

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI - LAGHOUAT -
كلية العلوم
FACULTÉ DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème :

Évaluation de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de quelques plantes locales

Présenté par :

Mlle GOUHIRI Nada et Mlle GUESMIA Meriem

Soutenu publiquement le 03/07/2024 devant les membres de jury :

| | | | |
|----------------------|-----|-----------------------------------|---------------|
| M. BOUBRIMA Youcef | MMA | Université Amar Telidji, Laghouat | Président |
| M. BENAMER Ibrahim | MMA | Université Amar Telidji, Laghouat | Examinateur |
| M. OUINTEN Mohamed | Pr | Université Amar Telidji, Laghouat | Rapporteur |
| Mme EL-HOUITI Fatiha | MCA | Université Amar Telidji, Laghouat | Co-Rapporteur |

Année universitaire 2023-2024

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à :

*Ma très chère **maman**, pour tous ses sacrifices, son amour, son encouragement, son soutien et ses prières tout au long de mes études.*

*Mon très cher **papa**, l'être unique et magnifique, mon guide et mon plus fort repère tu es toujours mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour*

*Mes chères sœurs, **Wissam, Ihssane et Safa Maya***

*Mon **grand-père**, pour leur support continu*

*Mes chères amies, **Meriem et Nour**, pour leur soutien moral et toute l'aide qu'elles m'ont apportée*

*À une sœur que m'a offert la vie, **Halima** avec qui j'ai partagé mes joies et tous mes chagrins*

Merci à tous, proches ou éloignés, vous avez tous fait part de cette réussite.

Nada

Dédicace

Louange à Dieu seul,

Je dédie ce travail spécialement

*À l'homme, mon précieux offre du Dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :
mon cher père **MOHAMED**.*

*À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit à mes exigences et qui
n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **SAMIA**.*

*À mes chères sœurs **ROMEISSA** et **AMIRA**, et à mes chers frères **ADEM** et **BILLEL**, que
dieu vous garde pour moi.*

*À mon grand-père et ma grand-mère, mes oncles et mes tantes, que dieu leur donne une
longue vie.*

À ceux qui ont quitté cette vie, que dieu vous fasse miséricorde.

À tous les cousins, les voisins et les amies que j'ai connu jusqu'à maintenant.

*À mes enseignants et pour ceux qui m'ont donné de l'aide un jour, que dieu vous paye pour
tous vos bienfaits.*

*À celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que les self-made-men et les
déterminés finiront toujours par réussir leur vie, à moi-même.*

*Sans oublier mon binôme **NADA** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension
tout au long de ce projet, je t'aime.*

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je dédie ce mémoire.

Meriem

Remerciement

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*À notre encadreur Monsieur **OUINTEN** Mohammed, Professeur au département de biologie. Merci d'avoir accepté de diriger ce travail avec beaucoup d'efficacité.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre Co-encadreur, Docteur **EI-HOUITI** Fatiha du département de biologie pour son dévouement et son soutien inestimable tout au long de ce projet. Grâce à son engagement et à son encadrement rigoureux, nous avons mené à bien la partie expérimentale de ce mémoire. Ses conseils avisés ont été essentiels à la réussite de ce travail.*

*Nos vifs remerciements s'adressent également à M. **BOUBRIMA** Youcef, pour avoir accepté de présider notre jury et à M. **BENAMER** Ibrahim pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions profondément Madame **AISSAOUI** Abir, et Madame **ZEGRIR** Anfal pour sa grande disponibilité, ses encouragements, ses aides et son accompagnement et pour sa gentillesse à nos égards.*

*À Monsieur **YOUSFI** Mohammed, Professeur à l'Université de Laghouat Merci de nous avoir accueillis dans le Laboratoire de Recherche des Sciences Fondamentales et avoir mis à notre disposition tout le matériel nécessaire.*

Nous tenons aussi à présenter notre gratitude pour l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Résumé

Les extraits de plantes sont utilisés pour traiter différentes maladies, grâce à leurs propriétés biologiques. Ils servent comme biofongicides, pour substituer aux produits chimiques, toxiques en raison de leur activité antifongique.

Ce travail porte sur l'étude *in vitro* de l'activité antifongique des extraits méthanoliques des plantes *Helianthemum lippii*, *Helianthemum virgatum*, *Helianthemum ruficomum* et *Neatostema apulum*, vis-à-vis de trois champignons phytopathogènes du genre *Fusarium*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* : responsables de la baisse des rendements des cultures maraîchères.

Le pouvoir antifongique des extraits a été évalué séparément avec la méthode de contact direct en milieu solide avec différentes concentrations, 30, 15 et 10 µl/ml.

Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques de toutes les plantes testées présentent une activité antifongique intéressante, à la concentration 30 µl/ml, sur les trois souches. Toutefois, la plus forte activité a été enregistrée pour l'extrait de la plante *Helianthemum ruficomum* avec un taux d'inhibition de 37,5%.

Mots clés : extrait méthanolique, activité antifongique, biofongicide, *Fusarium*, *Helianthemum*, *Neatostema*.

Abstract:

Plants' extracts are used to treat various diseases due to their biological properties. They serve as biofungicides as a substitute for chemical products, which are toxic because of their antifungal activity.

This work focuses on the *in vitro* study of the antifungal activity of methanolic extracts from the plants *Helianthemum lippii*, *Helianthemum virgatum*, *Helianthemum ruficomum*, and *Neatostema apulum* against three phytopathogenic fungi of the genus *Fusarium*: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, and *Fusarium graminearum*, which are responsible for the decline in yields of vegetable crops.

The antifungal activity of the extracts was evaluated separately using the direct contact method in a solid medium with different concentrations: 30, 15, and 10 µl/ml.

The results obtained show that the methanolic extracts of all the tested plants exhibit interesting antifungal activity at a concentration of 30 µl/ml on the three strains. However, the highest activity was recorded for the extract of the plant *Helianthemum ruficomum* with an inhibition rate of 37.5%.

Keywords: methanolic extract, antifungal activity, biofungicide, *Fusarium*, *Helianthemum*, *Neatostema*.

ملخص:

تستخدم المستخلصات النباتية بشكل شائع لعلاج الأمراض المختلفة بفضل خصائصها البيولوجية. ومع ذلك، نادرًا ما تم الإبلاغ عن استخدامها كمبيدات حيوية لاستبدال المواد الكيميائية السامة.

يركز هذا العمل على الدراسة المختبرية للنشاط المضاد للفطريات لمستخلصات الميثانوليك للنبات *Helianthemum ruficomum*، *Helianthemum virgatum*، *Helianthemum ruficomum* و *Neatostema apulum*. مقابل ثلاثة فطريات ممرضة للنبات *Fusarium*، *Fusarium graminearum* و *Fusarium culmorum* و *oxysporum*.

تم تقييم الفعالية المضادة للفطريات للمستخلصات بشكل منفصل بطريقة التلامس المباشر في وسط صلب بتراكيز مختلفة 30، 15 و 10 ميكرو لتر/مل.

تظهر النتائج أن مستخلصات الميثانوليك لجميع النباتات التي تم اختبارها لها نشاط مضاد للفطريات جيد عند تركيز 30 ميكرو لتر/مل على السلالات الثلاث. ولكن سجل أعلى نشاط لـ *Helianthemum ruficomum* مع معدل تثبيط مرتفع.

الكلمات المفتاحية: مستخلص الميثانوليك، النشاط المضاد للفطريات، المبيدات الحيوية، الفوساريوم، *Helianthemum*، *Neatostema*.

Table des matières

| | |
|--|-----|
| Liste des Tableaux..... | III |
| Liste des figures | IV |
| Abréviations | IV |
| Introduction | 2 |
| I-Etude Bibliographique..... | 5 |
| I- 1- Généralités sur les plantes médicinales étudiées..... | 5 |
| I- 1-1-Généralités sur les genres étudiés | 5 |
| I- 1-1-1-Le genre <i>Helianthemum</i> | 5 |
| - <i>Helianthemum lippii</i> | 6 |
| - <i>Helianthemum ruficomum</i> | 6 |
| - <i>Helianthemum virgatum</i> | 7 |
| I- 1-1-2-Le genre <i>Neatostema</i> | 7 |
| - <i>Neatostema apulum</i> | 7 |
| I-1-3- La systématique des plantes étudiées..... | 8 |
| I-1-4- Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées..... | 8 |
| I-1-5- Métabolites secondaires | 9 |
| I-1-5-1- Classification | 10 |
| Les polyphénols | 10 |
| Les terpénoïdes..... | 10 |
| Les alcaloïdes | 11 |
| I-2- Les champignons phytopathogènes..... | 11 |
| Exemples de champignons phytopathogènes | 11 |
| I-3-Usage des extraits végétaux comme Biopesticides | 12 |
| II Matériels et Méthodes | 14 |
| II-1-Matériels | 14 |
| II-1-1-Le matériel végétal | 14 |
| II-1-2-Le matériel fongique..... | 14 |
| Généralité sur le genre <i>FUSARIUM</i> | 14 |

| | |
|---|----|
| <i>Fusarium culmorum</i> | 15 |
| <i>Fusarium graminearum</i> | 16 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | 17 |
| La stérilisation du matériel..... | 17 |
| II-2-Méthodes expérimentales..... | 18 |
| II-2-1-Préparation des extraits..... | 18 |
| Milieu de culture | 18 |
| II-2-2-L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct..... | 18 |
| II-2-2-1-Principe | 19 |
| II-2-2-2-Le mode opératoire..... | 19 |
| Préparation des différentes concentrations..... | 19 |
| La préparation du mélange milieu de culture et extraits | 19 |
| Ensemencement..... | 19 |
| II-2-2-3-Évaluation de la croissance mycélienne..... | 21 |
| II-2-2-4-Analyse statistique..... | 21 |
| III Résultats et discussions | 23 |
| III-1 Evaluation de l'activité antifongique des extraits de différentes espèces étudiées | 23 |
| III- 1-1 Evaluation de la croissance mycélienne vis-à-vis des extraits méthanoliques | 23 |
| III-1-1-1-Activité antifongique des extraits méthanoliques sur le <i>Fusarium graminearum</i> : | 23 |
| III-1-1-2 : Activité antifongique des extraits méthanoliques sur le <i>Fusarium oxysporum</i> | 25 |
| III-1-1-3 Activité antifongique des extraits méthanoliques sur le <i>Fusarium culmorum</i> | 26 |
| III-1-2 Evaluation du taux d'inhibition vis-à-vis des extraits méthanoliques | 28 |
| Conclusion..... | 33 |
| Références bibliographiques | 35 |
| Annexes..... | 41 |

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Liste des espèces prélevées avec zone et dates de prélèvement..... | 5 |
| Tableau 2: Classification botanique des plantes étudiées. | 8 |
| Tableau 3: Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées..... | 8 |
| Tableau 4: Les souches fongiques étudiées | 14 |
| Tableau 5: Les volumes de dilution des extraits. | 19 |
| Tableau 6: Les diamètres de la croissance mycélienne du <i>Fusarium graminearum</i> pendant les jours d'incubation. | 42 |
| Tableau 7: Les diamètres de la croissance mycélienne du <i>Fusarium oxysporum</i> pendant les jours d'incubation. | 42 |
| Tableau 8: les diamètres de la croissance mycélienne du <i>Fusarium culmorum</i> pendant les jours d'incubation. | 43 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: photo illustrant <i>Helianthemum lippii</i> | 6 |
| Figure 2: Photo illustrant <i>Helianthemum ruficomum</i> | 6 |
| Figure 3: Photo illustrant <i>Helianthemum virgatum</i> | 7 |
| Figure 4: Photo illustrant <i>Neatostema apulum</i> | 7 |
| Figure 5: Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i> (DrMicrobe)..... | 15 |
| Figure 6: (a) <i>Fusarium culmorum</i> , (b) Les macronidies (Pitt et Hocking, 2022). | 16 |
| Figure 7: (a) <i>Fusarium graminearum</i> , (b) Le périthèce et des ascospores, (c) Les macronidies (Pitt et Hocking, 2022)..... | 16 |
| Figure 8: (a) <i>Fusarium oxysporum</i> , (b) phialides, (c) micronidies et macronidies (Pitt et Hocking, 2022). | 17 |
| Figure 9: Repiquage du <i>Fusarium graminearum</i> | 20 |
| Figure 10 : Illustration du protocole de la méthode de contact direct avec différentes dilutions.... | 20 |
| Figure 11: La cinétique de la croissance mycélienne de <i>Fusarium graminearum</i> , en présence des différentes concentrations des extraits. | 23 |
| Figure 12: L'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium graminearum</i> | 24 |
| Figure 13: La cinétique de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> , en présence de différentes concentrations des extraits. | 25 |
| Figure 14: L'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> | 26 |
| Figure 15: La cinétique de la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> , en présence de différentes concentrations des extraits méthanoliques. | 26 |
| Figure 16: L'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> | 27 |
| Figure 17: Les taux d'inhibition de la croissance fongique de la souche <i>Fusarium graminearum</i> , à différentes concentrations des extraits des plantes étudiées..... | 28 |
| Figure 18: Les taux d'inhibition de la croissance fongique de <i>Fusarium oxysporum</i> , à différentes concentration des extraits des plantes étudiées. | 28 |
| Figure 19: Les taux d'inhibition de la croissance fongique de <i>Fusarium culmorum</i> , à différentes concentration des extraits des plantes étudiées. | 29 |
| Figure 20: photo illustrant la préparation du milieu de culture..... | 41 |
| Figure 21: La solution d'agar..... | 41 |

Abréviations

DON : déoxynivalenol

DMSO : diméthylsulfoxyde

FSB : la brûlure fusarienne des semis

HL ou Hl : *Helianthemum lippii*

HR ou Hr : *Helianthemum ruficomum*

HV ou Hv : *Helianthemum virgatum*

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

Na ou Na : *Neatostema apulum*

NIV : nivalenol

PDA : Potato Dextrose Agar

ROS : Reactive Oxygen Species

ZEN : zearalenone

Introduction

Introduction

Dans la nature, le règne végétal émerge comme un pilier de vitalité et de potentiel inépuisable. Il offre à l'humanité un véritable trésor de guérison et de bien-être. Depuis les anciens temps, les plantes ont constitué une source de nourriture et de médicaments (analgésiques, anti-inflammatoires, antinéoplasiques, anti-infections) (**Maharjan, 2008**). Les plantes utilisées pour un but curatif destinée aux animaux, végétaux et humains sont appelées « les plantes médicinales ». Elles ont occupé une place centrale dans les systèmes de soins de la santé traditionnelle, à travers le monde (**Murtaza et al., 2015**).

