

COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITE ANTIFONGIQUE D'*ASTERISCUS IMBRICATUS*

Hakim, ALILOU^{1,2}, Mohammed, AKSSIRA¹., Fouad, MELLOUKI¹, Bouchra, CHEBLI⁴, Rachida, ROUHI², H, BOIRA³, MA, BLAZQUEZ³ et Lalla Mina IDRISSE HASSANI²

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organiques et Analytiques. Faculté des Science et Technique Université Hassan II. Mohammedia. BP: 46 Mohammadia 20650. Fax: 212 23 31 53 53. Morocco

²Laboratoire de Biotechnologie Végétale. Faculté des sciences. BP 28/S University Ibn Zohr Agadir, Morocco

³ Département de Pharmacologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València Spain.

⁴ Laboratoire d'Ingénierie des Procédés de l'Energie et de l'Environnement ; Ecole Nationale des Sciences Appliquées ; Université Ibn Zohr BP 33 Agadir. Maroc

E-mail : alilouhakim@gmail.com

Introduction

De nombreuses espèces aromatiques et médicinales occupent une place importante parmi la flore marocaine, économiquement et potentiellement exploitable, dont quelques dizaines le sont effectivement. En effet, plusieurs espèces ont été décrites dans la pharmacopée marocaine traditionnelle (Bellakhdar, 1997). Néanmoins, l'exploitation de ce patrimoine souffre d'un manque de connaissances précises aussi bien sur les potentialités en phytomasse de la matière végétale que sur la nature chimique de ses extraits.

Les objectifs visés par cette étude sont :

- L'identification de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*
- L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus* contre la croissance mycélienne de trois champignons phytopathogènes : *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea*. Les tests antifongiques *in vivo* ont été aussi réalisés sur *Citrus reticulata* (Blanco cv. Nules).
- Le transfert d'expérience pour montrer l'efficacité de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus* (fongicide ou fongistatique).

Matériel et méthodes

Matériel végétal

La partie aérienne d'*Asteriscus imbricatus* a été récoltée de façon aléatoire dans la région de Cap Ghir, à 60 km au Nord de la ville d'Agadir (Maroc). Cette plante a été choisie pour ses propriétés médicinales et parce qu'elle constitue un patrimoine local floristique très important et qu'elle n'est en grande partie décrite que d'un point de vue botanique.

Préparation et analyse de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*

La partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre, à une température ambiante et soumise à une hydrodistillation de 4h. Une analyse par GC-MS a été effectuée sur un spectromètre de masse thermique, combiné avec un chromatographe en phase gazeuse.

Test antifongique *in vitro*

Une solution mère a été préparée aseptiquement avec de l'eau distillée stérile et une série de dilutions de l'huile essentielle a été ajoutée au milieu de culture PDA acidifiée. L'eau distillée stérile a été utilisée comme témoin. 20 ml de chaque solution déjà préparée de 0, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 1000 et 2000ppm ont été immédiatement distribués aux boîtes de Pétri. Un disque de 6mm de diamètre de mycélium de chaque champignon (*P. digitatum*, *P. expansum* et *B. cinerea*) a été déposé dans ces boîtes. L'incubation a été faite dans l'obscurité à 25°C pendant 7 jours. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été calculé en utilisant la formule suivante: $PI = (C - T / C) * 100$ (PI : Pourcentage d'inhibition des champignons testés (%), C : Diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon sur milieu témoin (mm), T : Diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon en présence de l'huile à tester (mm)).

Transfert d'expériences

Pour distinguer entre l'effet fongistatique et fongicide de l'huile essentielle sur l'organisme cible, un transfert de disque de champignon, totalement inhibé, a été fait. L'objectif est d'évaluer la viabilité de ces champignons après une exposition à l'huile à 25 °C pendant 1, 3, 6 et 12 jours.

Test antifongique *in vivo*

L'huile essentielle extraite d'*A. imbricatus* a été testée sur les fruits de Clémentine (*Citrus reticulata* Blanco cv. Nules). Après trempage des fruits dans une solution d'eau de javel (10%) et rinçage trois fois avec de l'eau potable, une suspension de spores des trois champignons a été préparée à une concentration de 10⁵ spores/ml fruits. Les fruits ont été blessés à l'aide d'une aiguille à une profondeur de 2 à 4 mm de largeur par fruit. 20 µl de différentes concentrations déjà préparées de 500, 1000 et 2000 ppm de l'huile essentielle d'*A. imbricatus* sont injectés dans chaque blessure. Les fruits témoins ont été traités avec 20 µl d'eau distillée stérile. L'incubation a été faite à une température de 25 °C pendant 10 jours.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée en appliquant les tests ANOVA et DUNCAN au logiciel statistique : Statistica, version 6.0.

