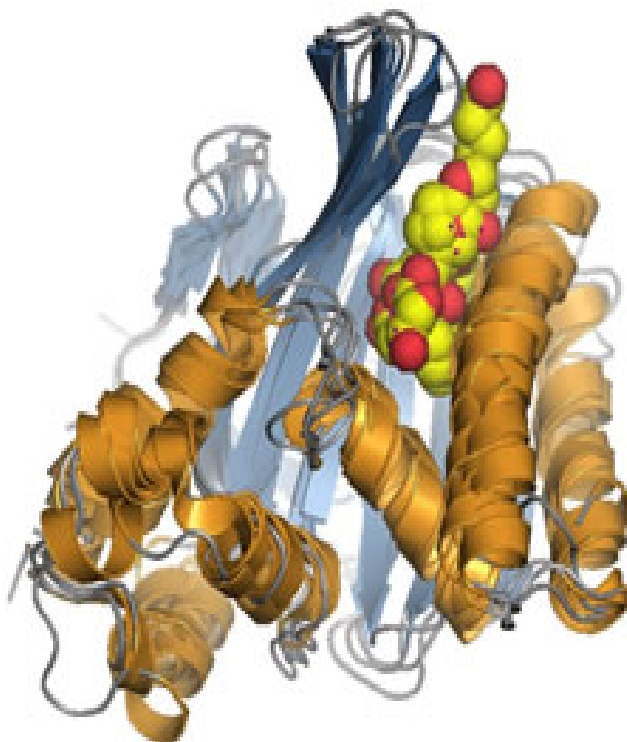


PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



PCBS Journal

Volume 8 N° 4

2014

Special: 4th *Phytochem & BioSub Conference* (4th *PCBS*)
& 1st *Algerian Days on Natural Products* (1st *ADNp*)

Efficacité de l'huile essentielle de la cannelle (*Cinnamomum cassia*) sur des champignons phytopathogènes

BOUNGAB Karima⁽¹⁾, TADJEDDINE Aicha⁽²⁾, BELABID Lakhdar⁽¹⁾

(1) : Laboratoire de Bioconversion, Génie microbiologie et sécurité sanitaire

(2) : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Université Mustapha Stambouli de Mascara. BP 763, Mascara, 29000 Algérie.

Received: Special 4^e PCBS & 1stADNp - December 1, 2, 2013

4^e Phytochem & BioSub Conference (4^e PCBS) & 1st Algerian Days on Natural Products (1st ADNp)

Corresponding author Email Karima.boungab@yahoo.fr

Copyright © 2014-POSL

DOI:10.163.pcbsj/2014.8.4.214

Résumé. L'utilisation des extraits de plantes est prouvée récemment comme étant une méthode alternative dans le biocontrol de plusieurs maladies cryptogamiques. Le présent travail est porté sur l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de la cannelle sur quelques champignons phytopathogènes, il représente une contribution dans la recherche des moyens de lutte biologique contre les maladies de l'helminthosporiose, et des pourritures racinaires qui causent des dégâts très important en céréaliculture. L'extraction de l'huile essentielle de la cannelle a été effectuée par hydrodistillation dont la teneur en essence végétale est plus ou moins importante (1,5%). L'effet de l'huile essentielle a été testé sur la croissance mycélienne, et la sporulation de quatre espèces fongiques isolées à partir des feuilles et des racines d'orge (*Hordeum vulgare* L.) présentant des symptômes de maladies : *Drechslera teres*, agent de la rayure réticulée de l'orge. *D. graminea* (la strie foliaire), *Bipolaris sorokiniana* (taches helminthosporiennes) et *Fusarium graminearum*, agent des pourritures racinaires. D'après les résultats obtenus, tous les isolats testés se sont révélés sensibles à l'essence végétale étudiée, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de 1 à 8 µg/ml. Ces résultats présentent un intérêt pour l'utilisation des huiles essentielles dans des applications phytosanitaire comme un procédé de lutte biologique basé sur les substances naturelles.

