

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed BOUDIAF de M'sila



## **MEMOIRE**

Présenté

à la Faculté des sciences

Département des Sciences Agronomiques

Pour obtenir le Diplôme de

**Master Académique en Protection des végétaux**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

## **Thème**

**Étude de l'activité antifongique de quelques  
extraits végétaux**

Présenté par :

Madame Maroua HABOUCHE

Melle Mebarka GHERNOUTH

Devant le Jury :

<b>Président</b>	Mr. MIMECHE. F	M.C.A. Université de Med Boudiaf de M'sila
<b>Encadreur</b>	Mme. BAKIRI. N	M.A.A. Université de Med Boudiaf de M'sila
<b>Cou encadreur</b>	Mr. TIAIBA. A	M.A.A. Université de Med Boudiaf de M'sila
<b>Examineur</b>	Mr. HAMADANI. M	M.A.A. Université de Med Boudiaf de M'sila

Année universitaire : 2017/2018.

## ملخص:

الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على النشاط المضاد للفطريات للمستخلصات الايثانولية لثلاثة نباتات طبية (*Rosmarinus officinalis* و *Artemisia herb-alba* و *Peganum harmala*) على فطرين (*Fusarium sp*) : الحبوب و *Alternaria* الطماطم (*Alternaria solani*) ، والتي سيتم استخدامها كمبيدات حيوية لفحص سلالات فطرية. يتم تقدير فعالية كل مستخلص نباتي للتركيزات المختلفة (0.5 % ، 1 % ، و 1.5 %) من خلال تحديد معدل تثبيط النمو للفطرين المختبرين. وبالفعل ، فإن مستخلصات *Rosmarinus officinalis* و *Peganum harmala*

تثبط النمو الشعاعي للفطرين اللذين تم اختبارهما بطريقة مهمة (تثبيط كلي في أعلى تركيز) ، مقارنة *Artemisia herba-alba* ، مما يظهر تأثير مضاد جيد في نفس الوقت. مقياس المختبر.

**الكلمات المفتاحية:** *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herb-alba*, *Peganum harmala*, *Fusarium sp*, *Alternaria solani*, نشاط مضاد الفطريات

## Résumé:

L'objectif de notre étude consiste à mettre en évidence l'activité antifongique des extraits éthanolique de trois plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herb-alba* et *Peganum harmala*) sur deux champignons : la Fusariose des céréales (*Fusarium sp*) et l'Alternariose de la tomate (*Alternaria solani*), qui seront utilisées comme des biofongicides vis-à-vis des souches fongiques testées. L'efficacité de chaque extrait végétal pour différentes concentrations (0,5%, 1% et 1,5%), est estimée par la détermination du taux d'inhibition de la croissance des deux champignons testés. En effet, les extraits de *Peganum harmala* et le *Rosmarinus officinalis* ont inhibés la croissance radiale des deux champignons testés d'une façon importante (une inhibition totale chez la plus forte concentration), comparativement à *Artemisia herba alba*, manifestant un bon effet antifongique à l'échelle du laboratoire.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herb-alba*, *Peganum harmala*, *Fusarium sp*, *Alternaria solani*, Activité antifongique.

## Sommary:

The objective of our work consist to study the antifungal activity of the ethanolic extracts of three medicinal plants (*Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba alba* and *Peganum harmala*) on two fungal: Fusariose of cereals (*Fusarium sp*) and Alternariose of the tomato (*Alternaria solani*), which will be used like biofongicides. The efficacy of each vegetable extract for various concentrations (0.5%, 1% and 1.5%), is estimated by determination of inhibition rates of the growth of the twooo fungal tested. Indeed, the extracts of *Péganum harmala* and *Rosmarinus oficinalis* inhibited the radial growth of two fungal tested in an important way (a total inhibition at the strongest concentration), compared to *Artimisia herba alba*, expressing a good antifungal effect at the level of the laboratory.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba alba*, *Peganum harmala*, *Fusarium sp*, *Alternaria solani*,

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à mon père Nacer et ma mère Djamila qui m'ont soutenu moralement tout au long de mes études.*

*A mes sœurs : Zoubida et Wiam, et ma tante Mebarka.*

*Aussi je dédie ce travail A mon mari et A toute la famille Guesmia.*

*A tous mes amis et camarades, A toutes mes connaissances.*

*Habouche. M.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*A mes très chers parents, source de ma joie de vivre et de mon courage*

*A mes tendres soeurs: maya, malak, youssra*

*A mon respectueux frère : ahmed*

*A tous mes ami(e)s : maroua, louiza, heba, ibtessam, amel, merzaka,  
khadidja, djamela, kaltoum et aissa*

*A tous ceux que j'aime et je respecte.*

*GHERNOUTH. M.*

## ***Remercîment :***

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

Nos sincères remerciements reviennent à :

Madame BAKIRI N. pour nous avoir encadrés, pour votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos précieux conseils durant toute notre expérimentation.

Mr Taiaba A. notre co-promoteur, nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude pour avoir co-encadré ce travail, aussi pour nous avoir guidées.

Nous remercions Mr MIMECHE F. de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance de notre mémoire.

Nous remercions également Mr HAMDANI M. d'avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury de ce mémoire.

Nous voudrions remercier l'ensemble du personnel du Laboratoire pour leur aide, leur efficacité et leur disponibilité.

Que tous ceux qui nous ont aidées, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.

### *Listes des Figures :*

<b>Figure</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Page</b>
01	Arbuste de <i>Rosmarinus officinalis</i>	06
02	Aspects morphologiques du Romarin ( <b>Quezel et Santa, 1963</b> )	06
03	Arbuste d' <i>Artemisia herba-alba</i>	09
04	Arbuste de <i>Peganum harmala</i>	12
05	Système d'extraction	21
06	La phase d'évaporation rotative	21
07	Aspect du <i>Fusarium sp.</i>	23
08	Aspect d' <i>Alternaria</i>	23
09	Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance du <i>Fusarium sp</i> en fonction des différentes concentrations.	24
10	Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance d' <i>Alternaria solani</i> en fonction des différentes concentrations.	25
11	Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance du <i>Fusarium sp</i> en fonction du temps et des différentes concentrations. A. <i>P. Harmala</i> ; B. <i>Rosmarinus o</i> ; C. <i>Artemisia Herba-alba</i> ; D. <i>Ethanol</i> ; E. <i>Fongicide</i>	27
12	Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance d' <i>Alternaria solani</i> en fonction du temps et des différentes concentrations. A. <i>P. Harmala</i> ; B. <i>Rosmarinus</i> ; C. <i>Artemisia Herba-alba</i> ; D. <i>Ethanol</i> ; E. <i>Fongicide</i>	30
13	Effet des extraits éthanolique sur la couleur et l'abondance des colonies des colonies de <i>Fusarium sp</i> : A. <i>P. Harmala</i> ; B. <i>Rosmarinus o</i> ; C. <i>Artemisia Herba-alba</i> ; D. <i>Ethanol</i> ; E. <i>Fongicide</i>	32

14	Effet des extraits éthanolique sur la couleur et l'abondance des colonies des colonies d' <i>Alternaria solani</i> : A. <i>P. Harmala</i> ; B. <i>Rosmarinus o</i> ; C. <i>Artemisia Herba-alba</i> ; D. <i>Ethanol</i> ; E. <i>Fongicide</i>	33
----	---	----

**Liste des Tableaux :**

Tab	Titre de Tableau	Page
01	Information sur quelque plante médicinale.	18
02	Taux d'inhibition des différents extraits végétaux sur le <i>Fusarium sp</i>	28
03	Taux d'inhibition des différents extraits végétaux sur l' <i>Alternaria solani</i>	31
04	Effet des différents traitements sur le mycélium de <i>Fusarium sp</i> après 15 jours.	32
05	Effet des différents traitements sur le mycélium d' <i>Alternaria solani</i> après 15 jours.	34

## **Tables de matières :**

<b>Résumé</b> .....	I
<b>Dédicace</b> .....	II
<b>Remerciement</b> .....	IV
<b>Listes des Figures et des Tableaux</b> .....	V
<b>Listes d'abréviation</b> .....	VI
<b>Tables des matières</b>	
<b>Introduction</b> .....	01
<b>Première partie : Recherche bibliographique.</b>	
<b>CHAPITRE I : Les métabolites secondaires :</b> .....	03
I.1. Définition des métabolites secondaires et leur rôle chez les végétaux .....	03
I.2. Les classes des métabolites secondaires .....	03
I.3. L'intérêt des métabolites secondaires .....	04
<b>CHAPITRE II : Généralité sur quelque plante médicinale :</b> .....	05
II.1. Rosmarinus officinalis .....	05
II.1.1.L'origine et répartition .....	05
II.1.2.Description botanique .....	05
II.1.3.Classification .....	06
II.1.4.Utilisation traditionnel .....	06
II.1.5.Utilisation moderne .....	07
II.1.6.Composition chimique .....	07
II.1.7.L'activité antifongique .....	07
II.2. Artemisia herba-alba .....	08
II.2.1.L'origine et répartition .....	08
II.2.2.Description botanique .....	09

II.2.3.Classification .....	09
II.2.4.Utilisation traditionnel .....	10
II.2.5.Utilisation moderne .....	10
II.2.6.Composition chimique .....	10
II.2.7.L'activité antifongique .....	11
II.3. Peganum harmala .....	11
II.3.1.L'origine et répartition .....	11
II.3.2.Description botanique .....	11
II.3.3.Classification .....	12
II.3.4.Utilisation traditionnel .....	12
II.3.5.Utilisation moderne .....	13
II.3.6.Composition chimique .....	13
II.3.7.L'activité antifongique .....	13
<b>CHAPITRE III : L'activité antifongique :</b> .....	14
III.1. Définition .....	14
III.2. Classes de composés et leur activité antifongique .....	14
III.3. Mécanismes d'actions antifongiques.....	16
III.4. La relation entre l'activité antifongique et les métabolites secondaires .....	17
 <b>Deuxième partie : Travail Expérimental.</b>	
<b>Objectif du travail</b> .....	18
<b>CAPITRE I : Matériel et Méthode</b> .....	18
1. Matériel : .....	18
1.1.Matériel végétale .....	18
1.2.Matériel fongique .....	18
1.3.Milieu de culture .....	19