Les plantes médicinales ont un rôle économique majeur dans les secteurs de la pharmacie, de la médecine, des cosmétiques et des industries de l'agroalimentaire, grâce aux principes actifs qu'elles contiennent. Elles synthétisent des composés chimiques appelés métabolites secondaires qui ne sont pas issus directement de la photosynthèse, mais résultent de diverses réactions chimiques. Ces derniers permettent à la plante de se protéger contre les maladies et les agressions externes (**Jagessar et Research, 2020**). De nos jours, les métabolites secondaires, à savoir les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins, suscitent de plus en plus l'intérêt des chercheurs, en raison de leur efficacité dans les divers activités biologiques (antioxydantes, antibactériennes et antifongiques) (**Chelaghema, 2021**).

L'agriculture mondiale est gravement menacée par de nombreuses maladies d'origine fongique. Des champignons phytopathogènes appartenant essentiellement au genre *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* synthétisent des mycotoxines contaminant les cultures en compromettant la sécurité alimentaire et en entraînant des pertes économiques significatives. Pour toutes ces raisons l'utilisation des fongicides synthétiques est l'un des moyens les plus fréquemment utilisés pour la lutte. Cependant, ces produits chimiques utilisés provoquent des effets secondaires néfastes pour l'homme et l'environnement (**Uwineza et al., 2018**).

Face à cette situation, des extraits bruts, de plusieurs espèces botaniques, à activité antifongique connue sous le nom de biofongicides peuvent être une bonne alternative aux pesticides chimiques (**Mahlo et al., 2016**). La richesse de la flore algérienne offre un potentiel immense pour l'exploitation de nombreuses plantes comme source de composés naturels bioactifs (**Bouabdallah, 2022**). Ces plantes, des produits locaux et accessibles aux producteurs, peuvent être mises à profit pour traiter efficacement les infections mycosiques.

L'utilisation de ces plantes nécessite des expérimentations pour confirmer leur efficacité. C'est dans ce contexte que ce travail a été consacré à l'évaluation de l'activité antifongique in vitro des extraits méthanoliques de quatre plantes sur la croissance des espèces du genre *Fusarium* pathogènes de la tomate.

Le travail présenté dans ce manuscrit est reparti en trois parties :

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique concernant les plantes médicinales étudiées, les métabolites secondaires, les champignons phytopathogènes et l'utilisation des extraits végétaux comme des biopesticides.

- Le deuxième chapitre représente l'étude expérimentale, les matériels et les méthodes utilisés dans ce travail.
- La troisième partie expose les résultats obtenus et leurs discussions.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives de ce travail.

Etude
Bibliographique

I-Etude Bibliographique

I - 1- Généralités sur les plantes médicinales étudiées

Les plantes médicinales constituent, depuis longtemps, une source de molécules intéressantes pour le monde industriel en raison de leurs propriétés. L'intérêt des plantes médicinales réside dans le fait qu'elles renferment des principes actifs, qu'elles peuvent sécréter en réponse au stress, appelés métabolites secondaires (Mkongwa, 2022).

L'Algérie offre une grande diversité floristique. Il est parmi les pays producteurs de plantes médicinales, répandues dans la nature ou cultivées (Hamdi *et al.*, 2017).

Parmi les nombreuses plantes encore non étudiées nous avons sélectionné trois espèces végétales du genre *Helianthemum* (*Helianthemum Lippii*, *Helianthemum virgatum* et *Helianthemum ruficomum*) et une espèce du genre *Neatostema* (*Neatostema apulum*) pour évaluer leur activité antifongique contre trois espèces phytopathogènes.

Tableau 1: Liste des espèces prélevées avec zone et dates de prélèvement.

| Zone de prélèvement | Nom scientifique d'espèce | Dates de prélèvement |
|--------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Guelttat sidi saâd, Laghout | <i>Helianthemum lippii</i> | 15/04/2023 |
| | <i>Helianthemum virgatum</i> | 27/04/2023 |
| | <i>Helianthemum ruficomum</i> | 15/04/2023 |
| | <i>Neatostema apulum</i> | 15/04/2023 |

I - 1-1-Généralités sur les genres étudiés

I - 1-1-1-Le genre *Helianthemum*

Le genre *Helianthemum* appartient à la famille des Cistacées. Il est originaire du bassin méditerranéen, d'Asie et des Amériques (Raynaud, 1984).

Il comprend quatre-vingt espèces. C sont des arbres persistants ou des sous-arbrisseaux, aux feuilles opposées oblongues, linéaire et de couleur vert-argenté à vert gris (Benchadi, 2020).

La couleur des fleurs de ces espèces varie du rouge au jaune. Elles sont actinomorphes et bisexuées, portant 5 sépales libres et inégaux, 5 pétales libres, de nombreuses étamines libres, et un ovaire supère triloculaire.

Les espèces du genre *Helianthemum* fleurissent de mai à septembre. Elle sont adaptées aux milieux ensoleillés et secs (Benabdelaziz, 2015).

Ces especes sont connues pour leur propriétés biologiques (antioxydante, antitumorale, anti-inflammatoire, antifongique et antiviral) (Benchadi, 2020).

-Helianthemum lippii

Helianthemum lippii est une plante buissonnante polymorphe ne dépassant, généralement, pas 50 cm de hauteur, avec des tiges raides, partiellement lignifiées et une écorce blanche. Ses feuilles, opposées, sont allongées et recouvertes de courts poils, leur conférant une teinte vert blanchâtre. Les fleurs, de petite taille, jaunes et sessiles, se regroupent en grappes, peu denses à l'extrémité des branches. Elles sont minuscules et possèdent cinq pétales (**Mahboub, 2018**).

On le croise, couramment, cette espèce dans les zones désertiques sahariennes. Son territoire couvre presque toute l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye). On la trouve aussi en Syrie, en Égypte, au Soudan, au Qatar et en Arabie Saoudite (**Benabdelaziz, 2015**).



Figure 1: photo illustrant *Helianthemum lippii*.

-Helianthemum ruficomum

Helianthemum ruficomum possède une base ou souche ligneuse, une tige dressée ou légèrement étalée, des feuilles oblongues ou légèrement ovales enroulées sur leurs bords inférieurs, velues en dessous et hérissées de poils disposés en étoiles sur de minuscules tubercules. Ses calices sont très poilus, avec de nombreux poils blancs serrés, légèrement étalés, et des pétales jaunes.

On trouve cette espèce, généralement, dans les lieux ensoleillés et rocailleux. Elle est abondante dans les régions désertiques d'Algérie et du Maroc (**Benchadi, 2020**).



Figure 2: Photo illustrant *Helianthemum ruficomum*.

-Helianthemum virgatum

Helianthemum virgatum est un arbuste semi-ligneux, à feuillage persistant, mesurant environ un pied de hauteur. Il est caractérisé par des branches dressées, ramifiées et cendrées, des feuilles linéaires et enroulées sur les bords. Ses fleurs sont grandes, délicates, de couleur rose en dessous, avec une tache jaune à la base de chaque pétale. Cette plante fleurit et produit des graines de mai à août.

On la trouve dans des zones sèches, des collines arides et des pentes de montagnes. Elle est répartie au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Tripolitaine, en Cyrénaïque, en Marmarique, en Espagne et aux Îles Baléares (**Houard, 1913**).



Figure 3: Photo illustrant *Helianthemum virgatum*.

I - 1-1-2-Le genre *Neatostema*

Ce genre fait partie de la famille des Boraginaceae. Il est monotypique ; la seule espèce représentant le genre est *Neatostema apulum* Elle présente une propriété antioxydante.

-Neatostema apulum

C'est une plante annuelle à corps dressée. La tige est ramifiée dans sa partie supérieure. Les feuilles sont petites, linéaires, rudes. La plante est caractérisée par des fleurs jaunes subsessiles, en grappe recourbées, avec un calice très hispide et une corolle pubescente. Les étamines sont insérées près de la base du tube, les carpelles sont fauves, rugueux et tuberculeux. La floraison se produit d'avril à juin.

Cette espèce supporte les lieux secs et arides. Elle est originaire des îles Canaries et est répartie de la Méditerranée au nord de la péninsule arabique (**TelaBotanica, 2011**).



Figure 4: Photo illustrant *Neatostema apulum*.

I -1-3- La systématique des plantes étudiées

La classification botanique des quatre espèces étudiées (*Helianthemum lippii*, *Helianthemum ruficomum*, *Helianthemum virgatum* et *Neatostema apulum*) est représentée dans le tableau 2.

Tableau 2: Classification botanique des plantes étudiées.

| Classement | <i>H. lippii</i> | <i>H. ruficomum</i> | <i>H. virgatum</i> | <i>N. apulum</i> |
|-------------|---------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|
| Règne | Plantae | Plantae | Plantae | Plantae |
| Sous-règne | Tracheobionta | Tracheobionta | Tracheobionta | Viridaplantae |
| Division | Magnoliophyta | Magnoliophyta | Magnoliophyta | Equisetopsida |
| Classe | Dicotylédones | Dicotylédones | Dicotylédones | Magnolidae |
| Sous-classe | Dilleniidae | Dilleniidae | Rosidae | Asteranae |
| Ordre | Malvales | Malvales | Malvales | Boraginales |
| Famille | Cistaceae | Cistaceae | Cistaceae | Boraginaceae |
| Genre | <i>Helianthemum</i> | <i>Helianthemum</i> | <i>Helianthemum</i> | <i>Neatostema</i> |
| Espèce | <i>H. lippii</i> | <i>H. ruficomum</i> | <i>H. virgatum</i> | <i>N. apulum</i> |
| Références | (Botineau, 2010) | Base de données (TelaBotanica, 2011) | Base de données (TelaBotanica, 2011) | Base de données (Gbif) |

I -1-4- Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées

La recherche bibliographique des travaux réalisés sur les plantes que nous avons étudiées est rapportée dans le tableau 3.

Tableau 3: Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées.

| Travail Réalisé | Référence |
|--|-------------------------------|
| <i>Helianthemum ruficomum</i> | |
| Criblage, isolement et identification en ligne de composés antioxydants d' <i>Helianthemum ruficomum</i> . | Chemam <i>et al.</i> , 2017 |
| L'effet protecteur des extraits des <i>Helianthemum Confertum</i> et <i>Helianthemum ruficomum</i> vis-à-vis de la bactérie induite par la doxorubicine. | Djebbari et Zaama., 2017 |
| Constituants chimiques des espèces <i>Helianthemum hirtum</i> ssp. <i>ruficomum</i> (Cistaceae) et <i>Onobrychis crista-galli</i> (Fabaceae). | Benchadi <i>et al.</i> , 2020 |
| Premier rapport sur la composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Helianthemum ruficomum</i> (cistaceae). | Chemam <i>et al.</i> , 2022 |

| Travail Réalisé | Référence |
|---|-------------------------------|
| <i>Helianthemum Lippii</i> | |
| Criblage des activités analgésiques et anti-inflammatoires de deux plantes médicinales libyennes : <i>Helianthemum lippii</i> et <i>Launaea residifolia</i> . | Ermeli <i>et al.</i> , 2012 |
| Propriétés phytochimiques, antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti-ulcéreuses de <i>Helianthemum lippii</i> . | Alsabri <i>et al.</i> , 2013 |
| Activité cytotoxique de <i>Helianthemum Lippii</i> . | Bensaber <i>et al.</i> , 2014 |
| Étude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes de <i>Helianthemum lippii</i> (L.) pers. à différentes étapes de croissance (somatique, floraison, et fructification). | Chouikh <i>et al.</i> , 2015 |
| Constituants phytochimiques des parties aériennes d'une espèce endémique du genre <i>Helianthemum</i> de la famille Cistaceae d'Algérie. | Chemam <i>et al.</i> , 2017 |
| Caractérisation des extraits d'acétate d'éthyle et de n-butanol de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> et <i>Helianthemum lippii</i> et leur effet sur le muscle lisse du côlon distal du rat. | Djemam <i>et al.</i> , 2020 |
| Enquête phytochimique sur <i>Helianthemum lippii</i> l. Partie aérienne Dum.Cours et évaluation de ses activités antioxydantes. | Laib et Boutlelis., 2022 |
| Synthèse verte de nanoparticules d'argent à partir d'extraits d' <i>Helianthem lippii</i> (HI-NPs) : Caractérisation, activités antioxydantes et antibactériennes et étude de l'interaction avec l'ADN. | Laib <i>et al.</i> , 2023 |
| <i>Helianthemum Virgatum</i> | |
| <i>Helianthemum Virgatum</i> a un effet analgésique chez la souris. | Zetrini <i>et al.</i> , 2009 |
| <i>Neatostema apulum</i> | |
| Alcaloïdes pyrrolizidine de <i>Neatostema apulum</i> . | Roeder et Bourauei.,1992 |

I -1-5- Métabolites secondaires

Les végétaux synthétisent une très large gamme de composés organiques. Une partie de ces composés, dits métabolites primaires, fournissent les molécules de base essentielles comme les acides nucléiques, les lipides, les protéines, les acides aminés et les glucides (**Franz, 2002**). Cependant, les plantes ne produisent pas uniquement ces métabolites primaires issus directement de la photosynthèse. Elles élaborent, également, un grand nombre d'autres composés résultant de réactions chimiques ultérieures. Ces molécules, qui ne proviennent pas de la photosynthèse, sont qualifiées de métabolites secondaires (**Chen *et al.*, 2022**). Ils ont une répartition plus limitée dans la plante et jouent des rôles adaptatifs tels que :

- La défense contre les pathogènes, les herbivores et les stress environnementaux, grâce à des composés répulsifs ou toxiques ;

- L'attraction des insectes pollinisateurs et des agents de dispersion via les pigments et les parfums ;
- Les interactions avec d'autres organismes (allélopathie et symbiose).