Mots clés: Cannelle – Huile essentielle- Antifongique- Champignons phytopathogènes.

INTRODUCTION

La lutte chimique semble être le moyen le plus efficace pour juguler les parasites fongiques des cultures céréalières. Cependant, elle présente de nombreux inconvénients tels que la pollution de l'environnement, les problèmes d'intoxication des opérateurs et des consommateurs, l'élimination de l'entomofaune utile, le coût élevé des appareils et des produits de traitement, l'accumulation de résidus dans la chaîne alimentaire et notamment l'apparition de champignons résistants. Pour palier à ces nombreuses contraintes liées à l'emploi des pesticides, d'autres stratégies de lutte ont été envisagées, à savoir la lutte

biologique qui consiste en l'utilisation de biopesticides et des ennemis naturels dans le contrôle des maladies des plantes.

Parmi les ressources naturelles, Les extraits végétaux issus des plantes médicinales et aromatiques pourraient contenir une variété de molécules biologiquement actives agissant directement sur la pathologie microbienne et présentant en effet des avantages dont les antifongiques utilisés (médicales ou phytosanitaires) sont souvent dépourvus [6, 10]. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle de la cannelle vis-à-vis de quelques champignons phytopathogènes.

MATERIEL ET METHODES

Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle de la cannelle a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Après broyage des écorces de la cannelle, une masse de 100g complètement émergée dans l'eau distillée est mise en hydrodistillation pendant trois heures [11]. Les huiles essentielles récupérées dans de petits flacons opaques sont stockée à 4°C.

Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est évalué à partir de trois extractions de la matière sèche. Ce dernier est déterminé par le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter selon la formule suivante:

$$Rd = M/M^{\circ} \times 100$$

Rd : rendement en HE exprimée en pourcentage.

M : masse en gramme de l'HE.

M° : masse en gramme du matériel végétal.

Matériel fongique

Quatre espèces fongiques ont été utilisées pour les tests biologiques (*Drechslera teres*, *D. graminea*, *Bipolaris sorokiniana* et *Fusarium graminearum*). Elles proviennent respectivement des lésions des feuilles et des racines d'orge de la variété sensible Saida. Ces espèces ont été isolées, identifiées et confirmées par un test de pathogénicité au laboratoire de Phytopathologie de l'Université de Mascara.

Tests biologiques

L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle a été effectuée sur un milieu solide gélosé (PDA : 200 g de pomme de terre, 20 g de Dextrose, 15 g d'agar-agar, 1000 ml d'eau distillée) en comparant son action à diverses concentrations (entre 0.5 à 8µg/ml selon l'effet obtenu). L'effet antifongique a été évalué sur les différents stades de vie des champignons : croissance mycélienne et sporulation. Les différents tests ont été réalisés en trois répétitions, plus d'un témoin.

Effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne

La méthode utilisée a été celle de dispersion en milieu solide. L'huile a été dispersée dans le milieu grâce au tween 20 (0.5%) qui joue le rôle de tensioactif. L'effet du tween a été préalablement testé afin de s'assurer de son innocuité vis-à-vis des agents pathogènes. Les différentes concentrations d'huile essentielle ont été préparées à partir d'une solution mère et incorporés au milieu PDA (Potato Dextrose Agar) maintenu en surfusion à 45°C. Après homogénéisation, le mélange est coulé dans des boîtes de Pétri à raison de 20ml par boîte.

Après solidification du milieu, les boîtes sont ensemencées avec des implants circulaires des agents phytopathogènes testés de 5 mm de diamètre, issus des cultures fongiques âgées de 7 jours. Les boîtes témoins sont préparées dans les mêmes conditions, mais sans l'addition de l'huile essentielle [2]. Les cultures sont incubées à $22^{\circ}\text{C} \pm 2$. La croissance mycélienne est estimée après 7 jours de culture en mesurant les diamètres de la colonie dans deux directions perpendiculaires. La moyenne de ces mesures permet de calculer le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique par rapport au témoin selon la formule suivante :

$$Ic(\%) = \frac{D - Di}{D} \times 100$$

Ic (%) : pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D: diamètre de croissance mycélienne dans un milieu sans l'huile essentielle (témoin).