2. Méthodologie :	19
2.1. Isolement des champignons	19
2.2. Multiplication des champignons	20
2.3. Caractérisations microscopiques et macroscopiques de <i>Fusarium sp</i> et <i>Alternaria solani</i>	20
2.4. Préparation des extraits éthanolique des plantes	20
2.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique	21
3. Expression des résultats	22
4. Dispositif expérimental	22
<b>CHAPITRE II : Résultat et discussion</b>	<b>23</b>
1. Caractérisation macroscopique et microscopique de <i>Fusarium sp</i> et d' <i>Alternaria solani</i>	23
2. Aspect des extraits obtenus	23
3. Résultats des essais antifongiques la croissance mycélienne des deux champignons testés:	
3.1. Effet des extraits végétaux sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium sp</i>	24
3.2. Effet des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d' <i>Alternariose</i>	25
3.3. Cinétique de croissance mycélienne et taux d'inhibition	25
3.3.1. Effet des extraits végétaux sur la cinétique de croissance mycélienne de <i>Fusarium sp</i> et leurs taux d'inhibition	28
3.3.2. Effet des différents extraits végétaux sur la cinétique de croissance mycélienne d' <i>Alternaria solani</i>	28
4. Résultats de l'effet des extraits sur la couleur et l'aspect des mycéliums des deux champignons testés	31
4.1. Effet des différents extraits sur l'aspect et la couleur du mycélium du <i>Fusarium sp</i>	31
4.2. Effet des différents extraits sur l'aspect et la couleur du mycelium	

d' Alternaria solani .....	33
<b>Discussion</b> .....	35
<b>Conclusion</b> .....	37
<b>Références Bibliographiques.</b>	

## INTRUCTION GÉNÉRALE

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins (**Djermoun, 2009**). La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie (**Djermoun, 2009**). Les légumes constituent la composante la plus importante et peu coûteuse d'une alimentation équilibrée qui sont tenues en compte en raison de leurs valeurs nutritives élevées et indispensables pour le corps. De ce fait, Il y a des rapports à la demande croissante de fruits et légumes de Solanacées sur le marché algérien, nous citons les principales, la tomate et la pomme de terre (**Bessadat, 2014**)

En agriculture, les maladies fongiques sont l'une des contraintes les plus importantes pour la production. Parmi ces maladies, on retrouve un cas particulier, la fusariose des céréales, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains. Cette maladie endémique, est provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le « complexe fusarien », à large spectre d'hôtes (**Miedaner, 1996**). Les légumes, à leur tour, sont exposés à plusieurs maladies, l'aspect des maladies de ces cultures maraichères représente un facteur très important dans leur conduite avec une production économiquement viable et respectueuse de l'environnement et surtout pour la santé humaine. Toutefois, les principaux facteurs responsables de la faible production de cette famille de légumes sont les maladies causées par *Alternaria* sp. causant de graves maladies, les symptômes causée par ces pathogènes se présentes généralement sous formes de taches brunes à noirâtre sur les Solanacées. Cette maladie engendre la diminution du pouvoir germinatif des semences, la détérioration des produits avant la récolte ou encore la perte des produits récoltés pendant le stockage et représente donc un risque pour la sécurité alimentaire. (**Bessadat, 2014**).

La méthode la plus importante de protection des plantes contre les attaques fongiques est l'utilisation de fongicides synthétiques, mais leur utilisation excessive complétée par des coûts élevés, des résidus dans les plantes et le développement de résistance, à un effet négatif sur la santé humaine et l'environnement. (**Paster et Bullerman, 1988**).

Pour faire face à cette problématique, il devient de plus en plus indispensable de remplacer ces produits chimiques par des produits qui respectent l'environnement (**Schultz et Nicholas, 2000**). Les extraits de plantes semblent être l'une des méthodes alternatives les plus efficaces de lutte contre les maladies des plantes, moins nocives pour l'homme et l'environnement. (**Hanafey et Sabry, 2013**).

L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Un grand nombre de plantes médicinales et aromatiques y poussent spontanément, dont 15% endémiques reste très peu explorées sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (**Quezel et Santa, 1963**).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes proposé, dans le cadre d'accomplissement d'un Projet de fin d'étude de Master en protection des végétaux, à réaliser un travail dont l'objectif consiste à trouver des solutions alternatives pour lutter contre ces maladies ravageuses des cultures : céréales et maraichères en testant des substances d'origine botanique (*Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba-alba*, *Peganum harmala*), Pour remédier aux effets négatifs et les risques des pesticides chimiques.

## RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre I : Les métabolites secondaires

#### I.1. Définition des métabolites secondaires et leur rôle chez les végétaux

Le métabolisme chez les végétaux est un processus très dynamique caractérisé par une synthèse et une dégradation des molécules pour assurer un équilibre cellulaire parfait. Cependant, l'essentiel produit lors de ce métabolisme est orienté vers la synthèse de molécules vitales et impératives pour la structuration et le fonctionnement des cellules, ce sont les métabolites primaires tels que les protéines, les glucides, les lipides ainsi que les acides nucléiques (**Hopkins, 2003**), alors que d'autres voies de biosynthèse, dérivant du métabolisme primaire, non essentiel à la survie de la plante sont connues sous le nom de métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

Ces métabolites secondaires sont utiles dans l'interaction de la plante avec son environnement, étant considérés comme réponse aux différents facteurs de stress, ce qui permet le développement d'une résistance contre une attaque pathogène (**Sudha et Ravishankar, 2002**).

#### I.2. Classes des métabolites secondaires.

##### I.2.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires. Ils sont principalement composés d'azote et sont largement utilisés en médecine. Ils peuvent aussi être très toxiques. La morphine était le premier alcaloïde à être trouvé, elle provient de la plante de *Papaver somniferum*, ou le pavot à opium, utilisée comme analgésique chez les patients présentant des niveaux de douleur sévères et un antitussif (**Leslie, 2010**). Peut-être l'alcaloïde le plus aimé et connu est la caféine. Bien que nous l'utilisions pour rester vigilants, il a des propriétés protectrices pour les plantes dont il provient: le cacao, le café et le thé (**Leslie, 2010**).

##### I.2.2. Les composés phénoliques

La définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour

des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes) **(Bruneton, 1993)**.

### **I.2.3. Les Terpénoïdes et les stéroïdes**

Issus des mêmes précurseurs, et formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires. Comme les dérivés des acides gras, tels les acétogénines, les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétyl CoA ou le malonyl CoA. Néanmoins, ils ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux. Cependant, l'extrême diversité des terpénoïdes chez les végétaux contraste avec le petit nombre détecté chez les animaux **(Tyler, 1881)**.

### **I.3. Intérêt des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont d'un intérêt majeur en raison de leurs différentes fonctions et leurs activités biologiques impressionnantes allant d'antimicrobien, antibiotique, insecticides, propriétés hormonales à pharmacologique très importante **(Stockigt *et al.*, 1995)**. Un large éventail de stimuli externes est capable de déclencher des changements dans la cellule végétale, ce qui conduit à une multitude de réactions, entraînant finalement la formation et l'accumulation des métabolites secondaires qui aide la plante à éliminer les facteurs de stress **(Sudha et Ravishankar, 2002)**.

## Chapitre II : Généralité sur quelque plantes médicinales

Les plantes médicinales sont riches en métabolites secondaires importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, utilisés directement comme agents thérapeutiques (**Decaux, 2002**), et quoi qu'ils n'entrent pas dans le fonctionnement vital de la plante, ils présentent un intérêt substantiel dans les relations de la plante avec son environnement et entrent dans les mécanismes de défense contre les attaques extérieures, considérés comme une réponse aux stress biotiques et abiotiques (**Hartmann, 2007**).

### II.1. *Rosmarinus officinalis*

#### II.1.1. Origine et répartition de l'espèce

Le romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin "rosée marine". C'est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour, malgré que l'on ne voie pas bien ce que l'allusion à la mer vient faire dans le cas d'une plantes continentale xérophytique. (**Monod, 1978**). Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une herbe aromatique avec une longue histoire d'utilisation, étant connu depuis au moins l'époque des Sumériens. Originaire des régions méditerranéennes, le Romarin pousse spontanément dans le Sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (**Heinrich et al., 2006**).

#### II.1.2. Description botanique

Le romarin est un arbuste buissonnant appartenant à la famille des Labiées (**Quizel et Santa, 1963**) à feuilles persistantes, habituellement érigé, atteignant 2 m de haut et de large. Tige indistinctement quadrangulaire, pubescent finement gris. Feuilles opposées, touffues sur les branches, sessiles à pétiolées courtes; limbe linéaire, 1-5 cm x 1-2 mm, base atténuée, bord entier mais révolu, apex obtus, coriace, vert foncé brillant et subglabuleux, tomenteux feutré dessous, aromatiquement parfumé une fois écrasé. (**Guzman, 1999**).



**Figure 01** : Arbuste de *Rosmarinus officinalis* (photo original 2018).



**Figure 02** : Aspects morphologiques du Romarin (Quezel et Santa, 1963)

### II.1.3. Classification

D'après l'ancienne classification (Cronquist, 1981) qui est basée sur les caractères chimiques, morphologiques et anatomiques de la plante, *Rosmarinus officinalis* appartient à la famille des Lamiaceae.

Règne : plante

Embranchement : Spermaphyte

Classe : Dicotylédone

Ordre : Lamiale

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis*.

### II.1.4. Utilisations traditionnelles

*Rosmarinus officinalis* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des huiles essentielles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui le Romarin est entré dans la médecine moderne (Hostettmann, 1997). Le romarin accélère la convalescence, il stimule les glandes surrénales et traite efficacement l'asthénie. Comme il possède des propriétés stimulantes et légèrement antidépressives. Il est pris sous forme d'infusion des sommets fleuries ou des feuilles. (Aouadhi, 2010).

### II.1.5. Utilisations modernes

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés, Anti spasmodiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (**Lemonica et al., 1996 ; Souza et al., 2008**), Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibanez et al., 2000 ; Perez et al., 2007 ; Wang et al., 2008**), Anti-inflammatoires, antimétastatiques (**Cheung et Tai, 2007**), Inhibiteurs de la genèse des tumeurs mammaires (**Singletary et Nelshoppen, 1991**) et la prolifération des tumeurs cutanées (**Huang et al., 1994**). D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offord et al., 1995**). Le carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) (**Aruoma et al., 1996**) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (**Paris et al., 1993**).

