

# **Activite Antifongique Des Flavonoïdes Isoles De La Plante *Asteriscus Graveolens Subsp. Odorus (Schousb.) Greuter***

***Hakim Alilou  
Bouchaib Bencharki***

Laboratoire d'Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques,  
Université Hassan 1er, Settat, Maroc

***Jalal Talbi***

Laboratoire d'Anthropogénétique et de Physiopathologie, Faculté des  
Sciences, Université Chouaïb Doukkali., El Jadida, Maroc

***Noureddine Barka***

Université Hassan 1er, Laboratoire des Sciences des Matériaux,  
des Milieux et de la Modélisation (LS3M),  
Faculté Polydisciplinaire de Khouribga, Khouribga, Morocco

doi: 10.19044/esj.2016.v12n12p258 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n12p258](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2016.v12n12p258)

---

## **Abstract**

A phenol acid and three flavones isolated from the plant *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* were tested against three fungi: *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Penicillium expansum*. Using the method of incorporation of products in a PDA, a high sensitivity of *Botrytis cinerea* to caffeic acid and nevadensine was observed. *Penicillium digitatum* is the sensitive to luteolin, as to *Penicillium expansum*, it marks a sensitivity to artemetin. The efficacy of the tested molecules could be the subject of an investigation and exploitation in the integrated fight against the three tested fungi that cause a lot of damage to fruits and vegetables post-harvest.

---

**Keywords:** Antifungal activity, *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*, pathogenic fungi Flavonoids

---

## **Résumé**

Un acide phénol et trois flavones isolées de la plante *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* ont été testés contre les trois champignons : *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. En utilisant la méthode d'incorporation des produits dans un milieu PDA, une forte sensibilité du *Botrytis cinerea* à l'acide caféique et à la névadensine a été

observé. Le *Penicillium digitatum* est sensible à la lutéoline, quant au *Penicillium expansum*, il marque une sensibilité à l'artémétine. L'efficacité des molécules testées pourrait être le sujet d'une investigation et une exploitation dans la lutte intégrée contre les trois champignons testés qui causent beaucoup de dégâts sur les fruits et légumes en post-récolte.

---

**Mots clés :** Activité antifongique, *Asteriscus graveolens subsp. odorus*, Champignons pathogènes, Flavonoïdes.

## **Introduction**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes qui sont présents chez toutes les plantes vasculaires ; ils se sont surtout illustrés en thérapeutique comme anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antitumoraux, et antioxydants (Bahorun, 1995 ; Pietta, 2000). Les flavonoïdes sont aussi utilisés dans l'industrie alimentaire comme colorants et édulcorants, certains anthocyanes sont des colorants végétaux autorisés à usage pharmaceutique et alimentaire (E163). Ils sont utilisés dans les produits de charcuterie, dans les produits laitiers, glaces et crèmes glacées, conserves de fruit et légumes (Moll M et Moll N, 1998).

Suite à une étude réalisée par Alilou et *al.*, (2014a) qui a fait l'objet d'une extraction, isolement et purification des flavonoïdes majoritaires de la plante *Asteriscus graveolens subsp. odorus* et dans le but de rechercher les composés actifs dotés de propriétés antifongiques, Il nous a semblé intéressant de tester les flavonoïdes de cette plante afin de mieux cerner leurs effets sur les champignons pathogènes de post récolte. A cet effet, l'acide caféique, le névadensine, la lutéoline et l'artémétine ont été testées contre les trois champignons *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*.

## **Matériel et méthodes**

### **Matériel végétal**

La récolte de la partie aérienne de la plante *Asteriscus graveolens subsp. odorus* a été faite aléatoirement près de la région d'Agadir (Maroc) durant le mois d'Avril (2004). L'identification de la plante a été effectuée par le Professeur Ouyahya A. à l'Institut Scientifique (Rabat, Maroc). Un spécimen de cette plante a été déposé à l'herbier de la Faculté des Sciences d'Agadir (Université Ibn Zohr, Agadir, Maroc). Une fois séchée à l'ombre et à l'abri de l'humidité, la plante a été ensuite broyée au moulin électrique jusqu'à obtention d'une poudre.