Di: diamètre de croissance mycélienne en présence de l'huile essentielle

Effet sur la production de spores

Trois rondelles de 5 mm de diamètre sont découpées à l'aide d'un emporte pièce de chaque culture ayant servi à la croissance mycélienne. Elles sont réunies dans un tube à vis contenant 1 ml d'eau distillée stérile avec une goutte de Tween 20. Les tubes sont agités au vortex pendant 30 secondes afin de détacher les spores des conidiophores. La suspension ainsi obtenue est filtrée sur de la mousseline afin d'éliminer les fragments mycéliens.

Le comptage du nombre total de spores est effectué à l'aide d'un hématimètre à raison de dix comptages par suspension. On rapporte le nombre moyen de spores par unité de surface (mm^2).

Le pourcentage d'inhibition de la sporulation par rapport au témoin est calculé comme suit :

$$Is = \frac{S - Si}{S} \times 100$$

S : nombre de spores estimées chez le témoin.

Si: nombre de spores estimées en présence de l'huile essentielle.

Les concentrations inhibitrices à 50% (CI_{50}) pour chaque champignon ont été déterminées graphiquement à partir de la relation linéaire entre le logarithme décimal de la concentration en huile essentielle (en abscisses) et les valeurs probits issues des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne ou de la sporulation (en ordonnées).

Détermination de la CMI et nature de l'activité antifongique des huiles essentielles

La CMI (Concentration minimale inhibitrice) correspond à la première concentration à partir de laquelle aucune croissance fongique n'est observée. Pour connaître la nature de l'activité antifongique, les disques mycéliens prélevés des boîtes dont l'inhibition est totale sont réensemencés au centre des boîtes qui contiennent 20ml de milieu de culture PDA neuf. Le suivi de la croissance est effectué pendant 7 jours à la température de $22^{\circ}\text{C} \pm 2$. L'huile essentielle est considérée comme fongicide lorsqu'elle provoque la mort du champignon, alors que lorsqu'elle inhibe la croissance, elle est caractérisée par une action fongistatique.

Analyse statistique

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés par la moyenne \pm l'écart type. Les comparaisons statistiques ont été faites au moyen du test de Student et la valeur $p < 0.05$ a été considérée significative.

RESULTATS

Les écorces de la cannelle ont été utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle. La détermination du rendement a montré une rentabilité de l'ordre de 1.5 %, ce rendement est relativement élevé par rapport à certaines plantes exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles.

L'activité antifongique de l'huile essentielle de la cannelle a été évaluée vis-à-vis de quatre souches fongiques à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin (tableau 1).

Les résultats des tests *in vivo* révèlent que l'huile essentielle de la cannelle réduit significativement la croissance radiale des champignons testés par rapport au témoin à des degrés variables selon la concentration de l'huile essentielle et la sensibilité ou la résistance des souches fongiques testés.

La croissance mycélienne de *Drechslera graminea* a été inhibée à partir d'une faible concentration (1µg/ml). Par contre *Bipolaris sorokiniana* a manifesté une certaine résistance jusqu'à 8 µg/ml (tableau 3). Pour cette espèce aucun effet inhibiteur n'a été remarqué pour la dose inférieure à 1µl/ml, Cependant à partir de cette dose nous avons constaté une inhibition croissante de la croissance mycélienne selon les doses utilisées.

Les concentrations inhibitrices de 50% de la croissance radiale sont présentées dans le tableau 3, *Drechslera graminea* est caractérisé par une CI50 inférieure à 0.5 µg/ml ce qui indique sa sensibilité vis-à-vis de l'HE testée, tandis que les CI50 les plus élevées ont été enregistrés chez *Bipolaris sorokiniana* et *Drechslera teres* ce qui révèlent leur résistance à l'HE de la cannelle.