### II.1.6. Composition chimique

Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agro-alimentaire. Il possède d'excellentes propriétés anti-oxydantes dues à certains composés (le carnosol, l'acide carnosique, l'acide ursolique, l'acide bétulinique, le rosmaridiphénol et lerosman (**Atik bekara et al., 2007**). Diverses compositions ont été décrites en fonction des constituants majoritaires, à savoir :

- le cinéole supérieur à 40%  $\alpha$ -pinène, 1,8-cinéole et camphre en proportions voisines
- myrcène à une teneur élevée
- camphre, cinéole, bornéol
- cinéole, bornéol, p-cymène.
- $\alpha$ -pinène, verbénone, acétate de bornyle. (**Atik bekara et al., 2007**).

L'huile essentielle du romarin d'Algérie a également fait l'objet de quelques études. Ainsi, le romarin de la région de Bibans (Alger) est riche en 1,8-cinéole et il contient également du camphre et de l' $\alpha$ -pinène, la composition de ce romarin varie manifestement en fonction du cycle végétatif de la plante. (**Atik bekara et al., 2007**).

### II.1.7. L'activité du romarin

*Rosmarinus officinalis* L, qui a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire, possède plusieurs activités thérapeutiques:

**a. Activité antifongique :**

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L*) présente des activités inhibitrices sur la germination des spores ou des arthrospores de tous les dermatophytes testés à des concentrations allant de 0,001 à 4%. Cette action à été plus forte sur les souches fongique anthropophiles et avec de moindres concentrations. (**Ouraini et al., 2005**). La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du Romarin à une concertation de 450 ppm. (**Rasooli et al., 2008**). En évaluant l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du *Romarin*, en utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, les résultats ont montré que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les levures examinées (**Sacchetti et al., 2005**).

**b. Activité antibactérienne**

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du *Romarin*, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés, les résultats ont suggéré que les extraits du *Romarin* peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyl transférase (**Tsai et al., 2007**).

Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée pour examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques, l'extrait obtenu par le dioxyde de carbone(CO<sub>2</sub>) supercritique du *Romarin*, a présenté un large spectre antimicrobien, la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique (**Weckesser et al., 2007**).

## **II.2. *Artemisia herba-alba***

### **II.2.1. Origine et répartition de l'espèce**

Son épithète spécifique herba-alba signifie «herbe blanche» en latin, car ses tiges et ses feuilles sont blanches et laineuses, de même, c'est armoise herbe-blanche ou armoise blanche en français. (**Zalat et Gilbert, 1999**). L'Armoise est largement répandue depuis les îles des Canaries et le Sud-Est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (**Nabli, 1989**).

### II.2.2. Description botanique

*L'Artemisia Herba-Alba* est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillée avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1,5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (**Pottier, 1981**).



**Figure 03 : Arbuste d'*Artemisia herba-alba* (photo original 2018).**

### II.2.3. Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Viridaeplante

Classe : Equisetopsida

Sous classe : Magnoliidae

Super ordre : Asterales

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : Artemisia L

Espèce : Artemisia herba-alba Asso. (**Ignacio, 1779**).

#### II.2.4. Utilisations traditionnelles

Depuis longtemps, l'*Artemisia herba-alba* a été reconnue par les populations pastorales et Nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins (Nabli, 1989). (Fridman *et al.*, 1986) ont rapporté que l'infusion de l'armoise est assez employée par la population (Palestine) pour soulager les maux gastro-intestinaux. En Irak également, l'armoise préparée avec le thé constitue l'une des formes d'automédication. (Al wilins, 1986). En Tunisie, une enquête menée dans le milieu urbain a montré que l'armoise est, entre autres, essentiellement utilisée pour les maladies du tractus digestif et comme un traitement antidiabétique. D'après les cas interrogés elle donne un pourcentage d'amélioration élevé (Bouraoui, 2003).

#### II.2.5. Utilisations modernes

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé au Moyen-Orient et en l'Afrique du nord contre plusieurs maladies y compris l'entérite et les troubles intestinales (Yashphe *et al.*, 1987). Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés thérapeutiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine fongique, contre des dermatophytes, contre les maladies d'origine bactérienne. (Mehani *et al.*, 2016). L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a montré une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries telle que l'*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et la *Salmonelle typhose*, cette activité a été assimilée à linalool, pinocarveneol et surtout terpène 4-ol. L'effet antispasmodique de l'huiles essentielle d'*Artemisia herba alba* a été expérimentalement 100 - 1000 fois plus élevé que l'effet antibactérien observé (Yashphe *et al.*, 1987).

#### II.2.6. Composition chimique

L'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de  $\beta$ -carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons (Fenardji *et al.*, 1974). La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS) (Aidoud, 1989).

### II.2.7. Activité antifongique

L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a montré une faible activité antifongique à la dose de 250 pg / ml (**Bouchera et al., 2003**). L'effet des huiles d'*Artemisia herba-alba* sur la germination des spores, l'allongement mycélium et la sporulation ont été étudiés dans trois champignons, les trois étapes de reproduction asexuée fongique ont été affectés, mais la croissance du mycélium a été le plus sensible, suivie de la germination des spores puis la sporulation des trois champignons étudiés. *Zygorrhynchus* Sp s'est révélée être le plus sensibles suivie par *Aspergillus Niger* puis *Penicillium italicum* (**Tantaoui et al., 1993**).

## II.3. *Peganum harmala*

### II.3.1. Origine et répartition de l'espèce

*Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) connue localement sous le nom de « Harmel » a plusieurs noms vernaculaires : la rue africaine, rue syrienne, rue sauvage, armel, rue verte, pégane, harmale (**Hammiche et al., 2013**), originaire du Moyen-Orient, d'Afrique du nord et d'Europe du sud (**Patrick, 2010**), espèce cosmopolite très commune sur les sols sableux et un peu nitrés, elle pousse en Europe australe et austro-orientale, Asie mineure, Tibet, Iran, Turkestan, Syrie, Arabie, Egypte et en Afrique du Nord (**Yousefi et al., 2009**). En Algérie, *P. harmala* L. est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional, et aux montagnes du Sahara central, réputée pour les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (**Chopra et al., 1960 ; Ozenda, 1991**).

### II.3.2. Description botanique

*Peganum harmala* est une plante de la famille des *Zygophyllacées*, appelé en arabe le Harmal, est une plante vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais, à odeur forte, désagréable (**Chopra et al., 1960; Quezel et Santa, 1963; Ozenda, 1977**).

Les tiges dressées, très rameuses disparaissent l'hiver; elles portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites, les fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm), d'un blanc-jaunâtre veinées de vert sont formées de: cinq sépales verts, linéaires, persistants qui dépassent la corolle, cinq pétales elliptiques, dix à quinze étamines à filet très élargi dans leur partie inférieure, l'ovaire globuleux, repose sur un disque charnu et aboutit à un fruit qui est une capsule sphérique, à trois loges, de 6 à 8 mm déprimée au sommet, entourages de sépales persistants et s'ouvrant par 3 ou 4 valves pour libérer les grains Les graines: nombreuses,

petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère; (Chopra *et al.*, 1960; Quezel et Santa, 1963; Ozenda, 1977).



**Figure 04** : Arbuste de *Peganum harmala* (photo original 2018).

### II.3.3. Classification

Selon Moghadam *et al.*, (2010): *Peganum harmala* L. appartient à :

Règne: Plantes

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Sous classe: Malvides

Ordre: Sapindales

Famille: zygophyllacées

Genre: Peganum

Espèce: *Peganum harmala* L.

### II.3.4. Utilisations traditionnelles de *Peganum harmala*

Le Harmal est emménagogues, abortive, hypnotiques, antalgiques, antiseptiques, hypnotique, antipyrétique, antalgique, antitussif, antiseptique et cicatrisant possède une action contre: les coliques, les troubles digestifs, la stérilité féminine, les dermatoses et brûlures, les conjonctivites (Aouadhi, 2010).

A) -Usage externe : La plante fraîche est employée en cataplasme, soit après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisse de mouton, plante sèche ou grains sous forme de fumigations. L'huile de graines est obtenue par décoction de graines dans l'huile

d'olive. Les préparations en usage externe sont préconisées surtout pour le traitement de rhumatisme.

B)-Usage interne: pour l'hypertension et le diabète: Une cuillère à café de graines, soit environ 2.5 g, avalés telles quelles avec un verre d'eau ou mélangées au miel ou pilées avec de l'huile d'olive, est recommandé en cas d'anurie, de dysurie, d'hypertension ou de diabète. La plante fraîche hachée et bouillie dans l'huile et les feuilles sèches en décoction sont signalées pour leurs propriétés antipyrétiques et sont efficaces pour traiter le rhume et la carie dentaire. La plante sèche pulvérisée et tamisée est utilisée contre la conjonctivite purulente, la blépharite et dans le traitement de l'eczéma (Aouadhi, 2010).

### II.3.5. Utilisations modernes

Le *Peganum harmala* en raison de sa richesse en composés bioactives (alcaloïdes, composés phénoliques) a été utilisée dans la médecine traditionnelle dans différentes parties du monde (Iran, Turquie, Maroc...) et maintenant ses différentes activités biologiques dévoilent un large champ de recherche, telles, l'activité antimicrobienne, antibactérienne, antifongique, antivirale, anticancéreuse, antidiabétique et antioxydante (Tahri et Seba, 2013).