### **Isolement de l'agent pathogène**

Le choix des champignons *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea* est dû aux dégâts causés dans les stations de conditionnements de la région du Sud du Maroc. Ces champignons ont été isolés à partir des fruits infectés de la station Soussia (Tassila, Agadir). Des morceaux d'écorce infectés sont détachés et placés au centre du milieu de culture Potato-Dextrose-Agar (PDA). L'incubation a été faite à 25°C pendant sept jours. Après purification par des repiquages successifs sur PDA, les champignons sont isolés puis conservés à 4°C sur le même milieu de culture.

### **Test antifongique**

L'acide caféique, le névadensine, la lutéoline et l'artémétine ont été isolés, purifiés, identifiés (Alilou et *al.*, 2014a) et testés pour leur activité antifongique sur *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea*. Une solution mère des molécules a été préparée pour obtenir les concentrations finales 0, 50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 1000 et 2000 ppm qui ont été ajoutées au milieu PDA stérile. 20 mL de la solution a été coulée, sous agitation magnétique, dans les boîtes de pétri. Un disque de 6 mm de diamètre de culture jeune de chaque champignon a été déposé au centre de la boîte de pétri contenant le milieu de culture et les différentes concentrations des produits purs. L'incubation a été effectuée à une température de 25°C ± 1°C pendant 7 jours. Le pourcentage d'inhibition (PI) a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$PI = [(C-T)/C] \times 100$$

C : Diamètre moyen de 3 répétitions de la croissance mycélienne estimé du champignon testé ou de colonie des spores sur milieu témoin (Cm)

T : Diamètre moyen de 3 répétitions de la croissance mycélienne ou de colonie des spores de boîte, traitées avec l'une des concentrations de produit pur (Cm).

### **Résultats et discussions**

#### **Activité antifongique de l'acide caféique d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus***

#### **Test *in vitro* de l'acide caféique sur la croissance mycélienne du *Botrytis cinerea***

Neuf concentrations de l'acide caféique (50, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 1000 et 2000 ppm) ont été utilisées pour tester la réponse des trois champignons étudiés (*Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*). Les pourcentages d'inhibitions ont été calculés pour déterminer les concentrations efficaces de l'acide caféique pour l'inhibition des trois champignons testés (Tableau 1).

Tableau 1 : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* (PD), *Penicillium expansum* (PE) et *Botrytis cinerea* (BC) en fonction des différentes concentrations de l'acide caféique d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus*.

	50ppm	100ppm	125ppm	150ppm	200ppm	250ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm
PI (BC)									
en %	32,20	43,56	49,24	53,03	64,39	70,83	73,48	84,85	96,97
PI (PD)									
en %	11,57	23,14	29,07	30,85	36,76	41,90	47,56	84,83	100
PI (PE)									
en %	12,41	21,53	29,20	46,35	48,91	50,00	63,87	82,12	100

PI : Pourcentage d'inhibition

Une différence significative a été enregistrée quant à l'ampleur et l'évolution de l'effet des différentes doses de l'acide caféique (Figure 1) contre *Botrytis cinerea*. Les doses 50 et 150 ppm présentent une même allure avec des valeurs semblables. Ceci est le cas des doses 200 et 500 ppm tandis que les doses 1000 et 2000 ppm affichent une inhibition élevée plutôt différente. La dose 2000 ppm reste toutefois la meilleure quant à la rapidité et l'intensité et la stabilité de l'activité antifongique (Tableau 1).