I -1-5-1- Classification

Les métabolites secondaires sont classés en trois grandes classes :

- Les polyphénols ;
- Les terpénoïdes et leurs dérivés ;
- Les alcaloïdes.

Les polyphénols : également appelés composés phénoliques, les polyphénols sont synthétisés par les végétaux (**Ebrahimi et Lante, 2021**). Ces composés sont caractérisés par la présence d'un noyau benzénique lié directement avec un groupement hydroxyle libre ou liés avec d'autres fonctions telles que les éthers, les esters, les hétérosides, etc...

Les classes majoritaires des composants phénoliques englobent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (**Abbas et al., 2017**). Ces différentes classes de polyphénols jouent un rôle essentiel dans la protection et la défense des plantes contre divers stress ou risques environnementaux. De plus, les composés phénoliques sont utilisés en phytothérapie, pour leurs propriétés thérapeutiques (**Marref, 2019**).

- **Les flavonoïdes :** ce sont des pigments polyphénoliques dotés de nombreuses activités biologiques (activités antibactérienne, antiparasitaire et antitumorale (**Hamad, 2021**)).
- **Les phénols :** Ils sont très diversifiés. Les acides phénoliques se distinguent par leurs fortes activités antioxydante et anti-inflammatoire. Ils peuvent également présenter des propriétés antivirale, une action antiseptiques et une action anti-inflammatoire (**Obame-Engonga, 2009**).
- **Les tanins :** parmi les composés présents dans, presque, toutes les plantes, à des degrés différents. Ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques, produits au cours de la peroxydation (**Hamad, 2021**). Les tanins sont réputés pour leurs activités antioxydante et antiparasitaire.
- **Les coumarines :** on les trouve dans de nombreuses espèces végétales. Grace à diverses propriétés, elles protègent les lipides membranaires de la peroxydation et captent les radicaux libres. Ainsi, la présence d'antioxydants naturels dans les aliments joue un rôle crucial dans la prévention des maladies (**Hamad, 2021**).

Les terpénoïdes : également connus sous le nom d'isoprénoïdes, sont des composés résultant de la condensation de base de 5 carbones de type isoprène. On les retrouve principalement sous la forme d'huiles essentielles. Ils présentent une texture huileuse, fluide, voire résineuse, et sont très parfumés, volatils, colorés et plus légers que l'eau. Ils sont, généralement, localisés dans toutes les parties de la plante (les feuilles, les tiges, les fleurs et les racines). Vues de leurs qualités aromatiques, ils sont utilisés dans divers domaines. Par exemple, en thérapeutique, ils agissent comme des antioxydants et des antibactériens (**Abbas et al., 2017**).

Les alcaloïdes : ce sont des composés organiques azotés, d'origine végétale, caractérisés par leur nature basique et leur structure complexe, comprenant un noyau hétérocyclique. On les trouve dans diverses familles de plantes. La majorité des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et dans l'alcool. De plus, ils ont un goût amer, et, parfois, fortement toxiques (**Olofinsan et al., 2023**). Généralement, leurs caractéristiques sont diverses et leurs activités biologiques dépendent de leurs composants chimiques. Ainsi, à titre d'exemple, la céphaline a des propriétés antifongique et antibactérienne alors que l'émétine est un antibactérien, anti protozoaire et anti-amibiase (**Obame-Engonga, 2009**).

I -2- Les champignons phytopathogènes

Ce sont des espèces de micromycètes parasites destructeurs des plantes. Ils provoquent des maladies cryptogamiques. Ils appartiennent au règne des mycètes les ascomycètes, les chytridiomycètes, les basidiomycètes, les zygomycètes et les deutéromycètes.

Les champignons peuvent causer d'énormes dégâts aux plantes, en entraînant la destruction de la structure cellulaire et l'altération des fonctions physiologiques et des voies métaboliques. Ces perturbations ont de lourdes conséquences sur les plantes infectées, car tout dysfonctionnement d'un organe ou d'une fonction peut avoir des effets en cascades (**Mercier, 2019**).

Les champignons peuvent infecter les plantes de plusieurs façons : Invasions des tissus, sécrétion de toxines et blocage des voies de transport (**Mercier, 2019**).

Exemples de champignons phytopathogènes

La liste des champignons provoquant des maladies sur les plantes est très longue. Nous citons à titre d'exemple les espèces ci-après :

-*Botrytis cinerea* : il provoque la pourriture grise chez la tomate, le haricot et la fraise.

-*Fusarium graminearum* : agent de la fusariose du blé et du maïs.

-*Fusarium oxysporum* : Il colonise les tissus vasculaires et provoque le flétrissement de la plante.

Les espèces de *Fusarium* présentent l'un des risques les plus graves pour les cultures. La contamination par les espèces de *Fusarium* est généralement associée à l'infection des plantes et à l'accumulation de mycotoxines nocives telles que les Trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines. Parmi ceux-ci, le *Fusarium graminearum* est considéré dangereux car il peut produire des Trichothécènes, des Zéaralénone, et d'autres métabolites secondaires comme le Culmorin, le Saunbucinol et la butenolide. (**Chelaghema, 2021**).

De nombreuses recherches ont été menées sur l'efficacité antifongique des extraits de plantes médicinales. L'application de ces extraits en tant que fongicides s'est révélée prometteuse. Leur activité antifongique est due à la présence de métabolites secondaires. Les trois types de groupes, le plus fréquemment responsables de cette activité, sont, respectivement, les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Mkongwa, 2022**).

I-3-Usage des extraits végétaux comme Biopesticides

Actuellement, il existe encore différents pesticides chimiques utilisés pour contrôler les agents pathogènes fongiques. Ils présentent l'effet le plus rapide et le plus élevé. Mais, cette méthode a des limites et peut avoir des conséquences néfastes sur la santé humaine et sur l'environnement (**Deravel *et al.*, 2013**) :

- Ils engendrent des dégâts écologiques majeurs : ils polluent les sols et les sources d'eau, ils détruisent les communautés entomologiques, ils provoquent des mutations pathologiques chez de nombreuses populations d'animaux, ils sont non biodégradables et sont coûteux.
- Ils posent un risque pour la santé humaine : ils sont toxiques pour les agriculteurs et les consommateurs.
- Ils provoquent une pression de sélection conduisant au développement de la résistance chez les champignons traités (**Scherm *et al.*, 2013**).

En réponse à cette menace, les plantes médicinales répandues dans la nature ou cultivées artificiellement, sont connues pour leurs effets fongicides avec des effets secondaires négligeables. Elles peuvent être de bons réservoirs de molécules bioactives sur plusieurs cibles cellulaires. Certaines espèces et certaines familles de plantes ont des activités connues : les Mimosaceae pour leur teneur élevée en tannins, les boraginacées pour leur teneur élevée en alcaloïdes et les lamiacées pour leur richesse en polyphénols et flavonoïdes (**Zarins *et al.*, 2009**).

Ces substances antifongiques agissent selon quatre principaux mécanismes :

- En ciblant directement la paroi fongique pour induire la mort de la cellule ;
- En provoquant le dysfonctionnement des mitochondries fongiques ;
- En inhibant les pompes à efflux ;
- En induisant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Chelaghema, 2021**).

On peut citer les bénéfices essentiels de l'utilisation de biopesticides de la manière suivante :

- Conçu pour être efficace en très petites quantités contre un champignon spécifique ou un groupe déterminé de champignons.
- Se décompose rapidement ; ce qui empêche efficacement la pollution de l'environnement. Il est, ainsi, moins dangereux pour la santé.
- Moins coûteux et plus abordable que tout autre moyen de lutte. Aussi, la situation géographique de l'Algérie offre une grande diversité floristique (**Benlahrache et Boudjema, 2022**).
- Une source importante de biopesticides peut être disponible, ce qui rend leur adaptation abordable et utile pour une application agricole à grande échelle. Cela augmente la position économique et la productivité agricole du pays (**Lengai, 2016**).

Matériels et Méthodes

II Matériels et Méthodes

II-1-Matériels

II-1-1-Le matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé, essentiellement, de la poudre des plantes (*Helianthemum lippii*, *Helianthemum ruficomum*, *Helianthemum virgatum* et *Neatostema apulum*). Les échantillons de toutes les parties aériennes des plantes et les fleurs, feuilles et fruits de la plante *Helianthemum virgatum* ont été utilisés pour l'extraction.

II-1-2-Le matériel fongique

Pour l'évaluation de l'activité antifongique des extraits nous avons choisi trois souches fongiques de références (qui sont issus d'une culture pure préparé au préalable) présentées dans le tableau ci-après :

Tableau 4: Les souches fongiques étudiées

| Espèce | Code |
|-----------------------------|----------|
| <i>Fusarium graminearum</i> | INRA 812 |
| <i>Fusarium culmorum</i> | T7 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | FOP |

Généralité sur le genre *FUSARIUM*

C'est un genre des champignons filamenteux, qui se caractérise comme étant un agent pathogène affectant l'homme, les animaux et les plantes (Vajou, 2023). Il est nommé « *Fusarium* » car leurs spores ayant une forme de fuseau (Heit, 2015). Il appartient à la classe des Sordariomycètes, l'ordre de Hypocreales et la famille des Nectriaceae. La première fois il a été décrit sous le nom « *fusisporium* » par Johan Heinrich Friedrich Link en 1809.

On peut classer le *Fusarium* selon leur forme sexuée ou asexuée :

- Anamorphe, si le champignon a une forme asexuée, appelée aussi forme imparfaite.
- Téléomorphe, c'est quand le champignon possède la forme sexuée, appelée aussi forme parfaite (Vajou, 2023).

De plus, trois types de spores sont produits par les espèces de genre *Fusarium* : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores (EL-Houti, 2018).

Ce genre est considéré parmi les champignons les plus dangereux pour les cultures d'importance agronomique (Dongzhen *et al.*, 2020) en raison de sa sécrétion des métabolites secondaires et des toxines (mycotoxines) (Kant *et al.*, 2011) susceptibles d'induire des maladies (les fusarioses), chez certaines plantes (céréales, légumes et même des arbres fruitiers).

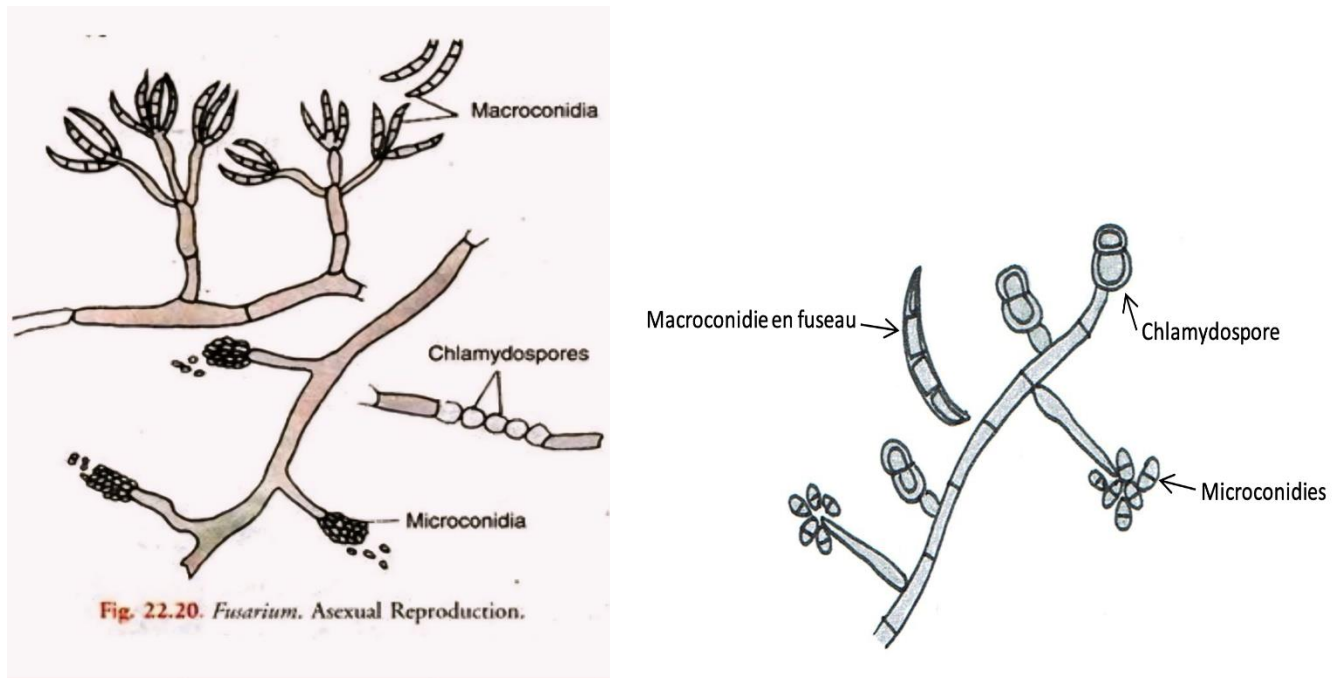


Figure 5: Caractères morphologiques des *Fusarium* (DrMicrobe)

Fusarium culmorum

C'est un champignon qui présente une menace pour les plantes quel que soit le stade de leur développement. Il agit en tant qu'agent pathogène des céréales. Parmi les symptômes les plus abondants de la fusariose du blé nous avons la brûlure fusarienne des semis (FSB), la pourriture des racines, et des tiges. Ce champignon produit de nombreuses toxines dangereuses telles que la déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV) et le Zéaralénone (ZEN)(Pastuszak *et al.*, 2021).

Avec une vue microscopique, les macroconidies sont relativement courtes, robustes et légèrement courbées (Scherm *et al.*, 2013). Elles sont d'une taille de 28,5 à 58,1 μ m et présentent 3 à 5 septas (cloisons). Les microconidies sont absentes. Les chlamydospores sont ovales à globuleuses en chaînes ou en touffes (Xu *et al.*, 2020).

À une température optimale de 25°C et sur le milieu PDA gélosé, la colonie se développe et pousse rapidement (Scherm *et al.*, 2013).

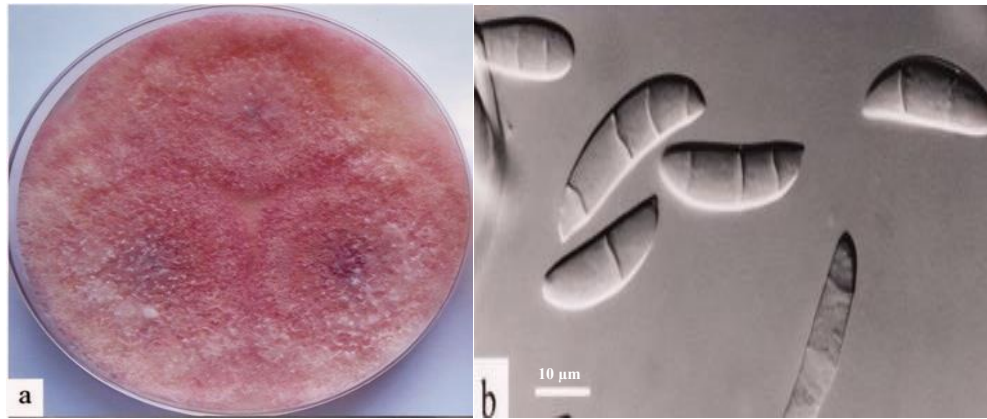


Figure 6: (a) *Fusarium culmorum*, (b) Les macronidies (Pitt et Hocking, 2022).

Fusarium graminearum

Le *F. graminearum* est principalement un agent pathogène des plantes graminées. Il provoque la pourriture du collet, chez le blé. Il provoque également la pourriture des épis et la pourriture de la tige du maïs, dans de nombreux pays, à cause de la présence du déoxynivalénol (DON) et du zéaralénone (ZEN). D'autres sources confirment que ce champignon peut, aussi, affecter la betterave sucrière et peut aussi provoquer la pourriture sèche de la pommes de terre, la pourriture post-récolte des citrouilles et la pourriture du collet du bananier (Pitt et Hocking, 2022).

Cette espèce fongique se caractérise par des macroconidies légèrement incurvées aux extrémités et pédicellées sous forme de fuseau. La macroconidie est composée, généralement, de 3 à 7 cloisons (septas) (Savignac, 2023). La taille est de la macroconidie est de 27 à 40 µm (Tivoli, 1988). Il n'y a pas de microconidies. Les chlamydozoospores, globuleuses intercalaires, sont formées dans le mycélium et parfois dans les conidies (EL-Houiti, 2018).

La température optimale et idéale pour la croissance de ce champignon est de 24°C à 26°C, sur le milieu solide PDA (Pitt et Hocking, 2022).

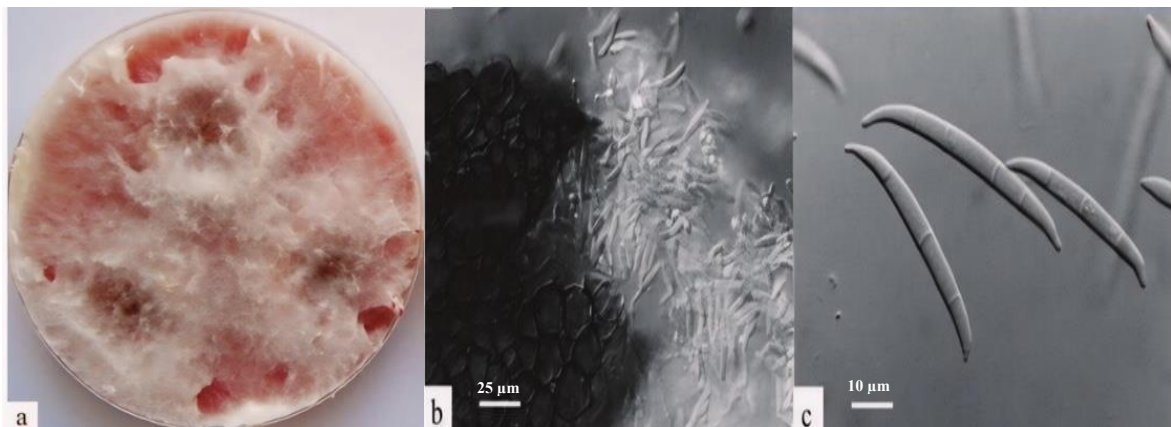


Figure 7: (a) *Fusarium graminearum*, (b) Le périthèce et des ascospores, (c) Les macronidies (Pitt et Hocking, 2022).

Fusarium oxysporum

Le *F. oxysporum* est parmi les espèces de genre *Fusarium*. Cette espèce est très importante sur le plan économique. Elle est très répandue et figure parmi les champignons pathogènes les plus destructeurs (Pitt et Hocking, 2022). *Fusarium oxysporum* peut causer de graves pertes dans de nombreuses récoltes de grandes cultures, telles que le cotonnier, les céréales et le palmier dattier (Michielse et Rep, 2009).

Les Macroconidies sont légèrement courbées. Elles sont, généralement, à 3 cloisons ou plus, à parois minces, à cellules basales échancrées courtes, sous forme de pied et de taille 27 à 46 μm . Les microconidies sont abondantes. Les chlamydoconidies sont terminales ou intercalaires sur le mycélium (Kachkouch *et al.*, 2012).

Pour le *Fusarium oxysporum*, la température optimale de croissance est entre 25 et 30 $^{\circ}\text{C}$.

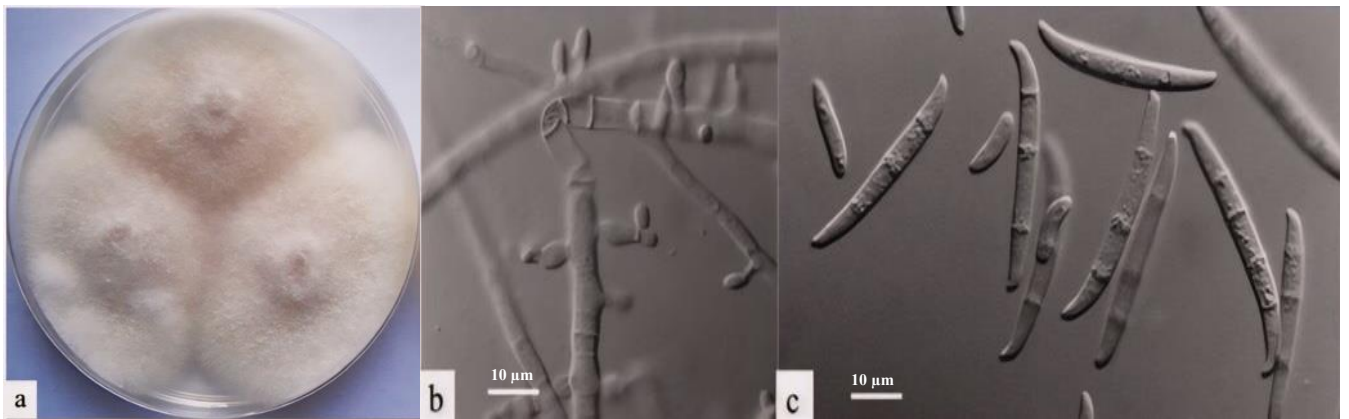


Figure 8: (a) *Fusarium oxysporum*, (b) phialides, (c) micronidies et macronidies (Pitt et Hocking, 2022).

La stérilisation du matériel

Les pipettes pasteur et les tubes à essai utilisés dans la préparation des extraits ont été enrobés dans du papier aluminium et stérilisés à sec dans un four pasteur. Le milieu de culture et la gélose nutritive ont été stérilisés à l'autoclave à 121 $^{\circ}\text{C}$ pendant 15 minutes.

II-2-Méthodes expérimentales

II-2-1-Préparation des extraits

Les extraits bruts ont été obtenus par deux différentes méthodes : la sonication a été utilisée pour la plante *Neatostema apulum*, tandis que la méthode de soxhlet a été employée pour les trois autres plantes.

Une quantité de la poudre végétale a été extraite au Soxhlet par le méthanol et filtrée en utilisant des microfiltres de 0,22 µm. Ensuite, évaporées sous vide à 37°C. Le résidu a été conservé à une température ambiante jusqu'au jour de la manipulation.

Les extraits secs ont été dissous dans du DMSO, à raison de 33,33 mg/ml, pour préparer les différentes concentrations, avec des dilutions successives.

En prenant en compte que le solvant ne devrait pas entraver le processus biologique, la majorité des auteurs ont prouvé que le DMSO n'a pas de pouvoir antifongique (Zouaoui *et al.*, 2018).

Nous tenons à préciser que nous avons reçu ces extraits étaient déjà prêts à l'emploi. Ils ont été préparés par des partenaires universitaires avant d'être mis à notre disposition.

Milieu de culture

L'environnement direct des espèces étudiées est le milieu de culture. Il joue un rôle important dans la détermination de l'activité antifongique d'une substance.

Potato Dextrose Agar (PDA) est un milieu largement utilisé, en microbiologie végétale, pour isoler et cultiver divers champignons pathogènes des plantes. Il fournit les nutriments nécessaires à leur développement, notamment les glucides (dextrose) et les composés organiques dérivés des pommes de terre. C'est un milieu riche et non sélectif ; ce qui signifie qu'il favorise la croissance d'un large éventail de champignons, y compris ceux qui causent des maladies chez les végétaux (Eloutassi et Bouchra, 2020).

II-2-2-L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct

Le test de l'activité antifongique de nos extraits sur le développement mycélien des trois souches phytopathogènes a été effectué en utilisant la méthode de contact direct, sur du milieu PDA. L'objectif était de déterminer les taux d'inhibition et la cinétique de la croissance mycélienne, en comparant leurs actions à différentes concentrations.

II-2-2-1-Principe

La méthode de contact direct, pour l'évaluation du pouvoir antifongique, consiste à incorporer différentes concentrations de l'extrait végétal dans un milieu de culture gélosé, avant sa solidification, et ensemercer avec un disque mycélien des souches fongiques au centre d'une boîte de pétri. Après incubation à température ambiante, la croissance mycélienne est mesurée et comparée aux cultures témoins négatifs (sans extrait) afin d'évaluer la sensibilité des souches étudiées (**Hamdani, 2015**)

II-2-2-2-Le mode opératoire

Préparation des différentes concentrations

Les extraits bruts (solutions mères préparées avec du DMSO) sont dilués dans des volumes variables de la suspension stérile d'agar à 0,2% pour avoir des concentrations finales de 30, 15 et 10 $\mu\text{l/ml}$.

Le tableau 5 présente les différents volumes pris pour chaque concentration

Tableau 5: Les volumes de dilution des extraits.

| Cf ($\mu\text{l/ml}$) | V extrait (μl) | V agar agar (μl) |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 30 | 450 | 1050 |
| 15 | 225 | 1275 |
| 10 | 150 | 2700 |

La préparation du mélange milieu de culture et extraits

On ajoute 1,5 ml de chacune des dilutions dans des tubes à essai contenant chacun 13,5 ml de PDA gélosé, stérilisé à l'autoclave (20 min à 121°C) et refroidi jusqu'à 45°C. Pour chaque souche et chaque série d'essais, des témoins de croissance sont réalisés contenant 13,5 ml de PDA plus 1,5 ml de la solution d'agar, sans extrait. Les tubes sont agités au vortex puis le contenu est coulé dans des boîtes de Pétri.

Ensemencement

Après solidification des mélanges milieu de culture et extrait, on a prélevé des disques mycéliens (6 mm de diamètre) de chacune des souches de *Fusarium* à partir de zones périphériques des cultures, âgées de 7 jours, à l'aide d'une pipette pasteur. Au centre géométrique des boîtes de pétri, on dépose les disques mycéliens en utilisant une anse stérile puis les boîtes ont été scellées avec du film adhésif et mise en incubation à l'obscurité à une température de 26°C pendant 7 jours.



Figure 9: Repiquage du *Fusarium graminearum*.