### II.3.6. Compositions chimiques

Les études phytochimiques des différentes parties de *Peganum harmala* L. ont permis d'isoler divers types de composants chimiques synthétisés dans toutes les parties de la plante (Berrougui *et al.*, 2006), C'est une espèce très riche en alcaloïdes indoliques (dérivés de l'acide amine Tryptophane) de type  $\beta$ -carboliniques, Les plus importants sont l'Harmaline, l'Harmane, l'Harmine et le Tetrahydroxyharmine (THH). (Kartal *et al.*, 2003). Les graines de *Peganum harmala* contiennent également une autre classe d'alcaloïdes, les quinazolines, dont le précurseur est l'acide anthranilique et qui sont représentés par la Péganine, le Vasicinone, et la Desoxypéganine (Khashimov *et al.*, 1969 ). En plus de ces alcaloïdes, le harmel est riche en huiles, dont les acides gras insaturés, tels que l'acide linoléique et l'acide oléique (Hammiche *et al.*, 2013), des caroténoïdes ( $\alpha$ -carotène,  $\sigma$ -carotène et  $\beta$ -carotène), les stérols et les anthraquinones ont été également identifiés (Pitre et Srivastava, 1987), aussi bien au niveau des graines, des feuilles, des fleurs que des tiges et des racines (Shao *et al.*, 2013).

### II.3.7. Activité antifongique

*Peganum harmala*, a inhibé la croissance de les espèces fongiques. Un défi majeur pour la production agricole est la nécessité de mesures de contrôle des maladies sur le terrain qui peuvent aidé à maintenir produits végétaux de qualité supérieure. La gestion chimique de

maladies est encore compliquée par le développement de la résistance aux fongicides chimiques dans de nombreux pathogènes importants. A cause de ces préoccupations, une alternative ou complémentaire approche pourrait être l'utilisation de métabolites antifongiques avec origine naturelle. (**Sarpeleh et al., 2009**), l'activité antifongique d'extraits prélevés dans différentes parties de *Peganum harmala* à été examinée sur plusieurs champignons phytopathogènes isolé des plantes cucurbitacées et a révélé des résultats significatifs (**Sarpeleh et al., 2009**).

## Chapitre III : Activité antifongique

Les antifongiques sont des substances (naturelles) capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie. Ils s'administrent par voie locale ou générale (O'fel, 1982).

### III.1. Classes de composés et leur activité antifongique

- **Terpénoïdes**

Terpénoïdes (ou isoprénoïdes), une sous-classe des prényllipides (terpènes, nones et sterols), représentent le groupe le plus ancien par les plantes et sont probablement le groupe le plus répandu de produits naturels. Il a été rapporté dans la littérature que les aglycones de terpénoïdes sont plus stables et actif par rapport au glycosides. Par exemple quatre iridiods non glycosidiques ont été découverts chez *Aliertial macrophylla* et deux des hydroxydes 1a et 1b drocornine aglycones a montré une fongitoxicité contre une gamme de *Clostridium* et espèces d'*Aspergillus* (Young *et al.*, 1992).

- **Saponines**

Une source importante d'antifongiques constitutifs est les saponines. Les saponines sont naturelles, les détergents qui sont des agents anticancéreux efficaces antimicrobiens et hypocholestérolémians livres sterling. Ces composés chimiquement liés au groupe triterpénoïde tels que les saponines triterpéniques, ainsi que les saponines stéroïdiennes, ont également été isolées en tant que constituants antifun-gal. (Nagata *et al.*, 1985)

- **Composés phénoliques**

Ces dernières années, un grand nombre d'études ont été publiées sur l'activité antimicrobienne des composés phénoliques d'origine naturelle. Dans de nombreux cas, ces substances servent de mécanismes de défense contre les micro-organismes et les insectes, etc. Certaines plantes donnent leurs odeurs comme les terpénoïdes, mais d'autres (quinones et tanins) sont responsables des pigments végétaux. Un grand nombre de plantes aromatiques montrent une activité anti-bactérienne et souvent antifongique. Ces composés comprennent les phénols simples et alkylés, l'acide phénolique, les phénylpropanoïdes, les coumarines, les quinines, les anthraquinones et les xanthones, etc. ont été rapportés avec d'autres acides phénoliques comme constituants antifongiques constitutifs (Tahara *et al.*, 1984).

- **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés chimiques naturels contenant des atomes d'azote basiques. Il existe de nombreux rapports sur les alcaloïdes présentant une activité contre les pathogènes, par exemple, l'alcaloïde isoquinoléine jatrorrhizine, une gamme de

peptidealkaloïdes, la quinolizidine alcaloïde dietamnine et les alcaloïdes pyrrolizidine, etc., (Harborne et Baxter, 1993).

- **Protéines et peptides**

La défensine a été isolée de la légumineuse *Trigonella foenum-graecum*, la protéine est caractérisée par la présence de huit résidus de cystéine, conservés les différentes défensines végétales et formant quatre ponts disulfures qui stabilisent le Peptide mature. La protéine a présenté une activité antifongique contre l'hôte large Champignon de l'aire de répartition, *R. solani* et le champignon de la tache de la feuille d'arachide, *Phaeoisariopsis personata* (Olli et Kirti, 2006).

### III.2. Mécanismes d'action antifongiques

- **Inhibition de la formation de paroi cellulaire**

La paroi cellulaire fongique est principalement constituée de  $\beta$ -glucanes. Si la synthèse de ces composés est inhibée, l'intégrité de la paroi cellulaire va se perturber (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

- **Rupture de la membrane cellulaire:**

Les ergostérols sont essentiels pour la membrane cellulaire. Si ces stérols sont liés par des médicaments antifongiques, ou si leur synthèse est inhibée par des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol, l'intégrité de la membrane cellulaire va se rompre. La membrane devient alors étanche. (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

- **Dysfonctionnement de la mitochondrie fongique:**

L'inhibition du transport d'électrons mitochondrial entraînera une réduction du potentiel membranaire mitochondrial. L'inhibition peut se produire via l'inhibition des pompes à protons dans la chaîne respiratoire, entraînant une réduction de la production d'ATP et la mort cellulaire subséquente. (Walker et White, 2011 ; Kim *et al.*, 2013).

- **Inhibition de la division cellulaire:**

L'inhibition de la division cellulaire peut se produire par l'inhibition de la polymérisation des microtubules, inhibant ainsi la formation du fuseau mitotique (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

- **Inhibition de la synthèse ARN / ADN ou synthèse protéique:**

Si l'agent antifongique pénètre dans la cellule, par exemple via un transport actif sur des ATPases, et interfère avec l'ARN, il peut provoquer une synthèse d'ARN défectueuse et une

inhibition de la transcription de l'ADN. L'inhibition de la synthèse des protéines est également une cible antifongique connue (**Clanahan, 2009**).

- **Inhibition des pompes d'efflux:**

Les pompes à efflux sont présentes dans toutes les cellules vivantes et leur fonction est de transporter des substances toxiques hors de la cellule (**Kang et al., 2010**). Ce transport inclut souvent le transport du médicament accumulé hors de la cellule fongique. La surexpression des pompes d'efflux peut conduire à une pharmacorésistance. En inhibant les pompes d'efflux, on pense que la résistance aux médicaments peut être réduite (**Kang et al., 2010**).

### **III.3. Relation entre l'activité antifongique et les métabolites secondaires**

Différentes espèces de végétaux sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. (**Ouraini et al., 2005**).

Les végétaux produisent des composés secondaires (terpènes, composés soufrés, alcools etc.), souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante contre divers organismes dépréciateurs (**Auger et al., 1999**). Ces composés secondaires appelés les métabolites secondaires. Les extraits de plantes semblent être l'une des méthodes alternatives les plus efficaces de lutte contre les maladies des plantes, moins nocives pour l'homme et l'environnement. (**Hanafey et Sabry, 2013**). Alors que les métabolites secondaires ont un effet antifongique.

## MATERIELS ET METHODES

### I. Objectif du travail

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département d'agronomie de l'université Mohamed Boudiaf de M'Sila. Dans ce travail, nous allons essayer de mettre en évidence l'activité antifongique des extraits méthanoliques de quatre plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herb-alba*, *Peganum harmala*, *Thymus lanceolatus*) sur deux champignons : la Fusariose des céréales (*Fusarium sp*) et l'Alternariose de la pomme de terre (*Alternaria solani*), qui seront utilisées comme substances naturelles alternatives des produits chimiques utilisées dans le traitement.

### II. Matériels et méthodes

#### II.1. Matériel végétal

Les extraits végétaux sont obtenus à partir de quatre plantes sauvages récoltées à différentes localités de willaya de M'Sila, ces plantes sont : *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba-alba*, *Peganum harmala* et *thymus lanceolatus*. Ces plantes de provenances variées sont collectées au l'hiver. Elles sont séchées à l'air libre et à l'ombre. Les feuilles des plantes séchées sont broyées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Ces quatre espèces sont choisies par rapport à leur propriété antifongique et leurs densités dans cette région.

Nom scientifique	Nom vernaculaire français	Nom vernaculaire arabe	Lieu de récolte	Parties utilisés
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	الإكليل, الازير	Ounougha	Les feuilles, fleur
<i>Artemisia herba-alba</i>	Armoise, herbe blanche.	الشيح	Mergheb	Les feuilles
<i>Peganum harmala</i>	Rue de Syrie, Rue sauvage...etc.	الحرمل	Mergheb	Les feuilles

#### II.2. Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué de deux champignons : *Fusarium sp* de céréales et *Alternaria solani* de la tomate. Le *Fusarium sp* a été isolé en 2018 à partir des grains de céréales, elle a été purifiée et conservée dans le milieu PDA au congélateur, ce champignon se développe rapidement sur les milieux classiques de culture (PDA et gélose au malt). Les

champignons du genre *Fusarium sp* et *Microdochium nivale* sont des Deuteromycetes de la famille des Tuberculariaceae. La gamme d'hôtes de ces champignons couvre l'ensemble des graminées sauvages et cultivées. Chacune des espèces de *Fusarium sp* possèdent un spectre mycotoxinogène qui lui est propre et qui ne dépend pas de la pathogénicité vis à vis des céréales.

Quand à l'*Alternaria solani*, c'est un champignon isolé sur tomate, phytopathogène de la famille des *Pleosporaceae* présent dans les régions tempérées et tropicales, provoquant chez les plantes de la famille des *Solanaceae*, notamment la tomate et la pomme de terre, mais aussi le piment et l'aubergine, une maladie appelée « Alternariose » ou « brûlure Alternarienne ».

### **II.3. Milieu de culture**

Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. Etant donné qu'il s'agit des champignons hétérotrophes, un milieu de culture organique a été retenu. Il s'agit du milieu PDA (*potato Dextrose Agar*) dont la composition pour un volume de 1000 ml est ci-après :

- Pomme de terre 200 g.
- Agar agar 15 g.
- Glucose 10 g.
- Eau distillé 1000 ml.

La préparation de ce milieu est la suivante : éplucher, laver, couper en petites morceaux la pomme de terre. Cuire dans l'eau pendant 15 à 20 minutes. Filtrer sur mousseline et presser, PH à 5,8. Autoclaver pendant 20 minutes à 120°C.

### **II.4. Méthodologie**

#### **II.4.1. Isolement des champignons**

Après identification des Fusariose de céréales sur une épi de blé et l'Alternariose sur un fruit de tomate, des fragments de 1 cm de diamètre environ préalablement nettoyés à l'eau javel dilué, ont été déposés sur milieu de culture PDA dans les boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture sur lesquelles l'agent pathogène a été isolé, ont été placées dans un étuve à 25 °C pendant une semaine en vue de favoriser la croissance mycélienne.

#### **II.4.2. Multiplication des champignons**

Des disques mycéliens de 0,5 cm de diamètre des champignons (*Fusarium sp* et *Alternaria solani*) sont pris aseptiquement à l'aide d'un emporte-pièce et déposés sur milieu PDA coulé préalablement en boîte de Pétri, les boîtes sont incubées à 20°C, et 12h d'éclairage, conditions favorables à la croissance et la sporulation du champignon.

#### **II.4.3. Caractérisation microscopique et macroscopique de *Fusarium sp* et *Alternaria solani***

Après une culture de 7 jours à 26 °C sur milieu PDA, la pureté de la souche est vérifiée par examen microscopique après coloration avec le bleu de coton. La culture sur PDA est utilisée également pour l'appréciation de quelques critères macroscopiques telles que :

- ✓ Vitesse de croissance,
- ✓ Aspect du mycélium aérien,
- ✓ Couleur de l'envers de la colonie

#### **II.4.4. Préparation des extraits éthanoliques des plantes**

Les extraits éthanoliques sont obtenus à l'aide d'un extracteur soxhlet une quantité de Cinquante gramme de poudre de chaque plante médicinale est introduite dans une cartouche soxhlet. Cette dernière sera placée dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. L'extrait éthanolique récupéré dans le ballon collecteur est transféré dans un évaporateur rotatif afin d'évaporer l'éthanol à 40°C. Le volume de l'éthanol 96° utilisé est 500 ml. Le résidu sec récupéré est ensuite dissout dans l'éthanol à 96% de façon à obtenir une solution de concentration à 50%



**Figure 05** : Système d'extraction (photo original, 2018).



**Figure 06** : La phase d'évaporation rotative (photo original, 2018).

#### II.4.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antifongique des extraits est la méthode de dilution dans un milieu gélosé, l'extrait à tester est incorporée dans le milieu gélosé, un volume défini du milieu nutritif (PDA) a été bien mélangé avec chacun extrait des plantes, fongicide et éthanol pour obtenir diverses concentrations (0.5, 1, 1,5 %). Ensuite, chacun mélange a été versé dans quatre boîtes de Pétri stérilisées (7 cm de diamètre), considéré comme traitement. un disque mycélien activement grandissant est placé au centre de la boîte de Pétri. La croissance radiale du mycète après un temps approprié, selon les caractéristiques de croissance du champignon, est alors mesurée et comparée aux échantillons témoins (**Wilkinson, 2006**). Le témoin a été préparé comme n'importe quel traitement excepté l'addition de l'extrait de plante testé, le fongicide et l'éthanol. Les boîtes inoculées ont ensuite été incubées à 26° C pendant 15 jours. Le diamètre de la croissance développée a été mesuré quotidiennement jusqu'à ce que la croissance de contrôle couvre la surface totale de la plaque. Quatre répétitions ont été faites pour chaque traitement. La toxicité fongique des extraits, fongicide et éthanol, en termes de pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été calculée selon **Greche et Hajjaji (2000)**.

- **Préparation des milieux gélosés à base d'extrait éthanolique:** l'extrait végétal incorporé dans le milieu PDA à des concentrations de 0% (témoin), 0.5 %, 1% et 1.5%.
- **Préparation des milieux gélosés à base de fongicide de synthèse:** Amistar Top de Syngenta incorporé dans le milieu PDA de la même façon que pour les extraits végétaux.
- **Préparation des milieux gélosés à base du méthanol:** Du méthanol 96° est incorporé dans le milieu PDA de la même façon que pour les extraits végétaux.

### III. Expression des résultats

L'évaluation de la croissance radiale a consisté à tracer sur le couvercle de la boîte de Pétri deux droites perpendiculaires passant par le centre de disque mycélien. Les diamètres des colonies mycéliennes (en cm) sont mesurés. Un diamètre moyen est calculé. A partir des diamètres moyens des colonies, nous avons calculé le pourcentage d'inhibition de chaque extrait en utilisant la formule de **Greche et Hajjaji (2000)**.

- L'évaluation de la croissance radiale a consisté à tracer sur le couvercle de la boîte de Pétri deux droites perpendiculaires passant par le centre de disque mycélien.
- Les diamètres des colonies mycéliennes (en cm) sont mesurés.
- A partir des diamètres moyens des colonies, nous allons calculer le pourcentage d'inhibition de chaque extrait en utilisant la formule de **Greche et Hajjaji (2000)**.  
Pourcentage d'inhibition =  $100 \times (DMT - DME / DMT)$ 
  - ✓ DMT : Diamètre Moyen sur le milieu témoin,
  - ✓ DME : Diamètre Moyen sur le milieu avec extrait
- D'autre part, une évaluation de changement de la couleur de colonie (face et revers), et de l'abondance de mycélium aérien a été faite sur la base d'une appréciation visuelle.

### IV. Dispositif expérimental

Le dispositif utilisé est la randomisation totale, Il comporte six traitements (les 04 extraits végétaux, le fongicide de synthèse et le méthanol). 04 concentrations (0% « témoin », 0.5 %, 1% et 1.5%) avec 03 répétitions pour chaque un.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

### I. Caractérisation macroscopique et microscopique de *Fusarium sp* et d'*Alternaria solani*

*Fusarium sp* est un champignon microscopique imparfait, la colonie mycélienne présente généralement une coloration rose sur le milieu de culture PDA, le mycélium présente une couleur blanche à blanche rosée ; le revers de la colonie est de couleur rose à rose violé (**figure 07**). Ce champignon présente une croissance rapide sur milieu PDA. Quand à l'*Alternaria solani*, c'est un champignon isolé sur tomate, phytopathogène de la famille des *Pleosporaceae* (**Figure 08**).



**Figure 07** : Aspect du *Fusarium sp.*



**Figure 08** : Aspect d'*Alternaria*

Sous microscope, les espèces de *Fusarium* se différencient essentiellement sur la forme de leurs macroconidies. Ce caractère est complété par la présence ou l'absence de chlamydospores ainsi que par la présence, l'absence ou la forme de microconidies. Parmi les caractéristiques du genre *Alternaria*, la production de chaînes de conidies multicellulaires de couleur foncée avec des cloisons longitudinales et transversales, et d'un bec filamenteux avec des cellules apicales. Dans notre cas, cette caractérisation a été faite par madame SELLAMI, du département de Botanique, de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'Alger.

### II. Aspect des extraits obtenus

Nous rappelons que nos extraits sont obtenus à partir de trois plantes médicinales suite à une extraction éthanolique avec Soxhlet. Nous avons obtenu des solutions de couleur allant de jaune pâle au vert avec des odeurs aromatiques caractéristiques de chaque plante.

### III. Résultats des essais antifongiques la croissance mycélienne des deux champignons testés :

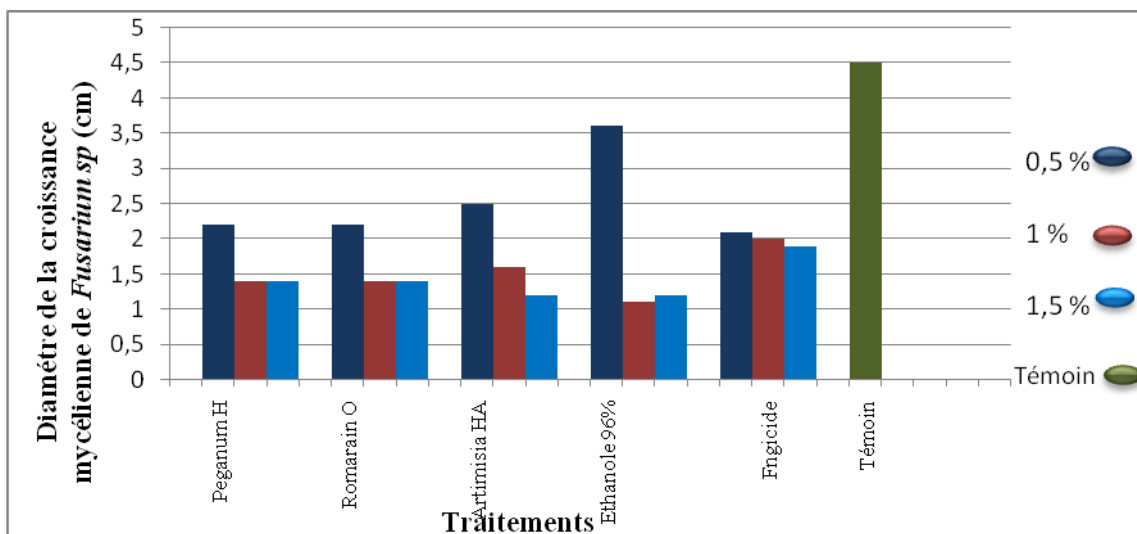
Rappelons que l'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne de *Fusarium sp* et d'*Alternaria solani* sur le milieu PDA additionné des différentes concentrations des différents extraits.

En premier temps, la croissance mycélienne des souches fongiques était normale (témoin), ce qu'il se diffère en présence des extraits de trois plantes (*Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba-alba* et *Peganum harmala*), du fongicide Top Star Syngenta et du l'éthanol. Ce paramètre évolue dans le temps, durant l'incubation.

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'inhibition de la croissance mycélienne d'Alternariose et du de la fusariose en présence d'extrait de *Peganum harmala* est plus importante par rapport à la présence des autres extraits. Car la concentration minimale inhibitrice de cette dernière est plus élevée que celles du *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba-alba*. L'utilisation des témoins a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet des extraits végétaux contre ces champignons.