Tableau 1 : Taux d'inhibition (%) de l'huile essentielle de la cannelle sur la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes

Concentrations (µg/ml)	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Drechslera graminea</i>	<i>Drechslera teres</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
0.5 µg/ml	00 ± 00	76,19 ±1.15	18.33 ±0.36	45.82 ±0.45
1 µg/ml	24.62 ±0.49	100 ± 00	54.18 ±0.55	72.66 ±1.07
2µg/ml	63,33 ±0.25	100 ± 00	82.84 ±0.20	100 ± 00
4µg/ml	94,44 ±0.62	100 ± 00	100 ±00	100 ± 00
8µg/ml	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00

Outre la croissance du mycélium, l'huile essentielle de la cannelle a montrée *in vitro*, une activité antifongique importante sur la sporulation des champignons. Signalant que la sensibilité antifongique a été observée pour *Drechslera graminea* avec des pourcentages d'inhibition supérieure à 80% à toutes les concentrations testées.

Tableau 2: Taux d'inhibition (%) de l'huile essentielle de la cannelle sur la sporulation des champignons phytopathogènes

Concentrations (µl/ml)	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Drechslera graminea</i>	<i>Drechslera teres</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
0.5 µg/ml	22.36±0.42	82.33 ±0.75	24.33±0.25	49.54±0.75
1 µg/ml	32.66±0.37	100 ± 00	64.62±0.10	90.66±0.36
2µg/ml	78.50±1.20	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00
4µg/ml	97.04±0.45	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00
8µg/ml	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00	100 ± 00

Le test d'évaluation de la nature de l'activité antifongique nous a permis d'affirmer que l'huile essentielle testée est fongicide, car un ensemencement sur milieux neufs des disques mycéliens prélevés des boîtes dont l'inhibition est totale montre une absence de la croissance après 7 jours d'incubation à une température de 22°C.

Tableau 3 : Détermination de la CI50 et la CMI de la croissance mycélienne et la sporulation

Espèces fongiques	Croissance mycélienne		Sporulation	
	CI50 (µg/ml)	CMI (µg/ml)	CI50 (µg/ml)	CMI (µg/ml)
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	1.56	8	1.72	8
<i>Drechslera graminea</i>	< 0.5	1	< 0.5	1
<i>Drechslera teres</i>	0.92	4	1.22	2
<i>Fusarium graminearum</i>	0.65	2	0.62	2

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le développement des techniques d'analyses chimiques a permis de montrer qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents appartenant à deux types de métabolites: primaire et secondaire. Ce dernier conduit à une grande biodiversité moléculaire [12]. Parmi ces substances, les huiles essentielles qui caractérisent les plantes aromatiques [9].

L'huile essentielle de cannelle a fait l'objet d'études sur diverses souches fongiques pathogènes [7, 8,11]. Dans cette investigation le pouvoir antifongique de cette huile a été testé vis-à-vis des champignons phytopathogènes à différentes concentrations. Quatre souches fongiques ont été choisies pour leur pathogénicité et pour leur implication fréquente dans les maladies de l'helminthosporiose, et des pourritures racinaires qui causent des dégâts très importants en céréaliculture. Les résultats obtenus indiquent que le pourcentage d'inhibition quelque soit le test: la croissance radiale ou la sporulation augmente proportionnellement avec la concentration selon une **relation dose-effet**. D'une manière générale, la croissance et la sporulation du champignon est significativement ralentie avec les concentrations élevées en huile essentielle.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Bachmann [1] qui a démontré que la cannelle est efficace sur trois genres de moisissures : *Alternaria*, *Penicillium* et *Aspergillus*. Hitokoto et al.[4] ont étudié l'effet de 13 plantes aromatiques et sept épices sur la croissance des espèces suivantes: *Aspergillus parasiticus*, *A.flavus* et *A. versicolor*, sur les 20 échantillons testés, l'écorce de cannelle a inhibé totalement la croissance fongique.