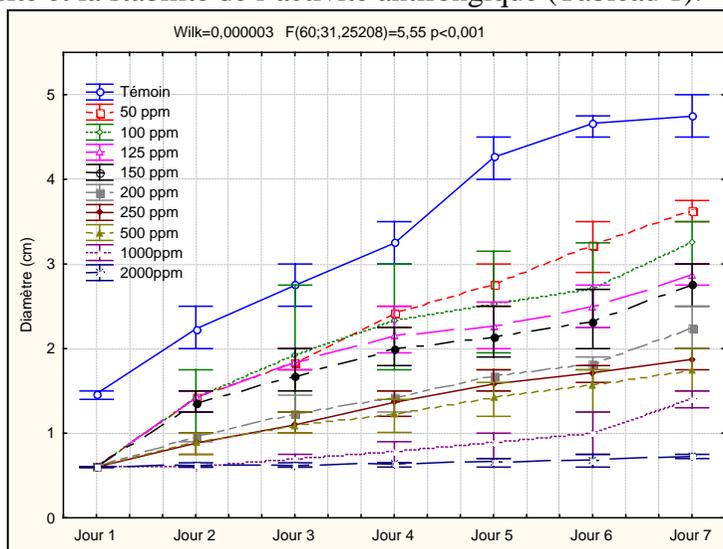


Figure 1 : Evolution de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* en fonction de différentes concentrations de l'acide caféique d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus* durant les 7 jours d'incubation.

### Test *in vitro* de l'acide caféique sur la croissance mycélienne du *Penicillium digitatum*

La réponse du *Penicillium digitatum* est très semblable à celle du *Botrytis cinerea* (Figure 2). En effet, les différentes doses présentent toujours le même comportement précédemment décrit avec un rendement plutôt

inférieur pour toutes les concentrations à l'exception de la dose 2000 ppm dont le pourcentage d'inhibition atteint pratiquement 100% (Tableau 1).

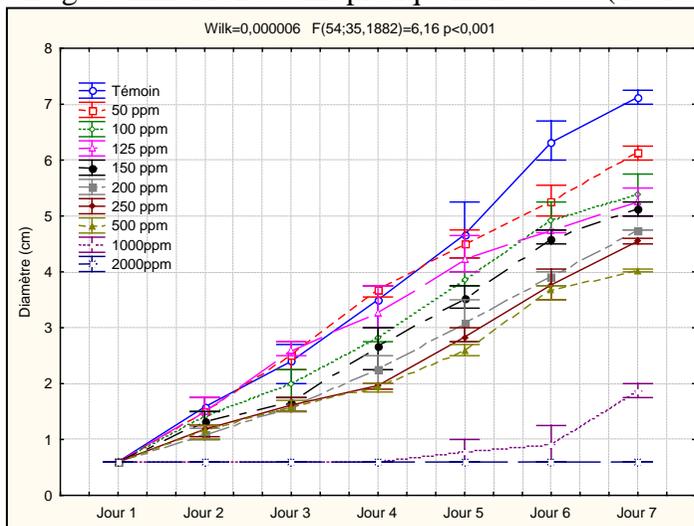


Figure 2 : Evolution de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations de l'acide caféique d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus* durant les 7 jours d'incubation.

### Test *in vitro* de l'acide caféique sur la croissance mycélienne du *Penicillium expansum*

Une hétérogénéité significative caractérise les effets des différentes doses sur le développement du *Penicillium expansum* aussi bien en termes d'intensité que de comportement au cours de la période d'incubation (Figure 3). Les doses 50-125 ppm présentent des comportements semblables, ce qui est le cas des doses 150-250 ppm. Toutefois, en termes de pourcentage d'inhibition, la réponse du *Penicillium expansum* est très semblable à celle du *Penicillium digitatum*. La dose 2000 ppm reste toujours la plus efficace et atteint, depuis le premier jour d'incubation, une inhibition de 100% (Tableau 1).