#### III.1. Effet des extraits végétaux sur la croissance mycélienne de *Fusarium sp*

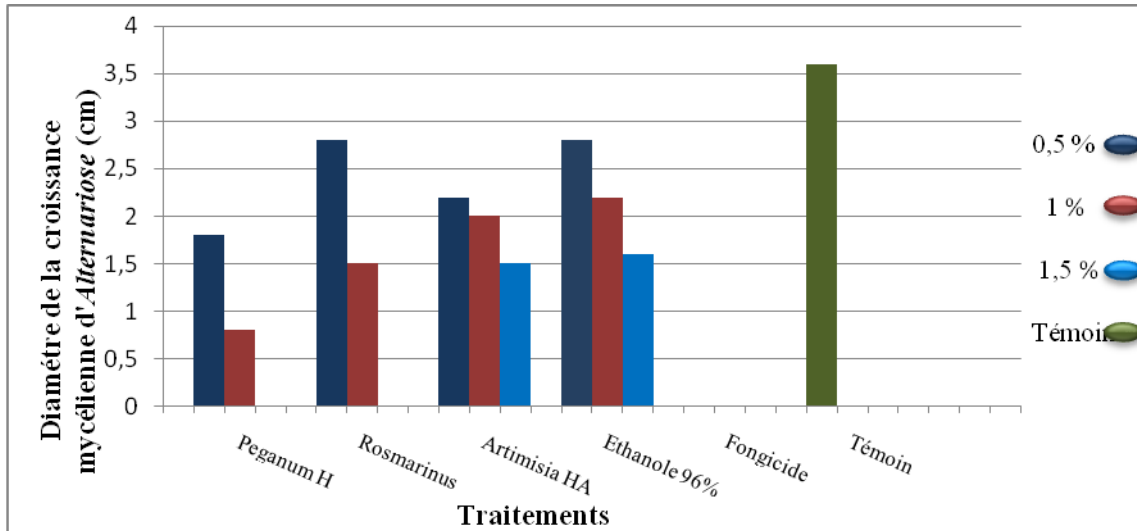
On observe dans la figure 09 que la plus forte concentration de 1,5% n'était pas suffisante pour inhiber la croissance mycélienne de *Fusarium sp* chez les différents extraits, mais l'effet de cette forte concentration est remarquable par rapport à la concentration 0,5 %, qui elle même, a un effet remarquable (2,2 cm chez le *Peganum* et le *Rosmarinus* et 2,5cm chez l'*Artemisia*) par rapport au témoin (4,5 cm).



**Figure 09:** Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance du *Fusarium sp* en fonction des différentes concentrations.

### III.2. Effet des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d'Alternariose

L'évaluation du diamètre de croissance mycélienne d'Alternariose est représentée dans la figure 10. On remarque que le degré de l'efficacité des extraits végétaux sur la croissance mycélienne d'Alternariose est remarqué jusqu'à une concentration de 1,5%, où sur cette dernière donne l'inhibition totale chez les extraits de *Peganum*, du *Rosmarinus*, du fongicide de synthèse et même d'éthanol, à l'exception d'*Artemisia*, ce qui se diffère aux concentrations de 0,5 et 1% qui ont montré un effet légère sur la croissance mycélienne.



**Figure 10:** Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance d'*Alternaria solani* en fonction des différentes concentrations.

### III.3. Cinétique de croissance mycélienne et taux d'inhibition

#### III.3.1. Effet des extraits végétaux sur la cinétique de croissance mycélienne de *Fusarium sp* et leurs taux d'inhibition

Les résultats de l'effet des différents extraits éthanolique sur la cinétique de la croissance mycélienne du *Fusarium sp* sont présentés dans la Figure 11. En l'absence d'extraits dans le milieu de culture, la colonie de champignon atteint un diamètre du 1,4 cm après 6 jours d'incubation, 3,2 cm après 9 jours, 4 cm après 12 jours, elle arrive à son maximum de croissance (4,5 cm) après 15 jours. En présence des différents extraits éthanolique à différentes concentrations, cette cinétique se trouve modifiée. Ainsi, on observe une bonne activité anti-fongique des l'extraits de *Peganum harmala*, du *Rosmarinus officinalis*, d'*Artemisia herba-alba* et du fongicide de synthèse, en revanche, l'éthanol utilisé comme témoin solvant, montre un effet antifongique faible par rapport aux autres extraits.

Le diamètre de la a colonie en présence de l'extrait de *Peganum harmala* passe de 0,8 cm après 3 jours d'incubation à 2,2 cm après 15 jours d'incubation chez la plus faible

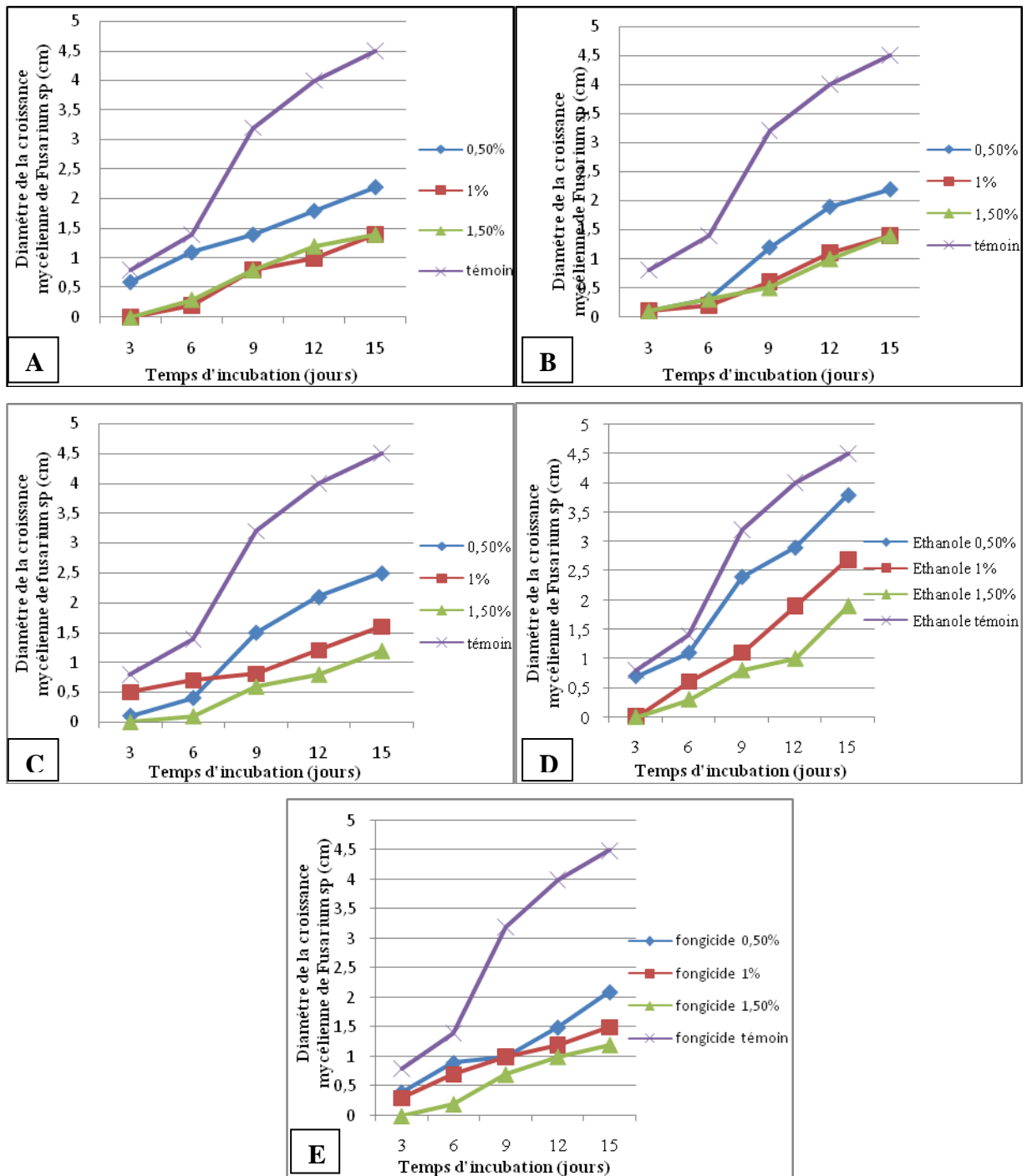
concentration (0,5%) ce qui correspond à des taux d'inhibition respectifs de 86,7% et 51,1% (tableau 02), chez les plus fortes concentrations (1 % et 1,5%), ce même diamètre passe de 0 cm après 3 jours d'incubation (taux d'inhibition = 100%) à 1,4 cm après 15 jours d'incubation (taux d'inhibition = 68,9%).

En ce qui concerne l'extrait du *Rosmarinus*, on observe également que la croissance *Fusarium sp* se trouve, pratiquement, nulle après 3 jours d'incubation (0,1 cm chez toutes les concentrations, ce qui correspond à un taux d'inhibition de 97,8%), le diamètre de la colonie augmente à partir du 3<sup>ème</sup> jour jusqu'à atteindre son maximum au 15<sup>ème</sup> jours avec 2,2 cm chez la concentration faible (0,5%) ce qui correspond à un taux d'inhibition de 51,1%, aux plus fortes concentrations (1 % et 1,5%), ce même diamètre atteint 1,4 cm après 15 jours d'incubation (taux d'inhibition = 68,9%).

L'extrait éthanolique d'*Artemisia Herba-alba* montre une activité inhibitrice de la croissance radiale de la colonie de *Fusarium sp* qui persiste pendant les 6 premiers jours d'incubation chez les plus fortes concentrations (1 % et 1,5%), le diamètre de la colonie atteint 2,5 cm après 15 jours d'incubation chez la plus faible concentration (0,5%), avec un taux d'inhibition de 44,4 %, cette croissance atteint, aussi, 1,4 et 1,2 cm chez les concentrations 1 % et 1,5%, avec des taux d'inhibition respectifs de 64,4 et 73,3 %.

L'éthanol montre également une activité anti fongique contre le *Fusarium sp* mais elle est beaucoup moins importantes que celles des extraits végétaux, cette activité est présente, significativement, que chez les plus fortes concentrations (1 % et 1,5%), cette croissance mycélienne passe de 0 cm au 3<sup>ème</sup> jour d'incubation à 2,7 et 1,9 cm respectivement pour les concentrations 1 et 1,5%, ce qui correspond à des taux d'inhibition respectifs de 40% et 57,8%.

La lutte contre les champignons phytopathogènes fait appelle à l'utilisation d'une large gamme de fongicides de synthèse. Le fongicide Amistar top de Syngenta montre un effet inhibiteur sur ce champignon avec des taux d'inhibition qui diminue fortement avec la période d'incubation, ainsi le taux d'inhibition au 3<sup>ème</sup> jour est a 100% chez la plus forte concentration (1,5%), 84,4 % chez 0,5%, au 15<sup>ème</sup> jours d'incubation, ces taux d'inhibitions descendent jusqu'à 53,3% chez la faible concentration (0,5%), 66,7 % et 73,3% respectivement chez les plus fortes concentrations (1 % et 1,5%) (Tableau 02).



**Figure 11 :** Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance du *Fusarium sp* en fonction du temps et des différentes concentrations.  
 A. *P. Harmala* ; B. *Rosmarinus o* ; C. *Artemisia Herba-alba* ; D. *Ethanol* ; E. *Fongicide*

**Tableau 02 : Taux d'inhibition des différents extraits végétaux sur le *Fusarium sp***

Traitement	Concentration	3 jours	6 jours	9 jours	12 jours	15 jours
<i>Peganum</i>	0,50%	86,7	75,6	68,9	60,0	51,1
	1%	100,0	95,6	82,2	77,8	68,9
	1,50%	100,0	93,3	82,2	73,3	68,9
<i>Rosmarinus</i>	0,50%	97,8	93,3	73,3	57,8	51,1
	1%	97,8	95,6	86,7	75,6	68,9
	1,50%	97,8	93,3	88,9	77,8	68,9
<i>Artemisia</i>	0,50%	97,8	91,1	66,7	53,3	44,4
	1%	88,9	84,4	86,7	73,3	64,4
	1,50%	100,0	97,8	81,3	82,2	73,3
<i>Ethanol</i>	0,50%	84,4	75,6	46,7	35,6	15,6
	1%	100,0	86,7	75,6	57,8	40,0
	1,50%	100,0	93,3	82,2	77,8	57,8
fongicide	0,50%	91,1	80,0	77,8	66,7	53,3
	1%	93,3	84,4	77,8	73,3	66,7
	1,50%	100,0	95,6	84,4	77,8	73,3

### III.3.2. Effet des différents extraits végétaux sur la cinétique de croissance mycélienne d'*Alternaria solani*

Les résultats de l'effet des différents extraits éthanolique sur la cinétique de la croissance mycélienne d'*Alternaria solani* sont présentés dans la Figure 12. Les diamètres des colonies fongiques sont sensiblement réduits sous l'effet de tous les extraits durant les six premiers jours d'incubation. En l'absence d'extraits dans le milieu de culture, la croissance du champignon atteint un diamètre de 1,5 cm après 6 jours d'incubation, 2,4 cm après 9 jours, 2,9 cm après 12 jours, elle arrive à son maximum de croissance (3,6 cm) après 15 jours d'incubation.

En présence de l'extrait de *Peganum harmala*, le diamètre de la a colonie passe de 0,4 cm après 3 jours d'incubation à 1,6 cm après 15 jours d'incubation chez la plus faible concentration (0,5%), ce qui correspond à des taux d'inhibition respectifs de 88,9% et 55,6% (tableau 03), ce même diamètre passe, chez la concentration 1 %, de 0 cm à 0,7 cm après 15 jours d'incubation (taux d'inhibition = 80,6%), une inhibition totale de la croissance

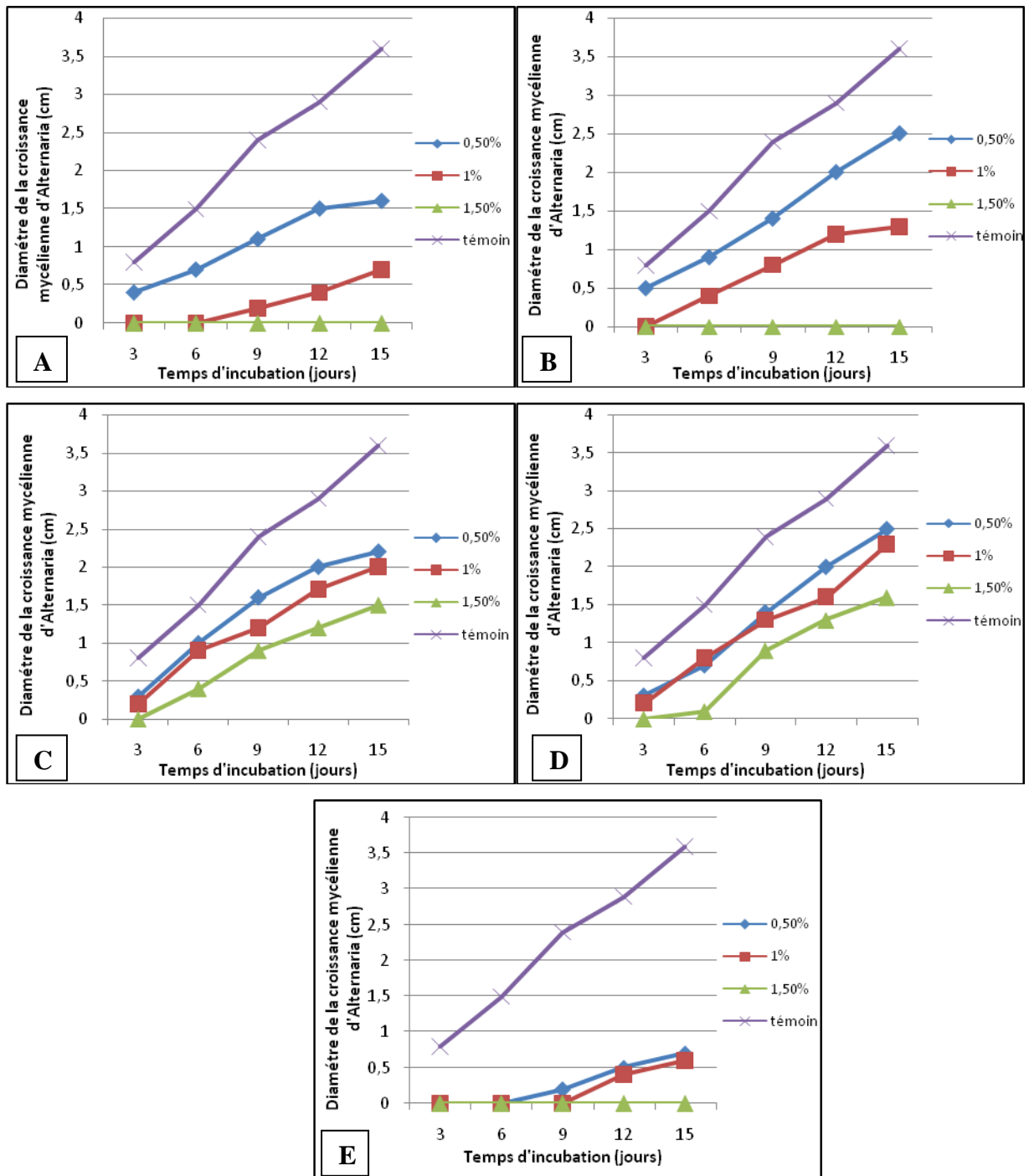
du champignon (taux d'inhibition = 100%), est observée chez la plus forte concentration (1,5%).

Chez l'extrait du *Rosmarinus*, on observe également que la croissance d'*Alternaria solani* augmente en fonction du temps d'incubation, cette croissance mycélienne passe de 0,5 cm au 3<sup>ème</sup> jour d'incubation à 2,5 cm chez la concentration 0,5%, ce qui correspond à des taux d'inhibition respectifs de 86,1% et 30,6%, chez la concentration 1 %, ce diamètre passe de 0 cm à 1,3 cm après 15 jours d'incubation (taux d'inhibition = 63,9%), une inhibition totale de la croissance du champignon (taux d'inhibition = 100%), est observée chez la plus forte concentration (1,5%).

Pour ce qui est de l'extrait éthanolique d'*Artemisia Herba-alba*, on observe que les taux d'inhibition sont faible par rapport aux deux derniers extraits, même la plus forte concentration de 1,5% n'était pas suffisante pour inhiber la croissance mycélienne d'*Alternaria solani* chez cet extrait, chez cette forte concentration, après 15 jours d'incubation, cette croissance atteint 1,5 cm, soit un taux d'inhibition de 58,3%, chez les deux autres concentrations (0,5 % et 1%), le diamètre de la colonie passe de 0,2 cm après 3 jours d'incubation à 2,2 cm, après 15 jours d'incubation, chez la concentration 0,5% (soit un taux d'inhibition de 38,9%) et 2cm chez la concentration 1% (soit un taux d'inhibition de 44,4%).

Une activité anti fongique contre l'*Alternaria solani* est observée, également, chez l'éthanol, mais elle est beaucoup moins importante que celles des extraits végétaux, les taux d'inhibition passent de 91,7 %; 94,4 % et de 100% respectivement chez 0,5 %, 1% et 1,5%, après 3 jours d'incubation, à 30%; 36,1 % et de 55,6% respectivement.

Le fongicide Amistar top de Syngenta montre un effet inhibiteur sur *Alternaria solani*, la plus forte concentration (1,5%) semble inhibitrice durant toute la période d'inhibition ( soit un taux d'inhibition de 100 %), chez les deux autres concentrations (0,5 % et 1%), les taux d'inhibition diminuent fortement avec la période d'incubation, la croissance mycélienne d'*Aletrnaria solani* n'a commencé qu'après 6 jours d'incubation pour la concentration 0,5 %, elle atteint son maximum au 15<sup>ème</sup> jour d'incubation avec 0,7 cm (soit un taux d'inhibition de 80,6%), pour la concentration de 1%, cette croissance n'a commencée qu'après et 9 jours, elle atteint son maximum au 15<sup>ème</sup> jour d'incubation avec 0,6 cm (soit un taux d'inhibition de 83,3%) (Tableau 03).



