



**UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE**

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur ès Science de la vie de l'Université d'Antananarivo

Option : Biochimie (Biotechnologie – Microbiologie)

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE
D'UNE PLANTE ENDEMIQUE DE MADAGASCAR
« *Cinnamosma fragrans* » :
ALTERNATIVE AUX ANTIBIOTIQUES EN CREVETTICULTURE**

Présenté par

RANDRIANARIVELO Roger

Soutenue le 25 Juin 2010

devant le Jury composé de :

M JEANNODA Victor
M RAHERIMANDIMBY Marson
Mme SARTER Samira
M DANTHU Pascal
Mme RAZANAMPARANY Louissette
M RAMANOELINA Panja A
Mme ANDRIANARISOA Blandine

Professeur Titulaire, Université d'Antananarivo
Professeur Titulaire, Université d'Antananarivo
Docteur, UMR QUALISUD, CIRAD Madagascar
Docteur, Coordinateur URP, CIRAD Madagascar
Professeur Titulaire, Université d'Antananarivo
Professeur, ESSA, Université d'Antananarivo
Professeur Titulaire, Université d'Antananarivo

Président
Directeur de Thèse
CoDirecteur de Thèse
CoDirecteur de Thèse
Rapporteur interne
Rapporteur externe
Examinatrice

**Titre : ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE D'UNE PLANTE ENDEMIQUE DE
MADAGASCAR « *Cinnamosma fragrans* », ALTERNATIVE AUX ANTIBIOTIQUES EN
CREVETTICULTURE**

Auteur : RANDRIANARIVELO Roger

Etudiant-Chercheur. Option Biochimie (Biotechnologie-Microbiologie)

Mail : randrianar.roger@yahoo.fr (tél : 0331433295)

Résumé

La composition chimique de l'huile essentielle de *Cinnamosma fragrans* a été déterminée. 68 échantillons d'huiles essentielles de *C. fragrans* provenant de deux régions de Madagascar dont 38 de Tsaramandroso et 30 de Mariarano ont été analysés par CPG/SM. La composition de l'huile essentielle que nous avons identifiée varie de 88,3 à 99,4%. 57 composants ont été identifiés. Les constituants majeurs sont le linalol pour Tsaramandroso (72,5 ±23,3%) et le 1,8 cinéole pour Mariarano (47,3 ±10,2%). Deux échantillons contenant la plus haute teneur : B8 (95,8% linalol) provient de Tsaramandroso et B143 (71,6% 1,8-cinéole) provient de Mariarano, ont été sélectionnés pour déterminer leurs activités antimicrobiennes contre 12 souches de référence et 10 souches isolées de la ferme. Les effets des deux huiles (B8 et B143) sur la survie et les concentrations bactériennes des larves et l'eau d'élevage de *Penaeus monodon* ont été déterminés. *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumulus* et *Staphylococcus aureus* sont les souches les plus sensibles aux deux huiles. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de B143 est faible (0,73 à 2,93 mg/ml) contre toutes les gram négatives testées par rapport au 1,8-cinéole pure (1,47 à 11,75 mg/ml), B8 montre une CMI élevée par rapport au linalol pur contre *Salmonella typhimurium*, *Micrococcus sp*, *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio vulnificus* qui sont respectivement 11,75 ; 5,88 ; 2,93 et 5,88 mg/ml, alors qu'il présente la même valeur de CMI au linalol pure pour les autres gram négatives. Les deux huiles ont des CMI élevés (5,88 mg/ml) contre *Fusarium oxysporum*. Des essais avec deux huiles (B8 et B143) ont été effectués à l'écloserie de l'OSO Farming Madagascar et nous ont permis d'évaluer la concentration bactérienne des larves et de l'eau d'élevage de *P. monodon* sur Agar marine et TCBS. L'huile essentielle est ajoutée dans l'eau d'élevage. La survie obtenue avec des essais à quatre répétitions sur B8, B143, antibiotique érythromycine(E) et le témoin montre que l'huile B8 a un effet similaire à l'érythromycine (E) ($P>0.05$) et plus active que B143 ($P<0.05$). Une corrélation négative est observée entre la concentration bactérienne et la survie des larves pour tous les essais. Ces résultats suggèrent en l'occurrence l'effet synergique ou antagonisme entre les différents constituants de l'huile essentielle. L'huile essentielle de *C. fragrans* et l'antibiotique montrent un taux de survie élevé et une faible concentration bactérienne par rapport au témoin. L'huile essentielle de *C. fragrans* a un potentiel de contrôler la charge bactérienne dans les conditions *in vivo* et aussi permet d'améliorer le taux de survie des larves de *P. monodon*. Ainsi, l'huile de *C. fragrans* s'est avérée être une alternative aux antibiotiques conventionnelles dans l'écloserie crevette.

Mots clés : Huiles essentielles, *Cinnamosma fragrans*, *Penaeus monodon*, activité antimicrobienne, aquaculture

Le Directeur de thèse
RAHERIMANDIMBY Marson
Professeur Titulaire

**Title : STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AN ENDEMIC PLANT OF
MADAGASCAR" *Cinnamosma fragrans* ", ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS IN
CREVETTCULTURE**

Author. RANDRIANARIVELO Roger

Student-Researcher Option Biochemistry (Biotechnology-Microbiology)

Mail : randrianar.roger@yahoo.fr (tél : 0331433295)

Abstract

Essential oil samples of *Cinnamosma fragrans* from two regions in Madagascar, Tsaramandroso (38 samples) and Mariarano (30 samples), were analysed by GC/MS. Fifty-seven components were identified, accounting from 88.3% to 99.4% of the oils' composition. The major components were linalool ($72.5 \pm 23.3\%$) in Tsaramandroso and 1,8-cineole ($47.3 \pm 10.2\%$) in Mariarano. Samples B8 (95.8% linalool) from Tsaramandroso and B143 (71.6% 1,8-cineole) from Mariarano containing the highest proportions of the two main components identified, were selected to determine antimicrobial activities against 12 microbial strains and 10 bacterial isolates from the *P. monodon* hatchery of OSO Farming. *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were the most sensitive strains to both oils. Minimum inhibitory concentration (MIC) values were lower for B143 (0,73 à 2,93 mg/ml) against all tested Gram-negative strains than pure 1,8-cineole (1,47 à 11,75 mg/ml). B8 showed higher MIC values than pure linalool against *Salmonella typhimurium*, *Micrococcus sp.* and *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio vulnificus* respectively 11,75 ; 5,88 ; 2,93 and 5,88 mg/ml, and similar MIC values to linalool towards the other Gram-negative strains. Both essential oils exhibited higher MIC values towards *Fusarium oxysporum* than their respective pure major component. The effects of both essential oil (B8, B143) on the survival and bacterial concentration of larvae were determined. The bacterial concentrations of both larvae and water tank were assessed on Marine agar and Thiosulfate Citrate Bile Sucrose agar. The assays took place in OSO Farming's shrimp hatchery in Madagascar. EOs were directly added to the water tank. Regarding the survival, the assays in larval culture (four replicates each of B8, B143, E and control) showed that B8 oil had a similar effect ($P > 0,05$) as the antibiotic (Erythromycin) and was more active than B143 ($P < 0,05$). A negative correlation was observed between the bacterial concentration and the survival of larvae for all assays. Both *C. fragrans* essential oils, as antibiotic, exhibited significantly higher survival rates and lower bacterial concentrations of the larvae than the control (oil and antibiotic free). The potential of *C. fragrans* essential oil to control the bacterial load in *in vivo* conditions, thereby enhancing survival rate of *P. monodon* larvae, makes it a relevant option for developing a novel alternative to antibiotics in shrimp hatchery culture.

Keywords : essential oil, *Cinnamosma fragrans*, *Penaeus monodon*, antimicrobial activity, aquaculture

The Director of thesis

RAHERIMANDIMBY Marson
Professeur Titulaire