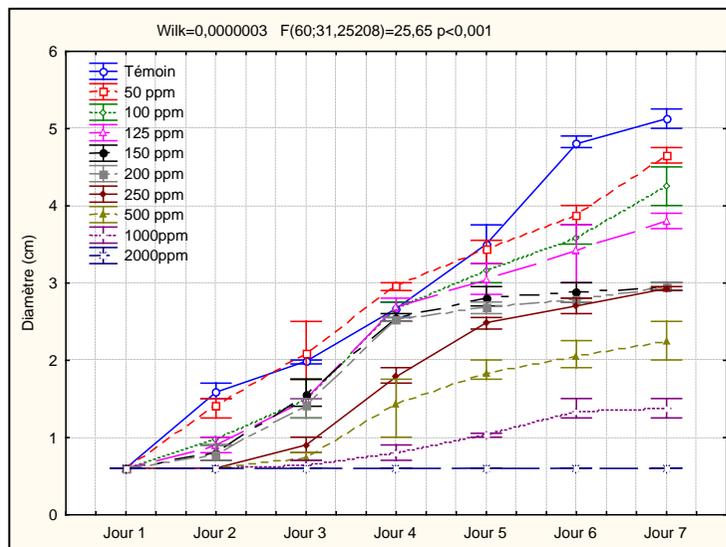


Figure 3 : Evolution de la croissance mycélienne de *Penicillium expansum* en fonction de différentes concentrations de l'acide caféique d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus* durant les 7 jours d'incubation.

L'étude menée sur l'activité antifongique de l'acide caféique sur les trois champignons *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea* a montré une efficacité remarquable aux différentes concentrations de la molécule étudiée. En effet, les doses 50-125 ppm présentent une faible inhibition avec des valeurs semblables contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. Pour les mêmes doses, l'étude a montré un effet modéré sur *Botrytis cinerea*. Les mêmes résultats ont été observés pour les doses 200 et 500 ppm. Quant aux doses 1000 et 2000 ppm, elles affichent une inhibition complète contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. En outre, en termes d'efficacité, *Botrytis cinerea* reste le plus sensible aux différentes concentrations de l'acide caféique.

L'effet antifongique de l'acide caféique pourrait être dû au groupement hydroxyle présent dans cette molécule. L'acide caféique a une structure très proche de l'acide cinnamique dont il dérive. Comme lui, il présente un groupe acrylique en bout de chaîne, mais s'en différencie par la présence de deux groupes hydroxy sur le phényle qui lui donne des propriétés propres aux polyphénols. En effet, le nombre et les sites des groupements hydroxyle sont les deux facteurs responsables de la toxicité envers les microorganismes (Cowan, 1999). Ce même auteur a montré que l'augmentation de l'hydroxylation induit l'augmentation de la toxicité, d'où le rôle antifongique joué par cette hydroxylation. D'ailleurs, selon Cowan (1999), l'acide caféique est connu pour son grand pouvoir antifongique.

L'explication du mécanisme d'action responsable de la toxicité antifongique des acides phénols tient peut-être à l'inhibition par les composés oxydés des enzymes fongiques à travers une réaction avec les groupements sulfhydryl ou bien avec des interactions non spécifiques avec les protéines fongiques (Cowan, 1999).

### Activité antifongique des flavones d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus*

Neuf doses de trois flavones (névadensine, lutéoline et artemétine) ont été utilisées pour tester la réponse des trois champignons étudiés (*Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*). Les pourcentages d'inhibition figurent dans le tableau 2.

Tableau 2 : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* (PD), *Penicillium expansum* (PE) et *Botrytis cinerea* (BC) en utilisant les différentes concentrations des flavones d'*Asteriscus graveolens subsp. odorus*.

		50ppm	100ppm	125ppm	150ppm	200ppm	250ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm
Névadensine	PI (BC) en %	22,51	39,48	53,14	57,20	66,79	69,00	71,59	80,07	89,30
	PI (PD) en %	10,03	20,31	30,85	35,48	38,30	43,44	46,27	57,58	83,80
	PI (PE) en %	11,89	18,44	25,41	44,26	51,23	63,11	72,95	81,56	88,11
Lutéoline	PI (BC) en %	0,74	11,44	28,41	41,33	47,60	52,03	59,78	69,74	74,17
	PI (PD) en %	10,54	31,88	46,27	52,70	65,04	73,01	77,12	90,49	100
	PI (PE) en %	11,89	20,08	28,69	40,57	51,23	58,61	65,16	74,59	84,84
Artemétine	PI (BC) en %	3,32	6,27	17,71	30,26	33,95	43,17	47,60	59,78	67,16
	PI (PD) en %	21,59	29,31	43,70	48,07	50,64	59,13	70,18	81,75	91,00
	PI (PE) en %	14,75	25,41	50,41	61,07	75,41	81,15	85,25	94,26	97,95

PI : Pourcentage d'inhibition

### Test *in vitro* des flavones sur la croissance mycélienne du *Botrytis cinerea*

Les trois produits testés semblent avoir des effets inhibiteurs significativement différents (Figure 4). En effet, la névadensine présente l'effet le plus élevé des produits testés avec des pourcentages d'inhibition atteignant 80,07% et 89,30% pour les doses 1000 et 2000 ppm. L'artémétine est la moins efficace des trois produits avec une valeur maximale à peine de 67,16% pour la dose 2000 ppm. Quant à la lutéoline, elle présente un effet intermédiaire entre les deux autres molécules avec un taux estimé de 74,17% pour la concentration 2000 ppm (Tableau 2).

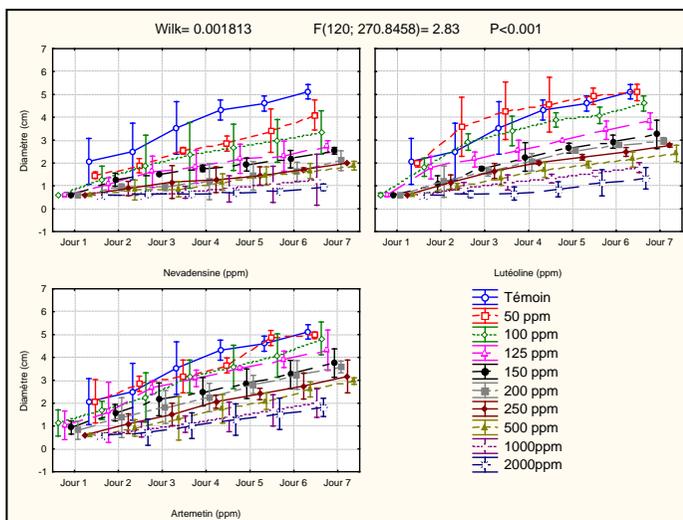


Figure 4 : Evolution de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* en fonction de différentes concentrations des flavones d'*Asteriscus graveolens subsp. odor* durant les 7 jours d'incubation.

### Test *in vitro* des flavones sur la croissance mycélienne du *Penicillium digitatum*

La réponse du *Penicillium digitatum* à l'effet antifongique des trois produits testés diffère significativement (Figure 5). La lutéoline présente l'effet le plus élevé des trois produits avec des pourcentages d'inhibition atteignant 90,49% pour la dose 1000 ppm et 100% pour la dose 2000 ppm. La névadensine a montré un faible effet sur *Penicillium digitatum* estimé à 83,80% pour la concentration 2000 ppm. Quant à l'artémétine, elle marque un effet intermédiaire allant jusqu'à 91% pour la concentration 2000 ppm (Tableau 2).

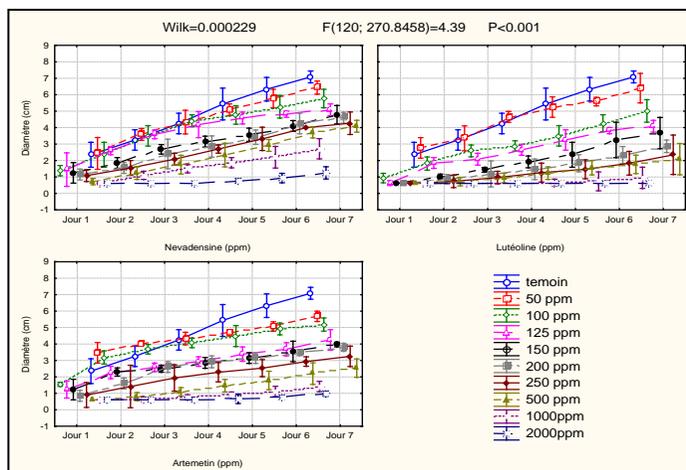


Figure 5 : Evolution de la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum* en fonction de différentes concentrations des flavones d’*Asteriscus graveolens subsp. odorus* durant les 7 jours d’incubation.

### Test *in vitro* des flavones sur la croissance mycélienne du *Penicillium expansum*

A l’instar des autres champignons, les trois produits testés sur le *Penicillium expansum* présentent des effets inhibiteurs significativement différents (Figure 6). Toutefois, contrairement aux deux autres champignons, c’est l’artémétine qui affiche l’effet le plus élevé des trois produits avec des valeurs de 94,26% pour la dose 1000 ppm et 97,95% pour la dose 2000 ppm (Tableau 2).

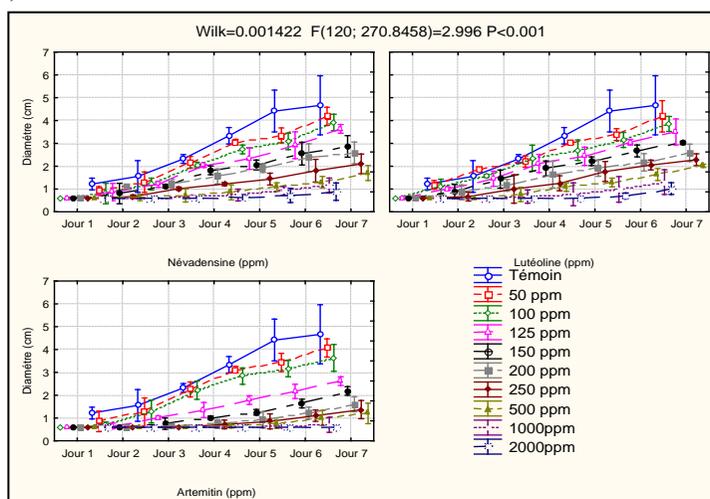


Figure 6 : Evolution de la croissance mycélienne de *Penicillium expansum* en fonction de différentes concentrations des flavones d’*Asteriscus graveolens subsp. odorus* durant les 7 jours d’incubation.

En général, les trois flavones ont montré un effet antifongique très important sur les trois champignons *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. En effet, *Botrytis cinerea* est très sensible à la névadensine, le *Penicillium digitatum* est sensible à la lutéoline, quant au *Penicillium expansum*, il marque une sensibilité à l'artémétine.

Bruneton (1999) et Kurkin (2003) ont montré que les phénols simples, les acides phénoliques et les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antihémorragiques, des propriétés antibactériennes et antifongiques, en particulier à l'égard des organismes phytopathogènes.

Dans d'autres études de recherche, les flavonoïdes ont des activités antivirales, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-tumorales (Harbone et Williams, 2000 ; Wang et al., 1999 ; Middleton et Kardasnam, 1993).

Kalt (2000) a montré que les flavonols et les flavones sont efficaces pour la lutte contre les champignons pathogènes des grains de céréales. Quant à Goutam (2008), il a montré que la névadensine a un effet anti-inflammatoire, cytotoxique et antituberculeux.

Cushnie et Lamb (2005) ont montré l'efficacité des flavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols...) dans l'activité antifongique, antivirale et antibactérienne.

Dans une étude présentée par Sertié et al., (1990), l'artémétine extrait à partir de *Cordia verbenacea* DC (*Boraginaceae*) a montré une activité anti-inflammatoire chez les rats. Quant aux De Souza et al., (2011), ils ont montré que cette molécule isolée de *Achillea millefolium* a réduit la pression artérielle moyenne des rats. D'ailleurs, l'huile essentielle de cette plante a montré une activité antifongique et antioxydante très importante (Alilou et al., 2014b).

## Conclusion

L'étude effectuée pour l'évaluation de l'activité antifongique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens subsp. odor* a montré une différence d'efficacité aussi bien pour les produits utilisés et les champignons testés que les différentes concentrations étudiées.

L'acide caféique extrait d'*Asteriscus graveolens subsp. odor* reste un composé à efficacité variable selon les concentrations utilisées. En effet, une inhibition modérée a été remarquée contre *Botrytis cinerea* pour les concentrations 50-500 ppm. En outre, l'acide caféique a présenté une faible inhibition contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum* pour les mêmes doses. Toutefois, les concentrations 1000 et 2000 ppm affichent une inhibition complète contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. On peut conclure que, en termes d'efficacité, les différentes concentrations de l'acide caféique se sont montrées très efficaces sur *Botrytis cinerea*.

Les trois flavones ont révélé une importante efficacité sur *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. En effet, *Botrytis cinerea* est très sensible à la névadensine, le *Penicillium digitatum* est sensible à la lutéoline, quant au *Penicillium expansum*, il marque une sensibilité à l'artémétine.

### References :

- Alilou H., Bencharki B., Idrissi Hassani LM. & Barka N. 2014a. Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus*. *Revue Afrique Science*, 10 (3), 316-328.
- Alilou H., Asdadi A., Idrissi Hassani LM., González-Mas MC., Blázquez MA. & Akssira M. 2014b. Antifungal and antioxidant activity of *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* essential oil. *Journal of Natural Sciences Research*, 4 (10), 1-10.
- Bahorun T. 1995. Les polyphénols de *Crataegus monogyna* Jacq. *In vivo* et *in vitro* : analyses et activités antioxydantes. France : Université de Lille I, 150 p. (Thèse de doctorat).
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition, Editeur technique et documentation, Paris. 1120p.
- Cowan MM. 1999. Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.
- Cushnie TP. & Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. antimicrob. Ag*, 26, 343-356.
- De Souza P., Gasparotto AJr., Crestani S., Stefanello MÉ., Marques MC., Da Silva-Santos JE. & Kassuya CA. 2011. Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (*Asteraceae*) in rats. *Phytomedicine*, 18 (10), 819-25.
- Harbone JB. & Williams CA. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Kalt C. 2000. Agriculture et agroalimentaire Canada, Centre de recherches de l'Atlantique sur les éléments de l'horticulture, Kentville, N. E. B4N 1J5.
- Goutam, B. 2008. *Limnophila* (*Scrophulariaceae*) : Chemical and pharmaceutical aspects. *The Open Natural Products Journal*, 1, 34-43.
- Kurkin VA. 2003. Phenylpropanoids from medicinal plants : distribution, classification, structural analysis, and biological activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 39 (2).
- Middleton JE. & Kardasnam C. 1993. The flavonoïds, *advances in research* Ed. J. B.
- Moll, Manfred., Moll, Nicole., 1998. Additives alimentaires et auxiliaires technologiques Dunod, Paris, 25-26, 55-56.
- Pietta PG., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod*, 63, 1035-1042.

Sertié JA., Basile AC., Panizza S., Matida AK. & Zelnik R. 1990. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. *Planta Med*, 56 (1), 36-40.

Wang H., Strasburg MG., Chang YC., Brooren A., Gray JI. & Dewitt DL. 1999. Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Nat. Prod*, 62, 294-296.