L'effet antifongique d'HE de la cannelle est dû essentiellement à la nature de ses composés majeurs, mais en partie à la nature de leurs composés mineurs. Dans une étude faite sur la cannelle, Bullerman et al. [3] ont montré que les composés majeurs, l'aldéhyde cinnamique et l'eugénol, ont une forte activité sur l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus parasiticus*. Ces composés utilisés à la concentration de 150 ppm et 125 ppm respectivement arrivent à inhiber totalement la croissance d'*Aspergillus parasiticus*, alors que l'HE complète ne le fait qu'à une concentration supérieure à 200 ppm.

Un troisième composé d'HE de la cannelle qui est le O-méthoxycinnamaldéhyde a aussi un effet antifongique. A 10 µg/ml, il inhibe la croissance d'*Aspergillus parasiticus* et d'*Aspergillus flavus*, et à 200 µg/ml, il inhibe la croissance d'*Aspergillus versicolor*.

En revanche, les écorces de la cannelle contiennent, entre autres, des substances stéroliques, flavonoïdes, des flavanes, saponines, anthocyanes et leucoanthocyanes ; ces substances ont été identifiées comme produits antimycotoxiques et/ou antifongiques. En effet, les saponines se sont montrées capables d'inhiber la croissance fongique d'une manière générale, aussi bien pour les levures que pour les moisissures [5].

Les activités antimicrobiennes de l'HE de la cannelle mise en évidence dans cette étude pourraient justifier l'usage thérapeutique de cette plante en médecine traditionnelle dans le traitement des infections urinaires et intestinales, et pour soigner les infections dues à des mycoses [8,11].

En conclusion, l'efficacité de l'huile essentielle de la cannelle vis-à-vis des champignons phytopathogènes présente une alternative par rapport aux fongicides chimiques peu biodégradables, et souvent toxiques pour l'homme et l'environnement. En effet des investigations devraient être poursuivies pour une meilleure connaissance des propriétés antifongiques. L'on devrait envisager une caractérisation chimique qui permettra d'isoler et d'identifier les groupes chimiques responsables de cette activité afin d'envisager leur utilisation en protection phytosanitaire. Par ailleurs la connaissance du mode d'action de ces molécules permettra de mieux situer la période des traitements en milieu réel.

REFERENCES

- [1] Bachman F.M. The inhibiting action of certain spices on the growth of microorganisms. *J Indust Eng Chem*; 8: 623–1620. (1961).
- [2] Banso A., Adeyemo S.O. and Jeremiah P. Antimicrobial properties of *Vernonia amygdalina* extract. *Journal of Applied Science and Management*, 3: 9-11. (1999).
- [3] Bullerman L.B, Lieu F.Y and Seter S.A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and Clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *J Food Sci*, 42:1107-1109. (1977).
- [4] Hitokoto H., Morozumz S., Wauke T., Sakai S. and Ueno I. Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth and toxin production of toxigenic fungi. *Micopathologia*, 66:167–1161. (1978).
- [5] Hsieh P.C. Antimicrobial effect of cinnamon extract. Taiwanese. *J Agric Chem Food Sci* 38:184-193. (2000).
- [6] Mahesh B. and Satish S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. *World J. Agri. Sci.* 4 (S): 839-843. (2008).

- [7] Maqbool M., Ali A. et Alderson P. G. Effect of Cinnamon Oil on Incidence of Anthracnose Disease and Postharvest Quality of Bananas during Storage. *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 12, No.4. (2010).
- [8] Merghache D., Boucherit-Atmani Z. , Boucherit K. Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*). *Phytothérapie*. V. 10, No. 4: 215-221. (2012).
- [9] Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettaybi M. Impoved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Essent. Oil Res.* 5: 179-184. (1993).
- [10] Senhaji O., Faid M., Elyachioui M. et Dehhaoui M. Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*, 15 : 220–229. (2005).
- [11] Senhaji O., Faid M. et Kalalou I.. Étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de cannelle. *Phytothérapie*. V.4, N. 1. PP: 24-30. (2006).
- [12] Witchel M., Anton R. Plantes thérapeutiques: Tradition pratique, officinale, science et thérapeutique. Tec. et Doc., 24-25. (1999).

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS
Journal*



Edition LPSO

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory

<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr