

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي

UNIVERSITE AMMAR THELIDJI

كلية العلوم

FACULTE DE SCIENCES

قسم البيولوجيا

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Science biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

Évaluation de l'activité anti-phytopathogène de quelques extraits d'origine végétale (plantes locales)

Présenté par :

Mlle TAIBAOUI Doua

Soutenu publiquement le 2 Juillet devant les membres de jury :

M. BOUBRIMA Youcef	MMA	Université Amar Telidji, Laghouat	Président
M. MESSAOUDI Omar	MCA	Université Amar Telidji, Laghouat	Examineur
M. OUINTEN Mohammed	Pr	Université Amar Telidji, Laghouat	Rapporteur
Mme. EL-HOUITI Fatiha	MCA	Université Amar Telidji, Laghouat	Co-Rapporteur

Année universitaire : 2024 / 2025

Dédicace

C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

À mon cher père, Touhami,

Pour son amour inconditionnel, son soutien sans faille et ses sacrifices constants.

Sa confiance en moi, ses encouragements et sa sagesse m'ont toujours guidée.

Ce mémoire est, en partie, le fruit de ses efforts, de sa patience et de ses prières.

Merci du fond du cœur, papa.

À ma chère mère,

Merci pour tout ce que tu es, maman. Ce travail est aussi le tien.

À mes deux sœurs chéries Romaiissa et Khadidja,

Pour leur amour, leur présence réconfortante et leur soutien permanent.

Merci pour vos encouragements, vos mots doux dans les moments difficiles et votre foi en moi.

Votre complicité m'a portée tout au long de ce parcours.

À mes chers frères Abdallah, Larbi et Mostapha,

qui ont toujours été là, même dans les moments les plus difficiles,

Votre présence m'a donné la force d'avancer.

À mes amis,

Pour vos sourires, votre écoute, vos conseils et votre constante motivation. Vous avez su alléger les moments les plus lourds.

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail,

Recevez ici l'expression de ma sincère gratitude.

Doua

Remerciements

Je remercie Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir donné la sante et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à Monsieur le Pr **OUINTEN Mohammed**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'a accordé m'ont permis de réaliser ce travail.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma Co-encadreur, Madame la Dr **EL-HOUITI Fatima**. Son accompagnement rigoureux, ses conseils précieux et sa disponibilité constante ont largement contribué à l'aboutissement de ce projet. Je la remercie également pour la qualité de son enseignement tout au long de mon parcours universitaire, ainsi que pour son engagement, sa bienveillance et son soutien indéfectible.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide précieuse de Mademoiselle **ZERGRIR Anfal**. Sa présence constante tout au long de la période de pratique, ses conseils avisés, sa disponibilité et sa bienveillance ont été d'un grand soutien. Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour son accompagnement, sa patience et son implication dans chaque étape de ce travail.*

*Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Monsieur le Pr **YOUSFI Mohammed**, pour m'avoir accueillie au laboratoire de recherche des sciences fondamentales. Les moyens mis à ma disposition ont grandement facilité le bon déroulement de ce travail. Je lui suis reconnaissante pour la confiance accordée et pour l'environnement de recherche stimulant qu'il a su créer.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Monsieur Boubrima Youcef**, pour avoir accepté de présider le jury, ainsi qu'à **Monsieur Messaoudi Omar**, pour avoir accepté d'examiner notre travail. Je leur suis reconnaissante pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture de mon mémoire, ainsi que pour leurs remarques enrichissantes, qui ont contribué à l'amélioration de ce travail et à mon progression personnelle et académique.*

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à l'ensemble des enseignants qui ont marqué mon parcours universitaire. Grâce à la qualité de leur enseignement et à leur engagement, j'ai pu atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère et profonde gratitude.

Résumé

Les maladies fongiques, notamment celles causées par le genre *Fusarium*, menacent les cultures et la santé humaine. Face aux limites des fongicides de synthèse, la recherche de remèdes alternatifs d'origine naturelle devient une priorité.

À cet effet, l'activité anti-phytopathogène des extraits méthanoliques et à l'acétate d'éthyle, obtenus par extraction Soxhlet, à partir de quatre plantes médicinales (*Helianthemum lippii*, *Helianthemum virgatum*, *Helianthemum ruficomum*, *Neatostema apulum*), collectées dans le centre-nord de l'Algérie (Gueltat Sidi Saâd), a été évaluée, in vitro, sur milieu liquide, avec différentes concentrations (2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml) contre trois souches fongiques (*Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*).

Les extraits végétaux testés ont révélé une activité antifongique variable, selon la souche de *Fusarium*, la plante utilisée et le solvant d'extraction. D'après les résultats, les extraits à l'acétate d'éthyle se sont montrés globalement plus efficaces que les extraits méthanoliques, avec des valeurs de CMI comprises entre 0,5 et 1 mg/ml et une CMF atteignant 2 mg/ml. En revanche, les extraits méthanoliques les moins actifs présentent des CMI entre 1 et 2 mg/ml, sans CMF déterminée.

Mots clés : *Neatostema*, *Helianthemum*, extraits méthanoliques, extraits à l'acétate d'éthyle, *Fusarium*, activité anti-phytopathogènes, bio-fongicide.

Abstract

Fungal diseases, particularly those caused by the *Fusarium* genus, threaten crops and human health. Faced with the limitations of synthetic fungicides, the search for alternative remedies of natural origin is becoming a priority.

For this purpose, the anti-phytopathogenic activity of methanolic and ethyl acetate extracts, obtained by Soxhlet extraction, from four medicinal plants (*Helianthemum lippii*, *Helianthemum virgatum*, *Helianthemum ruficomum*, *Neatostema apulum*), collected in the north-central part of Algeria (Gueltat Sidi Saâd), was evaluated, in vitro, on liquid medium, with different concentrations (2 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml) against three fungal strains (*Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*).

The plant extracts tested showed variable antifungal activity depending on the *Fusarium* strain, the plant used and the extraction solvent. According to the results, ethyl acetate extracts were overall more effective than methanolic extracts, with MIC values between 0.5 and 1 mg/ml and MFC up to 2 mg/ml. In contrast, the least active methanolic extracts showed MIC values of between 1 and 2 mg/ml, with no FMC determined.

Keywords : *Neatostema*, *Helianthemum*, methanolic extracts, ethyl acetate extracts, *Fusarium*, anti-phytopathogenic activity, bio-fungicide.

الملخص

تعد الامراض الفطرية، وخاصة تلك التي يسببها جنس الفيوزاريوم، تهديدا للمحاصيل ولصحة الانسان. ونظراً لمحدودية المبيدات الفطرية المصنعة، أصبح البحث عن علاجات طبيعية بديلة أولوية.

وتحقيقاً لهذه الغاية، تم دراسة النشاط المضاد للأمراض الفطرية النباتية لمستخلصات ميثانول وأسيئات الإيثيل، التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص المستمر (Soxhlet)، من أربع نباتات طبية (*Helianthemum lippii*)، وسط الجزائر (قلنة سيدي سعد)، وتم تقييمها في المختبر على وسط سائل بتركيزات مختلفة (2 ملغم/مل، 1 ملغم/مل، 0.5 ملغم/مل) ضد ثلاث سلالات فطرية (*Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*)

أظهرت المستخلصات النباتية التي تم اختبارها نشاطاً مضاداً للفطريات متفاوتاً اعتماداً على سلالة الفيوزاريوم والنبات المدروس ومذيب الاستخلاص. ووفقاً للنتائج، كانت مستخلصات أسيئات الإيثيل أكثر فعالية بشكل عام من المستخلصات الميثانولية، حيث تراوحت قيم التركيز الأدنى المثبط (CMI) بين 0.5 و 1 ملغم/مل وقيم التركيز الأدنى المبيد للفطريات (CMF) تصل إلى 2 ملغم/مل. من ناحية أخرى، أظهرت المستخلصات الميثانولية الأقل نشاطاً قيم التركيز الأدنى المثبط تتراوح بين 1 و 2 ملغم/مل مع عدم تحديد قيم التركيز الأدنى المبيد للفطريات.

الكلمات المفتاحية: *Helianthemum*، *Neatostema*، مستخلصات ميثانولية، مستخلصات أسيئات الإيثيل، الفيوزاريوم، النشاط المضاد للأمراض الفطرية النباتية، مبيد الفطريات الحيوي.

Liste des abréviations

AcDONs	: Mono-acetyldeoxynivalenols
ADN	: Acide désoxyribonucléique
BEA	: Beauvericin
CMC	: Carboxy méthyl cellulose
CMF	: Concentration minimale fongicides
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
DAcNIV	: Diacetylnivalenol
DiAcDON	: Di-acetyldeoxynivalenol
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
DON	: Deoxynivalenol
Dum. Cours	: Georges Louis Marie Dumont de Courset
FCR	: Fusariose du collet et des racines
FHB	: Fusarium head blight
FUS	: Fusarenone-X
GC-MS	: Gas chromatography-mass spectrometry
HI-NPs	: <i>Helianthemum lipii</i> - silver nanoparticles
KH ₂ PO ₄	: Phosphate monopotassique
MgSO ₄	: Sulfate de magnésium
MON	: Moniliformine
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NH ₄ NO ₃	: Nitrate d'ammonium ou ammonitrate.
NIV	: Nivalenol
PDA	: Potato dextrose agar
Pers.	: Christiaan Hendrik Persoon

POWO : Plants of the World Online

ZEN : Zearalenone

Liste des figures

Figure 1 : Photo illustrant <i>Helianthemum lippii</i>	6
Figure 2 : Photo illustrant <i>Helianthemum ruficomum</i>	7
Figure 3 : Photo illustrant <i>Helianthemum virgatum</i>	7
Figure 4 : Photo illustrant <i>Neatostema apulum</i>	8
Figure 5 : Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	11
Figure 6 : Culture de <i>Fusarium graminearum</i> sur (PDA) et macroconidies.....	12
Figure 7 : Thalle de <i>Fusarium culmorum</i> sur milieu PDA (a) et macroconidies (b).	13
Figure 8 : <i>Fusarium oxysporum</i>	14
Figure 9 : Zone de collecte des plantes étudiées	17
Figure 10 : Effet des extraits méthanoliques des plantes sur le <i>Fusarium graminearum</i> . .	24
Figure 11 : Effet des extraits méthanoliques des plantes sur le <i>Fusarium oxysporum</i>	24
Figure 12 : Effet des extraits méthanoliques des plantes sur le <i>Fusarium culmorum</i>	25
Figure 13 : Effet des extraits à l'acétate d'éthyle des plantes sur le <i>Fusarium graminearum</i>	26
Figure 14 : Effet des extraits à l'acétate d'éthyle des plantes sur le <i>Fusarium oxysporum</i>	27
Figure 15 : Effet des extraits à l'acétate d'éthyle des plantes sur le <i>Fusarium culmorum</i> .	27

Liste des tableaux

Tableau 1 : Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées	8
Tableau 2 : Classification taxonomique des plantes étudiées	18
Tableau 3 : les codes des souches fongiques étudiées	18
Tableau 4 : Les différentes quantités incorporées dans les boites Petri.....	21
Tableau 5 : Les valeurs des CMI et CMF des extraits méthanoliques	23
Tableau 6 : Les valeurs de CMI et CMF des extraits à l'acétate d'éthyle.	25

Table des matières

<i>Dédicace</i>	I
<i>Remerciements</i>	II
Résumé	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	VII
Liste des tableaux	VIII
Table des matières	IX
<i>Introduction</i>	2

Partie I : Étude bibliographique

I. Généralités sur les plantes médicinales étudiées	5
I.1. Genre <i>Helianthemum</i>	5
I.1.1. <i>Helianthemum lippii</i>	5
I.1.2. <i>Helianthemum ruficomum</i>	6
I.1.3. <i>Helianthemum virgatum</i>	7
I.2. Genre <i>Neatostema</i>	8
I.2.1 <i>Neatostema apulum</i>	8
II. Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées	8
III. Généralités sur les champignons phytopathogènes	10
III.1. Le genre étudié (<i>Fusarium</i>)	11
III.1.1. <i>Fusarium graminearum</i>	11
III.1.2 <i>Fusarium culmorum</i>	12
III.1.3. <i>Fusarium oxysporum</i>	13
IV. Biopesticides d'origine végétale : pour une agriculture durable	14

Partie II : Matériel et Méthodes

I. Matériel	17
-------------------	----

I.1.	Le matériel végétal	17
I.2.	Le matériel fongique.....	18
I.3.	Stérilisation du matériel.....	19
I.4.	Milieu de culture et conditions de croissance.....	19
II.	Méthodes expérimentales	20
II.1.	Préparation des extraits.....	20
II.2.	Préparation des souches fongiques	20
II.2.1.	Préparation des précultures.....	20
II.2.2.	Préparation de la suspension sporale	20
III.	Évaluation de l'activité anti phytopathogène sur milieu liquide	20

Partie III : Résultats et discussion

I.	Résultats	23
I.1.	Évaluation de la croissance mycélienne vis-à-vis des extraits méthanoliques	23
I.1.1.	Activité antifongique des extraits méthanoliques sur <i>Fusarium graminearum</i> ..	23
I.1.2.	Activité antifongique des extraits méthanoliques sur <i>Fusarium oxysporum</i>	24
I.1.3.	Activité antifongique des extraits méthanoliques sur <i>Fusarium culmorum</i>	25
I.2.	Évaluation de la croissance mycélienne vis-à-vis des extraits à l'acétate d'éthyle	25
I.2.1.	Activité antifongique des extraits à l'acétate d'éthyle sur <i>Fusarium graminearum</i>	26
I.2.2.	Activité antifongique des extraits à l'acétate d'éthyle sur <i>Fusarium oxysporum</i>	26
I.2.3.	Activité antifongique des extraits à l'acétate d'éthyle sur <i>Fusarium culmorum</i> .	27
	<i>Conclusion</i>	32
	<i>Références bibliographiques</i>	34
	<i>Annexes</i>	42

INTRODUCTION

Introduction

L'Algérie, avec la richesse et la diversité de sa flore, près de 4000 taxons d'après, occupe une position privilégiée parmi les pays méditerranéens ayant une longue histoire médicale et un savoir traditionnel basé sur l'utilisation de plantes (**Ouadeh, Benhissen *et al.*, 2021**).

Grâce à des principes actifs, les plantes médicinales occupent un rôle économique essentiel, dans les secteurs de la pharmacie, de la médecine, des cosmétiques et des industries de l'agroalimentaire. Elles produisent des substances appelées métabolites secondaires qui ne sont pas issues directement de la photosynthèse, mais résultent de diverses réactions chimiques (**Jagessar 2020**). Ces derniers permettent à la plante de se protéger contre les agressions externes, maladies et perturbations physiologiques. Actuellement, les métabolites secondaires, à savoir les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins, suscitent de plus en plus l'intérêt des chercheurs, en raison de leurs activités biologiques (antioxydantes, antibactériennes et antifongiques) (**Chelaghema 2021**).

L'agriculture, élément essentiel de l'économie mondiale, fait face à divers obstacles biotiques, parmi lesquels les maladies causées par des agents phytopathogènes ; le fusarium étant l'un de ces agents. Ce sont des champignons filamenteux responsables de pertes agricoles significatives, principalement des céréales et quelques espèces non céréalières, en raison de leur pouvoir pathogène et de leur capacité à produire des mycotoxines néfastes pour la santé humaine et animale (**Dean, Van Kan *et al.*, 2012**); (**Munkvold and protocols 2016**).

Généralement, le contrôle de ces agents phytopathogènes repose sur l'usage intensif de fongicides chimiques. Cependant, cette stratégie chimique, malgré leur efficacité à court terme, suscitent de nombreuses préoccupations liées à l'apparition de la résistance chez les agents pathogènes, à la persistance des résidus dans les sols et dans les produits alimentaires, ainsi qu'à leurs impacts sur l'environnement et sur la santé publique. Dans ce contexte, la recherche de nouvelles alternatives éco-compatibles s'impose comme une priorité dans le domaine de la protection des cultures (**Lucas, Hawkins *et al.*, 2015**).

Les extraits végétaux, riches en composés bioactifs naturels, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpénoïdes, constituent une piste prometteuse pour le développement de biofongicides d'origine naturelle (**Tiwari, Valdramidis *et al.*, 2009**). Plusieurs plantes, longtemps utilisées dans les pharmacopées traditionnelles, présentent des propriétés antifongiques avérées, mais leur potentiel en phytiatrie reste encore sous-exploité dans le cadre agricole.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antifongique d'extraits, au méthanol (extrait méthanoliques) et à l'acétate d'éthyle, issus de plantes locales du genre *Helianthemum* (*Helianthemum lippii*, *H. virgatum*, *H. ruficomum*) et l'espèce *Neatostema apulum* sur la croissance d'espèces fongiques du genre *Fusarium*.

Le travail présenté dans ce manuscrit s'articule en trois parties :

- La première partie est consacrée à une étude bibliographique. Elle présente, d'une part, les champignons phytopathogènes ciblés et leur impact sur les cultures, et d'autre part, les propriétés biologiques des plantes sélectionnées ainsi que l'intérêt des extraits végétaux dans la lutte antifongique.
- La seconde partie portera sur l'étude expérimentale. Elle expose la description des étapes de préparation des extraits ainsi que les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique en milieu liquide.
- La troisième partie exprime les résultats obtenus ainsi que leur interprétation. Le manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives.

ÉTUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les plantes médicinales étudiées

Depuis quelques décennies, plusieurs travaux ont souligné les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, notamment leurs pouvoirs antifongique, antibactérien et antioxydant. Grâce à ces propriétés, les huiles essentielles ont été utilisées dans le domaine de conservation des aliments, dans les industries de parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire. Dans ce contexte, de nombreuses études ont montré que les extraits de certaines plantes aromatiques exercent un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogénèse de plusieurs bactéries et champignons, à l'origine des maladies phytopathogènes (Aouadhi, Ghazhazi *et al.*, 2013).

I.1. Genre *Helianthemum*

Helianthemum est un genre de la famille des *Cistaceae*, Il regroupe près de 200 espèces, réparties en dix genres de plantes dicotylédones indigènes de la méditerranée, d'Asie et des Amériques (Iserin, Masson *et al.*, 2007). Selon le Centre National d'Information Biotechnologique (NCBI), parmi les genres représentant cette famille, on retrouve *Cistus*, *Crocanthemum*, *Fumana*, *Halimium*, *Helianthemum*, *Hudsonia*, *Lechea* et *Tuberaria*. On les retrouve généralement sous forme d'arbustes, de sous-arbrisseaux et parfois même de plantes herbacées, à fleurs jaunes, roses ou blanches ; souvent à cinq pétales. Ces plantes peuvent être annuelles ou vivaces et sont typiques des environnements secs et ensoleillés. Les espèces qui définissent ces genres se trouvent, principalement, dans les régions tempérées du nord ; plus précisément dans la zone méditerranéenne (Laraoui 2016).

I.1.1. *Helianthemum lippii*

Cette espèce fait partie de la famille des *Cistaceae*, Elle regroupant 08 genres et 200 espèces, répandue dans la région méditerranéenne (Laib et Djahra 2023). *H. lippii* est connu pour sa richesse en flavonoïdes, en polyphénols et en tanins (Laib, Boutlilis *et al.*, 2024). Elle présente un intérêt en médecine traditionnelle, grâce à ses effets pharmacologiques remarquables. La poudre ou les compresses de sa partie aérienne sont utilisées pour traiter les lésions cutanées. De plus, c'est une plante hôte pour diverses espèces de truffes désertiques, prisées pour leur valeur alimentaire et économique, notamment *Terfezia boudieri* Chatin et *Tirmania nivea* (Hamza, Gtari *et al.*, 2013), souvent connus sous le nom "Terfez" ou "Terfesse" (Bradai, Bissati *et al.*, 2013).

Selon (Hemmami, Seghir *et al.*, 2023), le nom vernaculaire de cette espèce varie selon la région :

- Al Samhari, dans la région d'El Oued (sud-est de l'Algérie) ;
- Reguig, dans la région de Ouargla (sud de l'Algérie).
- Tahsowat et Alrjik, dans le sud-ouest algérien.

Helianthemum lippii est un petit arbrisseau, vivace, dont la hauteur peut varier entre 10 et 45 cm (Figure 1). Ses graines, minuscules et de teinte brune, arrivent à maturité pendant la saison pluvieuse, de février à avril, et sont par la suite disséminées par le vent au cours de l'été (**Mahmoud et Alshammari 2022**).



Figure 1 : Photo illustrant *Helianthemum lippii* (<https://powo.science.kew.org/>)

I.1.2. *Helianthemum ruficomum*

Helianthemum ruficomum est une espèce endémique, du Sahara septentrional. Elle appartient, à la famille des *Cistaceae* (**Quezel et Santa 1963**). Selon **POWO** (Plants of the World Online), *H. ruficomum* est originaire d'Afrique du Nord. Elle est présente en Algérie, au Maroc oriental et dans d'autres régions du Maghreb.

Elle 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 (Figure 2). Ses calices sont très poilus, avec de nombreux poils blancs serrés, légèrement étalés, et des pétales mesurant moins de 1 cm de long (**Benchadi 2020**).



Figure 2 : Photo illustrant *Helianthemum ruficomum* (<https://www.teline.fr/>)

I.1.3. *Helianthemum virgatum*

Helianthemum virgatum, espèce de plante de la famille des *Cistaceae*. Elle est originaire du nord-ouest de l'Afrique. Elle est particulièrement endémique de la Tunisie.

H. virgatum est un arbuste semi-ligneux, à feuillage persistant. Il atteint, approximativement, un pied de hauteur. Cette plante est caractérisée par des branches dressées, ramifiées et cendrées, des feuilles linéaires et enroulées sur les bords (Figure 3). Ses fleurs, grandes et délicates, sont de couleur rose en dessous, avec une tache jaune à la base de chaque pétale. Cette espèce fleurit et produit des graines de mai à août. On la trouve dans des zones sèches, des collines arides et des pentes de montagnes (Houard 1908).



Figure 3 : Photo illustrant *Helianthemum virgatum* (<https://www.tela-botanica.org/>)

I.2. Genre *Neatostema*

Neatostema est un genre monotypique de plantes à fleurs appartenant à la famille des Boraginacées. La seule espèce représentant ce genre est *Neatostema apulum* (Roeder et Bourauel 1992).

I.2.1 *Neatostema apulum*

Cette espèce pousse, principalement, dans la région méditerranéenne, notamment dans le sud de la France ainsi que dans les zones arides et sèches du pourtour méditerranéen. Elle appartient à la famille des Boraginacées (Chézeau et Lahondère 1986).

N. apulum est une plante annuelle de petite taille, caractérisée par des fleurs jaunes et des cymes florales, généralement, ramifiées. Les feuilles sont étroites et hérissées de soies raides. C'est une plante des pelouses et coteaux arides. Elle apprécie les sols secs, nus ou peu végétalisés. Elle est fréquente en milieu aride (TelaBotanica., 2011).



Figure 4 : Photo illustrant *Neatostema apulum* (<https://powo.science.kew.org/>)

II. Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées

La synthèse de la recherche bibliographique réalisée sur les travaux concernant les plantes étudiées est présentée dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Travaux antérieurs réalisés sur les plantes étudiées

Travaux antérieurs	Référence
<i>Helianthemum lippii</i>	
Criblage des activités analgésiques et anti-inflammatoires de deux plantes médicinales libyennes : <i>Helianthemum lippii</i> et <i>Launaea resedifolia</i> .	(Alsabri, Zetrini <i>et al.</i> , 2012)
Micropropagation de <i>Helianthemum lippii</i> L. var sessiliflorum (Cistaceae), une importante plante pastorale des	(Hamza, Gtari <i>et al.</i> , 2013)

zones arides d'Afrique du Nord.	
Propriétés phytochimiques, antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antiulcéreuses d' <i>Helianthemum lippii</i> .	(Alsabri, Rmeli <i>et al.</i> , 2013)
Effets létaux de <i>Helianthemum lippii</i> (L.) sur les kystes d' <i>Acanthamoeba castellanii</i> in vitro.	(Badria, Hetta <i>et al.</i> , 2014)
Activité cytotoxique de <i>Helianthemum lippii</i> .	(Bensaber, Mrema <i>et al.</i> , 2014)
Rapport actualisé sur la répartition de <i>Helianthemum lippii</i> (Cistaceae) en Italie.	(Venturella, Gargano <i>et al.</i> , 2015)
Étude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes de <i>Helianthemum lippii</i> (L.) pers. à différents stades de croissance (somatique, floraison et fructification).	(Atef, Anouar <i>et al.</i> , 2015)
Caractérisation des extraits à l'acétate d'éthyle et au n-butanol de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> et d' <i>Helianthemum lippii</i> et leur effet sur le muscle lisse du côlon distal du rat.	(Djemam, Lassed <i>et al.</i> , 2020)
Biosynthèse de nanoparticules de zinc à partir de l'extrait de <i>Helianthemum lippii</i> L. et amélioration de leurs effets hépatoprotecteurs chez le rat, contre les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone	(Boutlelis, Mounia <i>et al.</i> , 2022)
Composés bioactifs de l'extrait méthanolique de <i>Helianthemum lippii</i> poussant dans la région de Hafr Al-Batin, au nord-est de l'Arabie Saoudite	(Mahmoud et Alshammari 2022)
Les extraits riches en substances phytochimiques d' <i>Helianthemum lippii</i> possèdent des activités antimicrobiennes, anticancéreuses et anti-biofilm.	(Plescia, Venturella <i>et al.</i> , 2022)
Étude phytochimique des parties aériennes de <i>Helianthemum lippii</i> (L.) Dum. Cours et évaluation de leurs activités antioxydantes	(Laib et Djahra 2022)
Synthèse verte de nanoparticules d'argent à partir d'extraits d' <i>Helianthemum lippii</i> (HI-NPs) : Caractérisation, activités antioxydantes et antibactériennes, et étude de l'interaction avec l'ADN.	(Laib, Ali <i>et al.</i> , 2023)
Profil des composés phénoliques et évaluation des activités biologiques de l'extrait brut et de certains composés bioactifs des parties aériennes de <i>Helianthemum lippii</i> .	(Laib et Djahra 2023)
Profile phytochimique et fractionnement de l'extrait d' <i>Helianthemum lippii</i> par rapport à l'extrait modifié par des nanoparticules d'argent : évaluation des propriétés photoprotectrices, anti-hémolytiques, antibactériennes et anti-inflammatoires.	(Laib, Boutlilis <i>et al.</i> , 2024)
Étude approfondie de l'activité antibactérienne, antioxydante et photocatalytique des nanoparticules d'oxyde de fer synthétisées par <i>Helianthemum lippii</i> (L.) pers.	(Fouhma, Tamma <i>et al.</i> , 2024)
Propriétés antioxydantes et composition chimique de la truffe blanche <i>Tirmania nivea</i> et de sa plante hôte <i>Helianthemum lippii</i> .	(Zaghlul, Hamad <i>et al.</i> , 2024)

Efficacité thérapeutique de l'extrait d' <i>Helianthemum lippii</i> et des nanoparticules d'argent synthétisées à partir de l'extrait contre la néphrotoxicité rénale induite par le cadmium chez les rats Wistar.	(Laib, Ali <i>et al.</i> , 2024)
<i>Helianthemum ruficomum</i>	
Criblage en ligne, isolement et identification des composés antioxydants de <i>Helianthemum ruficomum</i> .	(Chemam, Benayache <i>et al.</i> , 2017)
L'effet protecteur des extraits des plantes <i>Helianthemum confertum</i> et <i>Helianthemum ruficomum</i> vis-à-vis de la toxicité induite par la Doxorubicine.	(Djebbari et Zama 2017)
Constituants chimiques des espèces <i>Helianthemum hirtum</i> ssp. <i>ruficomum</i> (Cistaceae) et <i>Onobrychis crista-galli</i> (Fabaceae).	(Benchadi 2020)
Premier rapport sur la composition chimique de l'huile essentielle de <i>Helianthemum ruficomum</i> (CISTACEAE).	(Chemam, Benayache <i>et al.</i> , 2022)
<i>Helianthemum virgatum</i>	
<i>Helianthemum virgatum</i> présente un effet analgésique similaire chez la souris	(Alzetrini, Mohamed <i>et al.</i> , 2009)
<i>Neatostema apulum</i>	
Alcaloïdes pyrrolizidiniques de <i>Neatostema apulum</i> .	(Roeder et Bourauel 1992)

III. Généralités sur les champignons phytopathogènes

Les champignons constituent le groupe eucaryote le plus diversifié de la planète ; avec une estimation d'environ 1,5 million d'espèces. Les champignons forment l'un des principaux décomposeurs dans les écosystèmes. De nombreuses espèces fongiques sont bénéfiques pour la santé humaine, la santé animale et l'équilibre environnemental. Toutefois, un nombre important de champignons présentent un caractère pathogène lié à diverses maladies de plantes, d'animaux ainsi qu'à certaines affections humaines (Aslam, Tahir *et al.*, 2017).

Les champignons phytopathogènes synthétisant des toxines représentent des risques pour la santé des plantes hôtes. Ces toxines sont, principalement, des métabolites secondaires, de faible poids moléculaire, capables de provoquer des symptômes spécifiques tel que flétrissement, la chlorose ou l'apparition de taches foliaires. Même à des faibles concentrations, ils sont capables d'altérer les fonctions physiologiques normales de la plante. Le mode d'action de ces toxines, chez les plantes, est compliqué car elles s'attaquent, principalement, à la membrane cellulaire, à la mitochondrie et aux chloroplastes ; ce qui perturbe leur métabolisme et cause leur destruction. De plus, elles empêchent la synthèse des protéines et des acides nucléiques ; provoquant, ainsi, des troubles physiologiques, l'apoptose et même la mort de la plante (Peng, Li *et al.*, 2021).

Les champignons phytopathogènes possèdent un fort potentiel de dispersion. Ils peuvent, parfois, s'étendre à des distances très importantes. La dissémination peut être assurée naturellement (dispersion des spores par le vent) ou par les activités anthropiques tels que le transport de personnes, de marchandises et de matériel végétal (Pascal 2009).

III.1. Le genre étudié (*Fusarium*)

Link, a été le premier à décrire le genre *Fusarium* en 1809 (Munkvold et protocols 2016). Ces champignons filamenteux sont cosmopolites. Ils regroupent des agents pathogènes opportunistes affectant les végétaux, tout en ayant la capacité de se développer comme saprophytes dans diverses régions climatiques (Stepien, Lalak-Kańczugowska *et al.*, 2020). Largement répandus dans le sol, les parties aériennes et souterraines des plantes, ils persistent sous forme de chlamydo-spores ou d'hyphes dans les résidus de plantes et de matières organiques (Gupta *et al.*, 2019). On les retrouve, fréquemment, dans les zones tropicales et tempérées, ainsi que dans les zones désertiques, alpines et arctiques, qui sont caractérisées par des conditions météorologiques rigoureuses (Nelson, Dignani *et al.*, 1994).

Trois types de spores, à savoir des macroconidies, des microconidies et des chlamydo-spores, peuvent être produites par les espèces du genre *Fusarium* (Figure 5) (Nelson, Dignani *et al.*, 1994).

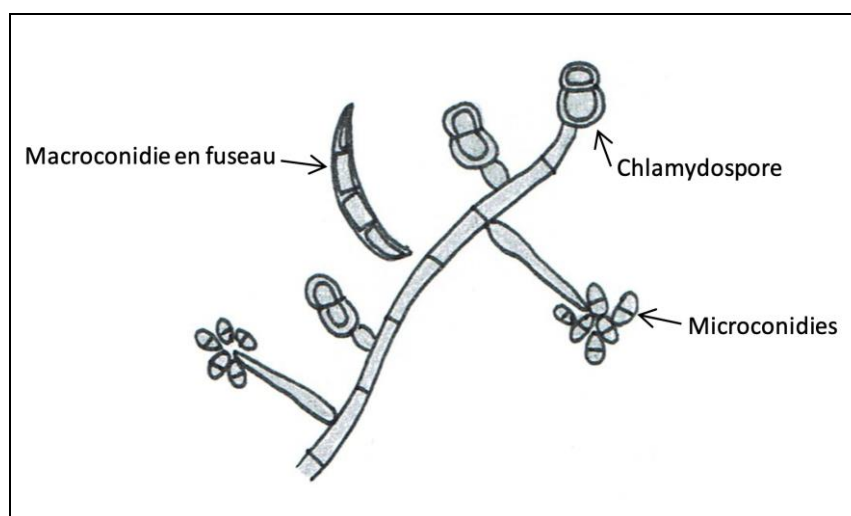


Figure 5 : Caractères morphologiques des *Fusarium* (<https://drmicrobe.com/>)

Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques, tels que la couleur de la colonie, la longueur et la forme des macroconidies, le nombre, la forme et la disposition des microconidies, ainsi que la présence ou l'absence de chlamydo-spores, sont des critères fondamentaux pour la distinction entre les espèces de *Fusarium* (Okungbowa et Shittu 2012).

III.1.1. *Fusarium graminearum*

Fusarium graminearum, un champignon phytopathogène, dévastateur, de la famille des Nectriaceae (ordre des Hypocreales) (Madhushan, Weerasingha *et al.*, 2025) est capable de provoquer la brûlure de l'épi du blé (FHB), la fusariose du collet (FCR) (Bouanaka 2023), ainsi que la pourriture des racines et du collet, chez les céréales ; entraînant, ainsi, une baisse considérable de la productivité et de la qualité des cultures (Yang, Jacobsen *et al.*, 2013).

F. graminearum produit de nombreuses mycotoxines : la deoxynivalenol (DON), le zearalénone (ZEN), le nivalénol (NIV), la fusarénone-X (FUS), le mono-acétyldeoxynivalénol (AcDONs), le di-acétyldeoxynivalénol (DiAcDON) et le diacétylnivalénol (DAcNIV) (Mesterhazy 2024).

Les colonies de *F. graminearum* présentent, généralement, une coloration marquée, avec un mycélium dense à floconneux, rose grisâtre à brun doré. Le revers est d'un rouge rubis foncé (Figure 6). Les macroconidies sont droites, avec une épaisse paroi et une cellule basale sous forme d'un pied. Les microconidies sont absentes. La température optimale pour sa croissance se situe entre 24 et 26,8°C sur des milieux liquides et solides, ayant un pH compris entre 6,7 et 7,2 (Pitt et Hocking 2009).



Figure 6 : Culture de *Fusarium graminearum* sur (PDA) et macroconidies (Pancaldi, Tonti *et al.*, 2010).

III.1.2 *Fusarium culmorum*

Fusarium culmorum est un champignon du sol. Il est largement répandu. Il est susceptible de causer la pourriture des racines et du collet, ainsi que la fusariose de l'épi, sur différentes céréales ; en particulier le blé et l'orge. Il engendre d'importants déficits de performance et de qualité, en entraînant la contamination des grains par des mycotoxines. *F. culmorum* est, aussi, connu comme un agent pathogène après la récolte, particulièrement sur les grains récemment cueillis, mal séchés ou mal stockés (Scherm, Balmas *et al.*, 2013).

F. culmorum fait partie des champignons produisant de nombreuses toxines dangereuses de la famille des trichothécènes. Elles sont considérées comme les composés

les plus bioactifs produits par ce champignons ; notamment le déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV), la toxine T-2 et la zéaralénone (ZEN) (Scherm, Balmas *et al.*, 2013). Ces mycotoxines ont la capacité d'inhiber la synthèse de protéines chez les eucaryotes (Pastuszak, Szczerba *et al.*, 2021).

F. culmorum se caractérise par la production des macroconidies courtes, robustes, avec des parois épaisses, qui présentent une courbure sur leurs surfaces, ventrale et dorsale (Figure 7). Les chlamydospores se développent de manière généreuse et rapide et peuvent se présenter seules, en chaînes ou en amas. Ce champignon pousse rapidement sur Potato Dextrose Agar (PDA), formant un mycélium aérien dense, généralement blanc, mais souvent jaune à beige. La face inférieure de la culture fongique est rouge carmin (Wagacha et Muthomi 2007).

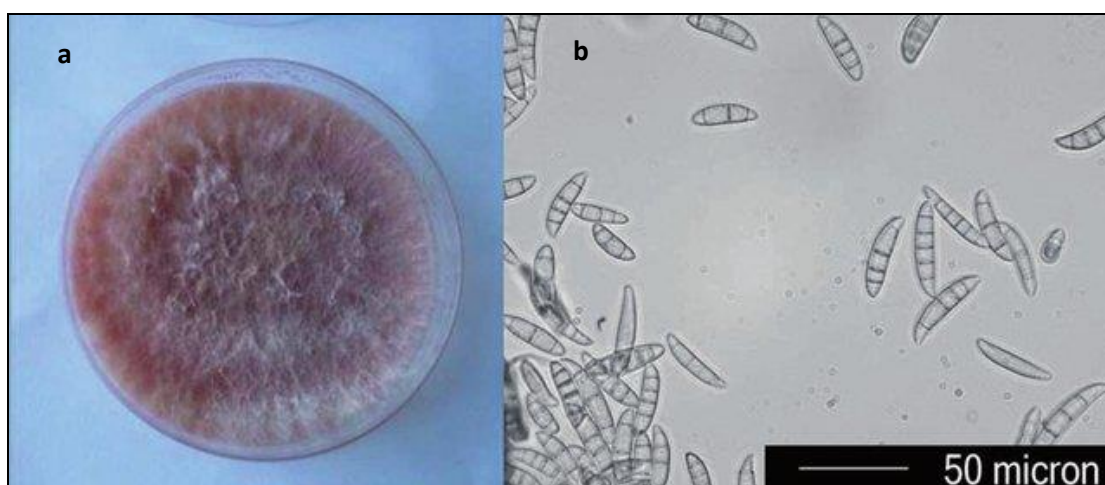


Figure 7 : Thalle de *Fusarium culmorum* sur milieu PDA (a) et macroconidies (b) (Pancaldi, Tonti *et al.*, 2010).

III.1.3. *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum est un champignon tellurique ubiquiste à l'échelle mondiale. Il est parmi les agents phytopathogènes majeurs du genre *Fusarium*. Il relève de la famille des Nectriaceae (ordre des Hypocreales). Il est capables d'infecter diverses plantes et causer des flétrissement et des pourritures des racines, du collet et du bulbe, chez des cultures de grande importance économique (Madhushan, Weerasingha *et al.*, 2025), (Sharma, Sengupta *et al.*, 2016), (Okungbowa et Shittu 2012).

F. oxysporum Produit de nombreuses toxines tel que la moniliformine (MON), la beauvéricine (BEA) et l'acide fusarique (Ekwoadu et Mwanza 2023) ; (Mesterhazy 2024).

F. oxysporum se caractérise par la production de microconidies ovales et constituées d'une ou deux cellules. Elles sont produites dans diverses conditions, telles que sur des milieux de culture liquides ou solides. Les macroconidies sont de trois à cinq cellules, progressivement pointues et courbées vers les extrémités. Les chlamydospores à parois épaisses assurent la survie à long terme de *F. oxysporum*. Les chlamydospores sont

terminales ou intercalaires sur un mycélium plus ancien ou dans des macroconidies. Ils peuvent rester viables dans le sol pendant de nombreuses années ; ce qui en fait une contrainte à long terme sur la production agricole, dans des champs précédemment infestés (Kang, Demers *et al.*, 2014).

Les colonies sont, généralement, caractérisées par un mycélium aérien blanc grisâtre assez lâche. Le revers de la colonie est, généralement, mauve, violet ou magenta grisâtre (Tivoli 1988). Sa température optimale de croissance est de 25 à 30,8°C (Pitt et Hocking 2009).

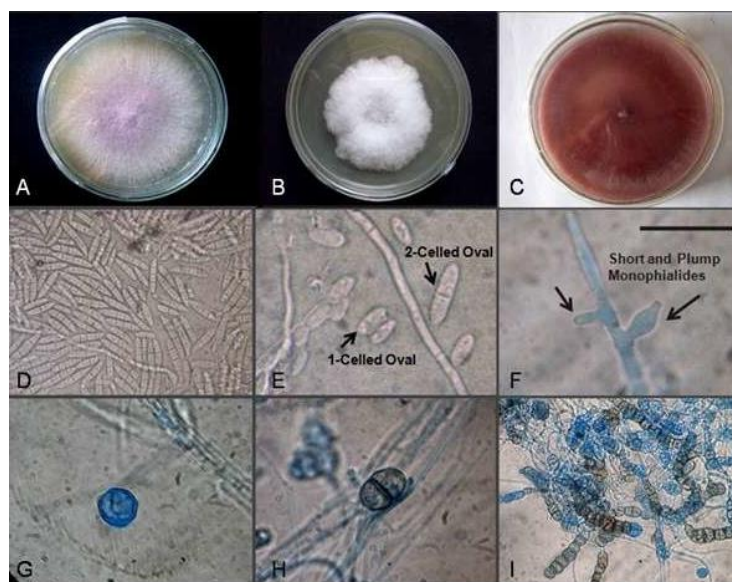


Figure 8 : *Fusarium oxysporum* (Rafique, Rauf *et al.*, 2015). A–C : Morphologie de la colonie sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) ; A : Couleur de la colonie est rose ; B : Colonie blanche et duveteuse ; C : Pigmentation violet foncé sur la face inférieure de la boîte ; D : Macroconidies ; E : Microconidies de forme ovale, unicellulaires et bicellulaires ; F : Cellules conidiogènes ; G–I : Formation de chlamydospores, G : Seules, H : Par paires, I : Chaînes courtes.

IV. Biopesticides d'origine végétale : pour une agriculture durable

L'utilisation généralisée et la dépendance aux produits phytosanitaires chimiques a conduit à l'apparition de bioagresseurs résistants. Les biopesticides représentent une des alternatives à cette dépendance (Deravel, Krier *et al.*, 2013). Ces substances sont issues de sources biologiques. Ainsi, des microorganismes, des composés naturels ou des extraits de plantes, sont employés, en agriculture, pour la gestion des ravageurs et des maladies de cultures (Thiaw, Sembene *et al.*, 2010). À la différence des pesticides chimiques, les biopesticides exploitent des mécanismes biologiques spécifiques, grâce à leur mode d'action non toxique et écologique, offrant ainsi une approche respectueuse de l'environnement et de la santé animale et humaine (Korangi Alleluya, Kubindana *et al.*, 2021).

Il est certain que ces produits constituent une des clés du développement durable des activités agricoles dans le monde. Ils sont biodégradables, ne laissent pas de résidus nocifs et peuvent être moins chers que les pesticides chimiques de synthèse. Lorsqu'ils sont produits localement, ils peuvent s'avérer plus efficaces à moyen et long terme, tout en évitant la pollution de l'environnement (sol, air et eau) et des problèmes de résistance, grâce à leur mode d'action complexe. Les biopesticides ont généralement un impact limité aux bioagresseur ciblés et les organismes étroitement apparentés ; cela permet de protéger les autres organismes vivants dans le même environnement. Toutefois, la vitesse d'action et l'efficacité, souvent lente et inconstante, à cause de l'impact de divers facteurs biotiques et abiotiques (**Korangi Alleluya, Kubindana *et al.*, 2021**).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La présente étude vise à évaluer l'activité anti-phytopathogène de quelques plantes locales, *Helianthemum lippii*, *Helianthemum virgatum*, *Helianthemum ruficomum* et *Neatostema apulum*. Ces espèces appartenant des familles des *Cistaceae* et des *Boraginaceae*, collectées dans des régions arides d'Algérie, sont traditionnellement utilisées pour diverses affections grâce à leur richesse en composés naturels tels que les flavonoïdes, les tanins et les polyphénols. Néanmoins, elles demeurent peu étudiées malgré leur potentiel bioactif.

Trois espèces fongiques du genre *Fusarium* ont été sélectionnées, en raison de leur prévalence sur les cultures, donc des pertes considérables de rendement et de qualité.

Lieu d'étude

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire des Sciences Fondamentales (LSF) de l'Université Amar Telidji (Laghouat) qui réunit les activités complémentaires de chimistes, biochimistes, pharmaciens, microbiologistes, physiologistes et agronomes, intéressés par les substances naturelles et leurs valorisations.

I. Matériel

I.1. Le matériel végétal

- **Collecte**

Le matériel végétal testé dans cette étude a été collecté au niveau de la région de Gueltat Sidi Saâd (Figure 9), située dans la wilaya de Laghouat (Algérie), durant le mois d'avril 2023 (au printemps).

Uniquement les parties aériennes (tige, feuilles, fleurs, fruits) des plantes sélectionnées ont été prélevées et préparées pour l'extraction.

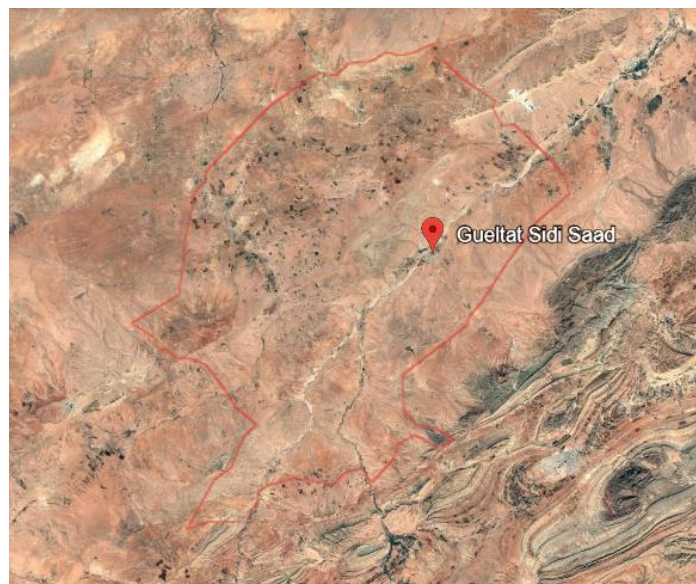


Figure 9 : Zone de collecte des plantes étudiées.

- **Classification des plantes**

Afin de mieux situer les espèces étudiées dans le règne végétal, le tableau ci-après affiche leur classification taxonomique complète, établie selon les données fournies par la base de données **NCBI Taxonomy** (National Center for Biotechnology Information) depuis le règne jusqu'à l'espèce.

Tableau 2 : Classification taxonomique des plantes étudiées
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Rang	<i>H. lipii</i>	<i>H. virgatum</i>	<i>H. ruficomum</i>	<i>N. apulum</i>
Domaine	Eukaryota	Eukaryota	Eukaryota	Eukaryota
Règne	Viridiplantae	Viridiplantae	Viridiplantae	Viridiplantae
Phylum	Streptophyta	Streptophyta	Streptophyta	Streptophyta
Subphylum	Streptophytina	Streptophytina	Streptophytina	Streptophytina
Class	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Ordre	Malvales	Malvales	Malvales	Boraginales
Famille	Cistaceae	Cistaceae	Cistaceae	Boraginaceae
Genre	Helianthemum	Helianthemum	Helianthemum	Neatostema
Espèce	<i>Helianthemum lipii</i>	<i>Helianthemum virgatum</i>	<i>Helianthemum ruficomum</i>	<i>Neatostema apulum</i>

I.2. Le matériel fongique

Dans cette recherche, nous avons sélectionné les trois souches fongiques ci-après :

Tableau 3 : les codes des souches fongiques étudiées

Espèce	Code
<i>Fusarium graminearum</i>	INRA812
<i>Fusarium culmorum</i>	T7
<i>Fusarium oxysporum</i>	FOP

Ces souches fongiques, purifiées au préalable, ont été conservées par congélation.

- **Taxonomie des souches fongiques**

La taxonomie des souches fongiques utilisées dans cette étude, établie selon les données fournies par la base de données **NCBI Taxonomy** (National Center for Biotechnology Information), est présentée ci-après :

Règne : Fungi

Sous-règne : Dikarya

Embranchement : Ascomycota

Sous-embranchement : Pezizomycotina

Classe : Sordariomycetes

Sous-classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce : *Fusarium graminearum*

Espèce : *Fusarium oxysporum*

Espèce : *Fusarium culmorum*

I.3. Stérilisation du matériel

Tout le matériel utilisé (béchers, erlenmeyers ...etc.) a été soigneusement lavé, rincé à l'eau distillée et ensuite séché à l'air libre. Les tubes à essai et les pipettes Pasteur ont été recouverts d'aluminium et stérilisés à sec dans un four pasteur. La stérilisation des milieux de culture et des solutions aqueuses a été réalisée dans l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes.

La désinfection par flamage (passage dans la flamme du bec bunsen) a été réalisée pour la stérilisation de l'air de la zone du travail, ainsi pour que la stérilisation extemporanée (pour utilisation immédiate) du petit matériel (exemple : le fil de platine d'une anse, col des tubes et des flacons, extérieur des pipettes Pasteur...etc.).

I.4. Milieu de culture et conditions de croissance

Les espèces fongiques étudiées ont été cultivées sur différents milieux, selon l'objectif de chaque étape expérimentale.

Pour préparer des souches fongiques, le Potato Dextrose Agar (PDA) a été utilisé comme milieu solide pour établir les précultures, à partir d'une culture pure conservée (Voir Annexe 2). Ce milieu fournit du dextrose en tant que source de carbone et des nutriments indispensables issus de l'extrait de pomme de terre ; ce qui favorise, par conséquent, une croissance plus vigoureuse et une quantité plus élevée de colonies (**Ribeiro, Araújo et al. 2025**). Un autre milieu liquide carboxy méthyl cellulose (CMC) a été utilisé pour induire la sporulation des champignons qui sert comme inoculum pour le milieu de culture liquide Sabouraud (Annexes 1).

Toutes les incubations ont été effectuées à 25 ± 2 °C, dans des conditions statiques pour certaines et sous agitation modérée pour d'autres.

I. Méthodes expérimentales

II.1. Préparation des extraits

Les extraits des plantes étudiées ont été préparés auparavant par des doctorantes du laboratoire, suivant un protocole basé sur l'extraction par Soxhlet. Ainsi, au total, huit extraits ont été mis à notre disposition : quatre extraits méthanoliques et quatre extraits à l'acétate d'éthyle.

Avant les tests, les extraits secs ont été dissous dans du DMSO (Diméthylsulfoxyde) à raison de 33,33 mg/mL.

Une gamme de trois concentrations correspondant aux différentes quantités de l'extrait a été définie pour l'évaluation de l'activité anti-phytopathogènes. Il s'agit de : 2 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL.

II.2. Préparation des souches fongiques

II.2.1. Préparation des précultures

Un cube de milieu de culture contenant du mycélium, provenant d'une culture pure conservée, a été transféré, à l'aide d'une anse stérile, dans un milieu PDA pour chaque souche (FOP, T7 et 812). Ensuite, les boîtes de Petri ont été incubées à 25 ± 2 °C, pendant 5 jours (jusqu'à une croissance mycélienne suffisante).

II.2.2. Préparation de la suspension de spores

À partir d'une culture âgée de 5 jours des souches à tester (FOP, T7, 812), une suspension de spores a été préparée par le transfert des souches dans un milieu liquide de carboxyméthylcellulose (CMC) et incubées à 25°C pendant 7 jours sous agitation modérée, pour favoriser la production des spores.

La suspension obtenue a subi un comptage de cellules à l'aide d'une cellule de Malassez (Annexe 3) (Ouattara, Sanane et al. 2023). La concentration de l'inoculum a été ajustée à 10^6 spores/ μ L.

III. Évaluation de l'activité anti-phytopathogène sur milieu liquide

Les propriétés anti-phytopathogènes des extraits méthanolique et à l'acétate d'éthyle, des différentes plantes, ont été évaluées par la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI et la Concentration Minimale Fongicide CMF, par la technique de microdilution, en utilisant des microplaques à 24 puits (Elhouiti, Tahri et al. 2017). Du fait de l'indisponibilité de ces dernières, nous les avons remplacées par des boîtes de Pétri à trois compartiments, comme alternative pour la création d'un milieu liquide pour les champignons. Dans laquelle chaque boîte a été destinée à une seule concentration d'extrait, afin de réduire les risques de contamination et de garantir une répétabilité des tests.

Le mode opératoire

Une gamme de trois concentrations, correspondant aux différentes quantités de l'extrait, a été définie pour l'évaluation de l'activité anti-phytopathogènes. Il s'agit de 2mg/mL, 1mg/mL et 0,5mg/mL.

Les différentes quantités d'extraits végétaux et de milieux de culture (bouillant Sabouraud) ont été incorporées dans des boites Petri à 3 compartiments (Figure 10, page 24), puis l'ajout d'un volume de 50 μ L d'inoculum, de chaque espèce à 10^6 spores/ μ L (Tableau 4).

Un témoin négatif a été préparé de la même manière, sans l'ajout d'extrait, pour servir comme référence pour une croissance normale.

L'ensemble est laissé en incubation pendant 4 à 5 jours, à 25 ± 2 °C, à l'obscurité totale et sous agitation modérée.

Tableau 4 : Les différentes quantités incorporées dans les boites Petri

Concentration d'extrait (mg/mL)	Volume d'extrait (μ L)	Volume de milieu (μ L)	Volume d'inoculum (μ L)
2	300	4700	50
1	150	4850	
0,5	75	4925	

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Résultats

L'activité anti-phytopathogène des extraits méthanoliques et des extraits à l'acétate d'éthyle vis-à-vis de trois souches fongiques, a été évaluée par l'apparence visuelle observée après 4 jours d'incubation dans du milieu de culture à diverses concentrations d'extraits (0,5 mg/mL, 1 mg/mL et 2 mg/mL). La comparaison de la croissance fongique, la turbidité et l'apparition de sédiments mycéliens avec celle du témoin négatif, nous permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale fongicide CMF.

Pour rappel, la CMI correspond à la concentration la plus petite de l'extrait qui empêche la croissance et la CMF correspond à la concentration la plus petite à partir de laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil, par comparaison aux témoins (Doga, Ouattara *et al.* 2022).

I.1. Évaluation de la croissance mycélienne vis-à-vis des extraits méthanoliques

Les observations de l'effet des extraits méthanoliques sur la croissance mycélienne des différentes souches a démontré, comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies au fur et à mesure que les concentrations augmentent dans les boîtes de Petri. Certains extraits ont totalement inhibé la croissance des champignons à la concentration la plus élevée, et une inhibition partielle des souches aux concentrations les plus faibles. Les paramètres nécessaires, à savoir la CMI et CMF sont consignés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Les valeurs des CMI et CMF des extraits méthanoliques

Plante	<i>H. lippii</i>			<i>H. virgatum</i>			<i>H. ruficomum</i>			<i>N. apulum</i>		
	FO	812	T7	FOP	812	T7	FOP	812	T7	FOP	812	T7
Souche	FO	812	T7	FOP	812	T7	FOP	812	T7	FOP	812	T7
	P											
CMI (mg/mL)	2	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1	2
CMF (mg/mL)	>2	>2	2	>2	2	>2	2	>2	>2	2	2	>2

I.1.1. Activité antifongique des extraits méthanoliques sur *Fusarium graminearum*

Les essais ont montré que *Fusarium graminearum* présentait une sensibilité forte avec une inhibition totale de la croissance à la concentration 2 mg/mL avec *N. apulum* et *H. virgatum*. Mais, aussi, une résistance partielle avec *H. lippii* et *H. ruficomum* avec une croissance mycélienne même à 2 mg/mL.

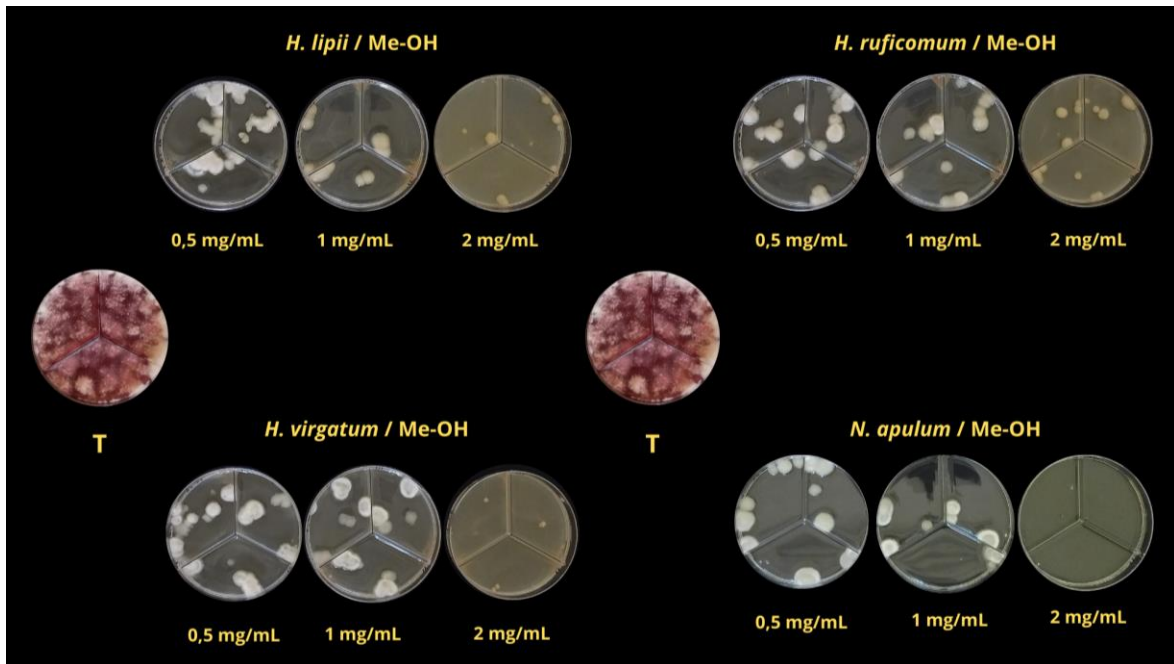


Figure 10 : Effet des extraits méthanoliques des plantes sur le *Fusarium graminearum*.

I.1.2. Activité antifongique des extraits méthanoliques sur *Fusarium oxysporum*

Des inhibitions nettes et effectives de *Fusarium oxysporum* ont été obtenues, à différentes concentrations, avec des valeurs de CMI à 1 mg/mL et de CMF à 2 mg/mL. Cela est observé pour l'extrait méthanoliques de *H. ruficomum* et *N. apulum*. Les extraits de *H. lippii* et de *H. virgatum* ont une activité faible par rapport aux autres extraits avec des CMF non déterminées.

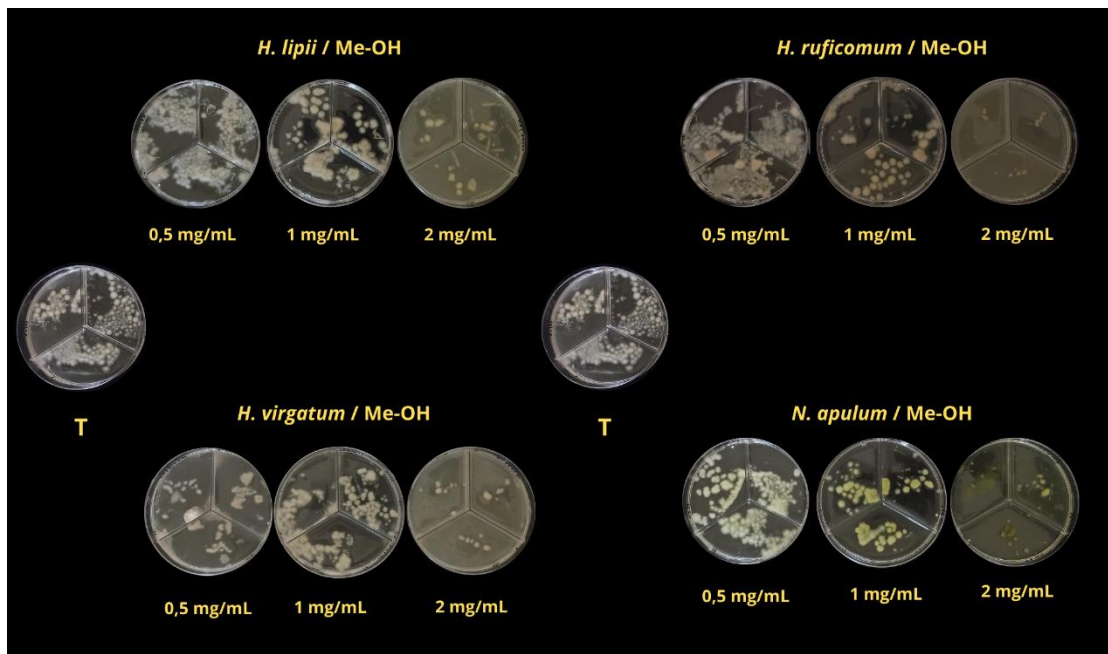


Figure 11 : Effet des extraits méthanoliques des plantes sur le *Fusarium oxysporum*.

I.1.3. Activité antifongique des extraits méthanoliques sur *Fusarium culmorum*

Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanoliques des 4 plantes avaient une activité importante sur *Fusarium culmorum*, caractérisée par l'inhibition croissante en fonction de la concentration, bien que la CMF n'ait pas été atteinte, suggérant une valeur supérieure.

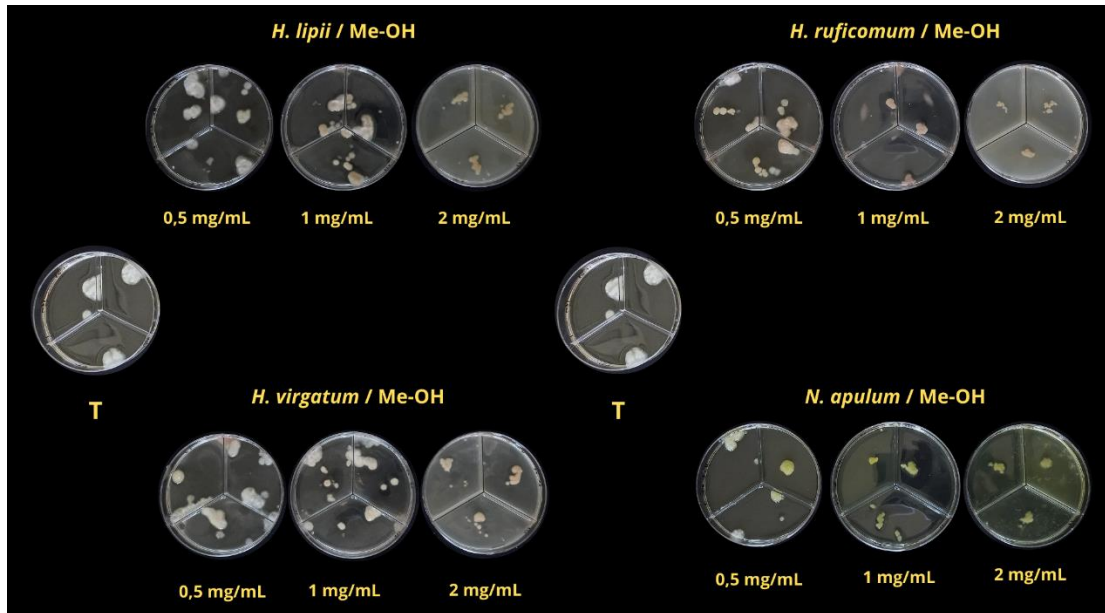


Figure 12 : Effet des extraits méthanoliques des plantes sur le *Fusarium culmorum*.

I.2. Évaluation de la croissance mycélienne vis-à-vis des extraits à l'acétate d'éthyle

On observe, comparativement au témoin, une activité intéressante des extraits à l'acétate d'éthyle sur le *Fusarium*. Une baisse progressive de la croissance fongique avec l'augmentation des concentrations des extraits. Les souches étaient sensibles aux extraits testés, selon une relation dose-réponse. À la concentration la plus élevée, on remarque une absence totale de la croissance mycélienne. Les valeurs de CMF et CMI sont consignées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Les valeurs de CMI et CMF des extraits à l'acétate d'éthyle.

Plante	<i>H. lippii</i>			<i>H. virgatum</i>			<i>H. ruficomum</i>			<i>N. apulum</i>		
	FOP	812	T7	FOP	812	T7	FOP	812	T7	FOP	812	T7
CMI (mg/mL)	1	1	1	1	1	0,5	1	0,5	1	2	1	2
CMF (mg/mL)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	>2	2	>2

I.2.1. Activité antifongique des extraits à l'acétate d'éthyle sur *Fusarium graminearum*

Les extraits à l'acétate d'éthyle ont entraîné une diminution de la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum* et une inhibition complète à la concentration 2 mg/mL. Les concentrations faibles provoquent une croissance réduite. La CMF correspond à 2 mg/mL, pour tous les extraits et la CMI correspond à 0,5 mg/mL pour l'extrait de *H. ruficomum* et à 1 mg/mL, pour les autres trois plantes.

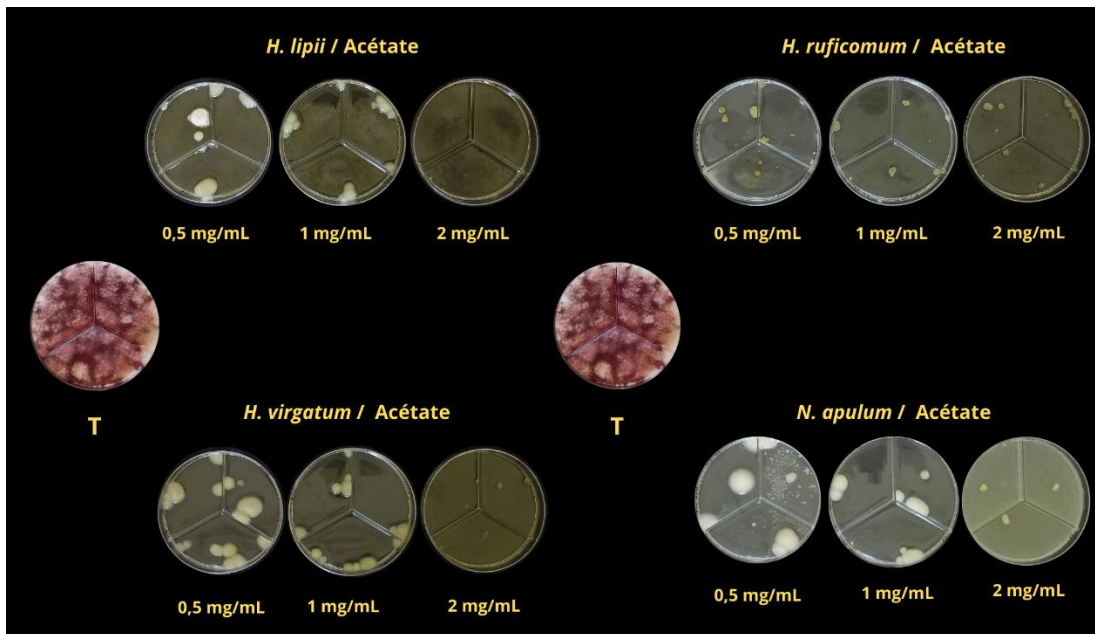


Figure 13 : Effet des extraits à l'acétate d'éthyle des plantes sur le *Fusarium graminearum*

I.2.2. Activité antifongique des extraits à l'acétate d'éthyle sur *Fusarium oxysporum*

La croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* a été inhibée et le maximum d'inhibition est obtenu avec l'extrait de *H. lippii*, *H. virgatum* et *H. ruficomum* à la concentration 2 mg/mL. Cependant, l'extrait de *N. apulum* a une faible activité sur *Fusarium oxysporum*, avec une CMI de 2 mg/mL et une CMF au-delà de 2 mg/mL ; voire indéterminé

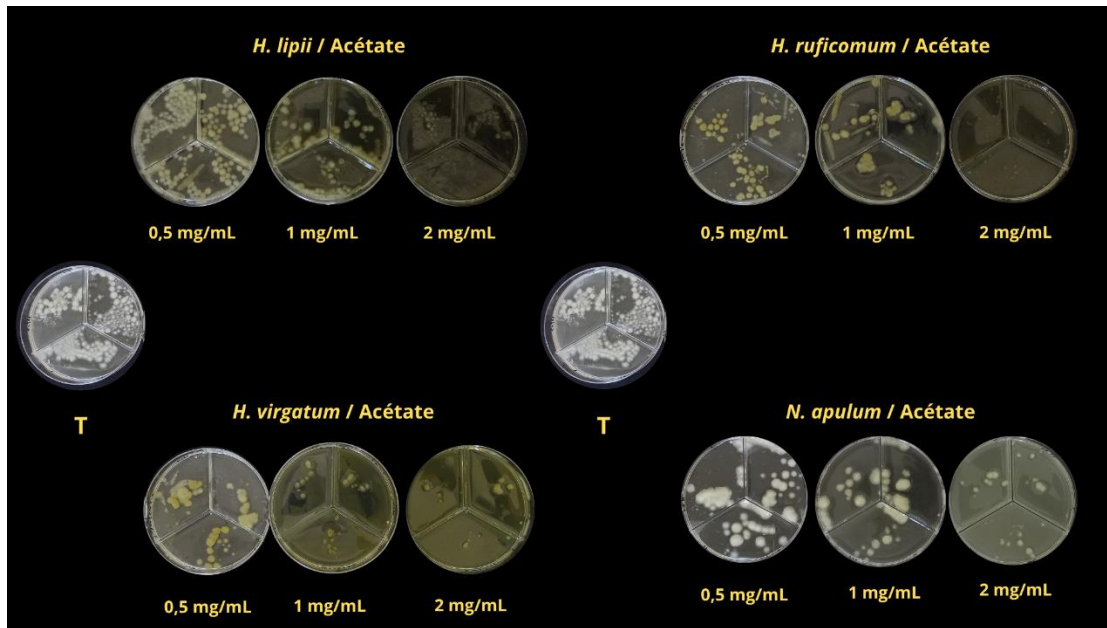


Figure 14 : Effet des extraits à l'acétate d'éthyle des plantes sur le *Fusarium oxysporum*

I. Activité antifongique des extraits à l'acétate d'éthyle sur *Fusarium culmorum*

L'extrait de *H. lippii*, *H. virgatum* et *H. ruficomum* ont exercé une remarquable activité inhibitrice sur *Fusarium culmorum*, avec une CMF de 2 mg/mL. En revanche, l'extrait méthanolique de *N. apulum* a un faible effet, par rapport aux autres extraits. Il a provoqué un ralentissement de la croissance, avec une valeur de CMF indéterminée.

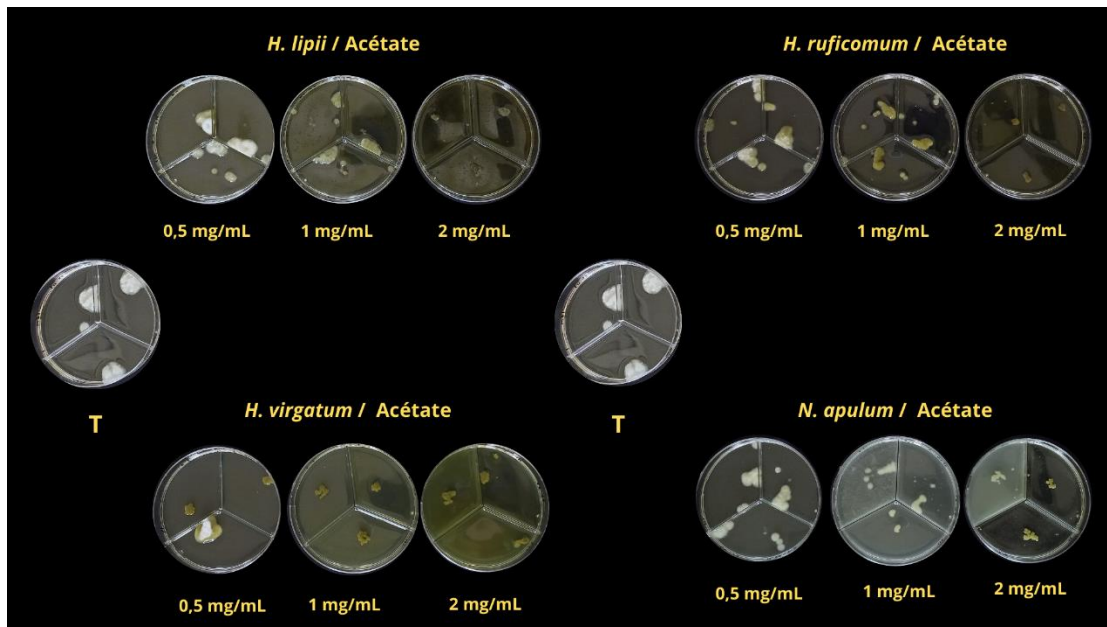


Figure 15 : Effet des extraits à l'acétate d'éthyle des plantes sur le *Fusarium culmorum*.

II. Discussion

Cette étude a eu pour objectif d'évaluer les activités anti-phytopathogènes des extraits méthanoliques et à l'acétate d'éthyle. Selon **Bougandoura and Bendimerad (2012)**, les solvants organiques favorisent une meilleure extraction des substances connues pour leur propriétés antifongiques. Nos extraits ont été obtenus à partir des parties aériennes de plantes locales (*Helianthemum lipii*, *Helianthemum virgatum*, *Helianthemum ruficomum* et *Neatostema apulum*) appartenant aux deux familles des *Cistaceae* et *Boraginaceae*, sur la croissance *in vitro* de trois souches fongiques du genre *Fusarium*, à trois doses d'application (2 mg/mL, 1 mg/mL et 0.5 mg/mL) afin de déterminer la concentration optimale qui assure la meilleure protection contre ces pathogènes. Les résultats obtenus ont permis de déterminer les CMF et les CMI.

L'analyse des résultats indique que les trois souches fongiques testées sont toutes sensibles aux différents extraits. Cette sensibilité se traduit par une réduction progressive du développement des colonies des souches, par rapport à celles des témoins ; l'intensité variant selon les concentrations de l'extrait végétale. Les résultats prouvent, clairement, que les extraits végétaux sont actifs, selon une relation dose-réponse. Ces extraits contiennent des substances bioactives capable d'inhiber ou retarder la croissance du champignon (**Charles, Patrice et al. 2020**).

Les différents extraits méthanoliques testés semblent avoir une activité marquante, mais différente, selon l'espèce testée. L'extrait de *Helianthemum lippii* est très actif contre *Fusarium culmorum* avec une CMF de 2 mg/mL. À la même concentration, l'inhibition est moins efficace à l'encontre de *F. oxysporum* et *F. graminearum* et d'une CMF non déterminée. Cependant, ces espèces fongiques sont complètement inhibées sous l'action d'autres extraits. *F. oxysporum* a été complètement inhibée sous l'action des extraits de *Neatostema apulum* et *Helianthemum ruficomum*, et *F. graminearum* sous l'action de *N. apulum* et *H. virgatum*.

À partir de ces comparaisons, on peut déduire que l'extrait méthanolique de *N. apulum* présente une activité la plus élevée sur les souches des espèces testées, sauf sur celle de *Fusarium culmorum*.

Ce fait pourrait être expliqué par l'effet des métabolites secondaires présents dans les plantes testées. L'activité biologique d'une plante est en relation avec sa composition chimique (**Hajji 2016**). Un criblage phytochimique, effectué par (**Benkahoul, Chaib et al. 2023**) sur le genre *Helianthemum*, a montré la présence de plusieurs métabolites secondaires tel que : les flavonoïdes, les saponosides, les sucres, les tanins, les alcaloïdes, les terpènes, les stérols et les anthraquinones. Si bien que, (**Pamo, Tapondjou et al. 2003**) et (**Dooh, Ambang et al. 2014**) ont rapporté que ces composés sont dotés de propriétés fongicides. Par ailleurs, l'analyse effectuée par (**Mahmoud and Alshammari 2022**) a permis, grâce à une GC-MS, d'identifier plusieurs composés bioactifs dans l'extrait méthanolique de *Helianthemum lippii*. Parmi ces composés, la Spermatheridine, un alcaloïde aporphine reconnu pour son activité antifongique.

Ces résultats sont, en partie, cohérents avec ceux obtenus par **Gouhiri et Guesmia (2024)**, ayant évalué l'activité antifongique des extraits méthanoliques des mêmes espèces de plantes (*Helianthemum spp.* et *Neatostema apulum*), sur les mêmes souches fongiques (*Fusarium spp.*) par la méthode de contact direct, en milieu solide, avec une gamme de concentrations (10, 15 et 30 µl/mL). Les résultats montrent, à la concentration la plus élevée, une activité inhibitrice intéressante contre les agents pathogènes. Au-delà de cela, l'extrait de *H. ruficomum* a exercé la plus forte activité antifongique avec un taux d'inhibitions de 37,5%.

En comparant les résultats relevés, une différence appréciable entre les effets des extraits vis-à-vis des germes testés a été observée, quels que soient le milieu de culture et la méthode utilisées.

Ces résultats sont intéressants puisque nous traitons des extraits et non des produits purs. En effet, l'effet antifongique observé ne peut pas être attribué à un seul composé, vu la complexité chimique des extraits. L'activité inhibitrice dépend, probablement, de l'action combinée des substances bioactives que contient un extrait. L'action, pourrait être synergique ou indépendante, ciblant une ou plusieurs voies biologiques et conduisant, ainsi, à l'efficacité des extraits végétaux sur les agents phytopathogènes (**Hajji 2016**).

Contrairement aux extraits méthanoliques, les extraits à l'acétate d'éthyle ont globalement exercé une activité plus forte, quelle que soit la souche de *Fusarium* testée. Les extraits d'*Helianthemum spp.* ont montré une remarquable activité inhibitrice sur les trois agents pathogènes. Ils ont été inhibés à partir d'une concentration de 0,5 mg/mL. La concentration 2 mg/mL a été suffisante pour provoquer une inhibition totale de la croissance mycélienne. Cette différence d'efficacité entre les extraits à l'acétate d'éthyle et méthanoliques pourrait être due à la différence de concentration des composés chimique, car certaines molécules semblent extraites préférentiellement par l'acétate d'éthyle et non par le méthanol (**Alilou, Rouhi et al. 2007**).

En revanche, l'extrait de *N. apulum* a montré l'activité la plus faible, par rapport aux autres extraits à l'acétate d'éthyle. La variabilité de l'activité inhibitrice entre les espèces d'*Helianthemum* et *N. apulum* peut être due à la différence, de leurs extraits, dans la teneur en métabolites secondaires ; ce qui pourrait être expliqué par l'influence de différents facteurs tels que les conditions climatiques de la région de collecte des feuilles, la saison de récolte, la méthode d'extraction et le type de solvant utilisé (**Qessaoui, Ennasser et al. 2023**).

Plusieurs études, telles que notre comme travail, ont mis en évidence le potentiel antifongiques de plantes appartenant aux familles des *Cistaceae* et des *Boraginaceae*. Nous citons à titre d'exemples, l'étude de **Barros, Duenas et al. (2013)** menée sur l'activité antifongique de *Cistus ladanifer* (*Cistaceae*) où des extraits ont pu provoquer une inhibition microbienne totale de la croissance, à des concentrations supérieures à 0,625 mg/ml. La meilleure activité a été observé contre *Candida glabrata*. De même, les travaux de **Talibi, Askarne et al. (2012)** ont montré que l'extrait méthanolique de *Halimium*

umbellatum (Cistaceae) présente une forte activité antifongique, avec des valeurs de CMI comprises entre 0,156 et 1,25 mg/ml, et des valeurs de CMF comprises entre 2,5 et 5 mg/ml. Une autre étude réalisée par **Ahmad, Bibi et al. (2015)** montre que l'*Heliotropium bacciferum* a une excellente activité inhibitrice sur toutes les souches fongiques. La CMI contre différents germes a été déterminée, avec une CMF comprise entre 0.5 et 2.00 mg/ml.

L'ensemble de ces études souligne l'activité antifongique des plantes des familles des Cistaceae et des Boraginaceae ; ce qui corrobore avec les résultats obtenus dans notre étude. Ces données renforcent l'hypothèse selon laquelle les métabolites secondaires contenus dans ces végétaux, en particulier les flavonoïdes, les terpénoïdes et d'autres métabolites actifs peuvent jouer un rôle clé dans l'activité anti-phytopathogène. Ces composés peuvent altérer la structure de la membrane cellulaire, et inhiber la croissance mycélienne (**Amine, Mohamed et al. 2017**).

En somme, les résultats obtenus dans cette étude mettent en lumière l'importance des extraits végétaux, notamment ceux de l'acétate d'éthyle, dans la lutte contre les champignons filamenteux du genre *Fusarium*. Les résultats de notre travail ne représentent qu'une étape initiale dans la recherche d'un remède naturel contre les maladies phytopathogènes. De ce fait, des investigations phytochimiques et des tests antifongiques plus approfondis sont nécessaires afin d'ouvrir la voie au développement des biopesticides naturels.

CONCLUSION

Conclusion

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité anti-phytopathogène des extraits des plantes *Helianthemum* et *Neatostema*.

Les tests menés sur trois souches de *Fusarium* ont donné des résultats encourageants. Les résultats relevés ont mis en évidence une activité variable, selon le solvant d'extraction, la plante testée et la souche cible. Les extraits à l'acétate d'éthyle ont montré une efficacité, généralement, supérieure à celle des extraits méthanoliques avec une valeur de CMI comprise entre 0,5 et 1 mg/ml et une CMF à 2 mg/ml. Cependant, les extraits méthanoliques, les moins actifs, présentent des valeurs de CMI comprises entre 1 et 2 mg/ml et des CMF non déterminées ; ce qui peut être attribué à la capacité de l'acétate d'éthyle à extraire des composés bio actifs dotés d'activités fongicides.

À la suite de ces résultats, il serait intéressant d'étendre l'éventail des tests sur d'autres agents pathogènes afin de confirmer leur efficacité et d'envisager une caractérisation chimique qui permettrait de séparer et d'identifier les groupes chimiques à l'origine de cette activité, dans le but de proposer des alternatives naturelles, non toxiques et moins onéreuses aux pesticides conventionnels.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Ahmad, S., Bibi, I., AbdEl-Salam, N. M., Hussain, H., Ishaq, M. S., Adnan, M., . . . Medicines, A. (2015). **Antibacterial and antifungal activities of the extract and fractions of aerial parts of *Heliotropium bacciferum***. *12*(2), 32-35.
- Alilou, H., Rouhi, R., Hassani, L. I., Akssira, M. J. R. i. B., & Biotechnology. (2007). **Activit antifongique de *Bubonium odorum* (Asteracées) sur des champignons pathogènes d'agrumes** *6*(1), 20-24.
- Alsabri, S. G., Rmeli, N. B., Zetrini, A. A., Mohamed, S. B., Meshri, M. I., Aburas, K. M., . . . Phytochemistry. (2013). **Phytochemical, anti-oxidant, anti-microbial, anti-inflammatory and anti-ulcer properties of *Helianthemum lippii***. *2*(2).
- Alsabri, S. G., Zetrini, A., Fitouri, S., Hermann, A. J. J. o. C., & Research, P. (2012). **Screening of analgesic and anti-inflammatory activities for two Libyan medicinal plants: *Helianthemum lippii* and *Launaea residifolia***. *4*(9), 4201-4205.
- Alzetrini, A. A., Mohamed, S. A., Alsabri, S. J., Elkilany, A. A., Sherif, F. M., & Gbaj, A. M. J. L. J. O. M. R. (2009). ***Helianthemum virgatum* has analgesic-like effect in mice**. *14*.
- Amine, D., Mohamed, B., Zoubida, H., Jamal, I., & Laila, N. J. E. S. J. (2017). **Activité antifongique des extraits aqueux de *Calendula officinalis* L, *Urginea maritima* (L.) Baker et *Chenopodium ambrosioides* L**. *13*(24), 483-497.
- Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., & Maaroufi, A. J. M. H. A. (2013). **Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie**. *25*(73), 9-14.
- Aslam, S., Tahir, A., Aslam, M. F., Alam, M. W., Shedayi, A. A., & Sadia, S. J. J. o. P. I. (2017). **Recent advances in molecular techniques for the identification of phytopathogenic fungi—a mini review**. *12*(1), 493-504.
- Atef, C., Anouar, F., El-Hadda, A., & Azzedine, C. J. W. J. P. P. S. (2015). **Phytochemicals study, antioxidant and antimicrobial activities of *Helianthemum lippii* (L.) pers. in different stages of growth (somatic, flowering and fruiting)**. *4*, 338-349.
- Badria, F., Hetta, M., Sarhan, R. M., & El-Din, M. E. J. T. K. j. o. p. (2014). **Lethal effects of *Helianthemum lippii* (L.) on *Acanthamoeba castellanii* cysts in vitro**. *52*(3), 243.
- Barros, L., Duenas, M., Alves, C. T., Silva, S., Henriques, M., Santos-Buelga, C., . . . Products. (2013). **Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts**. *41*, 41-45.
- Benchadi, W. (2020). **Constituants chimiques des espèces *Helianthemum hirtum* ssp. *ruficomum* (Cistaceae) et *Onobrychis crista-galli* (Fabaceae)**. UB1,

- Benkahoul, L., Chaib, N., & Mekhloufi, D. (2023). *Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante saharienne de la famille des Cistaceae*. (Master), Université Frères Mentouri, Constantine 1, Constantine, Algérie.
- Bensaber, S. M., Mrema, I. A., Jaeda, M. I., & Gbaj, A. M. J. L. J. o. M. R. (2014). **Cytotoxic activity of *Helianthemum lippii***. 8(2), 92-94.
- Bouanaka, H. (2023). *Interaction : Plante (Le blé), pathogène (*Fusarium*) et antagoniste (*Trichoderma*)*. Alger, Algérie: Éditions Fahrenheit 451.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). **Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. (Nepeta) briq.***
- Boutlelis, D. A., Mounia, B., Salah, B., Hakim, B., Rebiai, A., Laib, I., . . . Islam, R. J. A. R. S. C. B. (2022). **Bio-synthesis of Zinc nanoparticle using *Helianthemum lippii* L. extract and improving in rats their hepatoprotective effects against carbon tetrachloride induced liver damage**. 26(01), 1949-1963.
- Bradai, L., Bissati, S., & Chenchouni, H. (2013). **Etude mycologique et bio-écologique de la truffe blanche du désert (*Tirmania nivea* Desf. Trappe 1971) dans la région de Oued M'ya (Ouargla, Sahara algérien)**.
- Charles, E. S., Patrice, N. D. J., Alain, H., Angèle, N. P., Patrice, N. Z., Godwill, C., & Zachee, A. J. J. o. A. B. (2020). **Évaluation des activités antifongiques des extraits de graines de *Thevetia peruviana* contre *Phytophthora colocasiae* (Oomycètes) agent causal du mildiou du taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) au Cameroun: Evaluation of antifungal activities of *Thevetia peruviana* extracts against *Phytophthora colocasiae*, causal agent of late blight of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) in Cameroon**. 151(1), 15584-15597.
- Chelaghema, A. (2021). *Utilisation d'extraits végétaux pour la maîtrise du risque mycotoxique dans les systèmes agro-alimentaires*. Université Montpellier,
- Chemam, Y., Benayache, S., Chalchat, J. C., Figueredo, G., Chalard, P., & Benayache, F. (2022). **FIRST REPORT ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF *HELIANTHEMUM RUFICOMUM* (CISTACEAE)**.
- Chemam, Y., Benayache, S., Marchioni, E., Zhao, M., Mosset, P., & Benayache, F. J. M. (2017). **On-line screening, isolation and identification of antioxidant compounds of *Helianthemum ruficomum***. 22(2), 239.
- Chézeau, G., & Lahondère, C. (1986). **Compte rendu de l'excursion du 26 mai 1985 Canal de Romsay, Pointe du Chay, Yves (Charente-Maritime)**.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., . . . Ellis, J. J. M. p. p. (2012). **The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology**. 13(4), 414-430.
- Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. J. B., agronomie, société et environnement. (2013). **Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique)**.

- Djebbari, R., & Zama, D. (2017). *L'effet protecteur des extraits des plantes Helianthemum confertum et Helianthemum ruficomum vis-à-vis de la toxicité induite par la Doxorubicine*. Université Frères Mentouri-Constantine 1,
- Djemam, N., Lassed, S., Gül, F., Altun, M., Monteiro, M., Menezes-Pinto, D., . . . Demirtas, I. J. J. o. e. (2020). **Characterization of ethyl acetate and n-butanol extracts of *Cymbopogon schoenanthus* and *Helianthemum lippii* and their effect on the smooth muscle of the rat distal colon**. 252, 112613.
- Doga, D., Ouattara, K. E., Orsot, B. A. M. B., Zirihi, G. N., Zeze, A. J. I. J. o. B., & Sciences, C. (2022). **Evaluation in vitro de l'activité fongicide de l'extrait aqueux des feuilles de *Crotalaria retusa* L.(Fabaceae) sur *Fusarium sp.*** 16(5), 1860-1867.
- Dooh, J. P. N., Ambang, Z., Ewola, A. T., Heu, A., Kosma, P., Yalen, E. J. M., . . . Development. (2014). **Screening and the effect of extracts of *Thevetia peruviana* on the development of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of cassava anthracnose disease**. 4(4), 054-065.
- Ekwomadu, T. I., & Mwanza, M. J. A. (2023). ***Fusarium* fungi pathogens, identification, adverse effects, disease management, and global food security: A review of the latest research**. 13(9), 1810.
- Elhouiti, F., Tahri, D., Takhi, D., Ouinten, M., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M.-N., . . . Yousfi, M. J. A. o. m. (2017). **Variability of composition and effects of essential oils from *Rhanterium adpressum* Coss. & Durieu against mycotoxinogenic *Fusarium* strains**. 199, 1345-1356.
- Fouhama, A., Tamma, N., Rebiai, A., Bouafia, A. J. J. o. S.-G. S., & Technology. (2024). **Comprehensive study on antibacterial, antioxidant, and photocatalytic activity of iron oxide nanoparticles synthesized using *Helianthemum lippii* (L.) pers.** 1-21.
- Gouhiri, N., & Guesmia, M. (2024). *Évaluation de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de quelques plantes locales*. (Master), Univerité Amar Telidji, Laghouat, Algerie.
- Hajji, H. J. R. M. d. P. d. P. (2016). **Evaluation in vitro de l'activité antifongique de quatre plantes médicinales marocaines sur cinq champignons phytopathogènes**. (10).
- Hamza, A., Gtari, M., & Mohamed, N. J. A. J. o. B. (2013). **Micropropagation of *Helianthemum lippii* L. var *Sessiliforuum* (Cistaceae) an important pastoral plant of North African arid areas**. 12(46), 6468-6473.
- Hemmami, H., Seghir, B. B., Zeghoud, S., Ben Amor, I., Kouadri, I., Rebiai, A., . . . Sawicka, B. J. M. (2023). **Desert endemic plants in Algeria: A review on traditional uses, phytochemistry, polyphenolic compounds and pharmacological activities**. 28(4), 1834.
- Houard, C. (1908). **Les Zoocécidies des Plantes d'Europe et du Bassin de la Mediterranean** In A. Hermann (Ed.), (Vol. Vol. 1).

- Iserin, P., Masson, M., & Restellini, J.-P. (2007). *Encyclopédie des plantes médicinales*: Larousse.
- Jagessar, R. C. (2020). **Plant extracts as biological control agents**. *Open Access Journal of Biogeneric Science and Research*, 5(3), 1-6.
- Kang, S., Demers, J., del Mar Jimenez-Gasco, M., Rep, M. J. G. o. p.-a. f., & pathogens, o. d. (2014). *Fusarium oxysporum*. 99-119.
- Korangi Alleluya, V., Kubindana, G., Fingu Mabola, J., Sulu, A., Kasereka, G., Matamba, A., & Ndindir, J. J. R. A. d. E. e. d. A. (2021). **Utilisation des biopesticides pour une agriculture durable en République Démocratique du Congo (Synthèse bibliographique)**.
- Laib, I., Ali, B. D., Alsalme, A., Cornu, D., Bechelany, M., & Barhoum, A. J. P. (2024). **Therapeutic efficacy of *Helianthemum lippii* extract and silver nanoparticles synthesized from the extract against cadmium-induced renal nephrotoxicity in wistar rats**. 17(8), 982.
- Laib, I., Ali, B. D., & Boudebia, O. J. J. o. O. C. (2023). **Green synthesis of silver nanoparticles using *Helianthemum lippii* extracts (HI-NPs): Characterization, antioxidant and antibacterial activities, and study of interaction with DNA**. 986, 122619.
- Laib, I., Boutlilis, D. A., Alsaedi, H., Cornu, D., Bechelany, M., & Barhoum, A. J. F. i. C. (2024). **Phytochemical profiling and fractionation of *Helianthemum lippii* extract versus silver nanoparticle-modified extract: assessment of photoprotective, anti-hemolytic, antibacterial, and anti-inflammatory properties**. 12, 1508707.
- Laib, I., & Djahra, A. B. J. A. o. O. U., Biology Fascicle/Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie. (2023). **PHENOLIC COMPOUND PROFILE AND EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE CRUDE EXTRACT AND SOME BIOACTIVE COMPOUNDS OF *Helianthemum lippii* AERIAL PARTS**. 30(2).
- Laib, I., & Djahra, A. B. J. I. J. o. S. M. (2022). **Phytochemical investigation of *Helianthemum lippii* L. aerial Dum. Cours part and evaluation for its antioxidant activities**. 9(2), 229-237.
- Laraoui, H. (2016). *Métabolites secondaires de *Fumana montana* et *Fumana thymifolia* (Cistaceae)*. UB1,
- Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2015). **The evolution of fungicide resistance**. *Advances in Applied Microbiology*, 90, 29–92. doi:10.1016/bs.aams.2014.09.001
- Madhushan, A., Weerasingha, D. B., Ilyukhin, E., Taylor, P. W., Ratnayake, A. S., Liu, J.-K., & Maharachchikumbura, S. S. J. J. o. F. (2025). **From Natural Hosts to Agricultural Threats: The Evolutionary Journey of Phytopathogenic Fungi**. 11(1), 25.

- Mahmoud, S. Y., & Alshammari, S. O. J. A. f. e. z. I.-. (2022). **Bioactive compounds of methanolic extract of *Helianthemum lippii* grows in Hafr Al-Batin region, northeastern Saudi Arabia.** 25(1).
- Mesterhazy, A. J. J. o. F. (2024). **Food safety aspects of breeding maize to multi-resistance against the major (*Fusarium graminearum*, *F. verticillioides*, *Aspergillus flavus*) and minor toxigenic fungi (*Fusarium spp.*) as well as to toxin accumulation, trends, and solutions—A review.** 10(1), 40.
- Munkvold, G. P. J. M. f. m., & protocols. (2016). **Fusarium species and their associated mycotoxins.** 51-106.
- Nelson, P. E., Dignani, M. C., & Anaissie, E. J. J. C. m. r. (1994). **Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species.** 7(4), 479-504.
- Okungbowa, F., & Shittu, H. J. E. R. J. (2012). **Fusarium wilts: An overview.** 6(2), 83-102.
- Ouadeh, N., Benhissen, S., Belkassa, A., Bendif, H., & Rebbas, K. J. G.-E.-T. (2021). **Etude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales de la région de Dréat (M'Sila, Algérie) Ethnobotanical study and inventory of medicinal plants in the Dréat region (M'Sila, Algeria).** 45(4), 617-633.
- Ouattara, S., Sanane, I., Kassankogno, A. I., Zougrana, S., Sirima, A., Sérémé, A., & Koita, K. J. A. S. (2023). **Effets de deux huiles essentielles de plantes aromatiques pour le contrôle de *Magnaporthe oryzae* BC Couch et sur les paramètres de rendement du riz au Burkina Faso.** 23(3), 101-111.
- Pamo, E., Tapondjou, L., Tendonkeng, F., Nzogang, J., Ngandeu, F., & Kana, J. J. J. o. t. c. a. o. s. (2003). **Effet des huiles essentielles des feuilles et des extrémités fleuries de *Cupressus lusitanica* sur la tique *Rhipicephalus lunulatus* à l'Ouest-Cameroun.** 3(3), 169-176.
- Pancaldi, D., Tonti, S., Prodi, A., Salomoni, D., Dal Prà, M., Nipoti, P., . . . Pisi, A. J. P. m. (2010). **Survey of the main causal agents of *Fusarium* head blight of durum wheat around Bologna, northern Italy.** 49(2), 258-266.
- Pascal, F. J. B. (2009). **L'hybridation interspécifique chez les champignons phytopathogènes à l'origine de nouvelles maladies.** 296, 36.
- Pastuszak, J., Szczerba, A., Dziurka, M., Hornyák, M., Kopeć, P., Szklarczyk, M., & Płazek, A. J. I. J. o. M. S. (2021). **Physiological and biochemical response to *Fusarium culmorum* infection in three durum wheat genotypes at seedling and full anthesis stage.** 22(14), 7433.
- Peng, Y., Li, S. J., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J. P., Gao, A. J., . . . Xu, B. L. J. F. i. M. (2021). **Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents.** 12, 670135.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). ***Fungi and food spoilage* (Vol. 519):** Springer.
- Plescia, F., Venturella, F., D'Anneo, A., Catania, V., Gargano, M. L., Polito, G., . . . Venturella, G. J. P. B.-A. I. J. D. w. a. A. o. P. B. (2022). **Phytochemical-rich**

- extracts of *Helianthemum lippii* possess antimicrobial, anticancer, and anti-biofilm activities. *156*(6), 1314-1324.
- Qessaoui, R., Ennasser, S., Chafiki, S., Ajerrar, A., Alouani, M., Chabbi, N., . . . Awamia, M. A. J.-A. (2023). **Activité antifongique de quatre extraits de plantes contre *Botrytis cinerea***. *(140)*, 19-36.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*: Eds. du Centre Nat. de la Recherche Scientifique.
- Rafique, K., Rauf, C. A., Naz, F., & Shabbir, G. J. I. J. o. B. (2015). **DNA sequence analysis, morphology and pathogenicity of *Fusarium oxysporum f. sp. lentis* isolates inciting lentil wilt in Pakistan**. *7*(6), 74-91.
- Ribeiro, E. C., Araújo, E. K. N., Penha, M. S. C., Nascimento, A. S. d., da Silva, D. F., & Miranda, R. d. C. M. d. J. M. (2025). **Optimisation of Potato Dextrose Agar Culture Medium for Actinobacteria Growth**. *13*(3), 654.
- Roeder, E., & Bourauel, T. J. P. (1992). **Pyrrolizidine alkaloids from *Neotostema apulum***. *31*(10), 3613-3615.
- 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.
- Sharma, M., Sengupta, A., Ghosh, R., Agarwal, G., Tarafdar, A., Nagavardhini, A., . . . Varshney, R. K. J. S. r. (2016). **Genome wide transcriptome profiling of *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris* conidial germination reveals new insights into infection-related genes**. *6*(1), 37353.
- Stepien, L., Lalak-Kańczugowska, J., Witaszak, N., & Urbaniak, M. J. C.-e. o. s. m. (2020). ***Fusarium* secondary metabolism biosynthetic pathways: so close but so far away**. 211-247.
- Talibi, I., Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E., Msanda, F., Saadi, B., & Ait Ben Aoumar, A. J. L. i. a. m. (2012). **Antifungal activity of Moroccan medicinal plants against citrus sour rot agent *Geotrichum candidum***. *55*(2), 155-161.
- Thiaw, C., Sembene, M. J. I. J. o. B., & Sciences, C. (2010). **Biopesticide activity of crude extracts and fractions of *Calotropis procera* Ait. towards the groundnut seed-beetle *Caryedon serratus* Ol.(Coleoptera, Bruchidae)**. *4*(6).
- Tivoli, B. J. A. (1988). **Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement**. *8*(3), 211-222.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). **Application of natural antimicrobials for food preservation**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(14), 5987–6000. doi:19548681
- Venturella, G., Gargano, M. L., Compagno, R., La Rosa, A., La Bella, S., Leto, C., & Tuttolomondo, T. J. W. (2015). **Up-to-date report on the distribution of *Helianthemum lippii* (Cistaceae) in Italy**. *70*(1), 151-154.

- Wagacha, J., & Muthomi, J. J. C. p. (2007). ***Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat.** 26(7), 877-885.
- Yang, F., Jacobsen, S., Jørgensen, H. J., Collinge, D. B., Svensson, B., & Finnie, C. J. F. i. p. s. (2013). ***Fusarium graminearum* and its interactions with cereal heads: studies in the proteomics era.** 4, 37.
- Zaghlul, A. A., Hamad, H. M., Rashed, A., El_GAWAD, A. A., Alardan, D., Alshammari, A., . . . Yassin, M. A. J. N. B. H. A. C.-N. (2024). **Antioxidant properties and chemical composition of white truffle *Tirmania nivea* and its host plant *Helianthemum lippii*.** 52(4), 14176-14176.

ANNEXES

Annexes

Annexes 1 : Milieu CMC

Utilisation : Production de spores de *Fusarium* en milieu liquide

Composition du milieu CMC :

CMC	15 g/L
Yeast extract	1 g/L
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.5 g/L
NH ₄ NO ₃	1 g/L
KH ₂ PO ₄	1 g/L

Mode opératoire (1L) :

Carboxymethyl cellulose low viscosity (CMC)	15 g
Yeast extract	1 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.5 g
NH ₄ NO ₃	1 g
KH ₂ PO ₄	1 g
Eau distillée	Qsp 1L

Ajouter le CMC en dernier et par petites quantités.

Chauffer à 100°C avec agitation pour solubiliser le CMC.

Conditions de stérilisation :

Autoclavage à 121°C pendant 20 minutes

Conservation : 4°C

Annexes 2 : Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar)

Utilisation : Préparation des précultures des souches fongiques

Composition du milieu PDA :

Infusion de pomme de terre 200 ml

Glucose 15 g

Agar-agar 20 g

Eau distillée Qsp 1L

Conditions de stérilisation :

Autoclavage à 121°C pendant 20 minutes

Conservation :

2-8°C

Annexe 3 : Utilisation d'une cellule de comptage

Montage de la cellule

- Humecter les berges de la cellule (eau, salive).
- Faire glisser la lamelle sur ces berges en s'assurant de son adhérence.
- Homogénéiser la suspension de spores / protoplastes / bactéries.
- Déposer le prélèvement en amenant l'extrémité de la pipette (Pasteur ou micropipette) au niveau de l'espace situé entre la plate-forme et la lamelle. La cellule se remplit alors par capillarité. (Laisser sédimenter pendant 10 minutes sur un plan horizontal).
- Vérifier :
 - Le remplissage total de la cellule.
 - L'absence de bulles d'air.
 - L'homogénéité de répartition des éléments.
- Préparer à nouveau une cellule si ces conditions ne sont pas réunies.

Mode de comptage

- Repérer les limites de la cellule à l'objectif x10 ou x20.
- Compter les éléments à l'objectif x40 ou x60.

Selon la cellule utilisée, le type d'éléments, la concentration de la suspension, il sera nécessaire de compter un carré, une bande, voire la cellule entière.

Pour les éléments situés entre deux carrés ou bandes, ne compter que ceux qui sont à cheval sur deux lisières, en général celle du haut et celle de droite.

