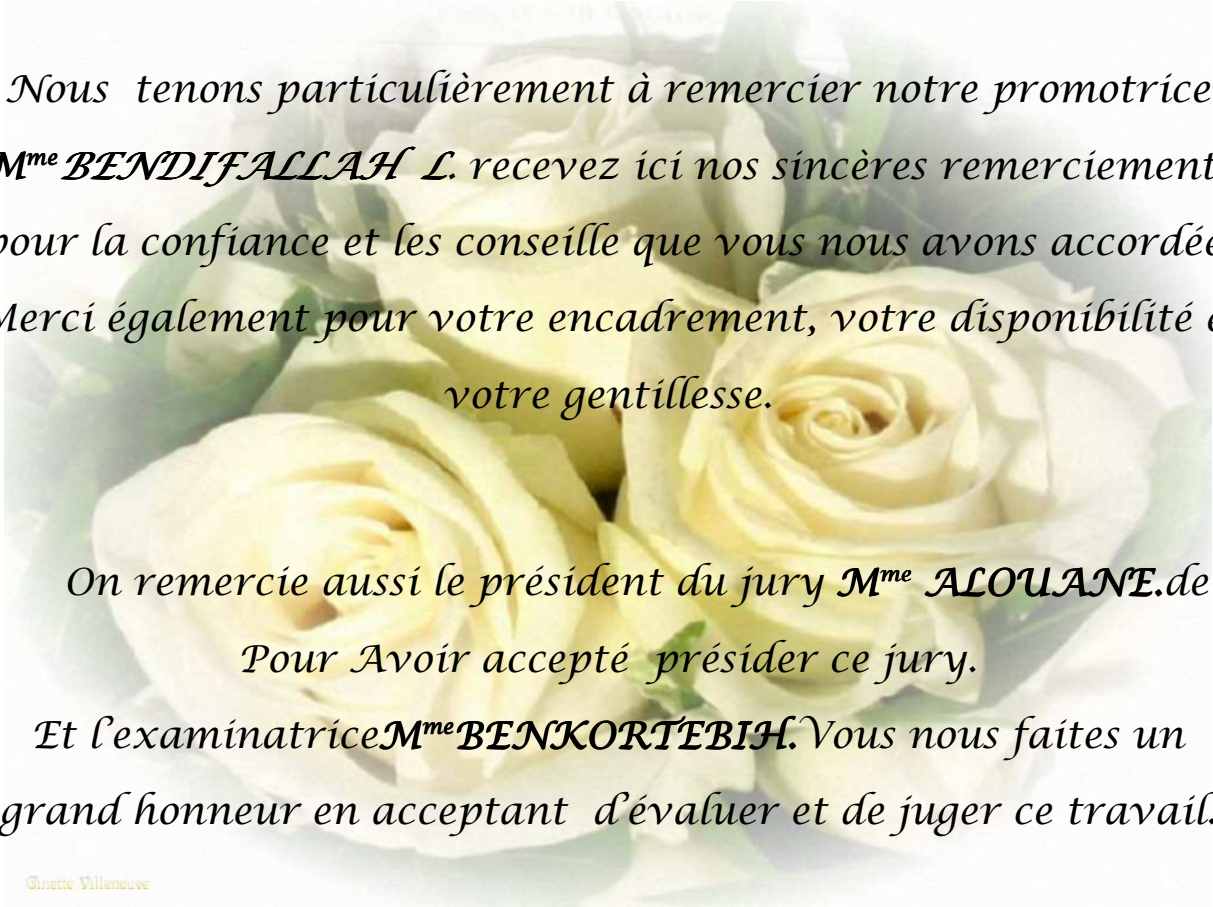
Maître de Conférences A

Examinatrice

Année Universitaire : 2015/2016

Remerciement

Tous d'abord, nous tenons à remercier le bon Dieu, de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste Travail pour arriver à ce jour là.



Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice M^{me} BENDIFALLAH L. recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance et les conseils que vous nous avez accordés. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.

*On remercie aussi le président du jury M^{me} ALOUANE. de
Pour Avoir accepté présider ce jury.*

Et l'examinatrice M^{me} BENKORTÉBIH. Vous nous faites un grand honneur en acceptant d'évaluer et de juger ce travail.

Gisèle Villeneuve

Nous aimons adresser nos plus vifs remerciements à M^{me} AOUS W. Pour son aide, sa disponibilité et ses précieux conseils.

Nos remerciements vont également à techniciennes des laboratoires pédagogiques : Nesrine et Safia.

Dédicace

Au nom de l'amour et de respect, Je dédie ce modeste travail à :

La lumière de mes yeux, mes très chers parents

(Ammar et Khadidja), qui

*m'ont beaucoup sacrifié et aidé avec ces précieux conseils et ses
soutien tout au long de mes années d'étude ;*

Mes fleurs adorables de ma vie : mes sœurs Warda, Nesrine,

Dala et son époux Nour-Elddin et surtout

*Ses enfants Romaiassa, Salah, Maroua et Wassim. Dalila et son
époux Saïd et surtout*

Ses fils Dhiaa-Elddin ; mes frères : Mosstafa et Abd el malak

Toutes les familles BOUKEMAYA et BOUDJADJOU ;

A mes amies intimes Samira , Zineb,

Ilhem , Asma, Soumia , Fatma , et Nesrine;

*A ma binôme Farida pour tous les moments de joie et de peine
qu'on a passé ensemble, et à sa famille.*

A tous les étudiants de ma promotion BPO Master 2

(2016).

FATIHA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A ceux qui ont sacrifiés toute leur jeunesse pour nous, qui mon toujours encouragé, qui mon soutenus durant toute la longue durée de mes études et qui mon donnés une bonne éducation. Pour tous cela je dédie ce modeste mémoire à mes très chers **parents** à qui je dis aujourd'hui merci et mille fois merci **maman.***

*A mes chers frères **Ayoub, Djemal, Khaled.***

A toute ma famille, du petit au grand.

*A mes amies intimes **Iman, Hakima, Thanina, Soumia, Souad, Nesrine et Fatma,***

*A ma binôme **Fatiha**, avec laquelle j'ai partagé les bons moments*

A tous ceux qui m'aiment avec toute mon affection

A tous mes camarades de ma promotion biologie des organismeet population master 2 (2016).

Farida



Sommaire

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction généralité1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.1 Les plantes médicinales et phytothérapie.....	03
1.1.1 Introduction	03
1.1.2 Les plantes médicinales	03
1. Définition	03
2. Les plantes médicinales et leurs utilisations.....	04
1.1.3 phytothérapie.....	04
1. Définition.....	04
2. Les différents types de phytothérapie.....	04
1.1.4. Composition photochimique des plantes.....	05
1.1.4.1. Métabolites secondaire	05
A. Les alcaloïdes	05
B. Les composés phénoliques	06
*Les flavonoïdes.....	07
*Les Tanins.....	08
*Les coumarines.....	08
*Les anthocyanes.....	09
C. Les terpénoïde.....	11
1.2 Etude botanique de la plante inulaviscosa	12
1.2.1. Introduction.....	12
1.2.2. Nomenclature	12

Sommaire

1.2.3. Taxonomie	13
1.2.4. Description botanique	13
1.2.5. Habitat et distribution géographique	14
1.2.6. Utilisation de la plante <i>I. viscusa</i>	15
1. En pharmacopée	15
2. Utilisation en lutte biologique.....	16
1.3Présentation de l'insecte Aphisfabae	16
1.2.1 Introduction.....	16
1.3.2 Description du puceron.....	17
a. Forme aptère.....	17
b. Forme ailée.....	17
1.3.3 Position systématique d'Aphisfabae	18
1.3.4 Cycle biologie d'Aphisfabae	19
1.3.5 Les dégâts occasionnés par Aphisfabae.....	19
a. Les dégâts directes.....	20
b. Les dégâts indirects	20
1.3.6. plantes hôtes d'Aphisfabae	21

Chapitre II - Matériel et méthodes

II.1.Matériel.....	22
II.1.1.Matériel biologie	22
II.1.1.1.Matériel végétal.....	22
II.1.1.2.Matériel animal.....	22
II.1.1.3.Souches microbienne.....	23
II.1.1.Matériel non biologie.....	23
II.2. Méthodes d'études	23
II.2.1.Méthodologie de récolte, séchage, broyage et conservation de la poudre végétale d' <i>inulaviscosa</i>	25
II.2.2.Etude phytochimique des feuilles d' <i>Inulaviscosa</i>	27

Sommaire

II.2.2.1.Préparation de l'extrait éthanologique brut d'inulaviscosa.....	29
II.2.3.Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanologique brut d'Inulaviscosa.....	31
II.2.4.Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanologique brut d'Inulaviscosa.....	35
Analyse statistique	38

Chapitre III. Résultats et Discussion

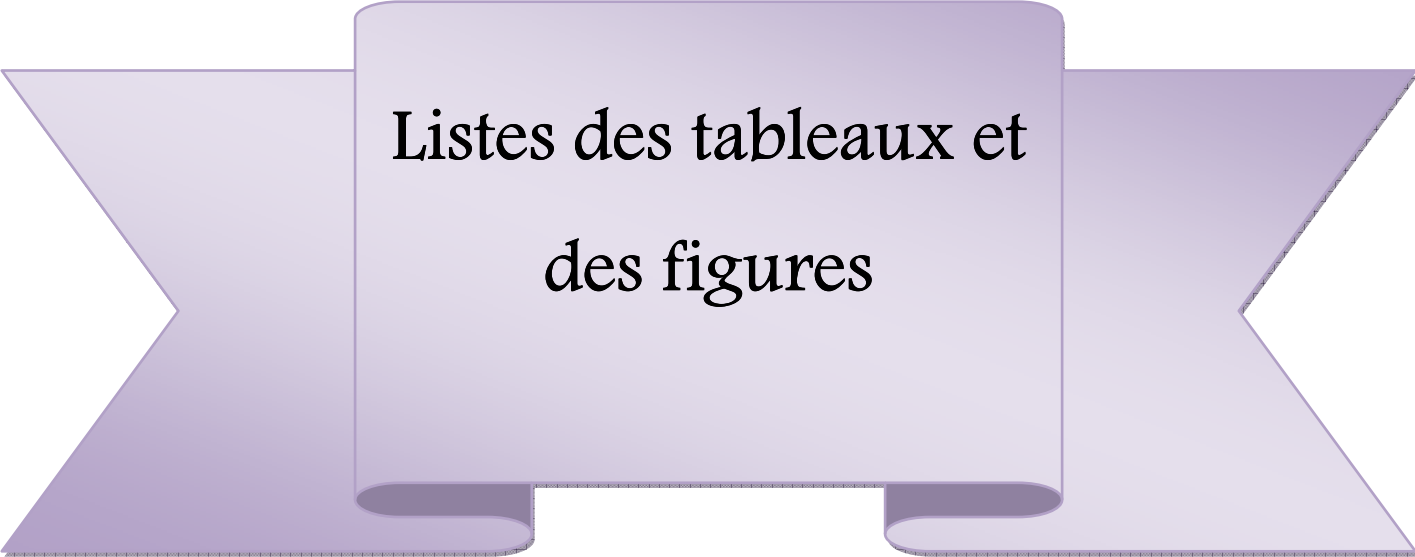
III.1.Résultats de la détermination de l'humidité	39
III.2.Résultats de rendement et caractérisation des extraits éthanologique brut.....	40
III.3.Résultats deScreening phytochimique.....	41
III.4. Activite antimicrobienne de l'extrait éthanologique brut d'I viscosa.....	45
III.5. Activite insecticide de l'extrait éthanologique brut d'I viscosa.....	50
III.6.Résultats des analyses statistique	58

Conclusion

générale.....	65
----------------------	-----------

Annexe

Résumé



Listes des tableaux et
des figures

Liste de tableau

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification taxonomique de <i>l'Aphisfabae</i>	13
Tableau 2 : Classification taxonomique de <i>l'Aphisfabae</i>	18
Tableau 3 : Les souches microbiennes testées.....	25
Tableau4 :Coordonnées géographiques des deux stations.....	27
Tableau 5. Molécules recherchées, leurs réactifs de caractérisation etles résultats attendus.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 6 : Rendement de l'extrait éthanolique brut de l' <i>I.viscosa</i>	42
Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la poudre des feuilles d' <i>I.V.</i>	43
Tableau8 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) de la solution mère (SM) et des dilutions de l'extrait d'inulaviscosaDraâ El Mizan sur la croissance de différentes souches testées.....	48
Tableau9 :Diamètre des zones d'inhibition (mm) de la solution mère (SM)et des dilutions de l'extrait de inulaviscosa de la région cap Djente sur la croissance des différents souches testées .des différents souches testées.....	47
Tableau10 : les effets antimicrobiens de l'extrait éthanolique brut des feuilles d'inulaviscosa à des différentes concentrations	49
Tableau 11 : droites de régression :probit =f log(dose) des pucerons noirs de la fève traitées par l'extrait éthanolique brut de l'inulaviscosa aux différents temps d'observation.....	54
Tableau12 : Valeurs des doses létales pour 50% (DL50) de la population des pucerons induits par l'extrait éthanolique brut de l'inulaviscosa dans deux régions :.....	56
Tableau 13 : droites de régression :probit =f log(temps) des pucerons noirs de la fève traitées par l'extrait éthanolique brut de l' <i>inula viscosa</i> aux différents temps d'observation.	59
Tableau 14: Valeurs des temps létales pour 50% (TL50) de la population des pucerons induits par l'extrait éthanolique brut de l'inulaviscosa.....	58
Tableau15: Analyse statistique de variance ente les pourcentages mortalités cumulées des pucerons en fonction des doses ,temps et les régions.....	59
Tableau16: Analyse statistique de variance entre les pourcentages mortalités moyenne des pucerons en fonction des doses, temps et les régions.....	59
Tableau17: Analyse statistique de variance ente les pourcentages mortalités corrigée des pucerons en fonction des doses ,temps et les régions.....	60

Liste de figure

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Quelques exemples des alcaloïdes.....	14
Figure 2: Structures chimiques des flavonoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 3: Structure chimique de tannins.....	8
Figure4: Structure chimique des anthocyanes.....	9
Figure 5: Structure de quelques monoterpènes	Erreur ! Signet non défini.
Figure 6: β -Cadinène	Erreur ! Signet non défini.
Figure 7 : Structure chimique de squalène	Erreur ! Signet non défini.
Figure 8: structure chimique de β -carotène	Erreur ! Signet non défini.
Figure 9 : Plante avec feuilles de l' <i>Inulaviscosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 10: Fleurs et fruits d' <i>Inula viscosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure11 :Carte géographique de l' <i>Inule</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure12 : La forme aptère d' <i>Aphis fabae</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure13 : La forme ailée d' <i>Aphis fabae</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure14: Représentation schématique du cycle de vie d' <i>Aphis fabae</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 15 : Plante feuillue d' <i>Inulaviscosa</i>	23
Figure 15 : Plante feuillue d' <i>Inulaviscosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16.Schéma général des différentes étapes du travail.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17 : Feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 18 : Poudre végétale.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 19 : Montage de Rotavapor employé pour l'extraction brut éthanolique.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 20 : Protocole d'obtention de l'extrait éthanolique brut d' <i>Inulaviscosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 21 :Série de dilutions préparées à partir de la solution mère de l'extrait brut de <i>I.viscosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 22. Schéma général du protocole expérimental de l'activité antimicrobienne.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 23 : Test de l'activité insecticide des deux régions	Erreur ! Signet non défini.
Figure 24 : Histogramme que présente le teneur de l'eau dans deux régions.	Erreur ! Signet non défini.

Liste de figure

- Figure 25 :Activité antimicrobienne de la solution mère (SM) et des dilutions (1/2, 1/4,1/8,1/16) de l'extait éthanologique brut de *Inula viscosa*..... 48
- Figure 26: les mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosa* de région Draâ El Mizan.....
.....**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 27: les mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosade* région Cap Djenet.....**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 28: pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosade* région Draâ El Mizan.**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure29: pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosa* de région Cap Djenet.....**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure30: pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosade* région Draâ El Mizan**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure31: pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosade* région Cap Djenet **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 32: pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosa* de région Draâ El Mizan.....**Erreur ! Signet non défini.**
- Figure 33: pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanologique brut d'*I viscosade* région Cap Djenet. **Erreur ! Signet non défini.**
- Figure34. Variabilité temporelle des populations résiduelles après applicationde l'extrait éthanologique brut d'*Inula .viscosa* entre les pourcentages mortalités cumulées. 58
- Figure35. Variabilité temporelle des populations résiduelles après applicationde l'extrait éthanologique brut d' *Inula .viscosa* entre les pourcentages mortalités moyennes..... 59
- Figure36. Variabilité temporelle des populations résiduelles après applicationde l'extrait éthanologique brut d'I.V entre les pourcentages mortalités corrigées..... 59

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Réactifs et appareillages

Annexe 2 : Préparations des solutions et composition de milieux de culture

Annexe 3 : Classification et description des microorganismes étudiés

Annexe 4 : Tableau de probité

Annexe5 :Résultats de l'activité insecticide.

Liste des symboles et des abréviations

- %: pourcentage
- °C:degré Celsius
- μl : microlitre
- *A.F* :*Aphisfabae*
- ATCC : American Type Culture Collection
- BNL:Bouillon nutritif liquide
- C.Dj :Cap djenet
- cm : centimètre
- ESM : Erreur Statistique ala Moyenne
- INA : Institut Nationaled' Agronomie
- d : diamètre
- DL50: Dose létale 50
- DM :Draâ El -Mizan
- GN : Gélose nutritif
- h : heure
- H⁺ : Humidité
- *IV* :*InulaViscosa*
- MH : Muller Hinton
- min : minute
- mg : milligramme
- ml : millilitre
- mm : millimètre
- nm : nanomètre
- P : Probabilité
- PDA :Potato dextrose agar
- pH : potentiel d'hydrogène
- R : Rendement
- SBR : Sabouraud
- TL50 :Temps létale 50
- *V.F* :*Vicia faba*

Glossaire

Agar : polymère de l'agarose qui rentre dans la composition des milieux de culture solide en microbiologie appelé aussi gélose.

Angiosperme : végétal phanérogame (plante se reproduisant par des organes bien visibles regroupés en cônes ou en fleurs) et dont les organes reproducteurs sont condensés en une fleur et dont les graines fécondées sont enfermées dans un fruit.

Antifongique : se dit d'un médicament qui agit contre les infections provoquées par les champignons ou les levures parasites.

Anti-inflammatoire : se dit d'un agent, d'un médicament qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. Les plus part des anti-inflammatoires sont aussi des antidouleurs.

Alcaloïde : molécule cyclique comportant un atome d'azote ce qui la rend basique.

Antiseptique : qui détruit les microbes par désinfection.

Astéracées : Famille de plantes dicotylédones faisant partie de l'ordre des Astérales.

Asthénies : fatigue intense et durable, d'origine pathologique

Coumarine : molécule aromatique hétérocyclique oxygénée de formule 1-benzopyran-2-one, isomère de la chromone. C'est le squelette de base des molécules de la famille des coumarines.

Dicotylédone : plante issue de la germination d'une graine disposant de deux cotylédons.

Flavonoïdes : molécules appartenant à la famille des polyphénols (constitués de plusieurs groupes phénols).

Infusion : action de faire macérer une plante aromatique dans un liquide bouillon

Insecticide : se dit d'un produit utilisé pour détruire les insectes nuisibles

Plante annuelle : plante effectuant son cycle de vie sur une année.

Plante vivace : plante vivant deux années ou plus.

Sessile : se dit d'une feuille sans pétiole ou d'une fleur sans pédoncule.

Taxa : unité de classification (famille, genre, espèce, etc.) au pluriel: taxa.

Vivace : qui vit plus de un an grâce à son appareil végétatif, et qui fructifie plusieurs fois dans son existence.



Introduction générale

Introduction générale

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition d'utilisation des plantes. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de cette biodiversité végétale en se servant de données ethnobotaniques.

Les extraits bruts des plants commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle des molécules naturelle bioactives, ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative à la protection des végétaux (Boudjemaa,1999 ; Chabon, 2000 ; Benabedelkrim,2009 ; Guerrida,2010).

Actuellement, l'isolement d'agent bioactif de plante est un des domaines de recherche les plus intensifs, pour prouver l'activité physiologique d'une plante (Abayomi,2010).

Parmi les stratégies alternatives, les bio-pesticides d'origine végétale connaissent depuis quelques années un intérêt en vue de remplacer les pesticides et diminuer les problèmes posés par ces derniers et les dégâts occasionnés par les bio-agresseurs. À cet effet, des toxicoses ou des affaiblissements sont engendrées par des ravageurs tels que les pucerons infestent la plupart des plantes cultivées, et constituent un des groupes d'insectes les plus nuisibles en régions tempérées. Ces insectes sont les principaux vecteurs de virus végétaux. Lors d'une pullulation des pucerons, la première idée qui vient à l'esprit est l'utilisation des différentes méthodes de lutte chimique (Ronzon,2006).

L'objectif de notre travail est d'étudier les propriétés physico-chimiques et l'activité biologique (insecticide, antimicrobienne) *in vitro* de l'extrait brut éthanolique de la partie aérienne de la plante médicinale *Inulaviscolade* des régions de Draâ-El-Mizan (Tizi-Ouzou) et Cap Djenet (Boumerdes) pour d'éventuelles utilisations en lutte biologique.

Le plan de rédaction de ce mémoire est présenté comme suit :

- Introduction générale.
- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur la plante étudiée *Inulaviscolade*, l'insecte étudié le puceron *Aphisfabae*, et les métabolites secondaires des plantes médicinales.
- Le second chapitre concerne la partie expérimentale, avec une présentation de la technique d'extraction, des tests antimicrobiens et insecticides de l'extrait

Introduction générale

brutéthanolique d'*Inulaviscosavis* à-vis de l'insecte étudié et des souches microbiennes.

- La troisième partie s'intéresse aux résultats et la discussion. Le manuscrit est achevée par une conclusion générale résumant les principaux résultats obtenus.



Chapitre I

Etude bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.1. Les plantes médicinales et la phytothérapie

1.1.1. Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art. Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique (Benkiki, 2006).

Au XVI^e siècle, dans des livres de médecine par les plantes, les savants de l'époque tentèrent de classer les plantes et de leur donner un nom scientifique ; ils commencèrent également à établir la liste des applications thérapeutiques possibles à l'usage des plantes. Cette tentative fut utile car une même plante pouvait être connue sous divers noms (Nabors, 2009).

Ces dernières années, la phytothérapie ou soins par les plantes est en train de créer un engouement certain pour les chercheurs.

L'Antique « matière médicale » ou pharmacognosie d'aujourd'hui présente un intérêt énorme dans les pharmacopées modernes et la médecine. Les recettes connues par les herboristes et les expériences des guérisseurs constituent déjà, un grand réservoir de connaissances (Bensegueni, 2001).

1.1.2. Les plantes médicinales

1. Définition :

Les plantes médicinales sont des plantes dont un des organes (feuille, écorce) possède des vertus curatives et parfois toxiques selon son dosage. Les plantes médicinales sont les plantes utilisées en phytothérapie pour leurs principes actifs, elles peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays (Debuigne, 1974).

2. Les plantes médicinales et leurs utilisations

Les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Cette connaissance ancestrale fut à l'arrivée de la médecine traditionnelle mise de côté au profit de la prise de médicaments d'ordonnance souvent plus puissants et agissant plus rapidement que la médecine traditionnelle utilisée auparavant. Par contre, aujourd'hui nous assistons au retour de l'utilisation des plantes médicinales pour favoriser la santé. Chaque plante médicinale a une définition qui lui est propre et une utilisation spécifique (Kansole, 2009).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme des agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Decaux, 2002). Les plantes sont donc la source principale de substances actives, et pas uniquement dans la médecine traditionnelle (Palomo, 2011).

1.1.3. La phytothérapie

1. Définition :

La phytothérapie, selon Bruneton (1999), est le traitement par les plantes ; c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation de produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de sélection de molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif mais tout ce que contient la plante. Par ailleurs, la phytothérapie requiert une connaissance parfaite de substances chimiques contenues dans un organe végétal et une bonne connaissance de mode d'emploi. On peut distinguer la phytothérapie utilisée dans une pratique traditionnelle, parfois très ancienne, basée sur l'utilisation de plantes ayant des vertus découvertes empiriquement de la Phytothérapie basée sur les études scientifiques recherchant les principes actifs des plantes et leurs effets (Kansole, 2009).

2. Les différents types de phytothérapie

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes :

- **La phytothérapie** : l'utilisation des différentes parties des plantes (racine, feuilles, fleurs ou la plante entière) sous différents formes galéniques.

- **La gemmothérapie** : l'utilisation des bourgeons de la plante.
- **L'aromathérapie** : l'utilisation des huiles essentielles obtenues grâce à divers procédés d'extraction (Vernex-Lozet, 2011).

- **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules ... etc. (Strang, 2006).

1.1.4. Composition photochimique des plantes

1.1.4.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule, de l'organisme et qui sont les glucides (sucres et polysaccharides), source d'énergie, paroi cellulaire (cellulose), les lipides, source d'énergie (membranes cellulaires), les acides aminés, source primaire de construction des protéines, les nucléosides, les acides nucléiques et leurs précurseurs biosynthétiques (ex : acides organiques), source du maintien de l'intégrité génomique (Benoit et *al.*, 1996).

1.1.4.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques (Mouffok, 2011).

A. Les alcaloïdes :

1. Définition

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Fig. 1) (Badiaga, 2011). Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (Krief, 2003).



Quinine

Caféine Morphine

Figure 1 : Quelques exemples des alcaloïdes(Ghestman et al., 2001)

2. Rôle des alcaloïdes

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme (Silvestrini *et al.*, 2002).

- Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine
- Antalgiques : morphine, codéine.
- Spasmolytiques : tubocurarine et papaverine.
- Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine.
- Emétiques : émétine.
- Antitussifs : codéine.
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline.
- Antipaludiques : quinine.
- Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

B. Les composés phénoliques :

La désignation générale «composés phénoliques» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Fleuriet *et al.*, 2005).

Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah, 2012).

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les flavonoïdes.
- Les tanins.
- Les stilbènes.
- Les lignanes et les coumestanes.
- Autres phytoestrogènes.
- Les saponines (triterpénoïde).

*Les flavonoïdes (Fig. 2)

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006).

Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Delporte *et al.*, 1999).

De nombreux flavonoïdes, comme le lycopène dans les tomates, et les procyanidines dans les pommes, le raisin et les fraises, sont utilisés en médecine pour la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires, ainsi que comme agents antiviraux, d'autres sont utilisés pour leur saveur ou leur parfum (Nabors, 2009).



Figure 2: Structures chimiques des flavonoïdes (Catier et Roux, 2008).

***Les Tanins (Fig. 3)**

D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da (Brunet, 2008). Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes distincts. Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Harvey, 2001).

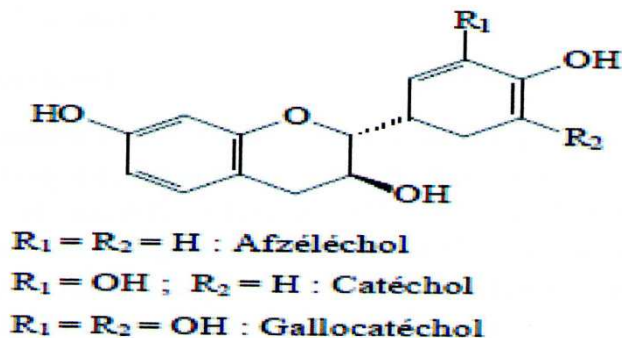


Figure 3: Structure chimique de tannins (Bruneton, 1999)

***Les coumarines**

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone. Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (Jutiviboonsuketal., 2005).

➤ Classification de coumarines

- **Les Coumarines simples** : Les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7.
- **Les Furanocoumarines** : sont présentes chez de nombreuses Apiacées et Rutacées, elles dérivent de l'ombelliférone.
- **Les Pyranocoumarines**: composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine.
- **Les Dicoumarines (coumarines dimériques)** : Ce sont des composés formés par la liaison deux unités coumariniques simples.
- **Les Tricoumarines (coumarines trimériques)**

***Les anthocyanes (Fig. 4)**

Anthocyane (du grec *antho*, fleur et *kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés ou anthocyanosides. La formation des anthocyanes est favorisée par la lumière ce qui correspond à leur rôle anti UV. L'action de la lumière, jointe à celle des basses températures, explique par ailleurs la pigmentation éclatante des fleurs de montagnes (Guignard, 1996).

Les anthocyanes sont très répandus dans le règne végétal sous forme d'hétérosides. On les trouve dans nombreuses fleurs, fruits murs, parfois dans les feuilles, auxquels ils confèrent leur couleur (Ghestem, 2001).

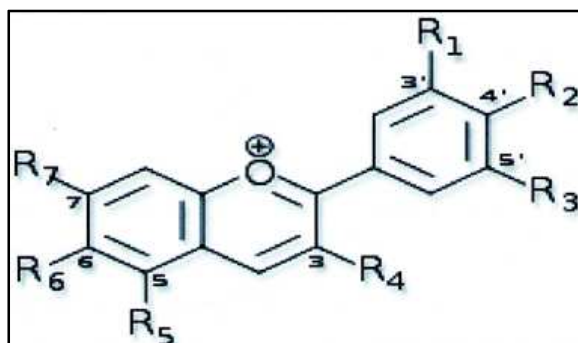


Figure4: Structure chimique des anthocyanes (Catier et Roux, 2008)

C. Les terpénoïde

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaïssa, 2011).

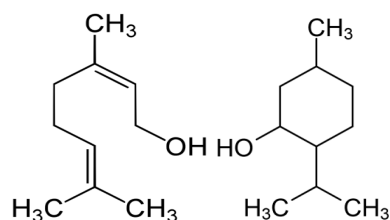
a) Les Hémiterpènes

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C5 ramifiée ; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpènes, seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Malecky, 2005).

b) Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90% des huiles essentielles sont des monoterpènes)(Fig. 5) (Ayad, 2008).

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales les monoterpènes linéaires (acycliques), les monoterpènes monocycliques, bicycliques et tricyclique (Malecky, 2005 ; Belbache, 2003).



Nérol

Menthol

Figure 5: Structure de quelques monoterpènes

c) Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes forment une série de composés qui renferment 15 atomes de carbones, ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme le β -Cadinène figure 6 (Belbache, 2003), ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés (Ayad, 2008). Ils peuvent être acycliques, monocyclique, bicycliques, tricyclique ou polycyclique (Belbache, 2003; Malecky, 2005).

Ils sont les plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules dont les plus caractéristiques sont présentées dans la figure 6 (Belbache, 2003).

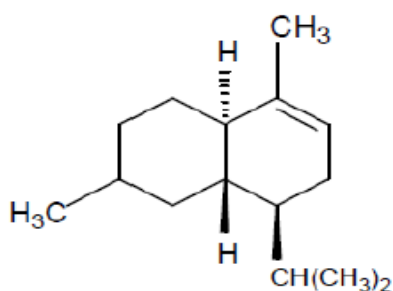


Figure 6: β -Cadinène

d) Les diterpènes

Les diterpènes représentent une large famille d'isoprénoïdes. Ils sont largement répandus et peuvent être trouvés dans les météorites, les huiles, les sédiments, ainsi que dans le milieu vivant terrestre et marin, végétal et animal. Leur structure est assez variable, ils peuvent être cycliques ou non. Ces molécules, qu'on retrouve aussi sous le nom de phytanes. Dans la nature, ils sont

souvent sous forme d'alcools ou de leurs dérivés glycosylés, d'éthers, d'aldéhydes, de cétones, d'acides carboxyliques ou d'esters (Emmanuelle, 2011).

e) Les triterpènes (Fig. 7)

Il y a au moins 4000 triterpènes connus. Beaucoup de triterpènes se produisent librement, mais d'autres se produisent sous forme de glycosides (saponines) ou dans des formes spéciales combinées (Jiri, 2003). Les Triterpènes stimulent la fabrication du collagène, et la synthèse de glycosaminoglycane, possèdent une activité antioxydante, et jouent un rôle dans la protection contre les rayons UV. (Puziah, 2011),

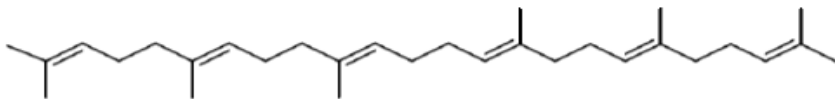


Figure 7 : Structure chimique de squalène (Ayad, 2008)

f) Léstériterpènes (Fig. 8)

Ce sont des molécules tétraterpéniques, constituées de l'enchaînement de 8 unités isopréniques, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation. Les caroténoïdes sont employés en industrie agro-alimentaire principalement pour leur pouvoir colorant (Krief, 2003).

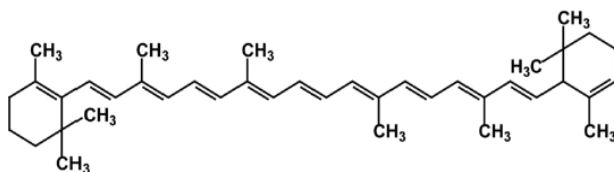


Figure 8: structure chimique de β -carotène

g) Les polyterpènes

Les polyterpènes hautement polymérisés sont des composants de latex rencontrés dans environ 300 espèces végétales, parmi ces composants on rencontre le caoutchouc (Guignard, 1996).

1.2. Etude botanique de la plante *Inulaviscosa*

1. Introduction

Le nom du genre *Inule*, est dû à Carl Von Linné (1753), terme qui vient du nom de l'espèce *Helenium*. Le nom *Helenium* découlerait du grec "helen". La légende antique raconte que la fleur serait née des larmes de la belle Hélène de Troie.

Les Inules appartiennent à la famille des Astéracées. C'est une importante famille de plantes dicotylédones qui regroupent 20000 espèces.

Les Inules sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle. En Espagne, l'*Inule* est utilisé dans le traitement de désordre Gastroduodéal (Besombes, 2008). Au Japon, cette plante est utilisée comme un remède familial (tisane); En Europe, il est employé comme une diaphorèse, et en Taïwan et Chine comme un agent thérapeutique pour la tuberculose et l'entrogastrique chronique. Elle a aussi des propriétés antiseptiques, antibiotique, antispasmodique, anti inflammatoire et anti diabétique (Lastra, Lopez, Motilva, 1983).

2. Nomenclature

Synonymie *Capulariaviscosa* ou *Dittrichiaviscosa* (L) Greuter, car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui n'est pas le cas des autres plantes du genre *Inula* (Ciccarelli, 2007). *Inula* viendrait du grec : Inéo qui signifie « je purge » (allusion à une propriété thérapeutique de la plante) (Fauron et Moati, 1983). *Viscosa* veut dire visqueuse :

Aunée visqueuse (Fournier, 1947).

Anglais : Stichkyfleabane (Halimi .A ,1997).

Maroc : Terhalâ (Zeggwagh A N, al., 2006).

Kabylie : Amagramane (Baba Aissa, 2000).

Vernaculaires : Magramane (Baba Aissa, 2000).

Arbre littéraire : EL Tayoune.

3. Taxonomie :

Selon Quezelet *al.* (1963) et Dupont *et al.* (2006), la position systématique d'*Inulaviscosa* est la suivante :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Sous classe	Gamopetales
Ordre	Campunulales
Famille	Astéraceae ou Compositeae
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inulaviscosa</i> (L) Ait

4. Description botanique :

Inula viscosa (L.) est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse (Bakkara *et al.*, 2008). Elle est ligneuse à sa base (forte racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long) (Quezel et Santa, 1963). Elle peut atteindre de 50 cm à 1 m de hauteur et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreux au sommet de la tige (Benhammou et Atik Bekkara, 2005). (Fig. 9, 10).

Les feuilles sessiles sont ondulées, dentées, aiguës (Bensegueni, 2001), crénelée, embrassante (formant deux petites oreillettes à sa base) (Bssaibiset *al.*, 2009), rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses (Bensegueni, 2001), glanduleuse (Bssaibiset *al.*, 2009) qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre (Bensegueni, 2001 ; Bakkara *et al.*, 2008 ; Haouiet *al.*, 2015), agréable selon certains, désagréable pour d'autres (Bssaibiset *al.*, 2009).

La floraison commence à partir du mois de Septembre. Les inflorescences sont de longues grappes (Bensegueni, 2001; Rameau *et al.*, 2008) pyramidales (Bssaibiset *al.*, 2009), fournies des capitules jaunes (Bensegueni, 2001). Les fleurs périphériques sont liguliformes, celles du centre sont tubulaires. Elles sont rayonnantes de couleur jaune et à forte odeur.

Les fruits sont des akènes velus à aigrette grisâtre (Bensegueni, 2001).

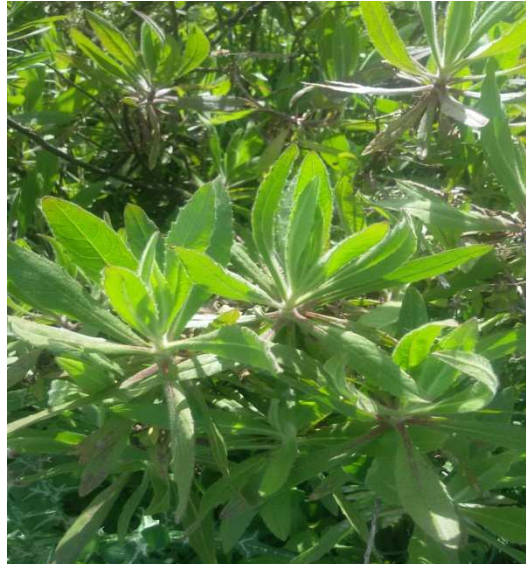


Figure 9 : Plante avec feuilles de *Inula viscosa* (Original)



Figure 10: Fleurs et fruits d'*Inula viscosa* (Ciccarelli ,2007)

5. Habitat et distribution géographique (Fig. 11)

L'inule visqueuse est commune dans tout le bassin méditerranéen (Oka *et al.*,2006;Parolin *et al.*,2014).Son aire de répartition naturelle comprend les cotes de l'Europe du Sud (Espagne, Grèce,Italie,Bulgarie), le Moyen-Orient (Jordanie,Syrie et Turquie)(Ulubelen *et al.*, 1987; Parolin *et al.*,2014), ainsi qu'en l'Afrique du Nord (Parolin *et al.*,2014). Elle est très répandue au Nord d'Algérie (Bakkara *et al.*, 2008).

Les habitats typiques d'*I.viscosa*sont les rivières asséchées et les champs abandonnés,les bords de routes,sentiers de randonnée,ou même des zones urbaines.Elle apparait aussi sur les sols argileux et sableux (Bensegueni, 2001), les côtes rocheuses ou dans des marécages naturels et autres zones humides.Elle exige de la lumière.L'inulevisqueuse se produit également dans des surfaces où les sols ont de hautes concentrations en magnésium et en azote (Parolin *et al.* ,2014).

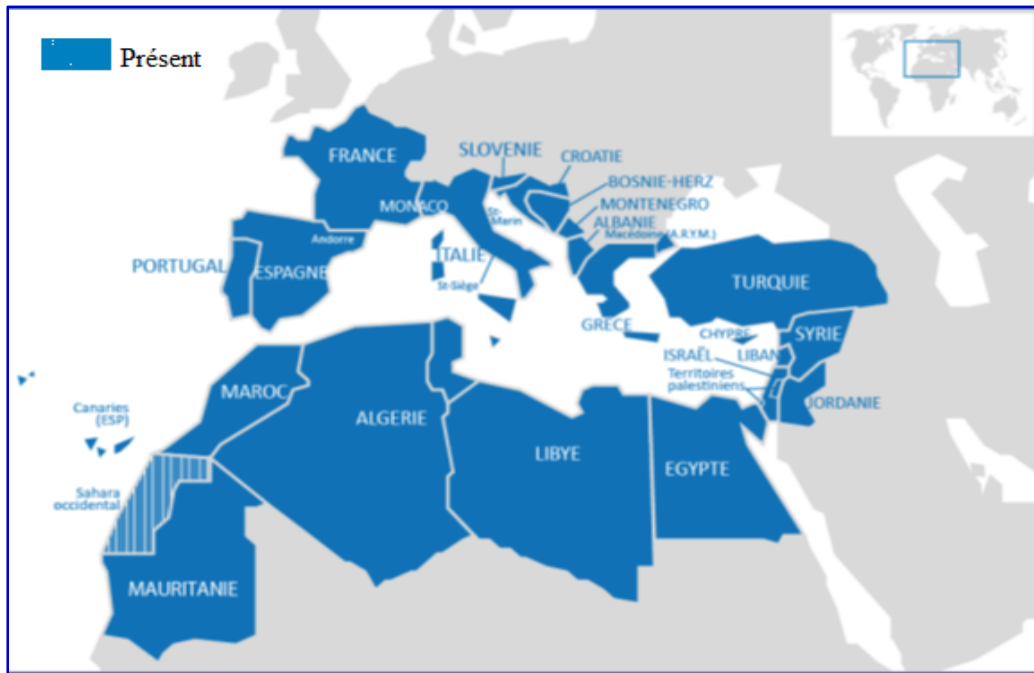


Figure11: Carte géographique de l'Inule (Benyahia, 2014).

6. Utilisation de la plante *I. viscusa* :

1. En pharmacopée :

Les effets thérapeutiques de cette plante sont très diversifiés et connus depuis longtemps dans les médications traditionnelles (Benhammou et Atik-Bekkara, 2005).

Dans la région méditerranéenne, elle est utilisée pour ses activités: anti-inflammatoires (Al-Dissi et al., 2001), antidiabétiques (Haouiet *al.*, 2015), elle a des activités antipyrétiques, antiseptiques et son efficacité contre les inflammation cutanées (Hernandez *et al.*, 2007; Khalil *et al.* ; 2007 ; Bakkarat *al.*, 2008) et fortes activités antioxydantes (Celik et Aslanturk, 2010). *I. viscosa* est utilisé pour traiter les troubles gastroduodénaux (Al-Dissiet *al.*, 2001 ; Chahmi *et al.*, 2015) et les troubles intestinaux (Parolin *et al.*, 2014).

La médecine traditionnelle a imputé plusieurs usages d'*I. viscosa*: anthelmintique, expectorant, diurétique, traitement de la bronchite, tuberculose, anémie et comme un cataplasme pour les maux rhumatismaux (Al-Dissiet *al.*, 2001), anti-viral (Abad et al., 2000), antifongique (Benhammou et Atik-Bekkara, 2005), différentes moisissures (Benhammou et Atik-Bekkara, 2005), anti-malaria (Waller *et al.*, 2003; Dondorp *et al.*, 2009) et elle est utilisée pour traiter les blessures des animaux (Chahmi *et al.* , 2015).

2. Utilisation en lutte biologique

L'inule visqueuse est réputée être un "insecticide végétal" (Boucheltaet *al.*, 2005). On la trouvait fréquemment dans les oliveraies avant qu'elle ne soit arrachée comme "mauvaise herbe" envahissante et encombrante. Des observations faites en Grèce montrent que dans une oliveraie "rénovée", l'arrachage de l'inule a été suivi d'une attaque de Mouche de l'Olive sans précédent. Après réintroduction de l'inule, il faut compter 4 à 5 ans pour que le cycle de la plante relais s'amorce avec l'Olivier. C'est un travail à long terme qui exclut l'emploi d'insecticides. Ce qui indique bien la relation Inule-Olivier connue intuitivement par les anciens (Bssaibiset *al.*, 2009).

1.3. Présentation de l'insecte *Aphisfabae* :

1.3.1. Introduction

Le puceron noir de la fève *Aphisfabae* (Scopoli, 1763) est un puceron très polyphage et Ubiquiste infestant plus de 200 genres et espèces végétales dont des plantes ornementales. Les pucerons entraînent des déformations foliaires et apicales sur cette plante. Ces dégâts d'ordre esthétiques sont fortement dommageables pour la qualité commerciale des plantes à feuillage persistant. Des moyens de lutte doivent donc obligatoirement être mis en œuvre pour limiter ces infestations. La tendance actuelle est la réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires au profit de solutions alternatives. La lutte biologique par apport d'auxiliaires est l'une des possibilités envisagées pour réduire l'utilisation des produits phytosanitaires.

Il existe de nombreux ennemis naturels du puceron noir de la fève, les Coccinellidae avec par exemple, *Scymnus* spp., *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant, 1853) et *Coccinella septempunctata* (Linnaeus, 1758), des chrysopes (*Chrysoperla*, *Chrysopa* et *Hemerobiidae*), ainsi que le parasitoïde *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880; Pons et Lumbierres, 2001). Il existe peu d'informations concernant l'influence des plantes hôtes sur la dynamique des populations d'*Aphisfabae* et sur celle des auxiliaires naturellement présents ou apportés. Pour lutter contre le puceron, il convient d'identifier dans le cadre de la lutte biologique pour chaque plante hôte une stratégie de lutte adaptée aux conditions de culture et aux auxiliaires.

1.3.2. Description du puceron

Le Puceron noir de la fève (*Aphis fabae*) est un insecte piqueur suceur, il vit en colonies compactes, à l'extrémité des plantes de fève. Il provoque l'enroulement, le dessèchement et la chute des feuilles. Il attaque en colonies les nouvelles pousses et les jeunes feuilles, et même les gousses. S'il n'est pas traité rapidement il cause de graves chutes de rendement, à cause de dessèchement qu'il provoque en suçant la sève (BAILLY, 1990).

a. Forme aptère

La forme aptère du puceron noir de la fève *A. fabae* mesure environ 2mm (Hullé et al., 1999). Elle est de couleur verte olive foncé à noir mat et recouverte d'une forte sécrétion cireuse blanche (Leclant, 1999). Les cornicules sont coniques nettement plus longues que la cauda. Ce dernier est digitiforme et trapu (Leclant, 1999).



Figure 12 : La forme aptère d'*Aphis fabae* (www.inra.fr/opie-insectes).

b. Forme ailée

Sous sa forme ailée, *A. fabae* est plus allongée que l'aptere (Hullé et al., 1999). Elle est de couleur sombre, avec des antennes courtes et qui représentent environ les deux tiers de la longueur du corps, l'abdomen de l'ailé est souvent orné de bandes pigmentées à contour irrégulier mais jamais fusionnées pour former une plaque (Hullé et al., 1999).



Figure13 : La forme ailée d'*Aphis fabae*(www.inra.fr/opie-insectes).

1.3.3. Position systématique d'*Aphis fabae* :

D'après Balachowsky et Mesnil (1935) et Grasse (1951), *Aphis fabae* est classé comme suit :

Règne	Animal
Embranchement	Arthropode
Sous embranchement	Mandibulates
Classe	Insectes
Sous classe	Pterygotes
Section	Néoptère (paraneoptère)
Sous-section	Hétérometabole
Super ordre	Hemipteroïde
Ordre	Homoptères
Sous ordre	Aphidinea
Super famille	Aphidoidea
Famille	Aphididae
Sous famille	Aphidinae
Genre	<i>Aphis</i>
Espèce	<i>Aphis fabae</i>

1.3.4. Cycle biologie d'*Aphisfabae*

Aphisfabae Scopoli est une espèce dioecique et holocyclique. Son cycle se réalise sur deux plantes non apparentées botaniquement. La phase de reproduction sexuée hivernale se déroule sur des plantes hôtes primaires qui sont des arbustes, principalement le Fusain d'Europe (*Euonymuseuropaeus*) (Taupin, 1985 ; Huillet *al.*, 1999).

Lorsque la température atteint 5°C, les ailés parthénogénétique vivipares émigrent vers les plantes hôte secondaires (fève, féverole, betterave, l'oseille, le haricot et le chénopode) (Taupin, 1985).

Le cycle d'*Aphisfabae* peut se résumer de la façon suivante (Fig.14) :

D'un œuf d'hiver, au printemps naître la fondatrice d'une colonie qui s'installe sur la plantemême ayant porté cet œuf (hôte primaire), cette colonie se compose de femelle agames et viviparie appelées virginies qui vont engendrer à leur tour sur le même hôte plusieurs générations de femelles virginipares, toujours par parthénogenèses thélytoque et viviparie.

Ensuite apparaissent des virginisâtes ailés qui vont assurer la dispersion de l'espèce, soit sur des plantes voisines de même espèce soit sur des végétaux différents (hôte secondaires), on les nomme émigrants ailés.

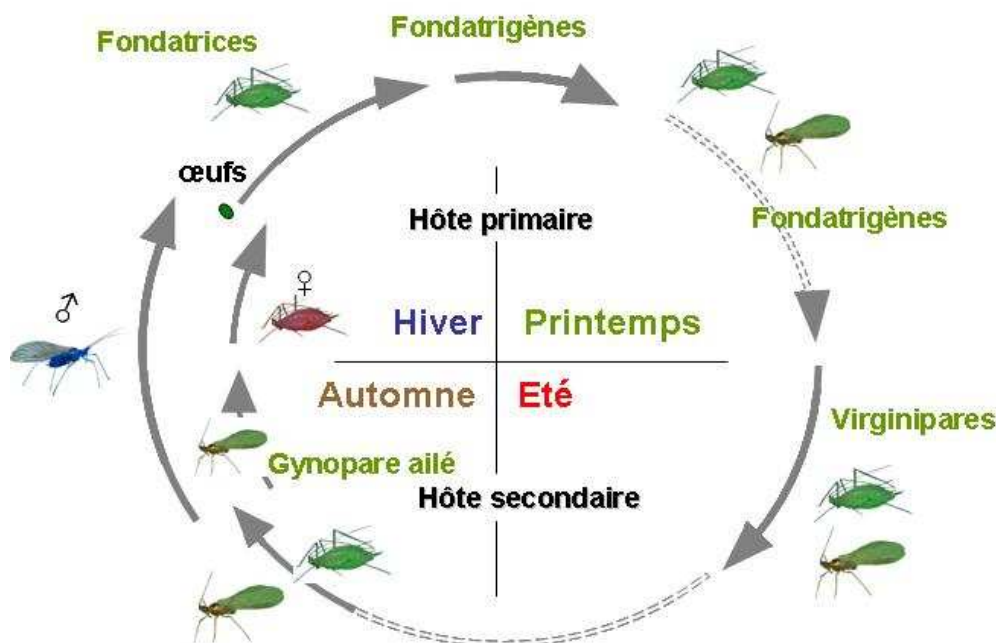


Figure14: Représentation schématique du cycle de vie d'*Aphisfabae*

(www.inra.fr/opie-insectes/1921agri-pp.htm).

1.3.5. Les dégâts occasionnés par *Aphis fabae*

Les pucerons figurent parmi les ravageurs les plus nuisibles à l'agriculture (Latigui, 1988). Les dommages causés aux cultures par des pucerons sont de différent ordre et sont produits à tous les stades phénologique, ils sont répartis en deux catégories (Leclant, 1982).

a. Les dégâts directs :

Les pucerons sont des insectes piqueurs –suceurs, ils se nourrissent en prélevant et en absorbant la sève de leur hôte, ce qui provoque un affaiblissement de la plante qui végète mal et flétri. Le végétal réagit aux piqûres d'alimentation et à la présence de salive, souvent de façon spécifique. Il peut s'agir de déformation et l'enroulement des feuilles en formant des refuges certains pour les populations, ce qui entrave les opérations de traitement phytosanitaire (Leclant, 1982).

b. Les dégâts indirects

Ils sont essentiellement de deux types d'origine bien différents :

- **Miellat et fumagine :**

La sève élaborée est pauvre en acides aminés, dont les insectes ont besoin pour leur croissance. Elle est riche en sucres, c'est pourquoi les pucerons ingèrent des quantités importantes de sève et rejettent des gouttelettes de miellat (Rabasse, 1985).

Les produits non assimilés de la digestion très riches en sucres s'accumulent dans la partie dilatée du rectum avant d'être rejetés ce qui constitue le miellat. Sur le milieu de culture très favorable, s'établissent des champignons saprophytes provoquant des fumagines qui entravent la respiration et l'assimilation chlorophyllienne ou souillent les parties consommables (fruits par exemple) et les rendent ainsi impropres à la commercialisation (Christelle, 2007; Giordanengo *et al.*, 2010).

- **Transmission des virus**

Au cours de leur piqure, les pucerons peuvent également transmettre des maladies à virus, mais qu'un problème de transmission de maladie à virus apparaisse, des vecteurs doivent être présents en nombre, en même temps que de source à virus (adventices, plants contaminés) (Rabasse, 1985).

Le virus de l'enroulement de la fève est transmis par *Aphis fabae* (Ouffroukh, 1985 ; et Aggad, 1996).

Le virus de la mosaïque de la fève également est transmis par cette espèce (Berthlem *et al.*, 1966).

Le virus de la jaunisse de la betterave est transmis par *Aphis fabae* (Dedryver ,1976). *Aphis fabae* est reconnu vecteur de nombreuses viroses car il a signalé neuf virus transmis par cette espèce (Kaadouri ,1996).

1.3.6. Plantes hôtes d'*Aphis fabae* :

Ce puceron est très polyphage. Il peut vivre sur plus de 200 plantes hôtes. Les hôtes primaires sont principalement des arbustes : Fusain d'Europe (*Euonymus europaeus*), la boule de neige (*Viburnum opulus*) et seringat (*Philadelphus coronarius*). Ses plantes hôtes secondaires peuvent appartenir aux Fabacées, Chénopodiacées, Brassicales, Solanacées, ainsi que diverses cultures florales et ornementales (Hullé *et al.*, 1999)



Chapitre II

Matériels et méthodes

Chapitre II - Matériel et méthodes

Notre travail consiste en une étude phytochimique, suivie d'une évaluation de l'activité insecticide et antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut d'*Inula viscosa* récoltée dans deux régions Draa El Mizan (TiziOuzou) et CapDjenet (Boumerdes). L'ensemble des manipulations est réalisé au niveau du laboratoire de Biologie des Populations et des Organismes (BPO) de la Faculté des Sciences de l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdès (UMBB).

II.1. Matériel

II .1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal ayant servi de matière première dans notre étude a été identifié au niveau du département de botanique à l'Institut National D'Agronomie à l'Harrach. Il s'agit d'*Inulaviscosa* (Asteraceae).

La partie aérienne de la plante médicinale est utilisée, notamment les feuilles. Elle a été récoltée pendant les mois février et mars 2016 (Fig. 16).



Figure 16 : Plante feuillue d'*Inulaviscosa*

II.1.1.2. Matériel animal

L'étude a été réalisée sur le puceron noir de la fève *Aphis fabae*. Ce dernier a été pris à partir de la culture de la fève au mois de mai 2016 en région de Cap Djenet (Boumerdes).

II.1.1.3. Souches microbiennes

Pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'extrait brut d'*I. viscosa*, on a utilisé les souches bactériennes et fongiques présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Les souches microbiennes testées (Annexe 4)

Microorganismes		Souches	Références
Bactéries	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	Laboratoire de microbienne (FS)
	Gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Moisissure	/	<i>Aspergillus sp</i>	Laboratoire d'agronomie (FS)
		<i>Aspergillus niger</i>	Laboratoire d'agronomie (FS)

II.1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel utilisé pour réaliser cette étude est composé d'appareillage, de réactifs, de produits chimiques et de verrerie (Annexe 1).

II.2. Méthodes d'étude

L'étude est essentiellement axée sur :

- Préparation de l'extrait éthanolique brut d'*Inula viscosa* ;
- Un screening photochimique de la poudre végétale des feuilles d'*I. viscosa*.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne et insecticide de l'extrait éthanolique brut.

Toutes ces étapes sont illustrées dans la figure 17.

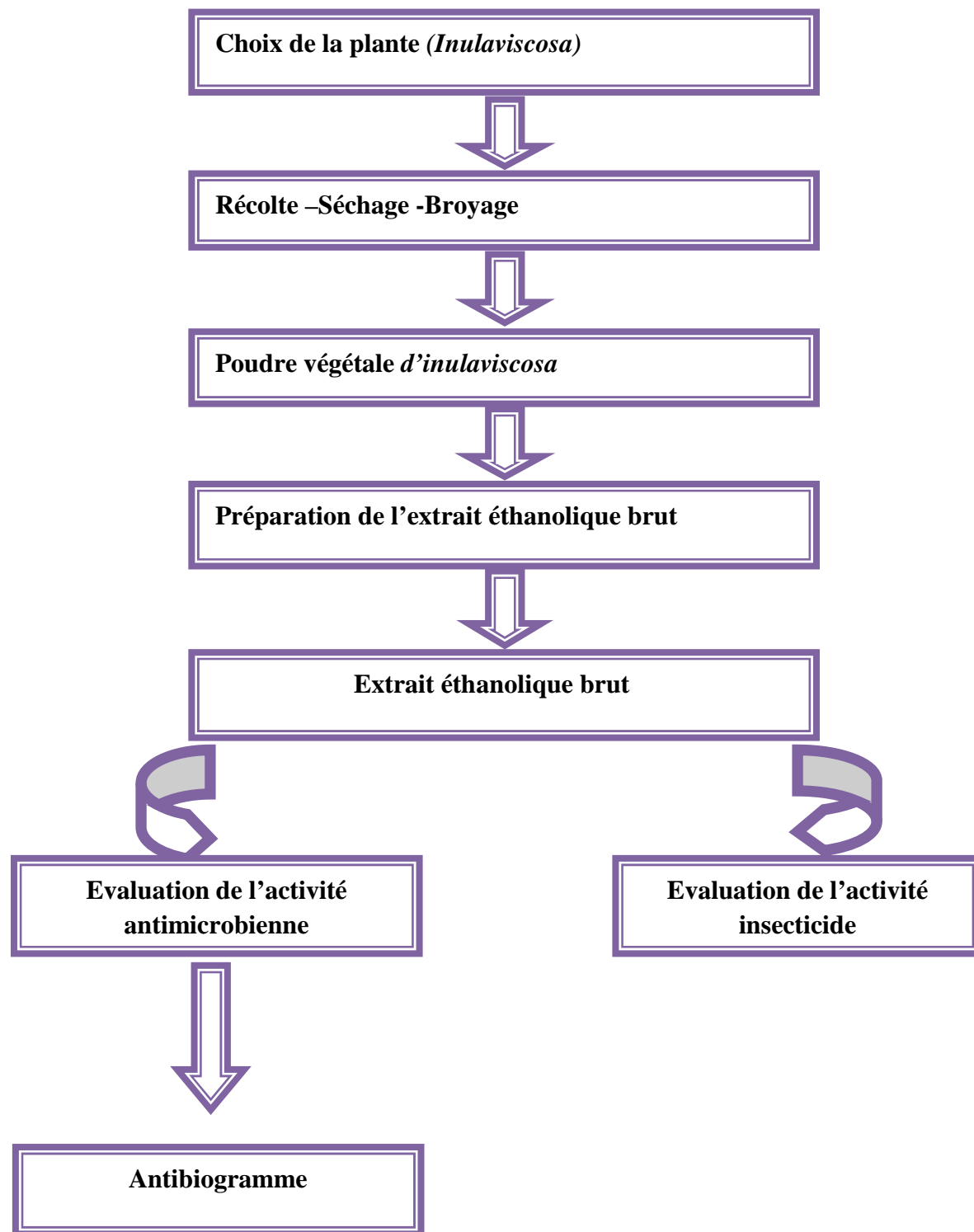


Figure 17. Schéma général des différentes étapes du travail

II.2.1. Méthodologie de récolte, séchage, broyage et conservation de la poudre végétale d'*Inulaviscosa*

➤ Récolte

La récolte de la plante *Inulaviscosa* a été effectuée durant le mois de Mars de l'année 2016. Dans deux régions différentes, à Drâa El Mizan (TiziOuzou) et à Cap Djenet (Boumerdès). Le choix porté sur ces deux sites de récolte est justifié par rapport à la situation géographique et à l'altitude. Les caractéristiques de chaque région sont notées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Coordonnées géographiques des deux stations (Encarta 2007).

Station de récolte	Etage Bio-climatique	Période de la récolte	Altitude	Latitude	Longitude
Draâ El Mizan (TiziOuzou)	Semi-aride tempère	Mars	433 m	36° 32' 08" Nord	3° 50' 03" Est
Cap Djenet (Boumerdes)	Méditerranéen ; chaude et humide	Février	32 m	36° 52' 37" Nord	3° 43' 23" Est

➤ Séchage

L'étape de séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des feuilles récoltées afin d'éviter toute réaction d'altération et la prolifération des micro-organismes. Les parties récoltées sont séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 10 jours (Fig. 18).



Feuilles séchées



Feuilles fraîches

Figure 18 : Feuilles d'*Inulaviscosa* (Original)

✓ Détermination de l'humidité

La teneur en eau dans les plantes médicinales est l'un des indices importants qui caractérise la bonne qualité de celle-ci (Bernardet, 1983). On calcule le taux d'humidité afin d'obtenir la vraie masse de la matière végétale utilisée.

Méthode pondérale

La détermination de la matière sèche a été réalisée juste à l'arrivée des échantillons au laboratoire. La dessiccation a été réalisée par évaporation à 103 ± 2 °C dans une étuve pendant 24h. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation (Audigie et *al.*, 1978).

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante.

$$H\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

H% : Teneur en eau.

M1 : masse en g avant étuvage (échantillon + capsule).

M2 : masse en g avant de l'ensemble après étuvage.

P : masse en g de la prise d'essai.

$$\text{La matière sèche (MS) \%} = 100 - H\%$$

➤ Broyage et de conservation de poudre

Les feuilles séchées sont réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique à hélice de type Philips. La poudre résultante est conservée à l'abri de la lumière dans des flacons en verre hermétiquement fermés (Fig.19).



Figure 19 : Poudre végétale (Original)

II.2.2. Etude phytochimique des feuilles d'*Inulaviscosa*

Une étude phytochimique ou screening a été réalisée dans le but de révéler la présence des principales substances bioactives dans l'infusé des échantillons des feuilles d'*Inulaviscosa* (Tableau 5).

a. Préparation de l'infusé à 20 %

- ✓ Nous avons versé 100 ml d'eau distillée chaude sur 20g de poudre de la plante *I. viscosa* déposée au fond d'un Becher.
- ✓ Après refroidissement et filtration, le filtrat résultant est complété par l'eau distillée jusqu'à 100 ml.

Tableau 5. Molécules recherchées, leurs réactifs de caractérisation et les résultats attendus (Harborne, 1998; Trease et Evans, 1989)

Molécules recherchées	Volume de l'infusé ou la poudre végétale	Les réactifs de caractérisation	Les résultats
Tanins totaux	-5 ml de l'infusé	-Quelques gouttes de FeCl_3 à 5%	Coloration bleu noire
Tanins galliques	-5 ml de l'infusé	-2 g d'acétate de sodium -Quelques gouttes de FeCl_3	Coloration bleu foncée
Tanins catéchiques	-15 ml de l'infusé	-7 ml de réactif de 10 ml du formol à 40% (40 ml du formol + 60 ml d'eau distillé) -5 ml d'HCL	Coloration rouge
Anthocyanes	-5 ml d'infusé	-Quelques gouttes d'HCL	Rouge

Saponosides	-2 ml de l'infusé	-Quelques gouttes d'acétate de plomb	Précipitation blanc
Alcaloïdes	-5g de poudre végétale humectés avec l'ammoniaque ½ pendant 24h	-Macération dans 50ml d'un mélange éther chloroforme (3v/v) pendant 24h - Filtrat+ l'acide chlorhydrique 2N= précipitations+ réactif de Dragendroff.(Annexe3)	Précipitation rouge
Amidon	-2g de poudre	-Quelques gouttes d'iode	Coloration bleu violette
Flavonoïdes	-5 ml de l'infusé	-5 ml d'HCL - Un coupon de Mg -1 ml d'alcool isoamylique.	Coloration rouge-orangée
Mucilages	-1ml de l'infusé	-5 ml d'éthanol absolu - Agitation pendant 10 à 15 minutes	Précipitation floconneuse
Glucosides	-2g de poudre	-Quelques gouttes de H ₂ SO ₄	Coloration rouge brique
Quinones libres	-2g de poudre humectés par 2 ml HCl	-20 ml chloroforme -Filtration après 3h -Agité avec 5ml d'ammoniaque 1/2	Coloration rouge
Irridoïdes	-2ml de l'infusé	-Quelques gouttes d'HCl -chauffer sur plaque chauffante	Coloration bleu
Coumarines	-2g de poudre	-20 ml d'alcool éthylique -bouillir à reflux 15 min -5ml de filtrat +5 gouttes de KOH 10% + Quelques gouttes de HCl 10%	-formation d'un trouble

II.2.2.1 Préparation de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa*(Fig. 21)

L'éthanol est fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (Fallehet *al.*, 2008). C'est la raison pour laquelle on a opté pour la préparation d'un extrait éthanolique brut de notre plante par l'utilisation d'éthanol comme solvant d'extraction.

La procédure suivie est celle décrite par (Owen *et al.*, 1990).

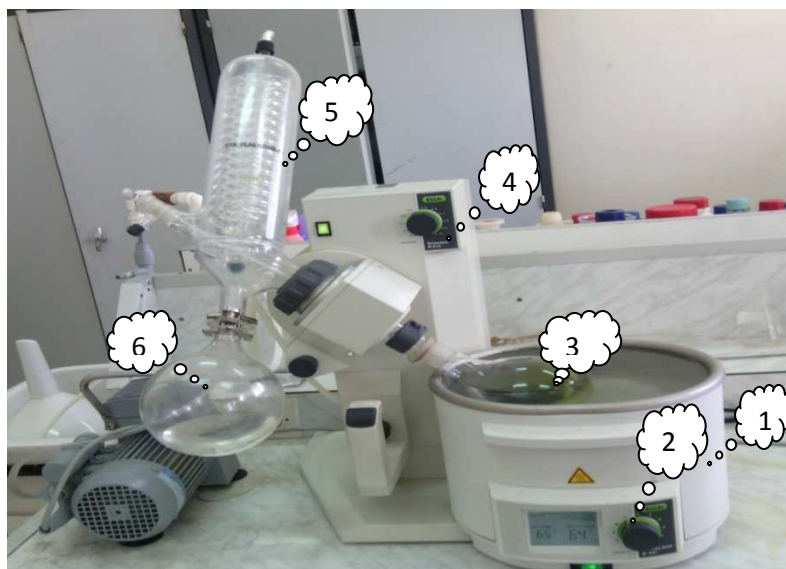
- **Mode opératoire**

Une quantité de 5g de poudre de la plante a été laissée macérer dans 80ml d'éthanol pendant 3 jours sous agitation. Après filtration, le résidu (sédiment) a été extrait une deuxième fois avec 40 ml d'éthanol pendant 48 h et une troisième macération a été faite avec 20 ml d'éthanol pendant 24 h.

Les trois solutions ont été ensuite combinées et laissées décanter puis filtrées.

L'extrait éthanolique a été ensuite soumis à une évaporation sous vide à 65 C°, l'extrait brut a été récupéré dans un pilulier puis séché à 37C° jusqu'à l'évaporation totale de l'éthanol.

Le Rotavapor est employé pour l'extraction brut éthanolique (Fig. 20).



- 1-Bain marie
- 2-Régulateur de T°
- 3-Ballon
- 4-Régulateur de rotation
- 5-Réfrigérant
- 6-Ballon de récupération

Figure 20 : Montage de Rotavapor employé pour l'extraction brut éthanolique (Original,2016)

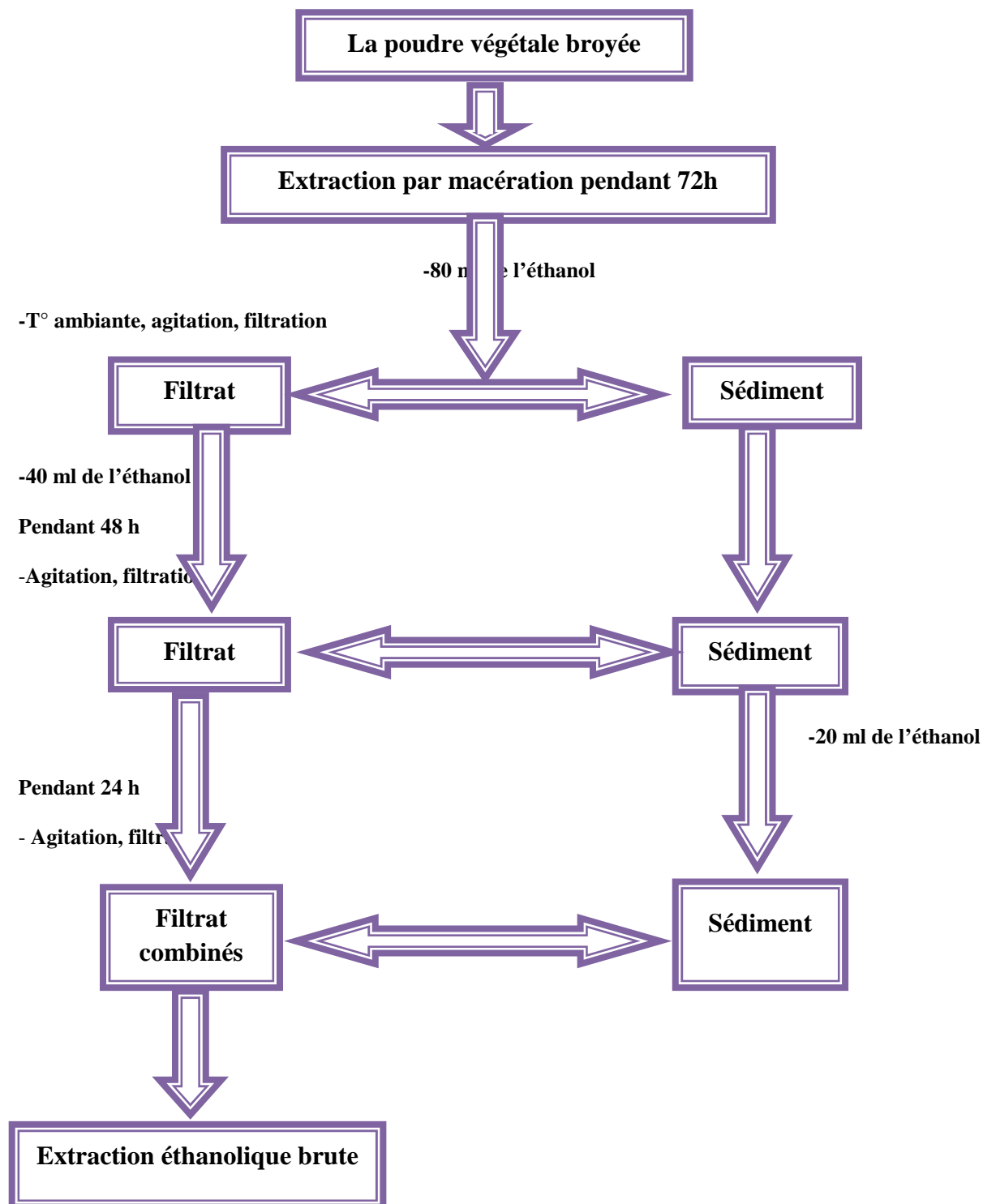


Figure 21 : Protocole d'obtention de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa*

✓ Récupération des extraits :

Après la pesée du ballon contenant l'extraction éthanolique, ce dernier est transvasé dans des piluliers ombrés en verre stériles et conservés dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur utilisation.

✓ Calcul de rendement :

Le calcul du rendement l'extraction éthanolique brut est déduit par la formule suivante :

$$R\% = (M - M_0 / M_T) \times 100$$

Tels que :

R% : Taux de la matière extraite.

M : Masse du ballon avec l'extrait

M₀ : Masse du ballon vide.

M_T : Masse végétale totale utilisée dans l'extraction.

II.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa*

La technique utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait est l'antibiogramme ou la méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des disques stériles. Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice d'agents microbiens, par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque imprégné de notre extrait à tester

Cette méthode est largement utilisée (Cavallo *et al.*, 2006). Les principales étapes sont décrites dans la figure 24.

✓ Revivification des souches

Les souches fournies sur des milieux de gélose de conservation sont revivifiées par la méthode des stries sur le milieu gélosé Bouillon nutritif (BN) pour les bactéries et PDA pour les champignons (Annexe 2), puis les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24h par contre les champignons sont incubées à 28°C pendant 72 h.

✓ Repiquage.

Les bactéries étudiées sont repiquées dans un milieu Muller Hinton par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Cependant, les champignons sont repiqués sur un milieu sabouraud et milieu PDA puis incubés à 28°C pendant trois jours. Cette étape permet l'obtention d'une culture jeune et des colonies bien isolées qui vont servir à préparer l'inoculum.

✓ Préparation de l'inoculum.

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries ou des champignons dans 5 ml d'eau physiologique stérile. On agite ensuite les tubes au vortex pendant quelques secondes. Puis, on réalise une lecture de la densité de chacune des suspensions microbiennes préparées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 630 nm.

Donc l'absorbance doit être comprise entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries et entre 2 et 3,8 pour les levures, qui correspondent à une concentration de 10^{-7} à 10^{-8} germes /ml.

✓ Préparation des boîtes de Pétri pour l'antibiogramme

Couler dans des boîtes de pétri le milieu de culture Muller-Hinton en surfusion à 45°C à raison de 4mm d'épaisseur pour permettre une bonne diffusion de l'extrait et laisser refroidir.

✓ Préparation des disques

Après stérilisation par autoclavage, les disques de papier Wattmen de 6mm de diamètre ont été imprégnés avec l'extrait éthanolique brut à raison de 5 μ l par disque. Par ailleurs, des disques témoins renfermant le solvant d'extraction (éthanol) sont préparés. Des dilutions en série de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 sont établies (Fig. 23)

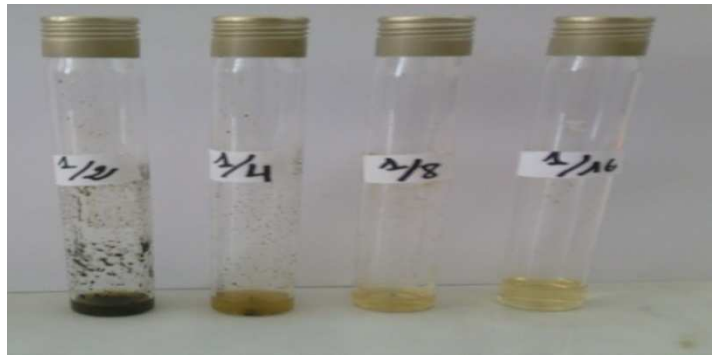


Figure 23 : Série de dilutions préparées à partir de la solution mère de l'extrait brut de *I. viscosa*

Après, on prélève les disques à l'aide d'une pince stérile, on laisse sécher à l'air libre devant le Bec Bunsen dans la zone stérile pendant quelques secondes.

Les disques ainsi traités sont déposés sur la surface de la gélose inoculée et laissés diffuser dans un réfrigérateur pendant environ 04 heures, puis incubés à 37°C à l'étuve pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C à l'étuve pendant 48 h pour les champignons

Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour du disque. L'interprétation des résultats se fait selon l'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par MeeneetSethi (1994), ces derniers mentionnant que ces diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont divisés en quatre classes (pour les disques 6 mm).

- Non inhibitrice: diamètre de la zone d'inhibition < 7 mm.
- Légèrement inhibitrice: 7 mm < diamètre de la zone d'inhibition <13 mm.
- Modérément inhibitrice: 13 < diamètre de la zone d'inhibition <25 mm.
- Diamètre de la zone d'inhibition >25 mm fortement inhibitrice.

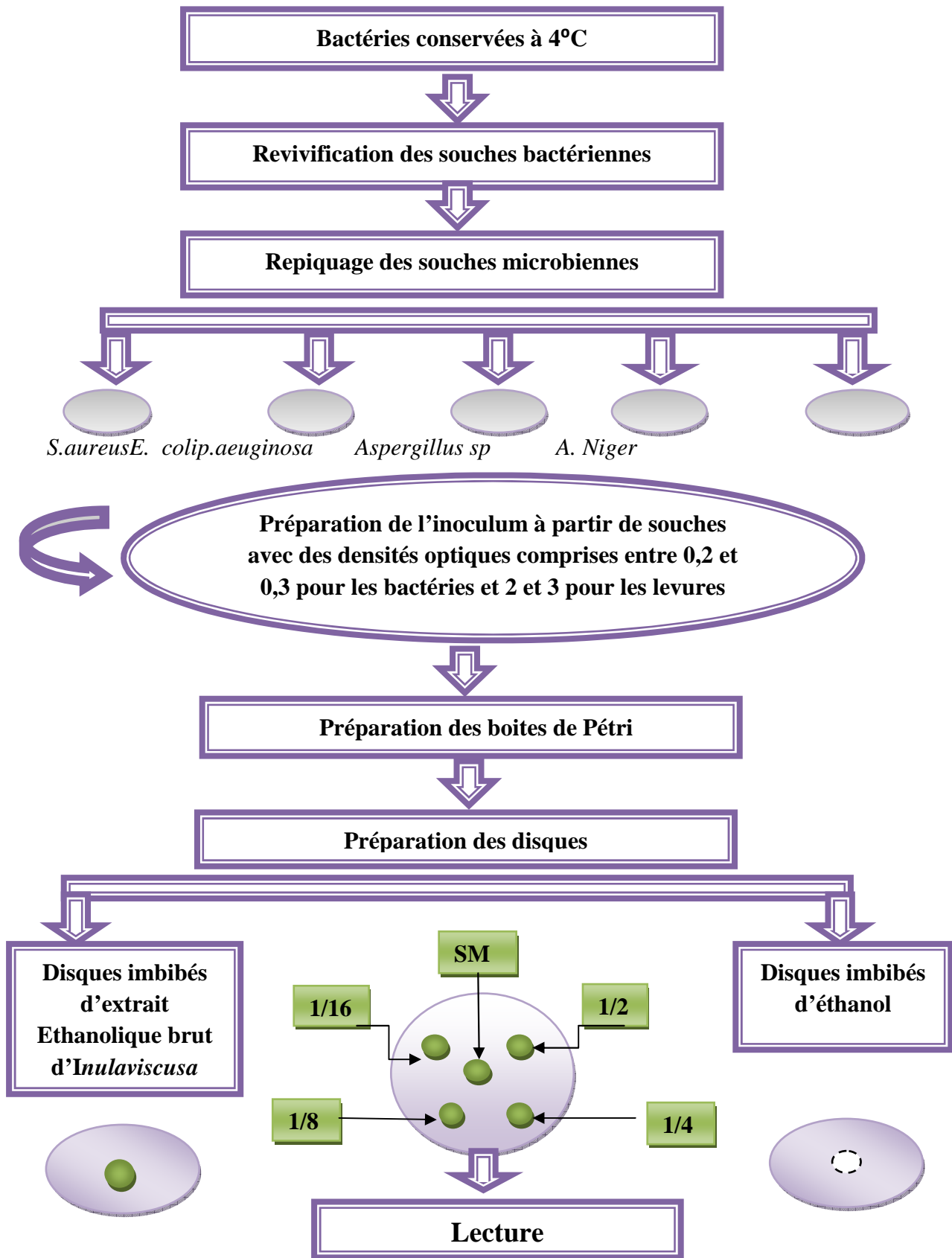


Figure 24. Schéma général du protocole expérimental de l'activité antimicrobienne

II.2.4. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa* vis-à-vis du puceron noir *Aphis fabae*

✓ Préparation des solutions insecticides

Les solutions testées ont été préparées le même jour du traitement par dissolution de l'extrait brut d'*Inulaviscosa* dans l'éthanol. Trois doses ont été choisies pour effectuer le test de toxicité et qui sont : D1 : 1 mg/ml, D2 : 2mg /ml, D3 : 4mg /ml, et témoin par l'eau distillée.

L'extrait est solubilisé dans une goutte de tween.

✓ Réalisation des tests insecticides

Les insectes au nombre de 40 /répartition sont placés sur la face inférieure de deux feuilles de la fève (Fig. 25), sur chaque feuille on pose 20 pucerons. Les solutions test sont appliquées aux pucerons par contact.

Les pucerons sont traités ensuite par des doses de l'extrait éthanolique brut d'*I.viscosa*. L'eau distillée a été utilisée pour traiter les pucerons témoins.

Les pucerons sont mis sous observation et les mortalités sont relevées après 2h, 4h , 24h, 48h , 72h et 96h, de traitement. Trois répétitions ont été effectuées pour chacune des doses testées et un témoin pour chaque dose.

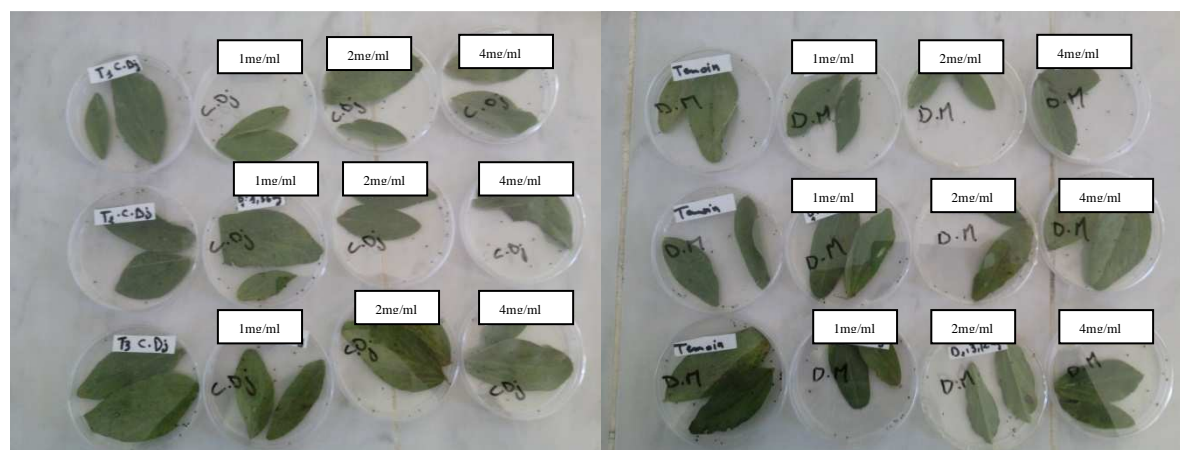


Figure 25 : Test de l'activité insecticide des deux régions(Original)

-Exploitation des résultats

-Méthodes de calcul

- On calcule le nombre de mortalités cumulées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa*.
- On calcule le pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique.

Les pourcentages :	40	→	100%
10	X	→	

- On calcule le pourcentage de mortalités moyennes des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa* comme suit :

$$\text{Moyenne des pourcentages : } R1+R2 +R3 / 3$$

Avec : R = Répétition

Les résultats de mortalité des insectes témoins et traités sont calculés par la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = (\text{Nombre de mort} / \text{Nombre total d'individu}) \times 100$$

✓ **Correction de la mortalité**

La mortalité observée a été corrigée par la formule d'Abbott (1925) en tenant compte des mortalités naturelles observées dans les lots témoins.

$$M_c = \frac{M_2 - M_1}{100 - M_1}$$

Avec :

M1 : pourcentage de mortalité dans le lot témoin ;

M2 : pourcentage de mortalité dans le lot traité .

Mc: pourcentage de mortalité corrigée.

✓ Détermination de la DL₅₀

La dose létale 50 (DL 50) (dose létale pour 50% des individus) est la dose nécessaire pour tuer la moitié d'une population, est une valeur qui nous renseigne sur l'importance de l'effet toxique de notre extrait dans le temps. C'est un indicateur de la toxicité d'une substance .Elle est calculée à partir de la droite de régression des probits ($y=ax +b$) correspondant aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des doses de traitement.

Sont déterminées ou : $y= ax+b$

Y :Probit de mortalité corrigée

X : Logarithme décimal de la concentration

a : La pente

La table des probits de Cavelier (1976)(Annexe5)est utilisée à cet effet.

$$y=a+\text{Log}(x)$$

✓ Détermination de la TL₅₀

Le temps léthal 50 (TL₅₀) correspond au temps nécessaire pour que périssent 50% des individus exposés à une concentration déterminée (Ramade,2007).

Il est calculé à partir de la droite de régression des temps de traitement.

Probités = f(log temps)

II.2.5.Analyse statistique :

Détermination de la moyenne, de l'écart type et de l'erreur standard à la moyenne (ESM)

Afin de se rapprocher le plus possible de la valeur réelle des valeurs avec certitude, l'effet de l'extrait végétal sur le puceron, nous avons en recours à un indice statistique permettant de mesurer l'erreur standard à la moyenne (ESM). Le calcul de cet indice nécessite préalablement le calcul de la moyenne (\bar{X}) et de l'écart-type (S). Les formules permettant d'obtenir les valeurs des paramètres cités sont les suivantes :

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} X_i}{n}$$

$$S = \frac{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}{n-1}$$

$$ESM = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Avec :

\bar{X} : moyenne arithmétique

X_i : valeur individuelle

n : effectif

S : écart-type

Analyse de la variance à un facteur

Les résultats de l'activité des extractions éthanolique brut vis-à-vis de la mortalité et d'inhibition de la croissance des pucerons, sont soumis à l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur, qui permet de mesurer les effets de chaque dilution de l'extrait sur le paramètre mesuré. Les effets sont estimés à trois seuils de signification, avec :

* : Effet significatif ; $P < 0.05$.

** : Effet très significatif ; $P < 0.01$.

*** : Effet hautement significatif ; $P < 0.001$

NS : Effet non significatif



Chapitre III

Résultats et Discussion

Chapitre III. Résultats et Discussion

Dans cette partie, nous exposons les résultats obtenus quant à l'étude phytochimique, à la teneur de l'humidité, au rendement de l'extraction éthanolique brut et à ceux de l'évaluation de l'activité antimicrobienne et insecticide de l'*Inula viscosa* dans deux régions Draâ el Mizan et Cap Djenet.

III.1. Détermination de l'humidité

La détermination de la teneur en eau ou la détermination de l'humidité a été réalisée selon la méthode décrite par Audigie(1978). Les résultats obtenus sont rapportés sur la fig24.

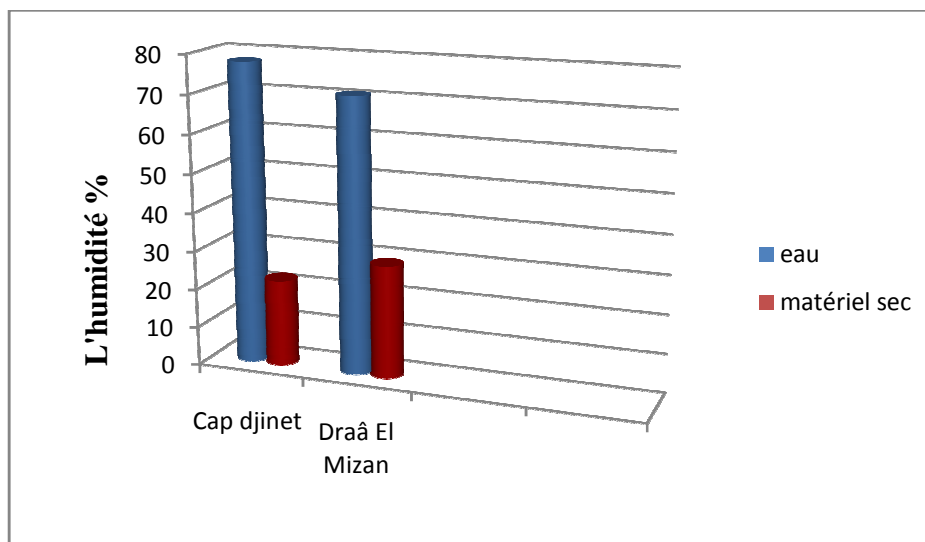


Figure 24 : Teneur en eau d'*Inula viscosa* dans deux régions

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des plantes étudiées, et de connaître la durée de séchage pour chaque plante qui diffère d'une espèce à une autre. Les analyses des échantillons ont révélé un taux d'humidité important compris entre 56 à 82%. Cela signifie que la majeure partie de la plante est constituée d'eau.

Selon la figure 24, on peut constater que la plante *I. viscosa* de Cap Djenet est très riche en eau avec un taux d'environ 77.7%, comparée à celle de la région de Draâ El Mizan, qui montre une teneur en eau de 70.9%. Kheyar (2009) souligne un taux de 81.66% dans la région de Tichy (Bejaïa).

Cette différence peut être liée aux facteurs climatiques du milieu et moment de la récolte (Abdoune (2012)).

III.2 .Rendement et caractérisation des extraits éthanoliquebruts :

- Calcul du rendement

L'extrait obtenu par évaporation présente un aspect Pâteux couleur verdâtre. Les résultats des rendements sont reportés dans le tableau 6 .

Tableau 6 : Rendement de l'extrait éthanolique brute de l'*I. viscosa*

Paramètres	Draâ El Mizan	Cap Djenet
Masse de l'extraction sèche (g)	7	6.911
La masse du ballon +extrait (g)	265	343.380
La masse du ballon vide (g)	258	336.469
La masse totale de poudre utilisée (g)	20	20
Le rendement %	35%	34.55%

Les teneurs de l'extrait éthanolique brut d'*I.viscosa* dans les deux régionsde collecte se rapprochent.A Draâ El Mizan, il est de 35% et à Cap Djenet, il est de 34.55%.La comparaison des différents rendements fait ressortir la richesse de notre extrait en composés bioactifs.






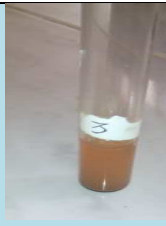


En comparant notre résultats avec ceux de Chahmiet *al.*, (2015) ayant travaillé sur la même espèce , originaire de trois régions marocaines , nous remarquons que le rendement de notre échantillon est largement supérieur à leurs rendements qui sont de l'ordre de 23.90% , 20.08% et 13.35% .En effet , le rendement n'est pas relatif ,il dépend de la méthode et conditions dans lesquelles l'extraction a été faite .Autrement, cette différence peut être due à la nature de la matière végétale Smith et *al.*, (2001) .Elle varie en fonction de l'organe récolté ; de la période ainsi qu'au mode de la récolte. Elle est étroitement liée aux facteurs édaphoclimatiques du milieu (pluviométrie , altitude ,latitude et la nature du sol).Le mode de stockage et le conditionnement influent aussi sur le rendement Lee et *al.* ,(2003).










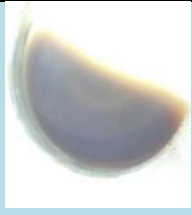


D'autre part, Lee et *al.*,(2003) et Athamena et *al* (2010)notent que la méthode d'extraction affecte également le contenu total en polyphénols ,en flavonoïdes et en capacités antioxydants. Ces mêmes auteurs ont prouvé que l'éthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénolique,suivi du méthanol et enfin l'eau.









III.3 .Résultat du Screening phytochimique :

Les tests de caractérisation photochimique réalisés sur l'infusé et la poudre des feuilles de *Inulaviscosadans* les deux régionsrévèlent la présence de plusieurs substances .Les résultats de cette étude sont mentionnés dans le tableau 7.

Tableau 7 :Résultats des tests photochimiques réalisés sur la poudre des feuilles d'*I.viscosa*

Substances	Résultats positifs	Draâ el Mizan	Cap djenet
Flavonoïde	Rouge orange	 +++	 +++
Tannin totaux	Bleu Noir	 +++	 +++
Anthocyanes	Coloration rouge	 -	 -
Coumarines	Formation d'un trouble	 ++	 +

Alcaloïdes	Précipité rouge	 +++	 +++
Tannin catéchique	Rouge orange	 -	 -
Tannin gallique	Bleu foncé	 ++	 ++
Amidon	Coloration bleu violette	 -	 -
Quinone libre	Coloration rouge	 ++	 ++
Glucosides	Coloration rouge brique	 ++	 ++

Iridoïde	Coloration bleu	 -	 -
Saponosides	Précipité blanc	 +++	 +++
Mucilage	Précipité floconneux	 -	 -
Leucocyanes	Coloration rouge	 -	 -

Avec : (-) : Absence de substance ; (+) : Faible teneur en substance ; (++) : Moyenne teneur en substance ; (+++) : Forte teneur en substance .

D'après les résultats obtenus, on constate qu'*Inula viscosa* présente une diversité moléculaire en métabolites secondaires. Celle de la région de Drâa El Mizan s'est montrée avec une forte teneur en flavonoïde, en Tanins totaux, en saponosides et en Alcaloïdes. Mais elle a une moyenne teneur coumarines, en Tanins gallique, en quinone libre et en glucoside par contre il y a une absence des anthocyanes, des Tanins catéchique, de l'Iridoïde, de Mucilage et d'Amidon. On remarque les mêmes résultats pour la région de Cap Djenet, sauf qu'au niveau de cette région les coumarines sont en faible teneur.

En se basant sur les travaux de Benhammou (2006), Djedioui (2010) ayant classé *Dittrichia viscosa* comme étant une espèce à usage anti diabétique et antioxydant vu sa richesse en Flavonoïdes. De plus sa teneur en tanins, en saponosides et en coumarines (Draâ El Mizan plus que Cap Djenet) fais de cette plante un antibactérien, un antiviral et un antifongique. Cette Notion est confirmée par Wang et al (2005).

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par Khalil et *al* (2007) et Benyahia (2014), sur les feuilles de la même espèce récoltées dans la région Tlemcen en mois de novembre, il ressort que les composants de cette plante présentent des similitudes pour certains composés et des dissimilitudes pour d'autres. Ceci est dû probablement à une biodiversité moléculaire résultante d'un changement de l'environnement. Ces différences peuvent être également expliquées par l'âge des plantes au moment de la récolte. En effet, Ghesten *et al.* (2001) confirment que les tanins s'accumulent fréquemment dans les organes âgés. La saison de récolte ainsi que le climat peuvent aussi influencer sur la teneur des plantes en substance bioactives.

III.4 .Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut d'*I.viscosa*

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscos* sont notés dans les tableaux 8, 9 et 10 et la figure 25.

Tableau 8 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) de la solution mère (SM) et des dilutions de l'extrait d'*Inulaviscos* de Draâ El Mizan sur la croissance de différentes souches testées.

Souches microbiennes	SM	\bar{X}	1/2	\bar{X}	1/4	\bar{X}	1/8	\bar{X}	1/16	\bar{X}
Les bactéries										
<i>E.coli</i>	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	0 0 0	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	29 28 36	31	27 10 30	22.33	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6
Les champignons										
<i>Aspergillus sp</i>	19 15 15	16.33	9 9 6	8	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6
<i>Aspergillus niger</i>	40 40 30	36.67	18 32 28	26	17 20 11	12.67	10 6 10	8.67	6 6 6	6

SM : Solution mère .

\bar{X} : Moyenne.

Tableau 9:Diamètre des zones d’inhibition (mm) de la solution mère (SM) et les dilutions de l’extrait d’*Inulaviscosade* la région de Cap Djenet sur la croissance des différents souches testées .

Souches microbiennes	SM	\bar{X}	1/2	\bar{X}	1/4	\bar{X}	1/8	\bar{X}	1/16	\bar{X}
----------------------	----	-----------	-----	-----------	-----	-----------	-----	-----------	------	-----------

Les bactéries										
<i>E.coli</i>	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	16 20 16	17,33	12 10 9	10.33	7 6 6	6,33	6 6 6	6	6 6 6	6
Les champignons										
<i>Aspergillus sp</i>	11 14 11	12	6 8 6	6,67	6 6 6	6	6 6 6	6	6 6 6	6
<i>Aspergillus niger</i>	36 36 30	34	29 18 20	22.33	18 10 16	14.67	6 10 7	7.67	6 6 6	6

SM : Solution mère.

\bar{X} : Moyenne.

DraâElMizan	Cap djenet
-------------	------------

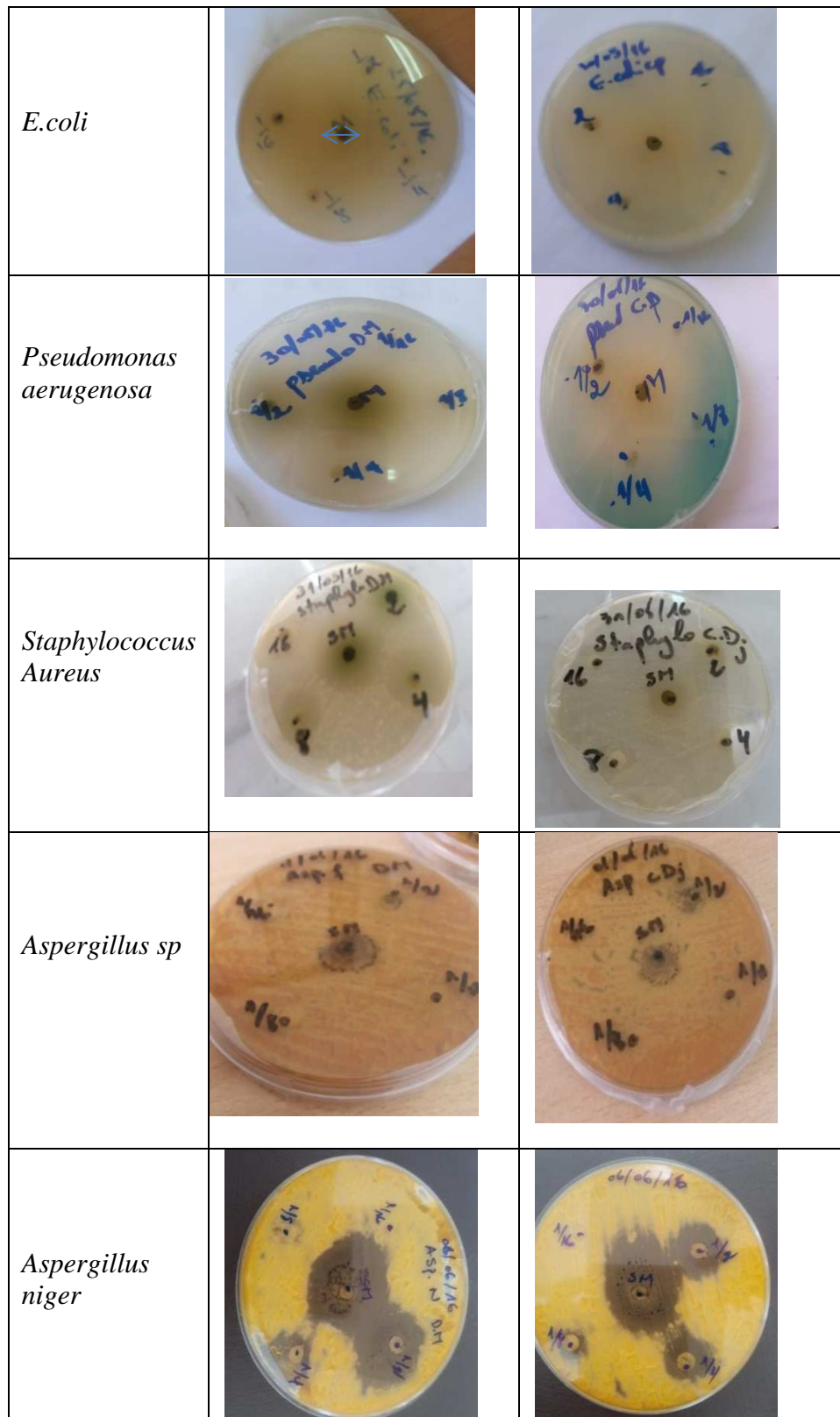


Figure 25: Activité antimicrobienne de la solution mère (SM) et des dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) de l'extrait éthanolique brut des feuilles de l'*Inulaviscosa*.

Tableau 10 : les effets antimicrobiens de l'extrait éthanolique brut des feuilles d'*Inulaviscosa aux* différentes concentrations.

Région de récolte	Draâ El Mizan					Témoin	Cap Djenet					
	SM	1/2	1/4	1/8	1/16		SM	1/2	1/4	1/8	1/16	
Souches												
Les bactéries												
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	++	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-
Les champignons												
<i>Aspergillus sp</i>	++	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	+++	+++	+	+	-	-	+++	++	++	+	+	+

+++ : Fortement inhibitrice

++ : Modérément inhibitrice

+ : Légèrement inhibitrice

- : Non inhibitrice.

Dans cette partie, nous avons évalué *in vitro* l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa* dans deux régions (Draâ El Mizan, CapDjenet) sur trois souches bactériennes *E.coli*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et deux champignons *Aspergillus sp*, *Aspergillus niger*.

Le solvant éthanol utilisé comme témoin, n'exerce aucun effet sur les souches microbiennes testées.

- Action anti bactérienne

En effet, la comparaison des deux régions Draâ El Mizan, Cap Djenet nous a révélé que l'extrait brut est plus actif sur *Staphylococcus aureus* à Draâ El Mizan par rapport à Cap Djenet.

L'extraction éthanolique d'*Inulaviscosabrut*e n'a aucun effet vis-à-vis d'*E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* dans les deux régions.

En comparant notre résultat avec Ramli (2013), l'extrait méthanol/eau obtenu par lixiviation, aucune zone d'inhibition n'est observée pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Donc ces bactéries sont résistantes aux substances végétales contenues dans la plante *Inulaviscosa*.

Une autre étude faite par Benseguni-Tounsi (2001) ; Bachir et al (2015) soulignant aucun effet de l'huile essentielle d'*Inulaviscosa* sur *Escherichia coli* qui est résistante, mais une forte sensibilité de *Staphylococcus aureus*.

D'après Abdoune (2012) et Benhammou (2006), cette plante n'a aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa* mais elle est légèrement inhibitrice sur *E.coli* et fortement inhibitrice sur *Staphylococcus aureus*.

Aussi les résultats de cette étude (sensibilités des souches Gram+ et résistante pour les Gram-) corroborent ceux de Mohamedi (2006) et Smith (2001), ils confirment que les bactéries Gram positif sont plus sensibles que Gram négatif ceci peut s'expliquer par la différence de la structure de la paroi constituant les différentes bactéries Gram+ et Gram-

La paroi est dotée d'une membrane externe, car la présence d'une couche de lipopolysaccharide LPS qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule Bagamboula et al (2004).

Cette activité est en relation avec l'origine de l'extrait (feuilles ou fleurs), la nature du solvant et la souche testée, et les conditions climatiques.

- L'Action antifongique :

L'action fongicide que nous avons obtenu présente une importante inhibition de *Aspergillus Niger* dans deux régions. Ces résultats sont confirmés par Hamdi Pacha (1997) ayant travaillé sur cinq souches de dermatophytes

Selon nos résultats, nous avons obtenu une inhibition modérée sur la souche *Aspergillus sp* à Draâ El Mizan et une inhibition légère en région de Cap djenet, ceci est confirmé par Benhammou (2006).

Les travaux de Cafarchia et al. (2002) ont montré la présence d'une activité

antifongique des huiles essentielles et des extraits flavonoïdiques des feuilles, des fleurs, de la plante entière et de la plante entière sans fleurs d'*Inulaviscosa* contre les dermatophytes, Notamment, *Trichophyton*, *mentagraphytes* et *candida*.

III.5. Activité insecticide de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosa*

Les résultats des mortalités cumulées des pucerons sont représentés dans les figures 26 et 27.

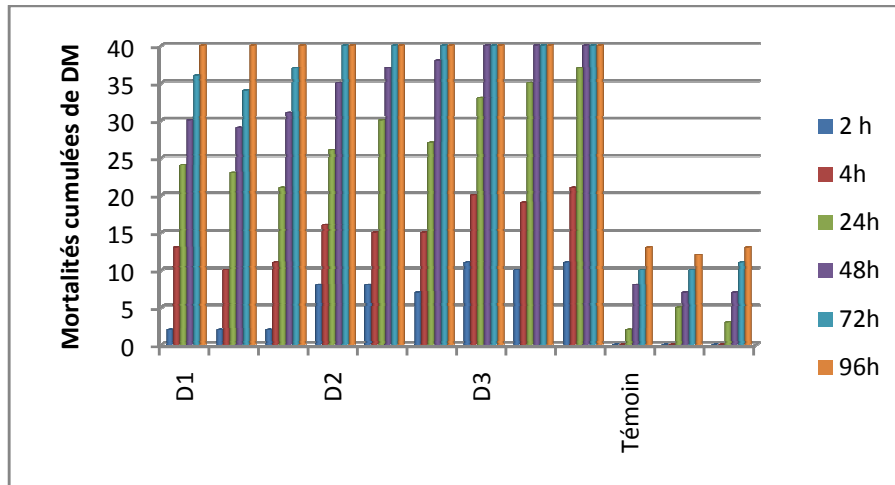


figure 26 : les mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosa* de la région de Draâ El Mizan .

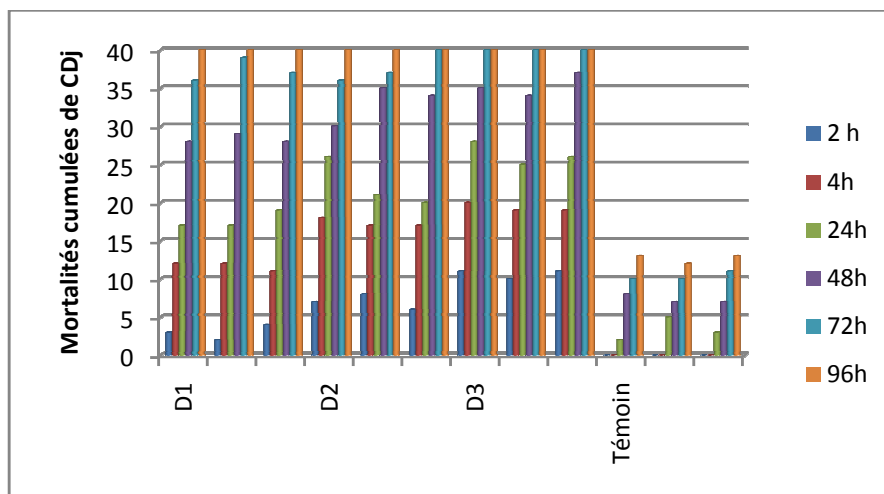


figure 27: les mortalités cumulées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosa* en région de Cap Djenet.

On remarque que les mortalités des pucerons dans le temps augmentent avec l'augmentation de la dose de l'extrait.

Les résultats de pourcentage des mortalités cumulées des pucerons sont notés dans les figures 28 et 29.

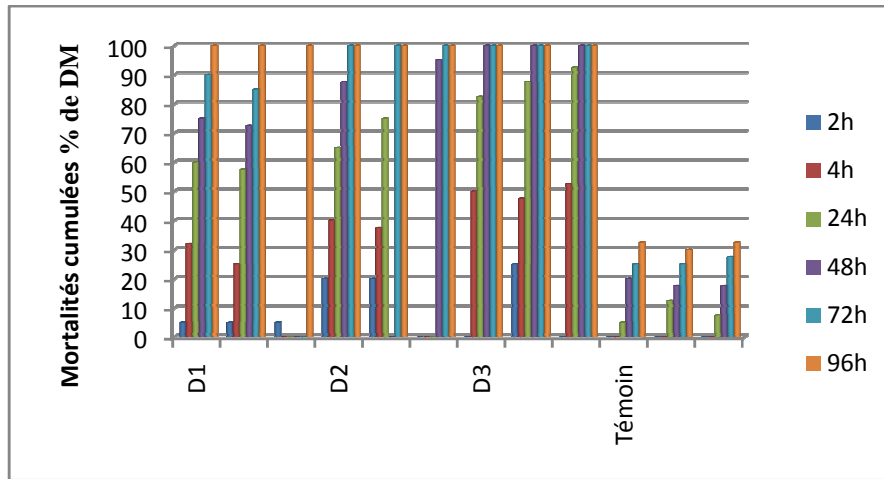


Figure28 : pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I. viscosa* de la région de Draâ El Mizan.

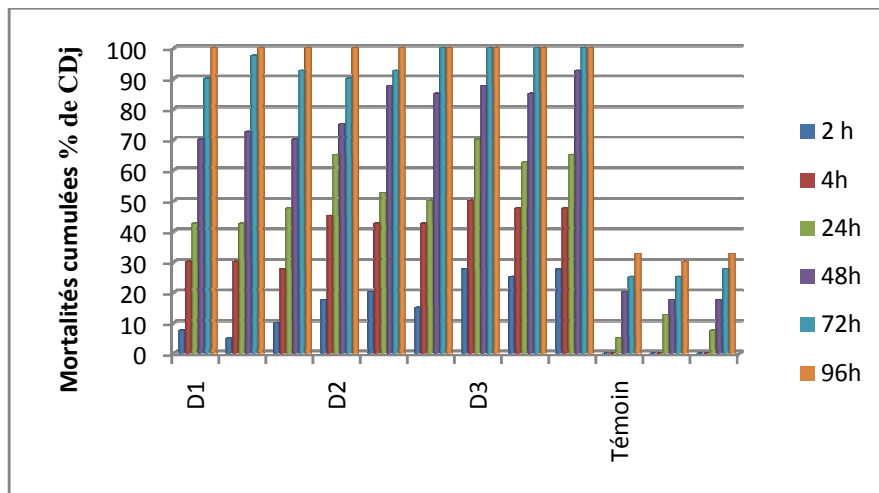


Figure29 :pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosa* de la région de Cap Djenet.

Les résultats de pourcentage des mortalités moyennes des pucerons sont représentés dans les Figures 30 et 31.

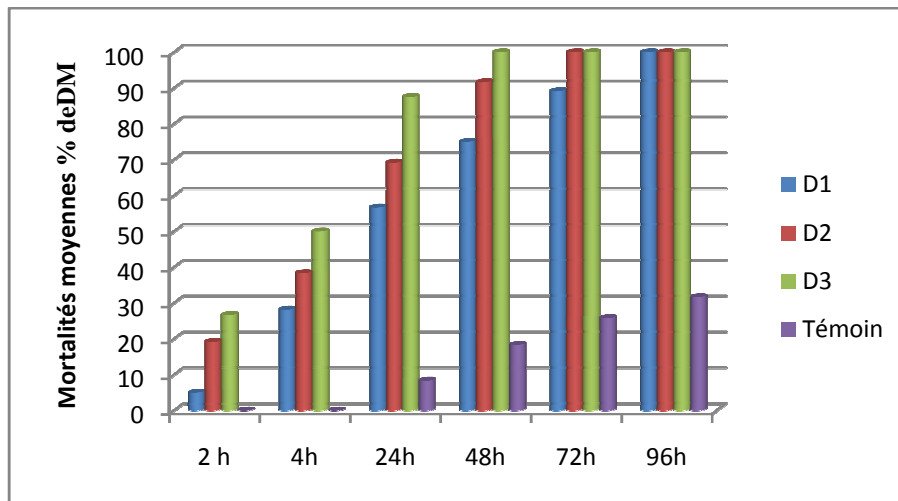


Figure30 :pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I.viscosade* la région de Draâ El Mizan.

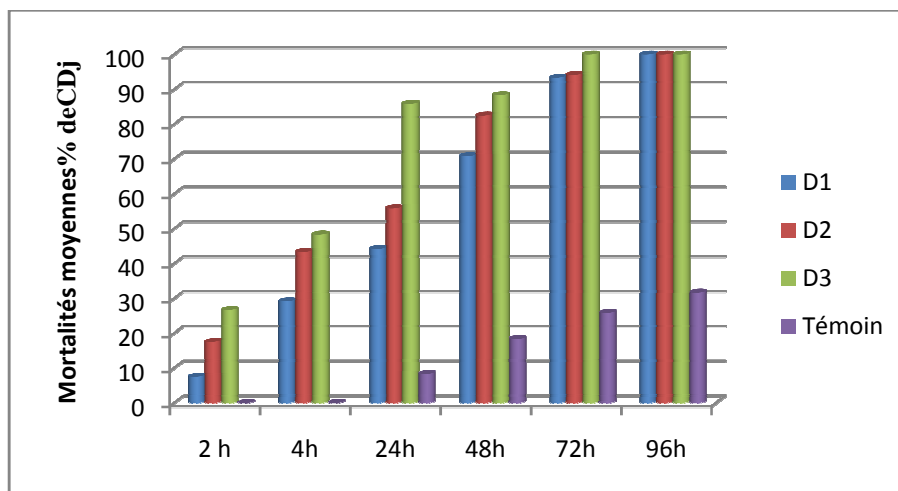


Figure31 :pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I.viscosade* la région de Cap Djenet.

Les résultats de pourcentage des mortalités corrigées des pucerons sont représentés dans les **Figures** suivant 32 et33.

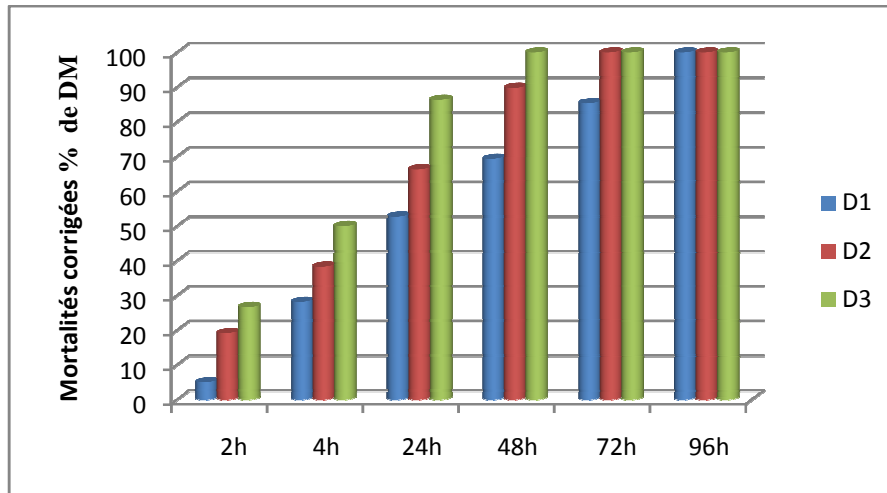


Figure32:pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosa*de la région de Draâ El Mizan.

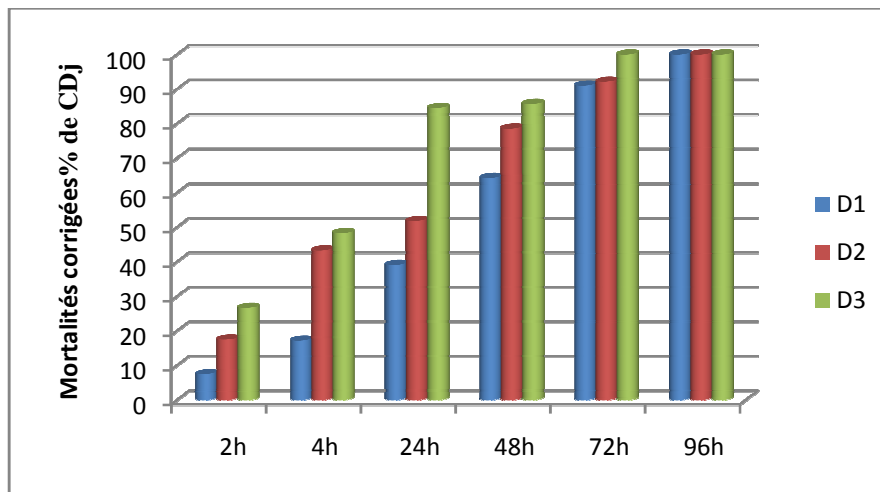


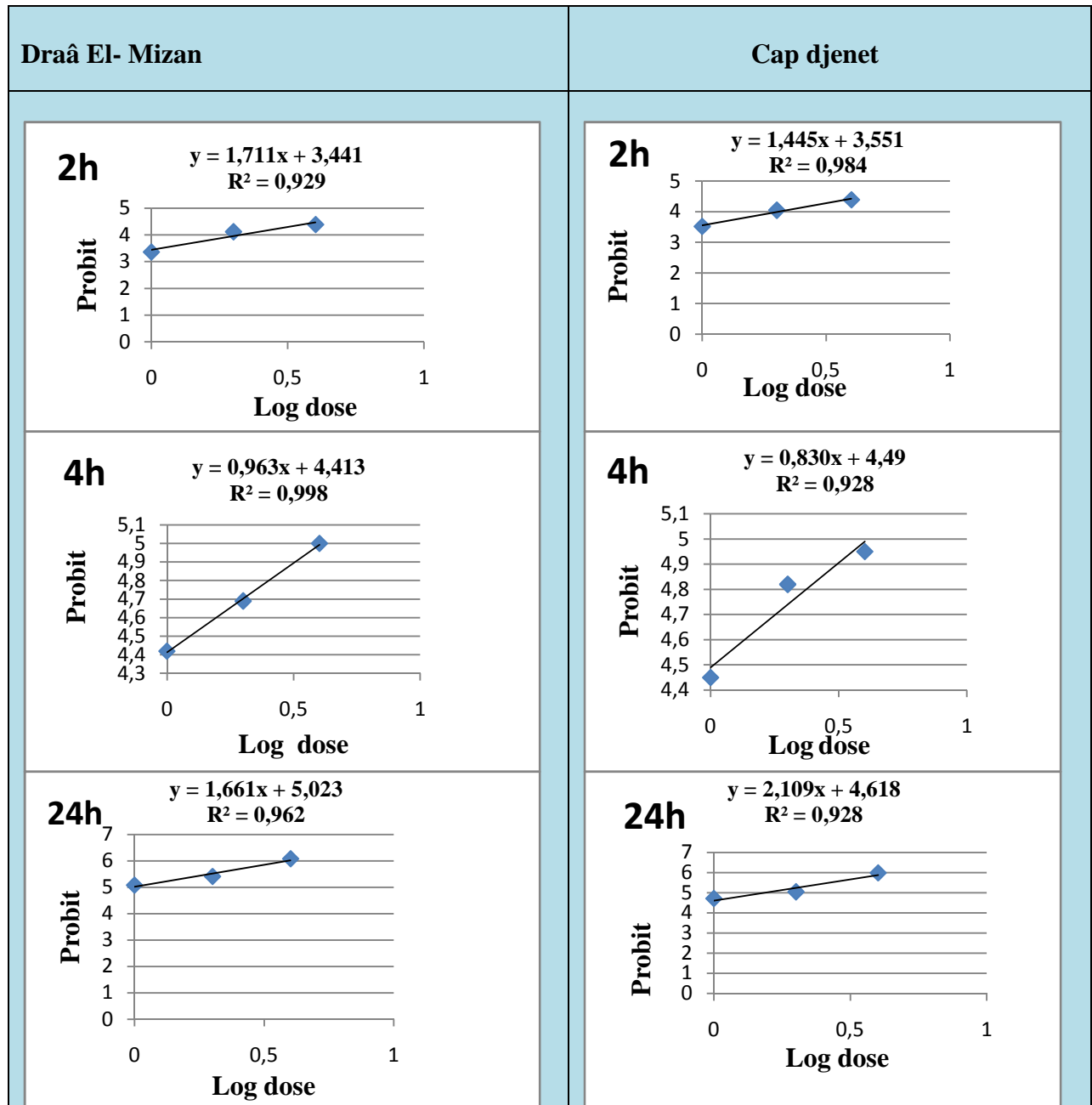
Figure33:pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I. viscosa*de la région de Cap Djenet.

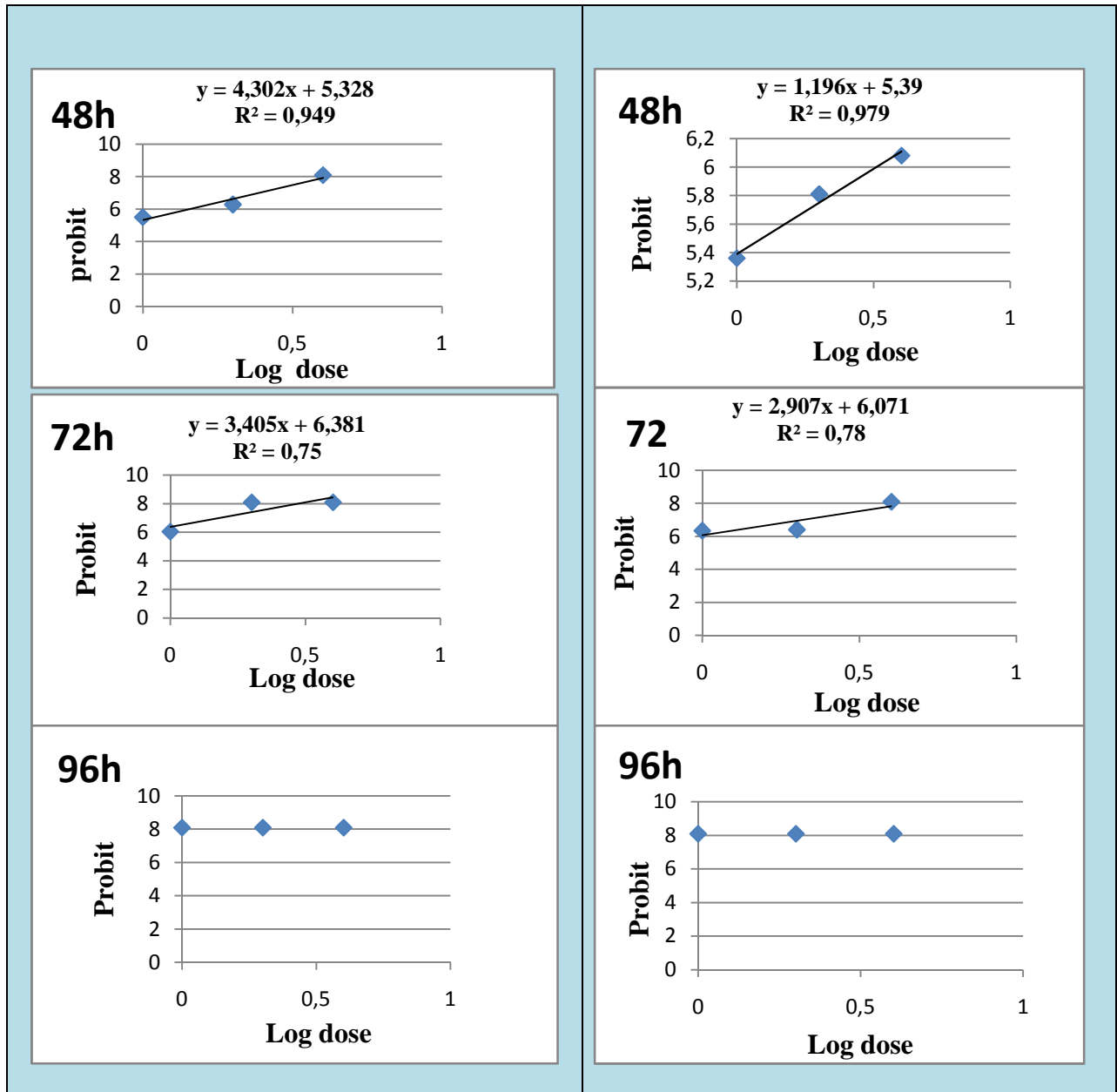
➤ **Evaluation de la dose létale 50 :**

Les doses létales 50 de différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa* dans les deux régions (Draâ El Mizan, Capdjenet) testées sur les pucerons ont été calculées à partir des droites de régression : Probits en fonction du logarithme des doses de traitement.

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 11.

Tableau11 :droites de régression :probit =f log(dose) des pucerons noirs de la fève traités par l'extrait éthanolique brut de l'*Inulaviscosas* selon le temps d'observation.





A partir des équations de chaque graphe, on a calculé les valeurs de la DL50, ces dernières sont représentées dans le tableau 12.

Tableau12: Valeurs des doses létales pour 50% (DL50) de la population des pucerons induits par l'extrait éthanolique brut de l'*inulaviscosadans* deux régions :

Région	Draâ- El mizan		Cap Djenet	
Temps	Equation	DL50 mg/ml	Equation	DL50 mg/ml
2h	$y = 1,711x + 3,4417$	8,15	$y = 1,4452x + 3,5517$	10,04
4h	$y = 0,9635x + 4,4133$	4,069	$y = 0,8306x + 4,49$	4,115
24h	$y = 1,6611x + 5,0233$	0,968	$y = 2,1096x + 4,6183$	1,517
48h	$y = 4,3023x + 5,3283$	0,838	$y = 1,196x + 5,39$	0,471
72h	$y = 3,4053x + 6,3817$	0,393	$y = 2,907x + 6,0717$	0,428
96h	-	-	-	-

D'après les tableaux 18 et 19, on remarque que la dose létale 50 pour le temps d'observation le plus court après 2h est $DL_{50} = 8.15\text{mg/ml}$ (D.M), et $DL_{50} = 10.04\text{mg/ml}$ (C.Dj), la dose létale la plus faible est obtenue après 72h et elle est 0.393 mg/ml pour D.M et dans C.Dj est 0.425mg/ml .

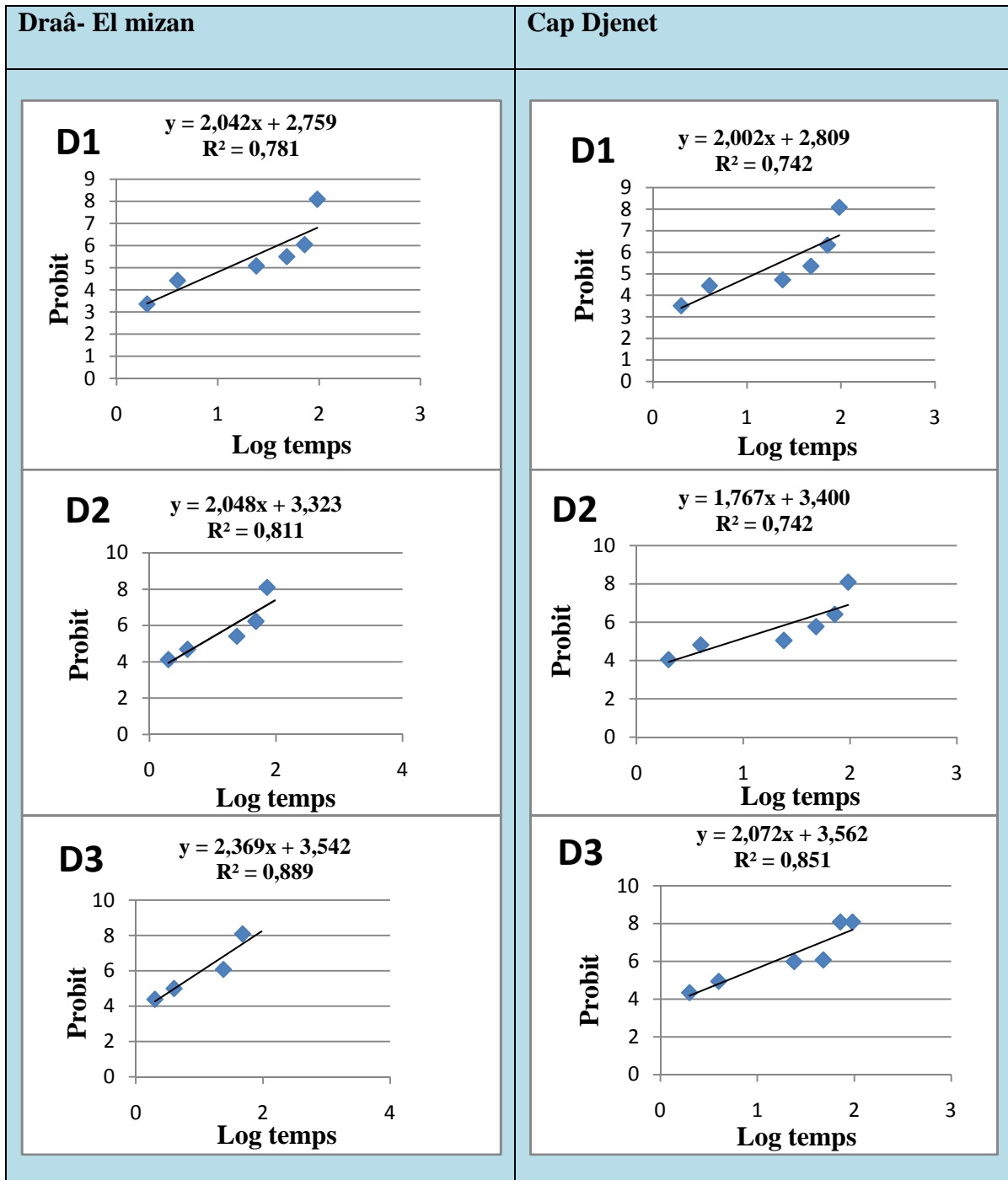
On remarque que la dose létale DL_{50} est proportionnelle au temps, la dose la plus importante est obtenues après des temps de traitement courts, tandis que les DL_{50} les plus faibles sont obtenues avec les temps d'observation les plus longs.

➤ **Evaluation du temps létale 50 :**

La détermination du temps létales 50 des différents temps de l'extrait éthanolique brut d'*Inulaviscosa* dans les deux régions (Draâ El Mizan ,CapDjenet) testés sur les pucerons ont été calculés à partir des droites de régression : Probité en fonction du logarithme des temps de traitement.

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau13.

Tableau13: droites de régression :probit =f log(temps) des pucerons noirs de la fève traités par l'extrait éthanolique brut de l'*Inulaviscosa* aux différents temps d'observation.



A partir des équations de chaque graphe, on a calculé les valeurs de la TL50, ces dernières sont représentées dans le tableau14.

Tableau14: Valeurs des temps létales pour 50% (TL50) de la population des pucerons induits par l'extrait éthanolique brut de *Inulaviscosa*.

Région	Draâ- El mizan		Cap Djenet	
Doses	Equation	TL50 (h)	Equation	TL50(h)
1mg/ml	$y = 2.042x+2.759$	12.502	$y = 2.002x+2.809$	12.428
2mg/ml	$y = 2.048x+3.323$	6.589	$y = 1.767x+3.400$	8.044
4mg/ml	$y = 2.369x+3.542$	4.125	$y = 2.072x+3.562$	4.921

D'après les tableaux 13 et 14, les résultats obtenus montrent que : le temps léthal 50 obtenu dans D.M et C.D est relativement similaire 12.5h et 12.42h respectivement pour la dose la plus faible D1. Le TL50 est long. Par contre le temps léthal le plus court est noté à D.M et à C.D à 4.12h et 4.912 h respectivement, il est obtenu avec la D3.

- **Résultats des analyses statistiques :**

Les résultats de l'analyse de la variance appliquée pour les trois doses utilisées sont mentionnés dans les tableaux et les figures suivantes :

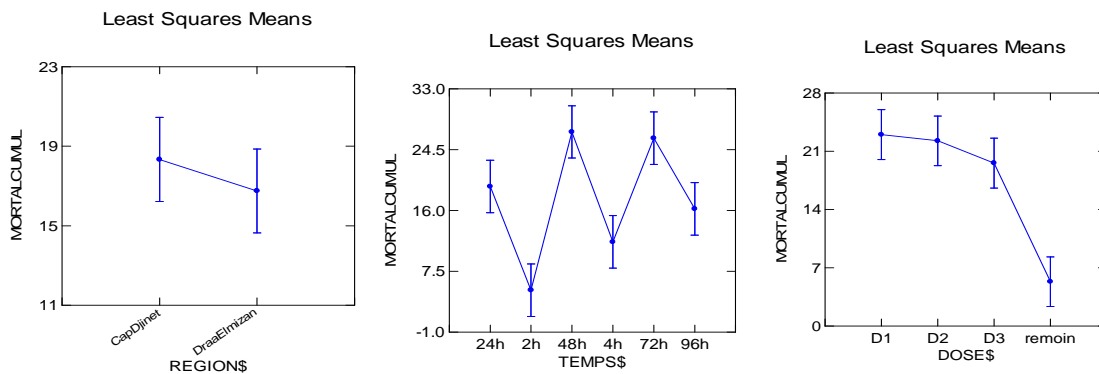


Figure34. Variabilité temporelle des populations résiduelles après application de l'extrait éthanolique brut d'*Inula .viscosa* entre les pourcentages mortalités cumulées.

Tableau 15 : Analyse statistique de variance ente les pourcentages mortalités cumulées des pucerons en fonction des doses, du temps et des régions.

Analyse de variance					
	Somme des carres	ddl	Moyennes des écarts	F-ratio	P
Région	30.083	1	30.083	0.280	0.600
Temps	2908.917	5	581.783	5.417	0.001
Doses	2462.083	3	820.694	7.642	0.000
Erreur	4080.833	38	107.390		

P : probabilité

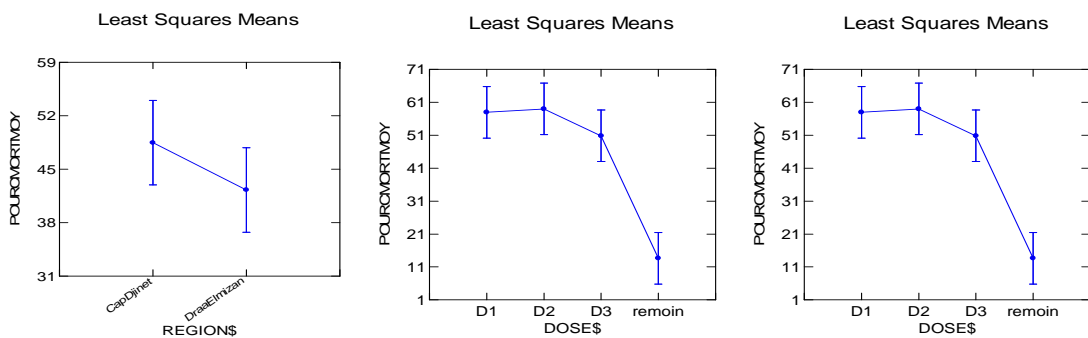


Figure 35. Variabilité temporelle des populations résiduelles après application de l'extrait éthanologique brut d'*Inulaviscosa* entre les pourcentages de mortalités moyennes.

Tableau16 : Analyse statistique de variance entre les pourcentages mortalités moyenne des pucerons en fonction des doses, du temps et des régions.

Analyse de variance					
	Somme des carres	ddl	Moyennes des écarts	F-ratio	P
Région	456.333	1	456.33	0.621	0.436
Temps	18288.750	5	3657.750	4.974	0.001
Doses	16562.917	3	5520.972	7.642	0.000
Erreur	27943.250	38	735.349		

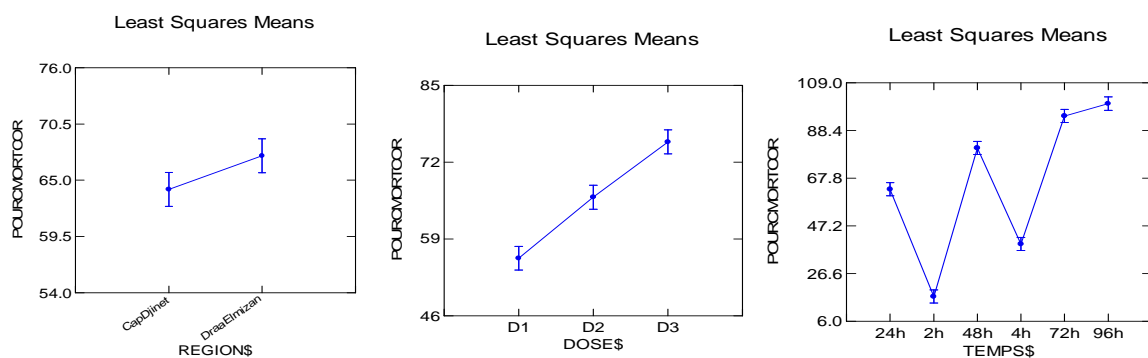


Figure 36. Variabilité temporelle des populations résiduelles après application de l'extrait éthanologique brut d'I.V entre les pourcentages mortalités corrigées.

Tableau17 : Analyse statistique de variance ente les pourcentages mortalités corrigée des pucerons en fonction des doses , du temps et des régions.

Analyse de variance					
	Somme des carres	ddl	Moyennes des écarts	F-ratio	P
Région	96.694	1	96.694	1.961	0.173
Temps	32107.917	5	6421.583	130.219	0.001
Doses	2322.667	3	1161.333	23.550	0.000
Erreur	1331.472	38	49.314		

Les résultats de l'effet de l'extrait brut de *Inulaviscosa* (L) sur les puceron de *Aphisfabae* L. ont révélé après analyse de la variance (analyse statistique) quela différence des mortalités cumulées est très significative selon le temps et hautement significative selon la dose par contre la différence entre les pourcentages de mortalité moyenne est très significative selon la durée de traitement et très significative selon la dose utilisée.Le facteur région n'a aucun effet significatif, il semble que la dose D2 a un meilleur effet après 48h de traitement,

Ensuite, la différence entre le pourcentage de mortalité corrigée est hautement significative selon la durée de traitement et la dose utilisée, et non significative selon la région.La dose D3 est celle quia un effet hautement significatif surtout après 72h et 96h,

En se référantaux travaux Ris et al (2014) et Françoiswarlop (2006), *Inulaviscosa* pourrait être un insecticide végétal. Qui combat la mouche de l'olive (*Bactroceraoleae*).



Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Le présent travail porte sur l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation des activités antimicrobienne et insecticide des composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique brut des feuilles de l'inule visqueuse *Inula viscosa* L. dans deux régions de collecte : Draa El Mizan (Tizi Ouzou) et Cap Djenet (Boumerdes).

Les résultats du taux de rendement de la matériel sec montre des valeurs proches ; elles sont de 35% , 34.55% pour les deux régions.

L'étude phytochimique de la poudre d'*Inulaviscosa* a mis en évidence les mêmes composition chimiques pour les deux régions de collecte. En effet, elle est très riche en flavonoïdes, en Alcaloïdes, en Tannin totaux et en Saponosides. Cependant les coumarines sont importantes à Draâ El Mizan et faibles à Cap Djenet.

L'étude de l'activité antimicrobienne est réalisée par la méthode de diffusion des disques pour l'extrait éthanolique brut des feuilles d'*Inula viscosa* dans les deux régions de récolte. Les résultats montrent qu'il ya une activité uniquement sur les bactéries Gram+ *Staphylococcus aureus* ($d=26.33\text{mm}\pm 2.886$ et $d=17.33\text{mm}\pm 1.538$), et sur les champignons *Aspergillus niger* ($d=36.67\text{mm}\pm 3.843$, $d=34\text{mm}\pm 1.73$) et *Aspergillus* sp. ($d=16.33\text{mm}\pm 1.538$ et $d=12\text{mm}\pm 1.15$).

Cet extrait brut n'a aucun effet sur *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Donc ces deux souches sont résistantes.

Pour ce qui concerne l'activité insecticide, l'extrait éthanolique brut d' *Inula viscosa* a présenté des propriétés insecticides importantes sur le puceron *Aphis fabae*. Les DL_{50} calculées ont mis en évidence un fort pouvoir insecticide pour la plante récoltée à Draâ El Mizan qu'au niveau de Cap Djenet. Cette variable diminue au cours du temps. Aussi, les TL_{50} sont atteints très tôt avec les fortes doses.

Cependant, ce travail reste préliminaire. Il serait beaucoup plus intéressant de compléter ce travail par une étude toxicologique vis-à-vis de l'insecte *Aphis fabae*

L'*inula viscosa* pourrait être donc une source d'insecticide naturelle importante de remplacer les composés chimiques qui ont contribué en partie à la pollution de la biosphère.

Conclusion générale

En perspective, il est souhaitable de :

- Analyser la toxicité des substances bioactives sur des animaux afin de déterminer la dose létale (DL_{50})
- Caractériser des constituants de cette plante par des méthodes analytiques plus performantes comme HPLC, GC-SM et le RMN.
- Tester les autres méthodes d'extraction et évaluer le rendement des substances obtenues
- Déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'extrait sur une large gamme d'agents pathogènes (virus, parasites, bactéries et champignons).



Annexe

Annexe 1 : Réactifs et appareillages

Appareillages et équipements	Verrières et accessoires	Réactifs	Milieux de culture
Broyeur électrique Agitateur Etuve Plaque chauffante Spectrophotomètre Balance analytique Rota-vapeur Bec-benzène Réfrigérateur Autoclave Vortex Barreaux magnétiques Anse de platine Bain-marie pH-mètre	Bécher Eprouvettes Tubes à essai Papier aluminium Entonnoirs Micropipette Gant Boîtes de Pétri Erlenmeyers Ballon Pipettes Pasteur Picette portoirs Spatule Para- film Papiers filters Flacons Disques de papier wattmen Pince Pipette graduée	Chloroforme Eau distillée FeCl₃ à 5% Formol à 40% HCL Acétate de plomb Ether chloroforme 3/1 Alcool chlorhydrique Réactif Dragendroff KOH 10% Iode Coupeaux de magnésium Alcool isoamylyque Ethanol absolu H₂SO₄ Ammoniaque 1/2 Propanol Acétate de sodium	Bouillon nutritive Gélose nutritive Sabouraud Mueller Hinton Eau physiologique

Annexe 2 : Préparations des solutions et composition de milieux de culture

A. Les milieux de culture

➤ Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) : (Jonsthon et Booth, 1983)

Pomme de terre200g

Dextrose.....20g

Agar15g

Eau distillée.....1000ml

pH= 7.2 avec autoclavage à 120°C pendant 20 minutes

➤ Bouillon nutritif liquide

Extrait de viande.....2g

Peptone.....15g

Nacl.....5g

Eau distillée.....1000ml

PH=7.2 avec autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

➤ Milieu Mueller-Hinton gélosé (MH) g/l

Peptone de viande8,6g/l

Chlorure de sodium.....5g/l

Infusât de viande.....5,1g/l

Hydrolysât de caséine17, 5 g/l

Amidon.....1,5g/l

Agar-Agar.....12, 5g/l

➤ **Milieu Sabouraud gélosé (SAB) g/l**

Peptone de viande5g/l

Peptone de caséine.....5g/l

Glucose.....20g/l

Agar-Agar.....17g/

B. Préparations des solutions : (Annexe 3)

➤ **Préparation du réactif de DragenDorff :**

- Solution (a) : on fait dissoudre 0,85g de nitrate de bismuth dans 40ml d'eau distillée et on y ajoute 10ml d'acide acétique.
- Solution (b) : on dissout 20g d'iodure de potassium dans 50ml d'eau distillée.
On mélange les deux solutions (a) et (b) (coloration orange) puis on prélève 10ml du mélange et on y ajoute 100ml d'eau distillée et 20ml d'acide acétique = solution orange.

➤ **Préparation du réactif de Stiasny :**

Mélanger 10ml de formaldéhyde à 40% avec 5ml d'HCl concentré.

➤ **Eau physiologique (0,9%) :**

Solution contenant 9 g de chlorure de sodium par 1000 ml d'eau distillée. C'est une solution isotonique, qui permet de préserver le volume cellulaire.

➤ **Ammoniaque ½ :**

Ammoniaque..... 30 ml

L'eau distillée..... 60 ml

➤ **KOH 10% :**

KOH..... 10 g

L'eau distillée.....100 ml

Annexe 3. Classification et description des microorganismes étudiés

Souches	Classification	Description
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> 	<p>Domine :<i>Bacteria</i> Division : Firmicutes Ordre : <i>bacillales</i> Famille : <i>Staphylococcaceae</i> Genre : <i>Staphylococcus</i> Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i>(gram +) est le pathogène le plus fréquemment rencontré chez l'homme au niveau du rhinopharynx. C'est une cocci caractérisée par une catalase positive, une coagulase positive et une capacité de dégrader le mannitol sur la gélose Chapman (Prescott et Harley, 2003).</p>
<p><i>Escherichia coli</i></p> 	<p>Domaine: <i>bacteria.</i> Embranchement :<i>proteobactéria.</i> Classe : <i>Gamma proteobacteria.</i> Ordre :<i>Enterobacteriales.</i> Famille :<i>Enterobacteriaceae.</i> Genre :<i>Escherichia.</i> Espèce : <i>Escherichia coli.</i> (Lambin et German., 1990 ; Leminor et Veron, 1984).</p>	<p><i>E.coli</i>(gram-), également appelé colibacille ou <i>E.coli</i> est une bactérie intestinale des mammifères ,très commune chez l'être humain .C'est un coliforme fécal généralement commensal .Cependant , certaines souches d'<i>E.coli</i> peuvent être pathogènes entrainant alors des gastro-entérites ,des infections urinaires ,des méningites ,ou des septicémies (Nataro et Kaper , 1998)</p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Domine :<i>Bacteria</i> Division :<i>Proteobacteria</i>Classe :<i>Gammaproteobacteria</i> Ordre : <i>Pseudomonadales</i> Famille : <i>Pseudomonadaceae</i></p>	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i>(gram -)est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C</p>



Genre : *Pseudomonas*
Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*
(Schroeter, 1872) Migula, 1900

.Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier il est à l'origine de surinfections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale, et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales. De même qu'il est phytopathogène avec beaucoup d'autres espèces du même genre (**Leclerc et al., 1995**).

Aspergillus sp



Domine : *Fungi*
Division : *Ascomycota*
Classe : *Eurotiomycetes*
Ordre : *Eurotiales*
Famille : *Tricomaceae*
Genre : *Aspergillus*
Espèce : *Aspergillus sp*
(P.MichelietLink ,1809)

Les *Aspergillus* ont une répartition mondiale. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. Ils sont présents dans l'environnement humain, notamment dans les plantes, les fruits, la poussière, l'air. On trouve de 1 à 20 spores par mètre cube. Nous inhalons entre 10 à 30 spores par jour.

Aspergillusniger



Domine :*Fungi*
Division :*Eumycota*
Classe : *Deutéromycètes*
Ordre :*Moniliales*
Famille :*Moniliaceae*
Genre : *Aspergillus*
Espèce :*Aspergillusniger*

*Aspergillusniger*est un genre fongique asexué ,décrit pour la première fois en 1729 par Michelli (mycologue florentin) et qui consiste à plus de 180 espèces officiellement reconnues réparties en 18 groupes ,*A.Niger* et le plus connu du genre *Aspergillusgranuleuse*, blanche au début, puis jaunâtre et à maturité elle devient noire ,*A.Niger*est l'un des champignons les plus communs dans l'environnement humain ,qui vit en saprobiose (Tabuc ,2007).

Annexe 4 : Tableau de probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,5	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,9	4,92	4,95	4,97
50	5	5,03	5,05	5,08	5,1	5,13	5,15	5,18	5,2	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,5
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,75	7,75	7,88	8,09

Annexe 5 :Résultats de l'activité insecticide.

Tableau 1 : les mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosade* la région de Draâ El Mizan .

Doses	D1 : 1mg/ml			D2 : 2mg/ml			D3 : 4mg/ml			Témoin		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2 h	02	02	02	08	08	07	11	10	11	00	00	00
4h	13	10	11	16	15	15	20	19	21	00	00	00
24h	24	23	21	26	30	27	33	35	37	02	05	03
48h	30	29	31	35	37	38	40	40	40	08	07	07
72h	36	34	37	40	40	40	-	-	-	10	10	11
96h	40	40	40	-	-	-	-	-	-	13	12	13

Tableau 2 : les mortalités cumulées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosaen* région de Cap Djenet.

Doses	D1 : 1mg/ml			D2 : 2mg/ml			D3 : 4mg/ml			Témoin		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2 h	03	02	04	07	08	06	11	10	11	00	00	00
4h	12	12	11	18	17	17	20	19	19	00	00	00
24h	17	17	19	26	21	20	28	25	26	02	05	03
48h	28	29	28	30	35	34	35	34	37	08	07	07
72h	36	39	37	36	37	40	40	40	40	10	10	11
96h	40	40	40	40	40	-	-	-	-	13	12	13

Tableau 3 : pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I .viscosade* la région de Draâ El Mizan.

Doses	D1 : 1mg/ml			D2 : 2mg/ml			D3 : 4mg/ml			Témoin		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2 h	5	5	5	20	20	17.5	27.5	25	27.5	00	00	00

4h	32	25	27.5	40	37.5	37.5	50	47.5	52.5	00	00	00
24h	60	57.5	52.5	65	75	67.5	82.5	87.5	92.5	5	12.5	7.5
48h	75	72.5	77.5	87.5	92.5	95	100	100	100	20	17.5	17.5
72h	90	85	92.5	100	100	100	-	-	-	25	25	27.5
96h	100	100	100	-	-	-	-	-	-	32.5	30	32.5

Tableau 4 : pourcentage de mortalités cumulées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosade* la région de CapDjenet

Doses	D1 : 1mg/ml			D2 : 2mg/ml			D3 : 4mg/ml			Témoin		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2 h	7.5	5	10	17.5	20	15	27.5	25	27.5	00	00	00
4h	30	30	27.5	45	42.5	42.5	50	47.5	47.5	00	00	00
24h	42.5	42.5	47.5	65	52.5	50	70	62.5	65	5	12.5	7.5
48h	70	72.5	70	75	87.5	85	87.5	85	92.5	20	17.5	17.5
72h	90	97.5	92.5	90	92.5	100	100	100	100	25	25	27.5
96h	100	100	100	100	100	-	-	-	-	32.5	30	32.5

Tableau 5 : pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I.viscosade* la région de Draâ El Mizan

Doses	D1 : 1mg/ml			D2 : 2mg/ml			D3 : 4mg/ml			Témoin		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2 h	5%			19.16%			26.67%			0		
4h	28.16%			38.33%			50%			0		
24h	56.66%			69.16%			87.5%			8.33%		
48h	75%			91.66%			100%			18.33%		
72h	89.16%			100%						25.83%		
96h	100%									31.67%		

Tableau 6 : pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I viscosade* la région de Cap Djenet

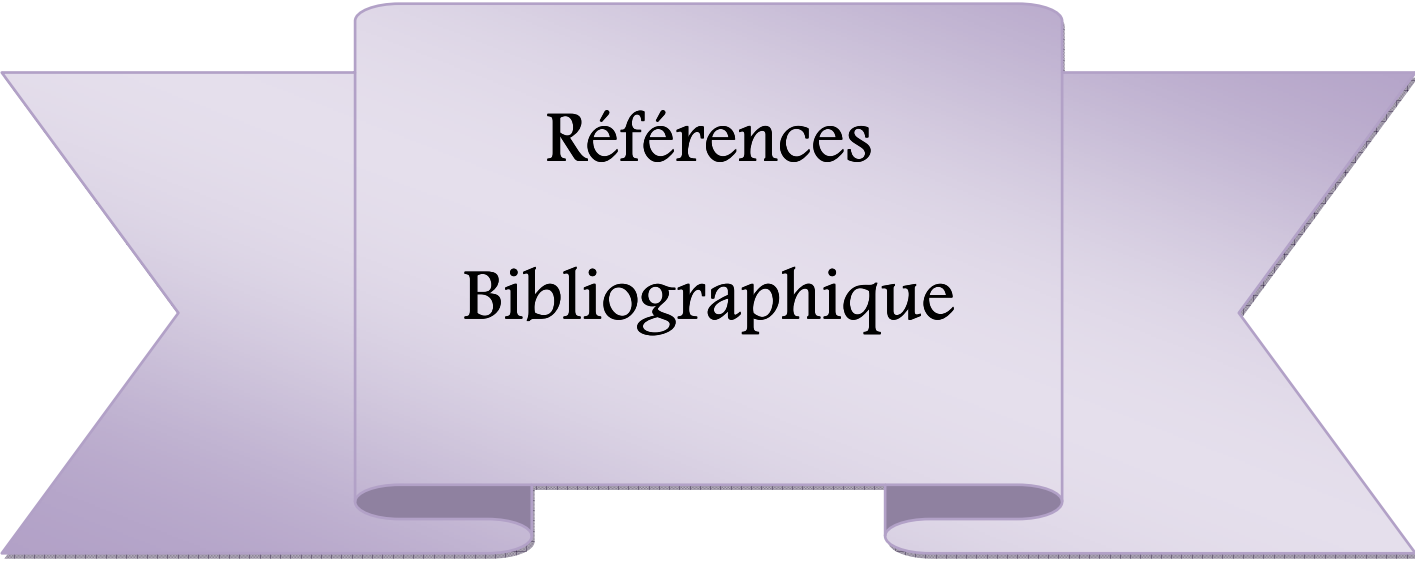
Doses Temps	D1 : 1mg/ml			D2 : 2mg/ml			D3 : 4mg/ml			Témoin		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2 h	7.5%			17.5%			26.67%			0		
4h	29.17%			43.33%			48.33%			0		
24h	44.16%			55.83%			85.83%			8.33%		
48h	70.83%			82.5%			88.33%			18.33%		
72h	93.33%			94.16%			100%			25.83%		
96h	100%			100%						31.67%		

Tableau 7: pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I. viscosa* de la région de Draâ El Mizan.

Doses Temps	D1 : 1mg/ml	D2 : 2mg/ml	D : 4mg/ml
2h	5%	19.16%	26.67%
4h	28.16%	38.33%	50%
24h	52.72%	66.35%	86.36%
48h	69.38%	89.78%	100%
72h	85.38%	100%	
96h	100%		

Tableau 8 : pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction de temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut d'*I. viscosa* de la région de Cap Djenet.

Doses Temps	D1 : 1mg/ml	D2 : 2mg/ml	D : 4mg/ml
2h	7.5%	17.5%	26.67%
4h	29.17	43.33%	48.33%
24h	39.08%	51.82%	84.54%
48h	64.28%	78.57%	85.71%
72h	91%	92.13%	100%
96h	100%	100%	-



Références
Bibliographique

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **Abad, M.J., J.A. Geurra, P. Bermejo, A. Iruruzum and L. Carrasco,(2000).** Search for antiviral activity in higher plant extracts. *Phytother. Res.*, 14: 604–607
Abraham.
- **Abbot W.S. , 1925.** A methode of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Enyology*, 18,265-267.
- **Abayomi S.,(2010).**planetsmédicinalesettraditionnelled’Afrique. Académie Suisse Naturelle.Karthala, Canada, 378p.
- **Al-Dissi, N.M.; Salhab, kS.; A1-Hajj, HA (2001).** Effect of Inula viscosa le afextracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacologj'* 117-121.
- **Allal-benfekifi.I ,Bellatreche M ,. Bounaceur F, Tail G.,Mostefaoui H. première (2011)** approche de l'utilisation d'extraits aqueux d'inula viscosa,salvia officinalis et *urticaurens* contre les stades endophytes de *tuta absoluta* (lepidoptera, gelechiidae) ravageur invasif de la tomate en Algérie. 9^{ème} conférence internationale sur les ravageurs en agriculture Montpellier PP 681-689 .
- **Al-Yahya, M.A., Muhammad, I., Mirza, H.H., El-Feraly, S.F., 1998.** Antibacterial constituents from the rhizomes of *Ferula communis*.*Phytother. Res.* 12, 335–339.
- **Athamena .I.S.,chalgheman A., Kassah L.S.,Laroui S.et khebri S.,2010-**Activite antioxydant et antimicrobienne d'extrait de *cuminum cyminium* L.Libanaise science .*Journal* .,472-478.
- **Audigie C-L ., Figarella J ., Zonszain F, 1978-**Manipulation biochimique. Doin (Ed).Paris, 274p.
- **Ayad, R. (2008)-**recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. pp 35-39, 40, 47.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

B

- **Baba Aissa .F.2000.**Encyclopédie des plantes utiles .Flore d'Algérie et de Magherb .Librairiemoderne Bouiba.252-253
- **Badiaga, M. (2011)**-Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.p10.
- **Bachir R.G ., Nour H (2015)** Antibactérien and Antioxydant Activities of Essential Oil of *Inula viscosa L.* from North West of Alger. Département of Biology, University of Mascara, Algeria.
- **Bakkara F.A Benhammou N et panoskaTk (2008)** .biologicalactivitis of the essential oil and ethanolicextract of inula viscose form the Tlemcen region of Algeriaadvances in food sciences ;30 ;3(132-139)
- **Balachowsky A et Mesnil L , (1935)**-les insectes nuisibles aux plantes cultivées, leurs ,mœurs, leur destruction.Ed.EtablissemeneyeBusson,Paris,TIII,Vol.III,pp 1141-1921.
- **Baytop.T,(1984).**TherapywithMedicinal Plants in Turkey.SanalPress,Istambul. P: 167.
- **Belbache, H. (2003)**-Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *CentaureaParvifloraDesf*, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine. pp16-20.
- **Ben abedelkrim A.,(2009)** Effet des extraits aqueux des grains de *peganunharmala l* .(zygophllaceae)sur les larves de 5eme stade de *locustamigratoriacinerascens* (orthoptera :oedipodinae) . Mémoire ingénieur agronomique .Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach-Alger, P1-59.
- **Benhammou N et AtikBekkara F. (2005)** -Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inulaviscosa*, Laboratoire de produits naturels, Département de Biologie, Université Abou BekrBelkaid BP 19, Imama Tlemcen.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Benhammou N. (2006)** Etude des activités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles et des composés phénoliques de *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica* et *Inula viscosa* de la région de Tlemcen. Magister en biologie, université Aboubekr Belkaid, Faculté des sciences, Département de Biologie, pp. 1-145.
- **Bensegueni-Tounsi L. (2001)** - Etude *in vitro* de l'effet antibactérien et antiparasitaire de : *Inula viscosa*-*Lawsonia inermis*- *Asphodelus microcarpus*- *Aloe vera*-*Juniperus oxydrus*, Thèse de Magistère en médecine vétérinaire. Option Biologie Animale, Département de vétérinaire, Faculté des sciences, Université de Constantine.
- **Benyahia ; A (2014)** Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales *Inula viscosa* et *Inula montana*. Master en chimie ; Molécule Bioactive synthèses et application Tlemcen ; Université Aboubakr Belkaid 2014, 53p.
- **Bernardet M., 1983** - La phyto-aromathérapie pratique. 2^{ème} Ed, Dangles, France, 367P.
- **Besombes C., (2008)**. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.
- **Brunet S. (2008)**- Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants. En vue de l'obtention du Doctorat, spécialité : Pathologie et Nutrition. Université De Toulouse. p246.
- **Bruneton J. (1999)**- Pharmacognosie, Photochimie -Plantes médicinales. 3^{ème} éd, Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp 484-540, 555-558.
- **Bssaibis F., Gmira N., Meziane., (2009)**- Activité antibactérienne de *Ditrichia viscosa* (L.) W Greuter. Rev. Microbial. Ind. San et Environn. Vol3, N° 1, pp.44-45.
- **Bouakaz, I., (2006)**- Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- **Bouchelta A., Boughdad A. & Blenzar A. 2005** - Effets biocides des alcaloïdes ; des saponosides, et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 259.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Boudjemaa S., 1999** Contribution à étude de l'influence des extraits foliaires de melia azedaratch et eucalyptus globulus sur le comportement de ponte de phthorimaeaaperculellazeller (lepidoptera :gelechiidae) dans les stocks.Mémoire ingénieur agronomique .Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,El Harrach-Alger ,P1-54.
- **Boumaza D.(2011)** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inulaviscosa*, *Rosmarinusofficinalis*de la région d'Oran. mémoire de Magister en Chimie Organique ,Université d'Oran ,Faculté des sciences. Département de chimie , PP.1-78.
- **Bunyaphatsara N., Soejarto D D., Fong H H S.,(2005)-** Bioactive constituents from roots of *Burseratonkinensis*. *Phytochemistry*, vol.66:pp 2745 - 2751.

C

- **Catier O et Roux D. (2008)-** Cahier du préparateur en pharmacie Botanique pharmacognosie et phytothérapie. pp 74.
- **Catherine REEB (2010), Plantes mellifères : L'Inule visqueuse**, Abeilles & Fleurs, n° 720 - p. 19–20.
- **Cavallo j D.,Chardon H., Chidias H .,choutet P., Courvalinp ., 2006-**Communiqué de la comité Française de l'Antibiogramme . Société Française de Microbiologie .2eme Ed .65-145.
- **Celik TA et Aslanturk OS(2010)** Evaluation of cytotoxicity and Genotoxicity of *Inulviscosa* Leaf Extracts with Allium Test .*Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010(1-8).
- **Chabou A., 2000.** Contribution à l'étude de l'influence des extraits de fruits et de feuilles de *Melia azedartch* sur le comportement de ponte et des chenilles de *phthorimaeaaperculella* (zeller) (lepidoptera :gelechiidae) dans les stocks.Mémoire ingénieur agronomique .Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,El Harrach-Alger ,P1-50.
- **Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K., & El Hassouni, M. (2015).**Antioxidantactivities and total phenol content of *Inulaviscosa*aextractsselectedfromthreeregions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3), 228-233.
- **Ciccarelli D.,Garbari F ., Pagni A.M.,(2007)** Glandular hairs of theovary , a helpful character for *Asteroideae* (*Asteraceae*) taxonomy *Ann . Bot .Fennici* 44:1-7.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Chon, S.U., H.G. Jang, D.K. Kim, Y.M. Kim, H.O. Boo and Y.J. Kim,2005.** Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa*L.) plants. *Sci.Hortic.*, 106: 309–317.

D

- **Davidson et Branen ,2005 :Davidson P.M., Branen,A.L.,(2005),**Food antimicrobiene in Introduction ,in :Davidson ,P.M., sofos ,J.N. ,(Eds) Antimicrobiene in food CRC Press .Boca Raton ,pp.1-10
- **Debuigne G., (1974).** Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse.
- **Decaux I. (2002)** Phytothérapie: mode d'emploi. Ed Le Bien Public : p 6-7.
- **Dedryver CA(2007)** .Puceron :des dégâts et des hommes .Biofutur.279 :22-25.
- **Delporte. G., Mascolo. N., Izzo. A. A., et al.,(1999)-** Life. Scien.,vol 65, pp337-53.
- **DjediouiA ,2010.**Evaluation de l'avtivité hypoglicéminante de l'extrait awueux d'inula viscosa : une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit.Mémoire du magistère.Université Badji Mokhtar-Annaba.111p.
- **Dondorp, A., F. Nosten, P. Yi, D. Das, A. PhaePhyo, J. Tarning, K. Lwin, F. Ariey, W. Hanpithakpong, W. Lee, P. Ringwald, K. Silamut, M. Imwong, K. Chotivanich, P. Lim, T. Herdman, S. Sam An, S. Yeung, P. Singhasivanon,N. Day, N. DedryverC ,A. ,(1982).**Qu'est-ce qu'un pucerons journée ACTA,pp9-20.
- **Dupont, F., Guignard, J.L. (2007).** Abrèges botanique systématique moléculaire. 14ème édition révisée, Masson.

E

- **Emmanuelle V. (2011)** -Etude d'une famille de diterpènes d'origine naturelle Ayant une activité Anti-Inflammatoire. Thèse pour obtenir le grade de : Docteur de l'université d'Orléans. Discipline : Chimie Organique. *école doctorale sciences et technologies*. Institut de Chimie Organique et Analytique. Université d'Orléans
- **Ezeronye, O. U., Daba, A. S., Okwujiako, I. A., &Onumajuru, I. C. (2005).** Antibacterial effect of crude polysaccharide extracts from sclerotium and fruit body (sporophore) of *Pleurotus Tuber-regium* (Fried) Singer on some clinical isolates. *International Journal of molecular medicine and advance sciences*, 1(3), 202-205.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

F

- **Falleh H .,Ksouri R .,Krray.,Bouraoui N.,Trabelsi N., Boulaaba M.et Abdelly C., (2008).**Phenolic composition of cynara cardunculus L.orans ,and their biological activities. C.R.Biologies.333;372-379.
- **Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix JJ. (2005)-** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes.pp 121-216
- **Fournier P. (1947) -**Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed. LE chevalier. Tome 1, pp. 176-178.
- **François W. (2006)** Limitation des populations de ravageurs de l'olivier par le recours à la lutte biologique par conservationCahiers Agricultures vol. 15, n° 5.

G

- **Grasse p. p., (1951).**Traité de zoologie. Antomiesestématique, biologie edMasson et cie,TX fasc,II,paris,1947p.
- **Ghestman C., Culea M., Cozar O. (2001)-** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS- Talanta; vol.53; pp. 253-262.
- **GuignardJ. (1996)-** L'Abrégé de biochimie végétale, 10ème édition, Ed. Masson, Paris, p160.
- **Guerrida S., (2010).**Evaluation de l'activité systémique de trois extraits végétaux et d'un insecticide sur puceron. Mémoire ingénieur agronomique .Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,El Harrach-Alger ,P1-65.
- **Giordanengo P, BrunissenL,RusterucciC,VincentC, Van Bel A, Dinant S ,GirousseC,FaucherM, Bonnemain J-L (2010)** Compatible plant –aphid interaction : how aphidsmanipulate plant responses .C.R. Biologies .333 :516-523.

H

- **Halimi A ,(1997).**Les plantes médicinales en Algérie. P .158-159.
- **Hamdi Pacha Y .,Bentghouala C .,Moulahoum T .,1997.**Essais d'activité antifongique et antibactérienne d'*inula viscosa L.*,p183-186.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Haoui IE Derriche R., MadaniLetOukaiZ.,(2015)**Analysis of the chemical composition of essential oil from Algeriam*Inulaviscosa* (L) AitonArabian Journal of chemistry.
- **Harborne J.B., (1998)** -Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis-Chapman & Hall Thomson Science (UK); 3ème ed.: 203-234.
- **Hartmann, T., (2007).** From waste products to Eco chemicals: Fifty years research of Plant secondary metabolism, Review. Photochemistry **68** 2831–2846.
- **Hullé M., Turpeau-Aitighil É., Robert Y. et Monnet Y., (1999).** Les pucerons des plantes maraîchères. Cycles biologiques et activités de vol. Ed. ACTA, INRA, Paris. 136p.

I

- **Inouye S. Rsuruoka T.Uchida K.Yamaguchi H.,(2001).**Effect of sealing and tween 80 on antifungal susceptibility testing of essential oils.Microbiol. Immunol.45.201-208.

J

- **Jiri P. (2003)** -Triterpènespentacycliques biologiquement actives et leur médecine actuelle. Université de Bohême du Sud, CeskéBudejovice, République Tchèque.
- **Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Jiri P. (2003)** –Triterpènespentacycliques biologiquement actives et leur médecine actuelle. Université de Bohême du Sud, CeskéBudejovice, République Tchèque.

K

- **Kaddouri M.A.,(1996).**invontsaire des déprédateurs de la fève, fluctuation des populations et lutte chimique contre le puceron noir (*Aphisfabae*) ,(homopteraaphididae Mémoire .ing .Agro .Inst.Nat.Agro ., El Harrach. P 69
- **Kansole M., (2009).** Etude Ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina-Faso : cas de leucasMartinicensis (Jacquin) R. Brown,

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

HoslundiaOppositaVahl et orthosiphon pallidus Royle ex Benth. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies.

- **Khalil E.A., Afifi F.U., Al-Hussaini M., (2007)** .Evaluation of the woundhealingeffect of someJordaniantraditionalmedicinal plants formulated in pluronic F127 usingmice (Mus musculus).Journal of Ethnopharmacology , Vol 129 : 104-112
- **Kheyar N., (2009)** .Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles d'*Inulaviscosa*L.,*Salviaofficinalis*L et *Laurusnobilis*L.ChimiqueMagister en Biologie Université A. Mira de Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie ,pp 1-100.
- **Kheyar N,Dahia M ,Belhamer K. ,(2014)** .Etude de l'activité des antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa* ,*Salviaofficinalis* et *Laurusnobilis* de la region de Bejaia .Algerian Journal of Natural Products 2 :1,2014, 18-26.
- **Krief, S. (2003)**-Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.

L

- **Lastra, C., Lopez, A., Motilva, V., (1983)**. Gastro protection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichiaviscosa*. Planta Med. 59, 497–501.
- **Latigui A.(1988)**.lutte biologique contre les pucerons.etude de l'efficacité d'*aphelinusabdominalis* palm contre macrosiphumeuphobiaethon.Thèse deua antibe ,30p.
- **Leclant F., (1999)**. Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification. I-Grandes cultures. Ed. ACTA, INRA. Paris. 64p.
- **Lee K.W ,Kim Y., Lee H.J et Lee C.Y ,(2003)**.Cocoa Has More PHENOLIC phytochemicals and aHigher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine.J .Agric. Food Chem.,51:7292-7295.
- **Lindegardh, D. Socheat and N. White.,(2009)**.Artemisiain resistance in Plasmodium falciparum malaria. New Engl. J. Med., 361: 455-467.
- **Lucchesi M. E., 2005**. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Lumbierres B., (2001)** -Aphids on ornamental shrubs and trees in anurban area of the Catalan coast: bases for an IPM programme. *Aphids in a new millennium. Proceeding of the Sixth International Symposium on Aphids, Rennes, France*, 359-364.

M

- **Malecky, M. (2005)**- Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. pp 9-27.
- **Manallah, A. (2012)**- Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea*L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, p 87.
- **Meena, M. R.,andV.Sethi ,(1994)**.Antimicrobial activity of esentieloilsfromspice.J Food sci.Technol.31:68-70
- **MernéandezRecioMC,Manez s .,Giner RM et Rios JL (2007)**.Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inulaviscosa* on inflammation and Enzymes Involved in the arachidonicacid metabolism life sciences ,81(480-488).
- **Mouffok. S.,(2011)** -Etude des métabolites secondaires de*Centeureapubescens*ssp. *Omphalotriche*(Asteraceae).mémoire de Magister en chimie organique, Université Hadj Lakhdar, Faculté des sciences. Département des sciences de la matière, Batna, pp. 1-141.
- **Mouhouche F.,Bezzaze G.,(2007)**- Activite biologique de quatre extraits vegetaux sur lecriquetpèlerin, *Schistocerc agregaria* (Forskal, 1775). Résumés de la 17 emeConference de('association Africaine des Entomologistes, Dakar, nov 2007, Editeurs Bal A. B. &An Den Berg J.

N

Nabors M. (2009) -Biologie végétale (structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies), pearson Education France, Paris.

- **Nicolas R, Michela Ion-S ,Al Khatib F ,. Jérôme L,. François W,. Alexandre B.(2014)**Biodiversités “utile” et “nuisible” dans les agrosystèmes importance pour la lutte biologique par conservationMémoires de la SEF, n° 9, : 35-43.

O

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Oka y. , Ben-Daniel BH et cohen Y(2006)** control of meloidogyne javanica by formulations of inulaviscosa Leaf Extracts la Mondia ; Journal of Nematology 38,1(46-51).
- **Oka, Y., Ben-Daniel, B. H., and Cohen, Y.,(2001)**. Nematicidal activity of powder and extracts of *Inulaviscosa*. Nematology 3:735-742.17. Perez-Alonso, M. J., Velesco-Negueruela, A., Duru, M. E., Harmandar.
- **Owen et al (1999)** Moreira MR.Ponce A.G. ,Del valle CE.,Roura S.I.,2005.of essential oils to reduce a foodborne pathogene .LWT38 :565-57
- **Oufroukh A.et Aggad ,(1996)**.Identification des viroes affectant la féve (*vicia faba*) en algérie, pp173-178.

P

- **Palomo N. (2011)** La gestion des plantes médicinales chez les communautés autochtones Nahuas de la Huasteca Potosina, Mexique. Université de Montréal Nadja Palomo Contreras.
- **Parolin P ;scotta M1et Bresch C(2014)**Biology of *Dittrichia viscosa* a Mediterranean, ruderal plant ;international Journal of experimental Botany ;83(251-261).
- **Puziah H et al.(2011)** –Composition triterpène et Bioactive de *Centrlla asiatica*, ISSN 1420- 3049.

Q

- **Quezel, P., Santa, S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.

R

- **Rabasse J.M.,(1985)**. Pucerons en cultures protégées les problèmes posés et les moyens de les contrôler en lutte intégrée. Def. Verger, 234, pp31-18.
- **Ramade F., 1992-** Précis d'écotoxicologie. Ed. Masson, Paris, 785 p.
- **Rameau J.C., Mansion D. ,& Gauberville c.,(2008)**. Flore forestière française guide écologique illustré , 3^{ème} édition ; Région Méditerranéenne 1521p.
- **Remili B.,2013**.Extraction flavonoïdes de la plante inula viscosa de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne Mémoire du magistère en chimie.Université d'Oran.77p.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- **Reta Sanchez DG, Santos Serrato Corona J, Viramontes RF, Cueto Wong JA, Padilla SB César JS (2008)** Cultivos alternativos con potencial de uso forrajero en la comarca lagunera, Primera, Mexico, pp, 41.
- **Ronzon B., (2006)**. Biodiversité et lutte biologique : Comprendre quelques fonctionnements écologie dans une parcelle cultivée, pour prévenir contre le puceron de la salade. Certificat d'Etude Supérieures en Agriculture Biologique, ENITA de Clermont Ferrand.

S

- **Saxena MC (1991)**. Status and scope for production of faba Bean in the méditerranéennes countries, Options Méditerranéennes N° 10 :15-20.
- **Smith-Palmer A., Stewart J., Feyel L., (2001)**. The potential application of plants essential oils as natural food preservative in soft cheese. Food Microbiology .18 :463-470.
- **Strang C, (2006)** Larousse médical. Ed Larousse.

T

- **Tail G., Doumandji-Mitiche B., (2006)** - Effet acridifuge des plantes *Melia azedarach*, *Nerium oleander* et *Inula viscosa* et de leurs extraits sur le comportement alimentaire du criquet pèlerin *Shistocerca gregaria*. Résumés de la VI^{ème} conférence internationale d'entomologie, 2-6 juillet 2006, p: 99.
- **Taupin P., (1985)** .les ravageur de la féverole. *Phytoma*, de f.cult PP43-45.
- **Trease G.E., Evans W.C., (1989)**-A text book of Pharmacognosy (13th edition) Bacillure Tinal Ltd, London.

U

- **Ulubelen A., Oksoz Set Goren N., (1987)**. sesquiterpeneacides from *Inula viscosa* photochemistry ;26 ;4(1223-1224).

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

V

- **Vernex-Lozet C. (2011)** Les possibilités de la phytothérapie en Geriatrie canine. Thèse de doctorat Université de Lyon.
- **Vilain Y., Iffat L., et Deogratias J.-M. (2014)**. Observation du patho système *pittosporum tobira/ aphisfabae* et choix de l'auxiliaire.

W

- **Waller, K.L., R.A. Muhle, L.M. Ursos, P. Horrocks, D. Verdier-Pinard, A.B.S. Sidhu, H. Fujioka, P.D. Roepe and D.A. Fidock, (2003)**. Chloroquine resistance modulated in vitro by expression levels of the Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter. J. Biol. Chem., 278(35): 33593-33601.
- **Wang, W. Q., Ben-Daniel, B. H., and Cohen, Y., (2004)**. Extracts of *Inula viscose* control downy mildew caused by *Plasmopara viticola* in grapevines. (Abstr.) Phytoparasitica 32:208.
- **Wenqiao Wang, B, H, Ben Daniel et Yigal Cohen (2004)**. Control of Plant Diseases by Extracts of *Inula viscosa*, Phytopathology, PP: 1042-1047.

Z

- **Zeggwagh N-A., M-L. Ouahidi, A. Lemhadri et M. Eddouks. J. Ethno. (2006)** Journal of Ethnopharmacologie .Vol.108. p223–227.

Site:

www.tela-botanica.org

www.inra.fr/opie -insectes/1921agri-pp.htm

www.inra.fr/opie -insectes

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES



Résumer

Résumé :

Dans le cadre de ce travail , nous avons étudié une plante médicinale *Inula viscosa* ,récoltée dans les régions Drâa El Mizan ,Cap djenet ,du nord d'Algérie ,notre travail a porté sur l'étude de deux activités essentielles de cette plante à partir de préparer l'extrait éthanolique brut et évalué leur :

Activité antimicrobienne sur trois souches bactériennes *Ecoli* , *Staphylococcus aureus* ,*Pseudomonas aeruginosa* et deux champignons *Aspergillus sp* , *Aspergillus Niger*,les résultats montre qu'il y a une zone d'inhibition au tour des disque ce qui explique la sensibilité des espèces testés de cette extrait brut .

Activité insecticide sur des puceron noire de la fève *Aphis fabae* ,à partir d'utilise différentes doses de l'extrait brut qui sont respectivement :1mg/ml,2mg/ml, et 4mg /ml. En fonction du temps 2h, 4h ,24h ,48h ,72h et 96h.Les résultats montrent l'efficacité et la toxicité de l'extrait brut sur les puceron dans deux régions .

Les différentes études ptychimiques sur divers plantes médicinales montrent que ces derniers procèdent divers activités biologique grâce de leurs métabolites secondaire comme :.les flavonoïdes, tanins, les alcaloïdesetc.

Mots clés : *Inula viscosa* ,*Aphis fabae* , extrait éthanolique brut ,activité antimicrobienne, activité insecticide .

Abstract :

As part of this work ,we studied the medicinal plant *Inula viscosa* collected on her from Draâ El Mizan ,Cap Djenet south of Algeria, our work concerned the study two essentials activities of this plant from preparing the ethanol crude extract,and evaluated them :

Activity antimicrobial on two stocks bacterial : *E.coli* , *Staphylococcus aureus* and a yeast the results shows that there is zone of inhibition to the turn of the discs what explains sensibility of the species tested of this rough extract .Insecticidal activity on the black bean aphid *Aphis fabae* , from used various amounts of the crude extract which is respectively :1mg/ml,2mg/ml,and 4mg /ml According to time : 2h, 4h ,24h, 48h, 72h, and 96h.The results show the effect and the toxicity of thorough extract on the plant .

The various phytochimic studies on medicinal herbs show that the latter precede various biological activity grace of their secondary metabolites like :polyphenols ,flavonoïds ,coumarins ,alkaloidsetc .

Keywords: *Inula viscosa* , *Aphis fabae*; the ethanol crude extract , antimicrobial activity , insecticidal activity.

المخلص:

في إطار هذا العمل تطرقنا لدراسة النبتة الطبية المكرومان التي جمعت من منطقتين مختلفتين الأولى ذراع الميزان، والثانية رأس جنات في الشمال الجزائري، حيث ركزنا اهتمامنا على دراسة نشاطين أساسيين للنبتة من خلال تحضير المستخلص الأثانولي الخام.

- النشاط المضاد للمكروبات المجرى على ثلاثة سلالات بكتيرية *E.coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* ،

بالإضافة إلى فطرين هما *Aspergillus sp* , *Aspergillus niger* بحيث كانت فعالية المستخلص على البكتيريا الموجبة و الفطرين فقط ،

ولم يسجل أي تأثير على البكتيريا السالبة.

- النشاط المضاد للحشرات المجرى على حشرة المن السوداء والذي أظهرت نتائجه سمية فعالة للمستخلص الخام وفعالية كبيرة في القضاء عليه من خلال استعمال أربعة تراكيز مختلفة وهي على التوالي 1مغ/مل، 2مغ/مل، 4مغ/مل مع تسجيل ملاحظات خلال فترات زمنية مختلفة 2س، 4س، 24س، 48س، 72س، 96س.

من خلال الدراسات المختلفة لعدة نباتات طبية تبين ان سبب امتلاكها لنشاطات بيولوجية متعدد يعود إلي احتوائها علي المركبات الايضية الثانوية الفلافونيدات، الكوماغينات والالكالويدات.....الخ

الكلمات المفتاحية المستخلص لإيثانولي الخام، النشاط المضاد للميكروبات،، النشاط المضاد للحشرات ،نبات المكرومان،حشرة المن السوداء.