Résultats et discussion

La composition chimique de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*

Le rendement de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*, après hydrodistillation a été estimé par 0.16g pour une quantité de 100g de poudre. L'analyse de l'huile essentielle par GC/MS a révélé la présence des composés majoritaires et d'autres en petites quantités. Le thymol isobutyrate et le 2,5-diméthoxypara cymène sont les composés les plus dominants dans cette huile, représentant respectivement (18,32%) et (16,21%). L' α -pinène et le cis-chrysanthénylacetate présentent des quantités modérées estimées respectivement par (8,22%) et (5,53%). D'autres composés ont été détectés comme minoritaires : c'est le cas de l'épi- α -cadinol (2,53%), l' α -cadinol (1,54%) et le δ -cadinène (1,20%).

Activité antifongique de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*

Les résultats obtenus ont révélé une activité antifongique efficace de l'huile essentielle contre tous les champignons testés. Pour différencier les concentrations par rapport à leurs effets, nous

avons fait un suivi de la croissance mycélienne pendant les 7 jours d'incubation. L'évolution hétérogène entre les différentes concentrations a montré une augmentation remarquable durant les jours d'incubation pour atteindre le maximal au 7ème jour.

Les résultats obtenus montrent que *P. digitatum* et *P. expansum* présentent plus d'hétérogénéité dans leurs réponses aux concentrations testées que le *Botrytis cinerea*. Les deux *Penicillium* ont été considérés comme les plus sensibles à l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*.

Toutes les concentrations utilisées présentent un effet inhibiteur remarquable par rapport à la croissance mycélienne, mais la cadence de celle-ci diminue avec l'augmentation de la concentration. En effet, la concentration 2000 ppm présente le plus grand pourcentage d'inhibition avec 100% observé sur *P. digitatum* et *P. expansum*. Ce résultat confirme notre découverte au sujet de la haute sensibilité de *Penicillium spp.* à l'activité antifongique de l'huile d'*Asteriscus imbricatus*.

A une concentration de 2000ppm l'inhibition complète est atteinte, mais il était important de savoir si l'huile essentielle est fongistatique ou fongicide à cette concentration. En effet, le transfert des disques de *P. digitatum* et *P. expansum* sur PDA frais a montré que l'inhibition complète est atteinte après 12 jours d'incubation. Nous avons noté, alors, que l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus* a un effet fongicide contre la croissance mycélienne de *P. digitatum* et *P. expansum* à une concentration de 2000ppm.

En outre, 1000 ppm de l'huile paraît être aussi très efficace avec un pourcentage d'inhibition de 99% contre la croissance mycélienne de *P. digitatum* et 89.12% contre *P. expansum*. Les autres concentrations de l'huile essentielle ont montré une activité modérée.

Cette huile a fourni un contrôle très efficace de tous les champignons testés. Cette efficacité peut être expliquée par la présence de la grande quantité de thymol isobutyrate, du 2,5-diméthoxypara cymène, de l' α pinène et du cis-chrysanthénylacétate. En effet, les champignons ont une sensibilité au carvacrol et au thymol mais plusieurs auteurs se sont concentrés sur l'activité antibactérienne du thymol (Kim. *et al.*, 1995; Curtis. *et al.*, 1996).

D'autre part, ces composés peuvent agir en synergie, comme il a été suggéré par Filipowicz *et al.*, (2003), donc on peut dire que cette synergie peut être, aussi, responsable du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus*.

Test *in vivo* de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus* contre la sporulation de *Penicillium digitatum*

Le test *in vivo* de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus* sur les fruits de Clémentine inoculés artificiellement par les spores de *P. digitatum* a été réalisé.

Le graphe 4 a montré l'apparition des symptômes sur les fruits traités dès le troisième jour de stockage pour le témoin et pour tous les traitements, à l'exception de la concentration 2000 ppm qui a montré l'apparition de l'infection fongique après 5 jours. On note que le témoin a montré une augmentation considérable entre le 7ème et le 10ème jour.

En outre, l'inoculation des spores de *P. digitatum* sur les fruits de clémentine a été réduite significativement ($p < 0.001$) en comparaison avec le témoin pendant 10 jours d'incubation. En effet, le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle d'*Asteriscus imbricatus* est plus important après 10 jours de stockage avec une inhibition remarquable estimée respectivement à 81,66%, 73,33% et 50% pour les concentrations 500 ppm, 1000 ppm et 2000 ppm. Une importante réduction de la croissance mycélienne de *P. digitatum* a été notée après 7 jours de stockage. Le pourcentage de cette inhibition a été estimé respectivement à 89.91%, 74.78% et 53.78% pour les concentrations 500 ppm, 1000 ppm et 2000 ppm.

Références bibliographiques

Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée traditionnelle marocaine : Médecine arabe ancienne et savoir faire. ISBN 2-910728-03-X. Ibis Press.

Kim J., M.R. Marshall et C.I. Wei, 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Agricultural and Food Chemistry* 43, 2839-2845.

Curtis O.F., K. Shetty, G. Cassagnol and M. Peleg, 1996. Comparison of the inhibitory and lethal effects of synthetic versions of plant metabolites (anethole, eugenol, carvacrol and thymol) on a food spoilage yeast (*Debaromyces hansenei*). *Food Biotechnology* 10, 55-73.

Filipowicz N., M. Kaminski, J. Kurlenda, M. Asztemborska and J.R. Ochocka, 2003. Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytotherapy Research* 17, 227-231.