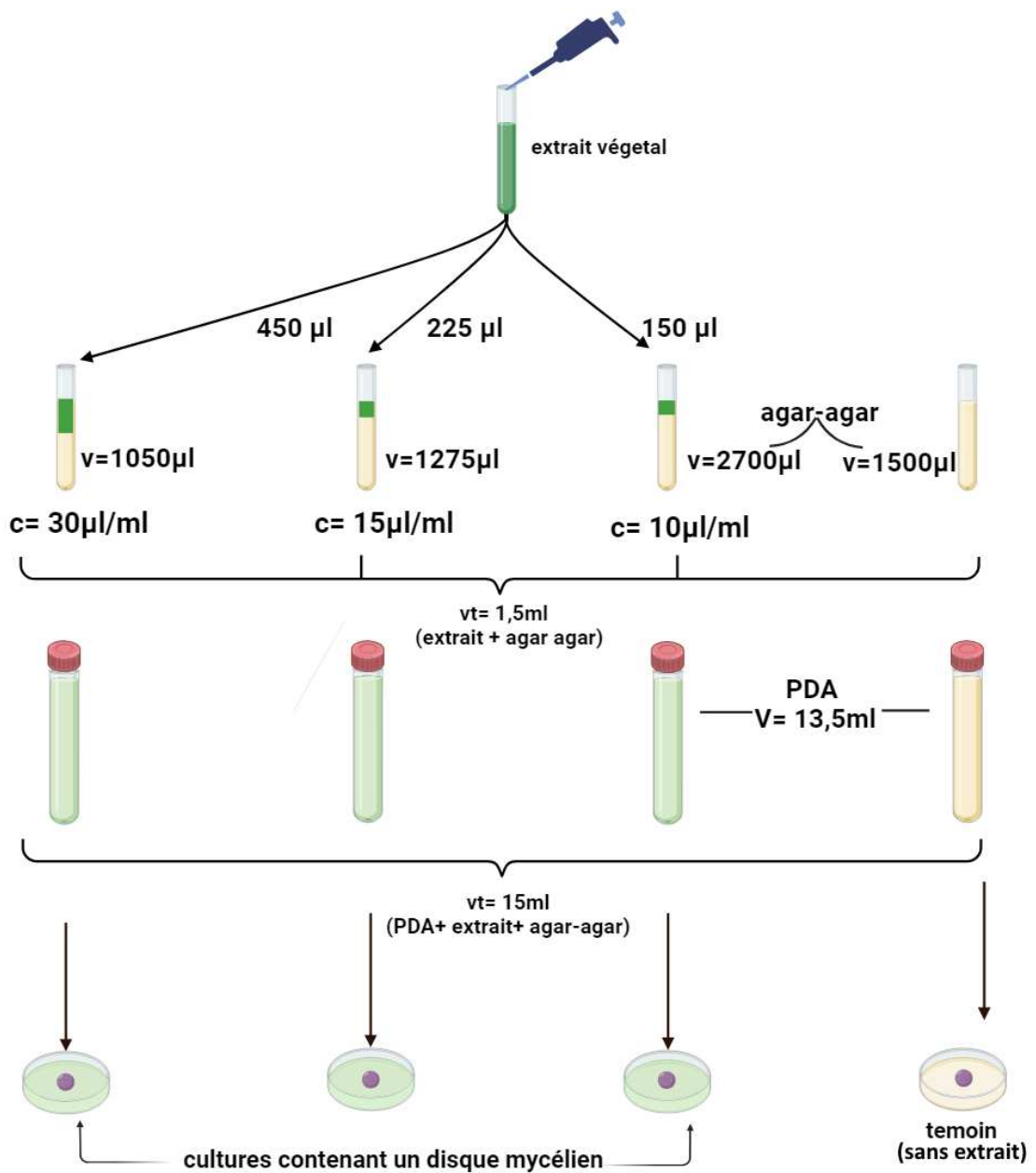


Figure 10 : Illustration du protocole de la méthode de contact direct avec différentes dilutions.

II-2-2-3-Évaluation de la croissance mycélienne

après 7 jours d'incubation à 26°C, la lecture des résultats a été effectuée par la mesure quotidienne des diamètres des zones de croissance, par rapport aux diamètres des témoins négatifs (en mm) (**N. Silué *et al.*, 2018**), à l'aide d'un pied à coulisse pour déterminer le taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule ci-après (**Kouo-N'golo *et al.*, 2024**) :

$$\text{TI (\%)} = [(\text{Dc} - \text{Dt}) / \text{Dc}] \times 100$$

Où :

TI : Taux d'inhibition exercée par l'extrait sur le mycélium (%).

Dt : diamètre du mycélium (en présence de l'extrait)

Dc : diamètre du mycélium témoin (sans extrait)

Nous pouvons considérer que l'extrait est qualifié de :

1. Très actif, si le pourcentage d'inhibition est compris entre 75 et 100%. Dans ce cas, le champignon est très sensible.
2. Actif [50 et 75 %], le champignon est sensible.
3. Moyennement actif [25 et 50 %], le champignon est d'activité limitée.
4. Peu ou pas actif [0 et 25 %], le champignon dans ce cas est peu sensible ou résistant (**EL-Houiti, 2018**).

II-2-2-4-Analyse statistique

Les résultats des tests d'inhibition des extraits végétaux sur les souches fongiques ont été exprimés sous formes de (tableaux, histogrammes et courbe). Les données ont été traitées en utilisant le logiciel Excel 2016, afin de mieux exprimer la cinétique de la croissance mycélienne et les taux d'inhibitions.

Résultats et discussions

III Résultats et discussions

III-1 Evaluation de l'activité antifongique des extraits de différentes espèces étudiées

III- 1-1 Evaluation de la croissance mycélienne vis-à-vis des extraits méthanoliques

Le suivi des diamètres de la croissance mycélienne des trois souches fongiques (*Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*) durant les 7 jours d'incubation, nous a permis d'obtenir des résultats et selon ces résultats nous pouvons évaluer l'activité antifongique des extraits méthanoliques en les comparant avec les témoins.

L'avantage d'utiliser des témoins est pour réaliser une comparaison juste et fiable de l'effet des extraits sur les champignons phytopathogènes.

À différentes concentrations des extraits des plantes (*Helianthemum lippii*, *Helianthemum ruficomum*, *Helianthemum virgatum* et *Neatostema apulum*), la croissance du mycélium en fonction du temps (en jours) est représentée dans les figures (11,13,15) :

III-1-1-Activité antifongique des extraits méthanoliques sur le *Fusarium graminearum* :

Nous remarquons, pour les quatre extraits méthanoliques, que le maximum de la croissance mycélienne est compris entre les concentrations 10µl/ml et 15µl/ml, avec des diamètres allant de 72 à 80mm (Figure 11).

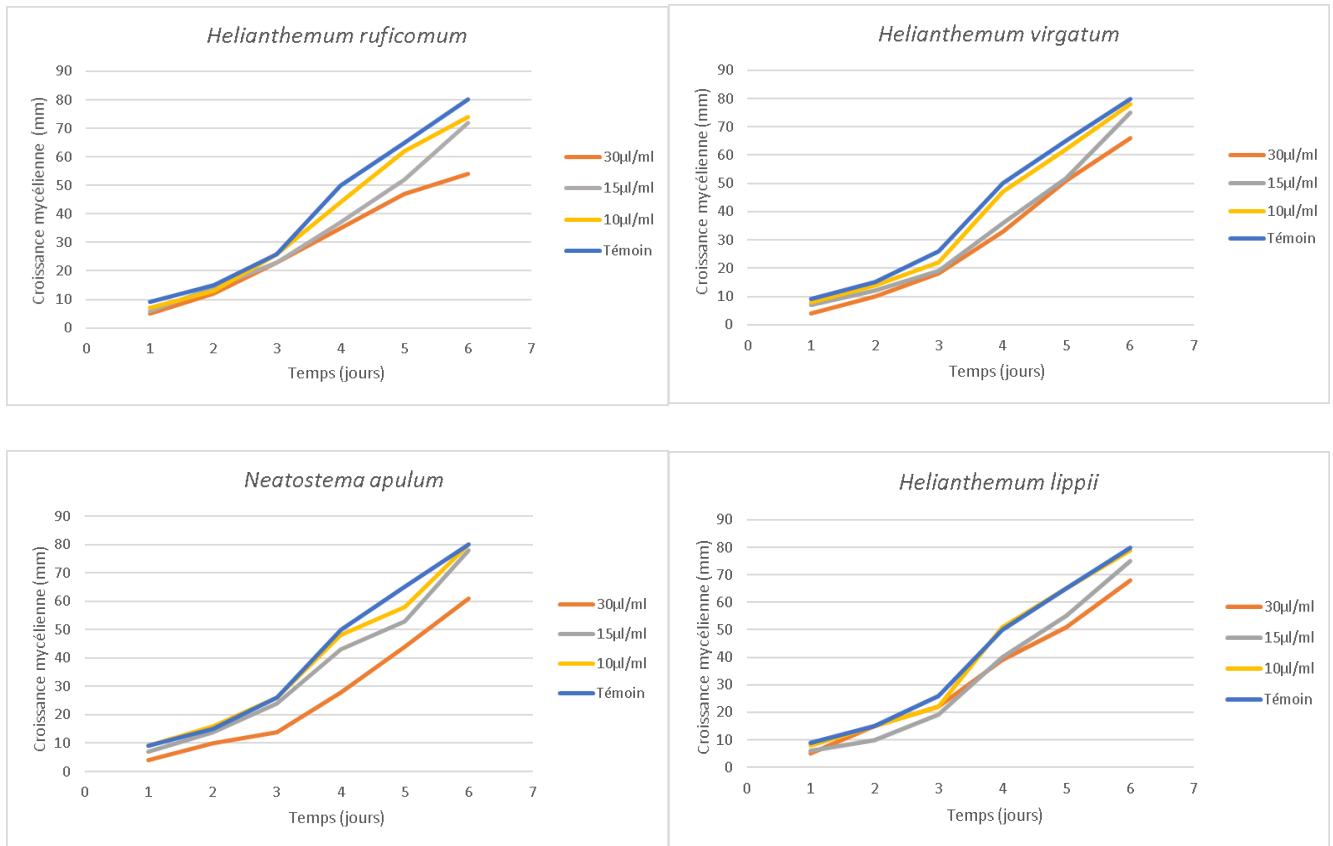


Figure 11: La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*, en présence des différentes concentrations des extraits.

D'autre part, à une concentration de 30 μ l/ml, on remarque une faible croissance fongique, avec des diamètres compris entre 54 et 68mm. À ce niveau, le *Fusarium graminearum* marque une sensibilité plus élevée envers les extraits d'*Helianthemum ruficomum* et *Neatostema apulum* (Figure 12).

Nous constatons que si on compare les courbes des extraits avec celles des témoins, presque toutes les courbes ont suivi la même cinétique que les témoins. De ce fait, nous considérons que l'activité antifongique, dans ce cas, est faible.

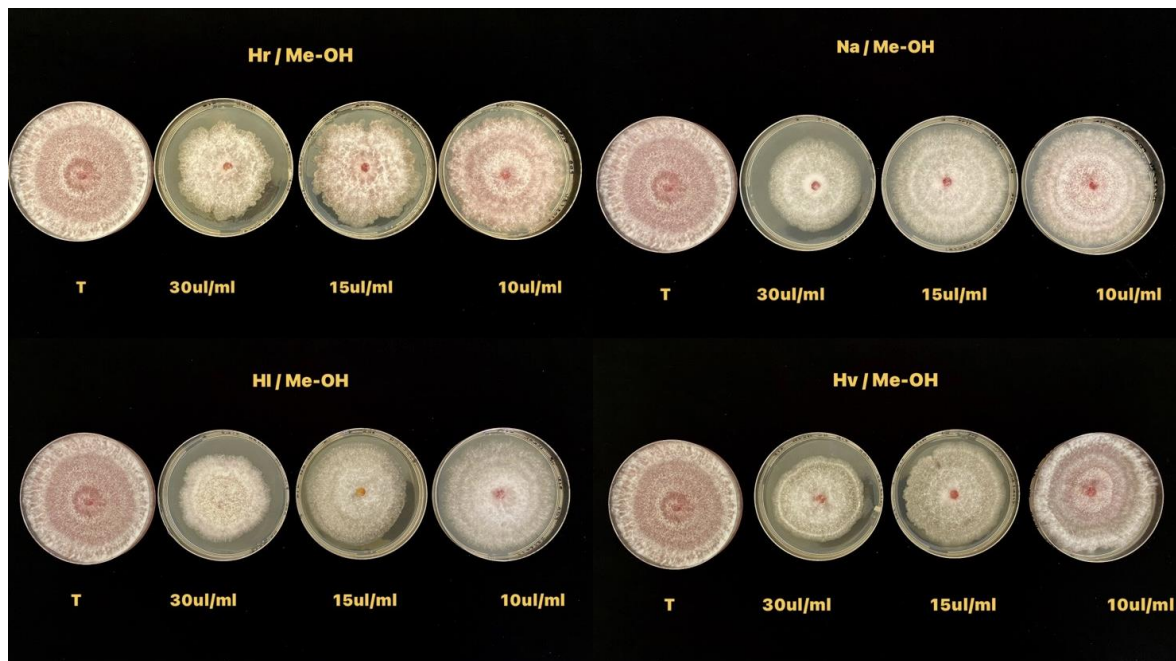


Figure 12: L'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*.

III-1-1-2 : Activité antifongique des extraits méthanoliques sur le *Fusarium oxysporum*

Pour la souche de *Fusarium oxysporum*, la croissance mycélienne pour les quatre extraits et pour toutes les concentrations a débuté dès le premier jour, avec des diamètres faibles (entre 4 et 10mm) (Figure 13).

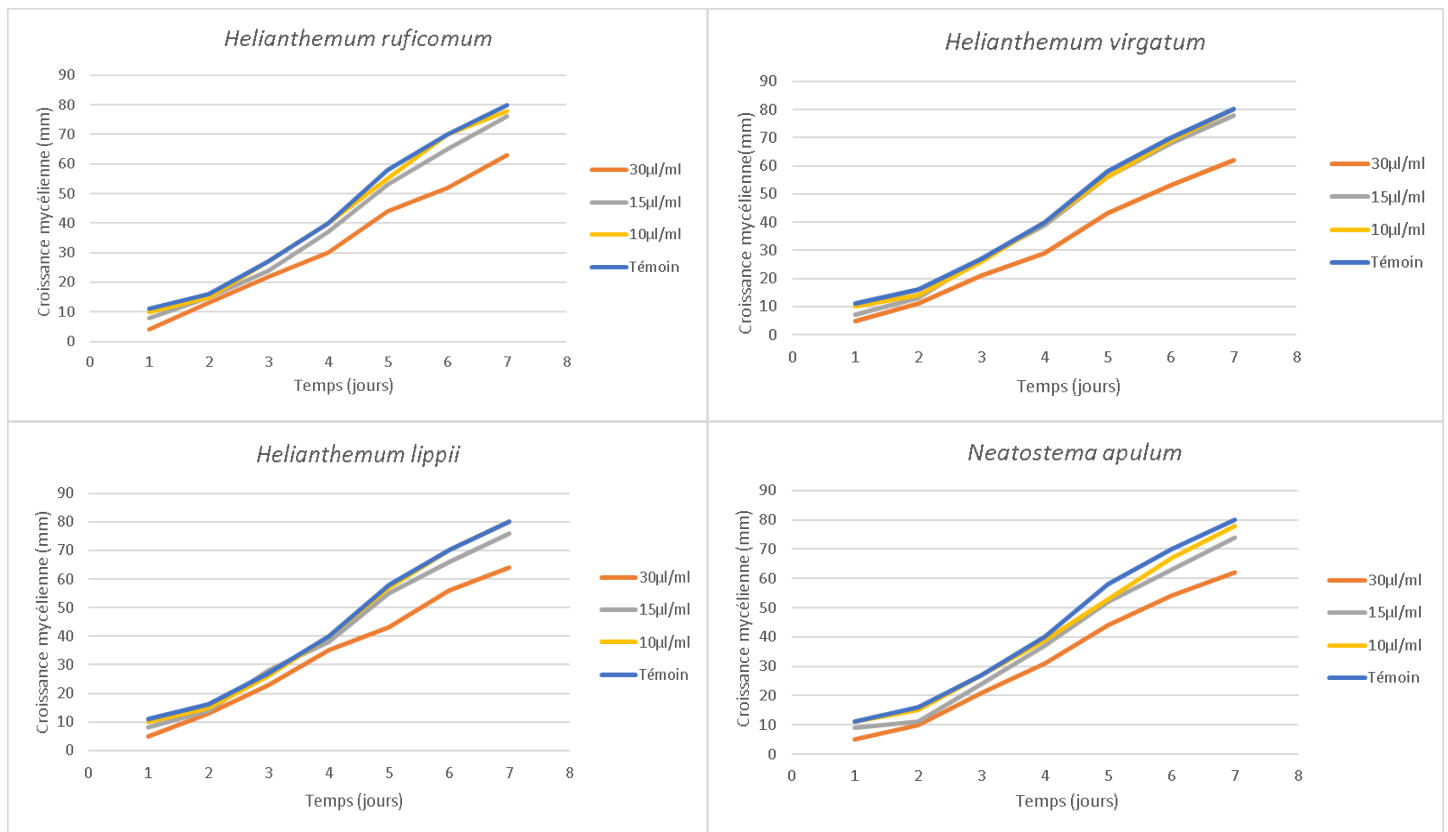


Figure 13: La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*, en présence de différentes concentrations des extraits.

Le septième jour, nous avons remarqué que la croissance mycélienne est maximale aux concentrations 10 et 15 µl/ml, avec des diamètres élevés (entre 76 et 80mm).

Par ailleurs, à la concentration 30 µl/ml, on observe, pour les quatre extraits méthanoliques, un ralentissement de la croissance mycélienne, par rapport aux témoins, avec des zones d'inhibition allant de 62 à 64mm, pour l'ensemble des extraits (Figure 14).

Ainsi, d'après les courbes, on remarque qu'à chaque fois que la concentration des extraits méthanoliques est élevée, la croissance fongique diminue.

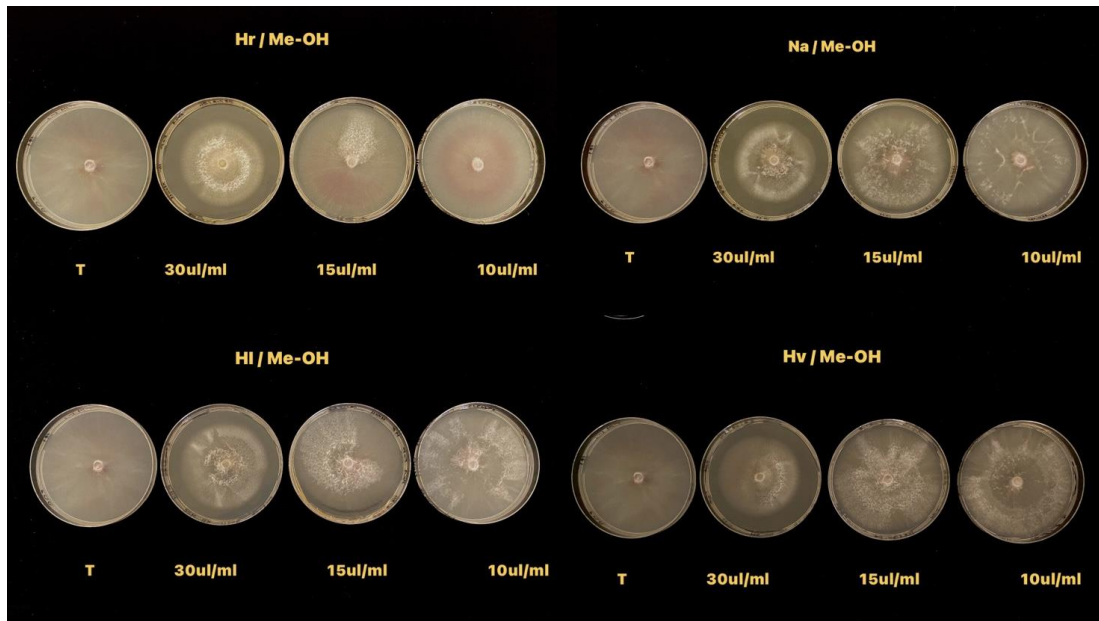


Figure 14: L'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*.

III-1-1-3 Activité antifongique des extraits méthanoliques sur le *Fusarium culmorum*

L'application des extraits méthanoliques sur la souche de *Fusarium culmorum*, à une concentration de 30µl/ml, montre une activité antifongique plus importante, comparée à celle révélée sur *Fusarium graminearum* et *Fusarium oxysporum*. Nous avons constaté une faible croissance mycélienne, des premiers jours jusqu'au dernier jour, avec des diamètres compris entre 50 et 58mm ; ce qui reflète une bonne activité antifongique (Figure 15).

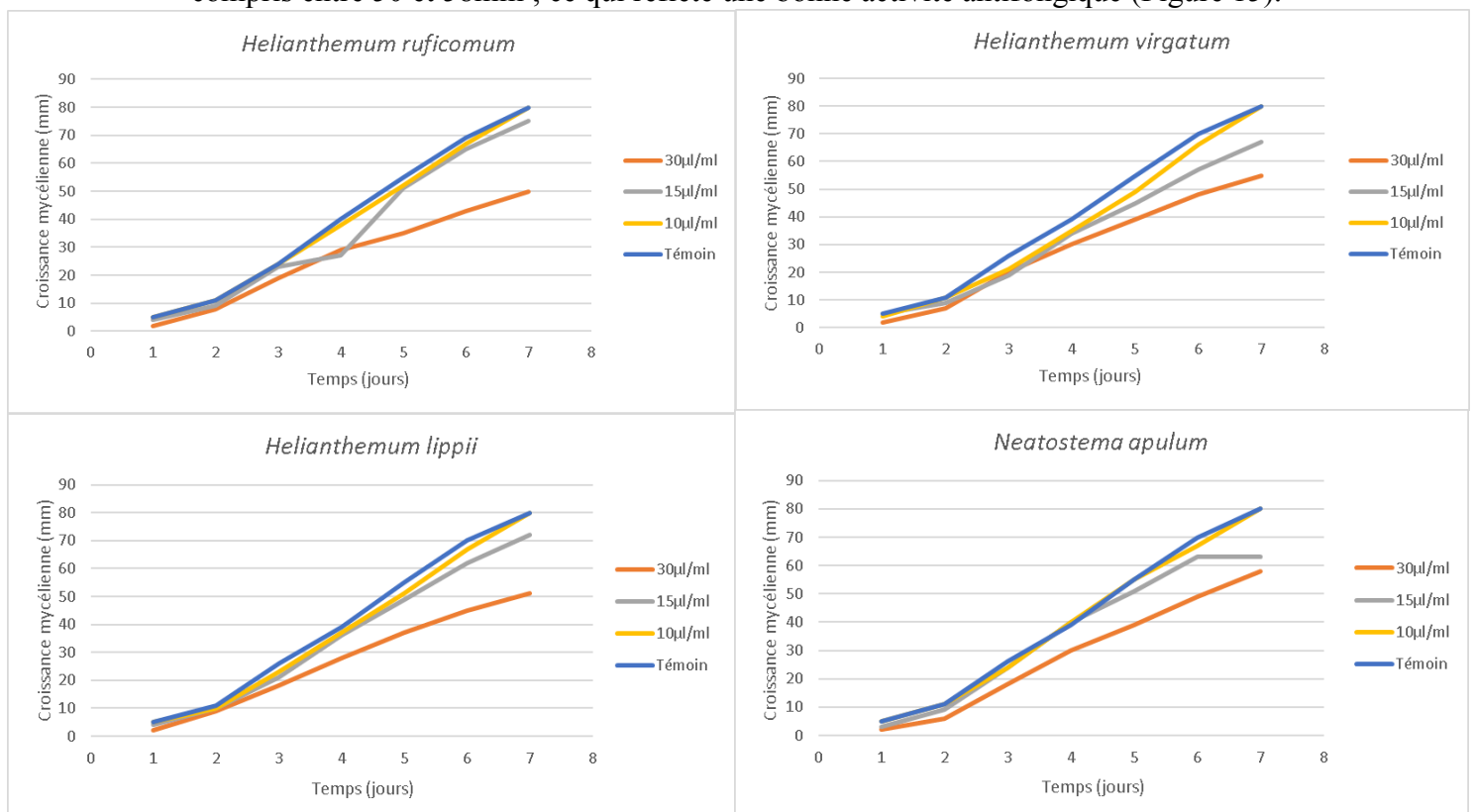


Figure 15: La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*, en présence de différentes concentrations des extraits méthanoliques.

Au-dessous de la concentration 30 μ l/ml, l'effet inhibiteur commence à diminuer. Ainsi, une croissance mycélienne plus importante a été observée pour les concentrations de 15 et 10 μ l/ml, avec des zones d'inhibition diminuant de 80 mm à 63 (Figure 16).

De plus, nous pouvons constater que les extraits méthanoliques d'*Helianthemum lippii* et d'*Helianthemum ruficomum* l'effet fongistatique le plus important, à la concentration 30 μ l/ml, avec, respectivement, 51 et 50mm de diamètres.

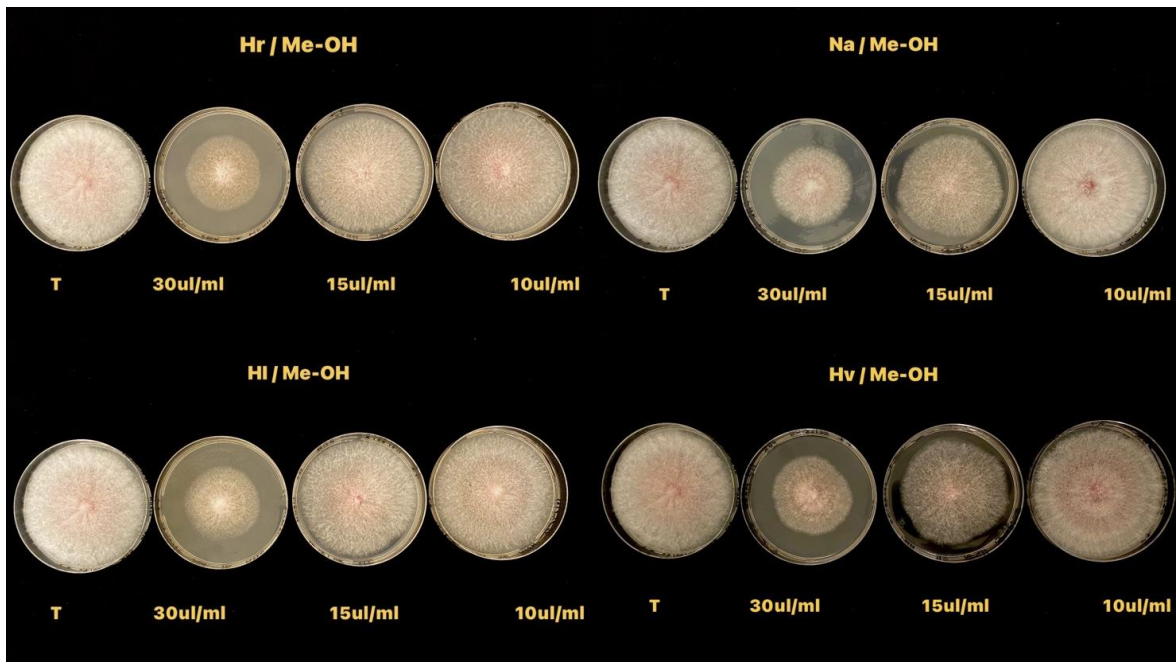


Figure 16: L'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*.

III-1-2 Evaluation du taux d'inhibition vis-à-vis des extraits méthanoliques

Les résultats de l'activité antifongique des extraits des plantes testés in vitro vis-à-vis des souches fongiques sélectionnées sont représentés sous forme d'histogrammes (Figures 17, 18 et 19). Ces illustrations enregistrent le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne noté pour chacune des concentrations des extraits testée, au dernier jour d'incubation.

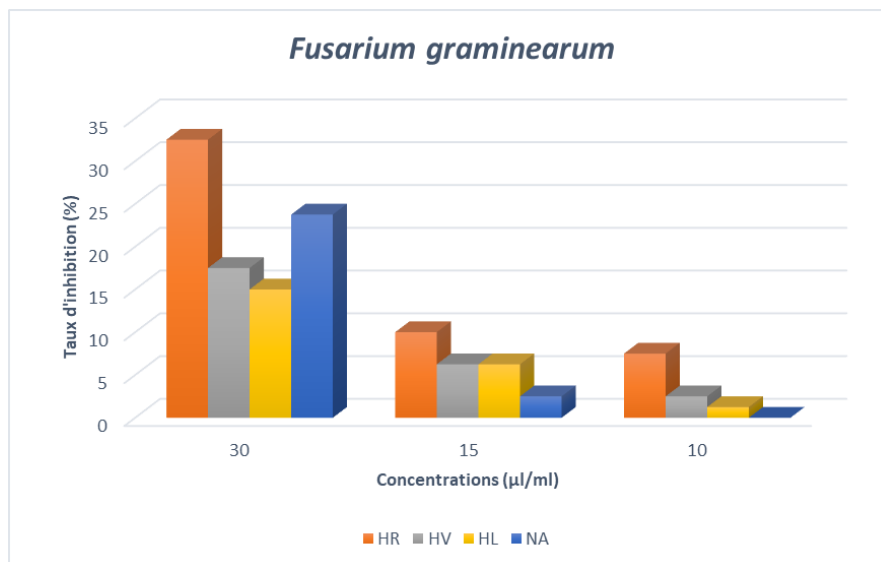


Figure 17: Les taux d'inhibition de la croissance fongique de la souche *Fusarium graminearum*, à différentes concentrations des extraits des plantes étudiées.

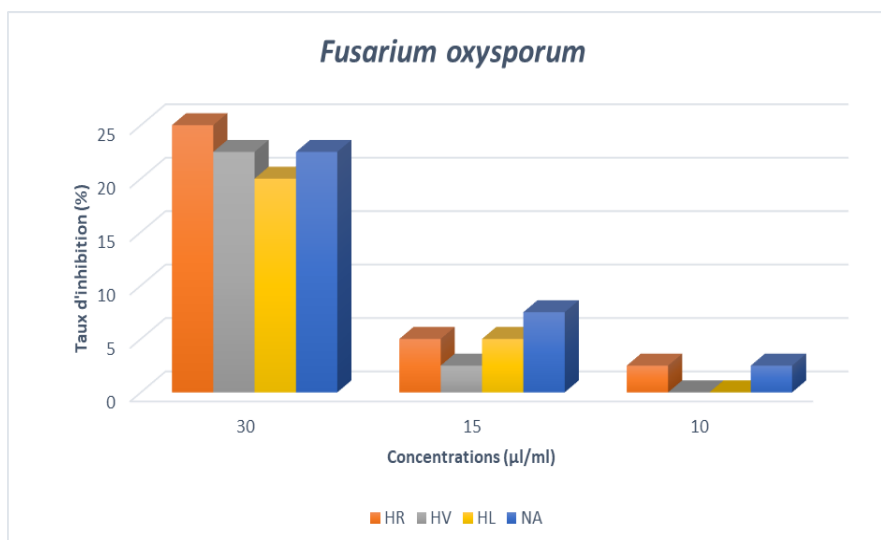


Figure 18: Les taux d'inhibition de la croissance fongique de *Fusarium oxysporum*, à différentes concentration des extraits des plantes étudiées.

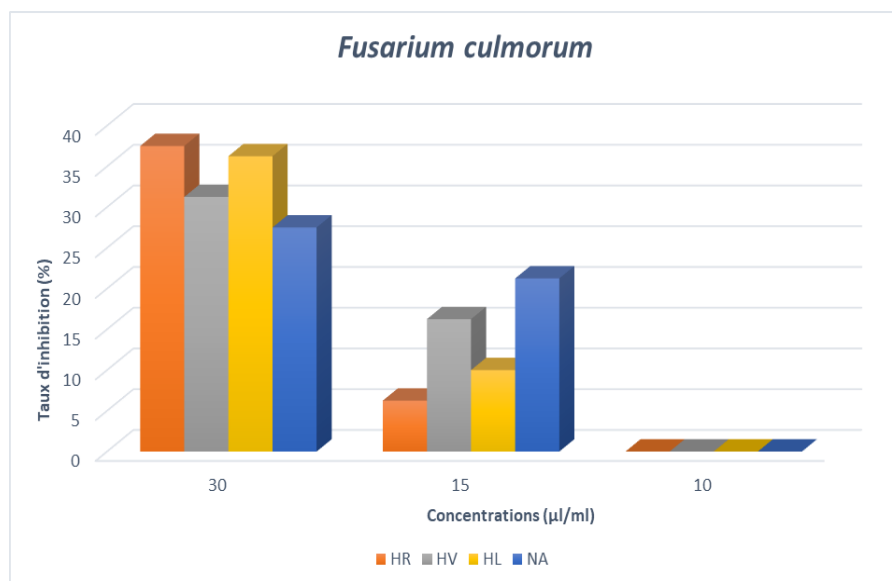


Figure 19: Les taux d'inhibition de la croissance fongique de *Fusarium culmorum*, à différentes concentration des extraits des plantes étudiées.

Les données que nous avons obtenues, montrent que tous les extraits ont un effet inhibiteur significatif contre les trois souches du *Fusarium* à la concentration 30µl/ml, où la plus forte inhibition a été observée pour l'extrait d'*Helianthemum ruficomum* avec des pourcentages d'inhibition de 32,5%, 25%, et 37,5% pour *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum*, respectivement.

À l'inverse, les concentrations de 10 et 15µl/ml présentent un effet inhibiteur soit très faible, des pourcentages variants entre 2,5 et 10%, ou bien nul, sans aucune inhibition de la croissance mycélienne, comme dans le cas de *Fusarium culmorum*.

Il y a ainsi une confirmation que le pourcentage ou le taux d'inhibition de la croissance du mycélium augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits méthanoliques.

Les résultats obtenus, nous ont permis d'évaluer et de qualifier les extraits méthanoliques testés. On constate, ainsi, que nos extraits sont moyennement actifs contre les souches fongiques de *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum*.

Dans les essais à faibles concentrations en extrait et dans les témoins, la croissance et le développement des champignons phytopathogènes continuent.

Tous les extraits, d'*Helianthemum lippii*, d'*Helianthemum ruficomum*, d'*Helianthemum virgatum* et de *Neatostema apulum*, engendrent des taux d'inhibition variant entre 20 et 37,5% à la concentration 30 µl/ml, sur toutes les souches testées, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium graminearum*.

Le pouvoir antifongique des extraits montre que l'inhibition de la croissance mycélienne s'accroît au fur et à mesure qu'augmente la concentration en extrait naturel (Kolai *et al.*, 2012).

Se référant aux résultats et par comparaison avec *Fusarium graminearum* et *Fusarium oxysporum*, le *Fusarium culmorum* marque la plus grande sensibilité à la concentration la plus élevée de nos extraits. Cependant, *Fusarium oxysporum* s'est révélé très résistant aux extraits des plantes.

Grace au suivi des diamètres et des pourcentages d'inhibition on constate que l'extrait méthanolique d'*Helianthemum ruficomum* donne une activité antifongique plus élevée par rapport aux autres extraits.

L'étude a établi un lien direct entre l'activité antifongique des extraits de plantes et leurs substances bioactives. Ainsi, plus les concentrations de ces substances phytochimiques sont élevées dans les extraits, plus leur activité est importante sur l'ensemble des souches fongiques testées.

Une expérience réalisée par (Benkahoul Lotfi *et al.*, 2023) sur des espèces du genre botanique *Helianthemum* montre la richesse de ce genre en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les saponines, les tannins et les terpènes.

De plus, des extraits Me-OH, CHCl₃ et AcOEt sont préparés avec une gamme de concentrations pour tester l'effet inhibiteur contre un isolat de *Fusarium oxysporum*. Les résultats montrent, à la concentration 100mg/ml, que l'effet inhibiteur le plus élevé a été obtenu avec l'extrait Me-OH ; avec un taux d'inhibition de 10,52%, suivi de l'extrait CHCl₃ avec un taux de 8,94% puis l'extrait AcOEt qui présente l'activité la plus faible avec un taux de 2,10%.

(Tripathi et Dubey, 2004), confirment que les extraits de plantes présentent l'avantage d'avoir une forte bioactivité ; ce qui les rend, particulièrement, intéressants pour protéger les produits stockés, comme les grains de céréales, contre les attaques fongiques. Leur bioactivité permet également de bloquer la production de mycotoxines produites par ces champignons.

D'autre part, l'activité antifongique des extraits végétaux résulte d'une synergie complexe entre la composition chimique de la plante, elle-même influencée par des facteurs géographiques, et les propriétés intrinsèques des champignons cibles (**Graven *et al.*, 1992**). L'évaluation de cette activité nécessite donc de prendre en compte ces différents paramètres.

Conclusion

Conclusion

De nos jours, les chercheurs et les scientifiques s'intéressent de plus en plus aux plantes médicinales, en raison de leurs propriétés bénéfiques en biomolécules et de leur capacité à prévenir les risques et les effets secondaires liés à l'utilisation de molécules synthétiques. De ce fait, de nombreuses recherches ont été menées afin d'évaluer les activités biologiques des plantes médicinales.

Notre travail s'est intéressé à l'étude de l'effet séparé antifongique des extraits méthanoliques d'*Helianthemum ruficomum*, d'*Helianthemum lippii*, d'*Helianthemum virgatum*, et de *Neatostema apulum* sur des souches fongiques de *Fusarium culmorum*, de *Fusarium oxysporum*, et de *Fusarium graminearum*.

L'étude in vitro de l'activité antifongique par la méthode de contact direct sur milieu gélosé, nous a permis l'étude de la cinétique de la croissance du mycélium et le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

Les résultats obtenus ont montré une inhibition appréciable pour l'extrait d'*Helianthemum ruficomum* vis-à-vis des trois champignons phytopathogènes testés.

Concernant la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits méthanoliques, le *Fusarium culmorum* a montré une sensibilité accrue, à l'augmentation de la concentration des extraits. A l'opposé, le *Fusarium oxysporum* est marqué comme étant la souche la plus résistante.

D'une façon générale, l'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits, elle varie selon l'espèce, la physiologie et la résistance de la souche testée.

Pour conclure cette étude préliminaire, qui devra être complétée par d'autres travaux, nous retiendrons que les extraits de nos plantes exercent un effet pertinent sur les souches étudiées et pourraient par conséquent être utilisées comme des biofongicides dans le traitement des fusarioses à travers des essais futurs dans des conditions naturelles, en serre et en champ. Mais il serait important d'optimiser l'utilisation des extraits de plantes en statuant sur les propriétés (dosage, durée de conservation, condition d'application et méthode d'extraction...etc.). Ces extraits des plantes ont un effet intéressant sur les souches étudiées ; ce qui pourrait être exploité dans le traitement des maladies infectieuses, durant la culture et pendant le stockage.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., Suleria, H. A. R. J. I. J. o. F. P. (2017).** Natural polyphenols: An overview. *20(8)*, 1689-1699.

B

- **Benabdelaziz, I. (2015).** Etude chimique des espèces *Helianthemum sessiliflorum* et *Euphorbia pterococca*.
- **Benchadi, W. (2020).** Constituants chimiques des espèces *Helianthemum hirtum ssp. ruficomum* (Cistaceae) et *Onobrychis crista-galli* (Fabaceae).
- **Benlahrache, R., & Boudjema, B. S. (2022).** Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante *Centaurea dimorpha*.
- **Botineau, M. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs: Tec & doc.
- **Bouabdallah, R. S. B. (2022).** Les plantes endémiques médicinales en Algérie.

C

- **Chelaghema, A. (2021).** Utilisation d'extraits végétaux pour la maîtrise du risque mycotoxique dans les systèmes agro-alimentaires. Université Montpellier.
- **Chen, D., Mubeen, B., Hasnain, A., Rizwan, M., Adrees, M., Naqvi, S. A. H., Elansary, H. O. J. F. i. P. S. (2022).** Role of promising secondary metabolites to confer resistance against environmental stresses in crop plants: Current scenario and future perspectives. *13*, 881032.

D

- **Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. J. B., agronomie, société et environnement. (2013).** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique).
- **Dongzhen, F., Xilin, L., Xiaorong, C., Wenwu, Y., Yunlu, H., Yi, C., Chunsheng, G. (2020).** Fusarium Species and Fusarium oxysporum Species Complex Genotypes Associated With Yam Wilt in South-Central China. *Front Microbiol*, 11, 1964. doi:10.3389/fmicb.2020.01964
- **DrMicrobe**
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.drmicrobe.com%2Ffiches%2FFusarium_sp.php&psig=AOvVaw04WzQ1KTT-ZtDhtocTiVIC&ust=1719057783857000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0OCBEQjRxqFwoTCIjUw7fT7IYDFQAAAAAdAAAAABAE

E

- **Ebrahimi, P., & Lante, A. J. T. O. B. J. (2021).** Polyphenols: A comprehensive review of their nutritional properties. *15(15)*, 164-172.

- **EL-Houiti, F. (2018).** Valorisation des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* Goss. & Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités.
- **Eloutassi, N., & Bouchra, L. (2020).** Etude in vitro de l'activité anti-Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici de l'algue marine *Cystoseira tamariscifolia*.

F

- **Franz, H. (2002).** Secondary Metabolites as Plant Traits: Current Assessment and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4), 273--322. doi:10.1080/0735-260291044269
- **Flora maroccana** (Writer). In. <https://www.floramaroccana.fr/neatostema-apulum.html>

G

- **Gbif.** Retrieved from <https://www.gbif.org/fr/dataset/7ddf754f-d193-4cc9-b351-99906754a03b>

H

- **Hamad, H. A. M. (2021).** Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis. doi:10.5772/intechopen.98958
- **Hamdani, f. z. (2015).** Déterminisme moléculaire de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites à partir des feuilles d'agrumes.
- **Hamdi, I., Belkacem, F., & Fondougouma, O. (2017).** Evaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique d'une plante endémique de la wilaya d'Adrar contre la maladie de Bayoud. Université Ahmed Draïa-ADRAR,
- **Heit, S. (2015).** Identification de Fusarium et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF (Doctorat), Université de Lorraine.
- **Houard, C. (1913).** Les zoocécidies des plantes d'Europe et du bassin de la Méditerranée: Supplément: 1909-1912. Nos 6240 à 7556: A. Hermann.

J

- **Jagessar, R. J. O. A. J. o. B. S., & Research. (2020).** Plant Extracts as Biological Control Agents. 5(3), 1-6.

K

- **Kachkouch, W., Touhami, A. o., Benkirane, R., & Douira, A. J. R. I. S. T. (2012).** IDENTIFICATION DE LA MYCOFLORE DE L'ESPECE ORNEMENTALE, ERYTHRINA CAFFRA, AU MAROC. 19, 88-101.
- **Kant, P., Reinprecht, Y., Martin, C., Islam, R., & Pauls, K. (2011).** Disease resistance/pathology/fusarium.
- **Kolai, N., Saiah, F., & Boudia, A. (2012).** Effet inhibiteur in Vitro de l'huile d'*Artimesia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum f. sp. radicle-lycopersici*. Algerian journal of arid environment, vol. 2, n°1, 71-76.
- **Kouo-N'golo, S., Daniel, K. R. A., Seydou, T., & Hortense, D. (2024).** Évaluation de l'efficacité antifongique de quatre extraits de plantes sur les

pathogènes des grains de l'épi du maïs en stock (*Zea mays* L.). Journal of Animal & Plant Sciences, 59, 10856-10872. doi:10.35759/JAnmPlSci.v59-2.2

L

- **Lengai, M. W. (2016).** Efficacy of plant extracts and antagonistic fungi as alternatives to synthetic pesticides in management of tomato pests and diseases. University of Nairobi.

M

- **Maharjan, N. (2008).** Evaluation of antibacterial activities of medicinal plants. Department of Microbiology.
- **Mahboub, N. (2018).** Effet de différents modes de séchage de quelques plantes sahariennes à caractère médicinales sur leur contenu phénolique et leurs activités biologiques. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA.
- **Mahlo, S. M., Chauke, H. R., McGaw, L., Eloff, J. J. A. J. o. T., Complementary, & Medicines, A. (2016).** Antioxidant and antifungal activity of selected medicinal plant extracts against phytopathogenic fungi. *13*(4), 216-222.
- **Marref, S. E. (2019).** Contribution à l'étude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de la plante *Gladiolus segetum* in vivo et in vitro. Université de Batna 2.
- **Mercier, A. (2019).** Déterminants génomiques de la spécialisation à l'hôte chez le champignon phytopathogène polyphage *Botrytis cinerea*. Université Paris Saclay (COMUE).
- **Michielse, C. B., & Rep, M. (2009).** Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Mol Plant Pathol*, 10(3), 311-324. doi:10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x
- **Mkongwa, K. (2022).** Etude de l'effet fongicide des extraits d'Euphorbia peplus sur quelques champignons phytopathogènes.
- **Murtaza, G., Mukhtar, M., & Sarfraz, A. J. J. o. B. M. (2015).** A review: Antifungal potentials of medicinal plants. *2*(2), 4.

N

- **N. Silué, K. Abo, F. Johnson, B. Camara, M. Kone, & Kone, D. (2018).** Evaluation in vitro et in vivo de trois fongicides de synthèse d'un fongicide biologique sur la croissance et la sévérité de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterornis*, champignons responsable de maladies foliaires de l'Anacardier (*Anacardium occidentale* L.) en cote d'ivoire. *Agronomie Africaine*, *30*(1), 107-122.

O

- **Obame-Engonga, L. J. U. D. O., 277p. (2009).** Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines, Université de Ouagadougou.

- **Olofinsan, K., Abrahamse, H., & George, B. P. J. M. (2023).** Therapeutic role of alkaloids and alkaloid derivatives in cancer management. 28(14), 5578.

P

- **Pastuszak, J., Szczerba, A., Dziurka, M., Hornyak, M., Kopec, P., Szklarczyk, M., & Plazek, A. (2021).** Physiological and Biochemical Response to *Fusarium culmorum* Infection in Three Durum Wheat Genotypes at Seedling and Full Anthesis Stage. Int J Mol Sci, 22(14). doi:10.3390/ijms22147433
- **Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2022).** Ecology of fungal food spoilage. In Fungi and food spoilage (pp. 3-12): Springer.

R

- **Raynaud, C. (1984).** Contribution à l'étude de certaines espèces du genre "Helianthemum" sect. "Helianthemum": note préliminaire. Paper presented at the Anales del Jardín Botánico de Madrid.

S

- **Savignac, J.-M. (2023).** Identification de marqueurs biochimiques de résistance des soies et des grains à la fusariose de type GER (Gibberella Ear Rot) chez le maïs. (Doctorat), Université de Bordeaux.
- **Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. J. M. p. p. (2013).** *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. 14(4), 323-341.

T

- **TelaBotanica. (2011).** Retrieved from https://www.tela-botanica.org/eflore/?referentiel=bdtfx&niveau=2&module=pdf-export&action=pdf-export&num_nom=43899
- **Tivoli, B. (1988).** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. Agronomie, 8(3), 211-222.
- **Tripathi, P., & Dubey, N. K. (2004).** Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest biology and Technology, 32(3), 235-245.

U

- **Uwineza, M., El Yousfi, B., & Lamiri, A. J. R. M. d. P. d. P. (2018).** Activités antifongiques in vitro des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Eugenia aromatica* et *Cedrus atlantica* sur *Fusarium culmorum* et *Bipolaris sorokiniana*. (12).

V

- **Vajou, A. (2023).** Plasticité phénotypique et potentiel adaptatif chez le champignon phytopathogène *Fusarium graminearum* en réponse aux changements environnementaux. (Doctorat), L'université de Bordeaux.

X

- **Xu, M., Yu, J., Li, Y., Zhang, S., Zhang, C., Zhang, X., Yang, J. J. J. o. P. P. (2020).** First report of *Fusarium culmorum* causing marigold root rot in China. *102*, 1287-1288.

Z

- **Zarins, I., Daugavietis, M., & Halimona, J. (2009).** Biological activity of plant extracts and their application as ecologically harmless biopesticide.
- **Zouaoui, S. A., Megherbi-Benali, A., Toumi, B. F., & Ouair, D. J. B. d. I. S. R. d. S. d. L. (2018).** Contribution à l'étude du pouvoir antifongique des graines du *Chenopodium quinoa* Wild vis-à-vis de deux champignons phytopathogène de l'orge: *Pyrenophora tritici-repentis* et *Rhynchosporium secalis*.

Annexes

Annexes

Composition du milieu de culture utilisé

1- Potatoes Dextrose Agar PDA (milieu de culture pour les champignons)

| | |
|----------------------|------|
| Pomme de terre | 200g |
| Glucose..... | 20g |
| Agar-agar..... | 20g |
| Eau distillée..... | 1L |

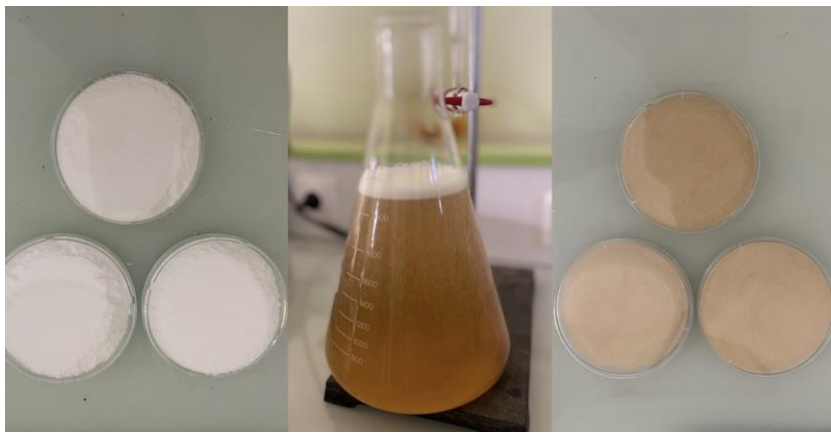


Figure 20: photo illustrant la préparation du milieu de culture.

2- Solution d'agar (0,2%)

| | |
|--------------------|----|
| Agar-agar..... | 2g |
| Eau distillée..... | 1L |

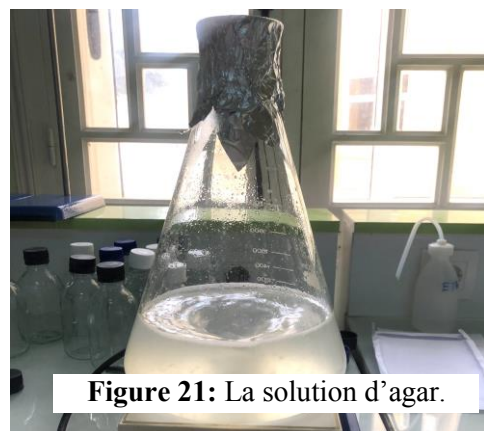


Figure 21: La solution d'agar.

Tableau 6: Les diamètres de la croissance mycélienne du *Fusarium graminearum* pendant les jours d'incubation.

| Souche 812 | Extraits Me-OH | HR | HV | HL | NA | HR | HV | HL | NA | HR | HV | HL | NA | TM(-) |
|---------------|----------------|---------|----|----|----|---------|----|----|----|---------|----|----|----|-------|
| | Concentrations | 30µl/ml | | | | 15µl/ml | | | | 10µl/ml | | | | |
| Les jours | 1 | 5 | 4 | 5 | 4 | 6 | 7 | 6 | 7 | 7 | 8 | 8 | 9 | 9 |
| | 2 | 12 | 10 | 15 | 10 | 14 | 12 | 10 | 14 | 13 | 14 | 15 | 16 | 15 |
| | 3 | 23 | 18 | 22 | 14 | 23 | 19 | 19 | 24 | 26 | 22 | 22 | 26 | 26 |
| | 4 | 35 | 33 | 39 | 28 | 37 | 36 | 40 | 43 | 44 | 47 | 51 | 48 | 50 |
| | 5 | 47 | 51 | 51 | 44 | 52 | 52 | 55 | 53 | 62 | 62 | 65 | 58 | 65 |
| | 6 | 54 | 66 | 68 | 61 | 72 | 75 | 75 | 78 | 74 | 78 | 79 | 80 | 80 |

Tableau 7: Les diamètres de la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* pendant les jours d'incubation.

| Souche FOP | Extraits Me-OH | HR | HV | HL | NA | HR | HV | HL | NA | HR | HV | HL | NA | TM(-) |
|---------------|----------------|---------|----|----|----|---------|----|----|----|---------|----|----|----|-------|
| | Concentrations | 30µl/ml | | | | 15µl/ml | | | | 10µl/ml | | | | |
| Les jours | 1 | 4 | 5 | 5 | 5 | 8 | 7 | 8 | 9 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 |
| | 2 | 13 | 11 | 10 | 10 | 15 | 13 | 14 | 11 | 15 | 14 | 15 | 15 | 16 |
| | 3 | 22 | 21 | 23 | 21 | 24 | 27 | 28 | 24 | 27 | 26 | 26 | 27 | 27 |
| | 4 | 30 | 29 | 35 | 31 | 37 | 39 | 38 | 37 | 40 | 40 | 40 | 39 | 40 |
| | 5 | 44 | 43 | 43 | 44 | 53 | 56 | 55 | 52 | 55 | 56 | 57 | 53 | 58 |
| | 6 | 52 | 53 | 56 | 54 | 65 | 68 | 66 | 63 | 70 | 69 | 66 | 67 | 70 |
| | 7 | 60 | 62 | 64 | 62 | 76 | 78 | 76 | 74 | 78 | 80 | 78 | 78 | 80 |

Tableau 8: les diamètres de la croissance mycélienne du *Fusarium culmorum* pendant les jours d'incubation.

| Souche T7 | Extraits Me-OH | HR | HV | HL | NA | HR | HV | HL | NA | HR | HV | HL | NA | TM(-) |
|-----------|----------------|---------|----|----|----|---------|----|----|----|---------|----|----|----|-------|
| | Concentrations | 30µl/ml | | | | 15µl/ml | | | | 10µl/ml | | | | |
| Les jours | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 5 | 4 | 3 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| | 2 | 8 | 7 | 9 | 6 | 9 | 9 | 10 | 9 | 11 | 11 | 10 | 11 | 11 |
| | 3 | 19 | 20 | 18 | 18 | 23 | 19 | 21 | 24 | 24 | 21 | 23 | 24 | 26 |
| | 4 | 27 | 30 | 28 | 30 | 29 | 34 | 36 | 40 | 38 | 35 | 37 | 40 | 39 |
| | 5 | 35 | 39 | 37 | 39 | 51 | 45 | 49 | 51 | 52 | 49 | 51 | 55 | 55 |
| | 6 | 43 | 48 | 45 | 49 | 65 | 57 | 62 | 63 | 67 | 66 | 67 | 67 | 70 |
| | 7 | 50 | 55 | 51 | 58 | 75 | 67 | 72 | 63 | 80 | 80 | 80 | 78 | 80 |