**Figure 12 :** Effets des différents extraits éthanolique végétaux sur la cinétique de croissance d'*Alternaria solani* en fonction du temps et des différentes concentrations. A. *P. Harmala* ; B. *Rosmarinus* ; C. *Artemisia Herba-alba* ; D. *Ethanol* ; E. *Fongicide*

**Tableau 03 : Taux d'inhibition des différents extraits végétaux sur l'*Alternaria solani***

Traitement	Concentration	3 jours	6 jours	9 jours	12 jours	15 jours
<i>Peganum</i>	0,50%	88,9	80,6	69,4	58,3	55,6
	1%	100,0	100,0	100,0	88,9	80,6
	1,50%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Rosmarinus</i>	0,50%	86,1	75,0	61,1	44,4	30,6
	1%	100,0	88,9	77,8	66,7	63,9
	1,50%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Artemisia</i>	0,50%	91,7	72,2	55,6	44,4	38,9
	1%	94,4	75,0	66,7	52,8	44,4
	1,50%	100,0	88,9	75,0	66,7	58,3
<i>Ethanolé</i>	0,50%	91,7	80,6	61,1	44,4	30,6
	1%	94,4	77,8	63,9	55,6	36,1
	1,50%	100,0	97,2	75,0	63,9	55,6
<i>Fongicide</i>	0,50%	100,0	100,0	94,4	86,1	80,6
	1%	100,0	100,0	100,0	88,9	83,3
	1,50%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

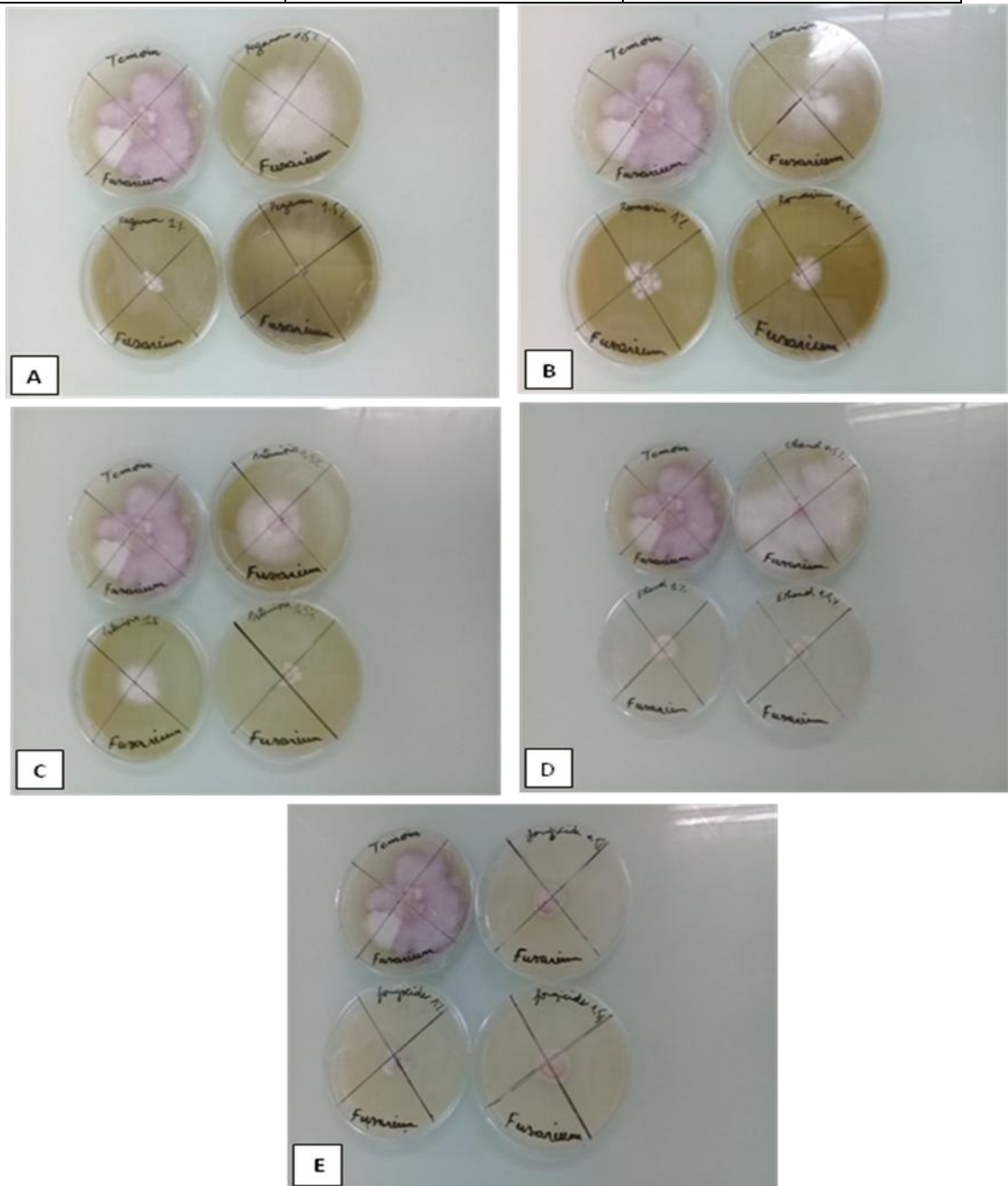
#### IV. Résultats de l'effet des extraits sur la couleur et l'aspect des mycéliums des deux champignons testés

##### IV.1. Effet des différents extraits sur l'aspect et la couleur du mycélium du *Fusarium sp*

Les extraits aqueux des trois plantes médicinales sont étudiés pour leurs effets sur la couleur et l'abondance de mycelium aérien de *Fusarium sp*, les résultats sont résumés dans le tableau 04 l'extraits qui semblent avoir réprimés la production de pigment mycélien est *Peganum harmala* (Figure 13). L'abondance de mycélium semble également affectée par les différents extraits (tableau 04), l'extrait qui réduise le développement du mycélium aérien est *Rosmarinus officinalis*

**Tableau 04:** Effet des différents traitements sur le mycélium de *Fusarium sp* après 15 jours.

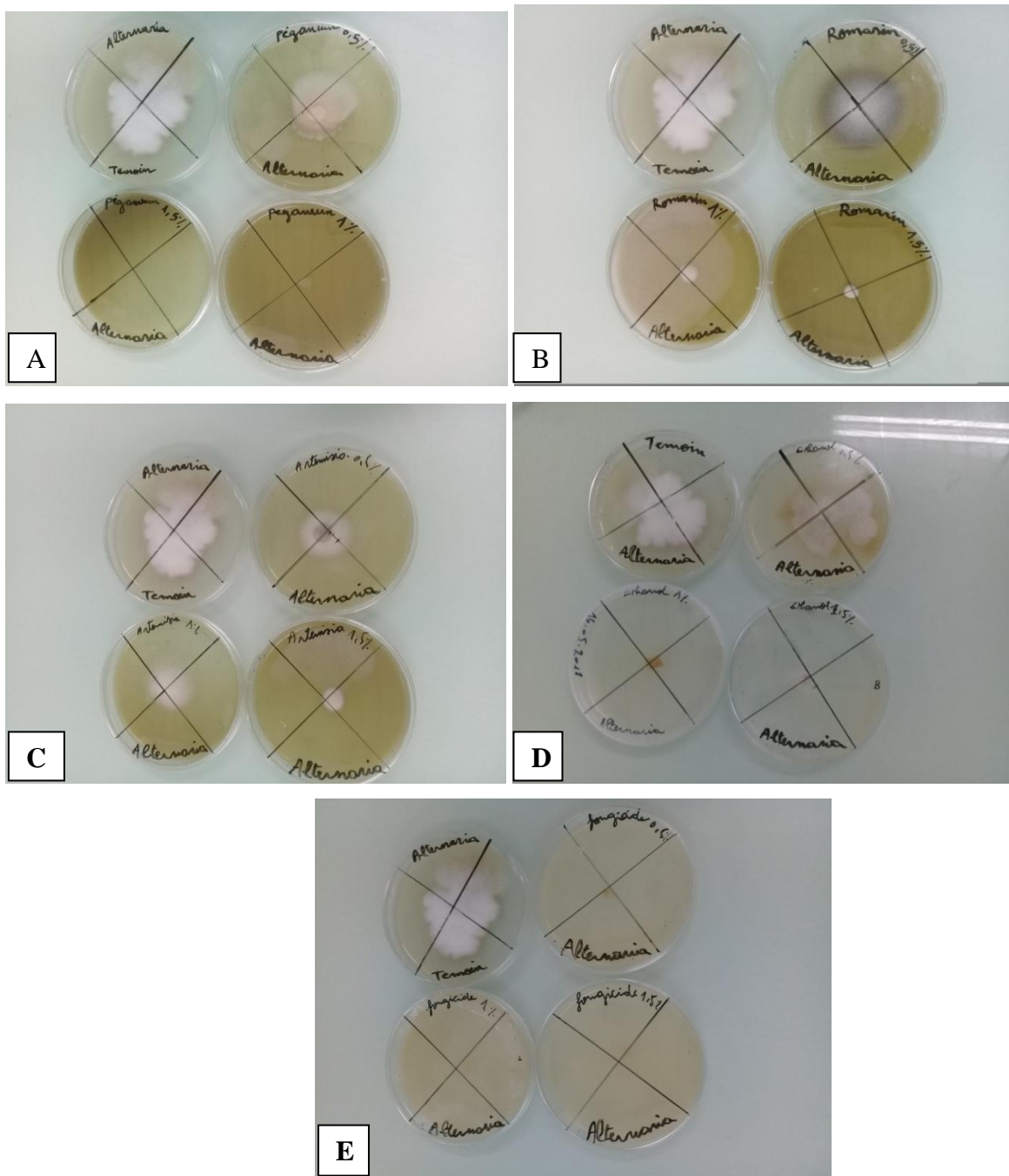
Traitement	Couleur de mycélium	Aspect de mycélium
<i>PDA (témoin)</i>	Blanche à blanche rosée	Abondant (+++)
<i>Peganum</i>	blanche	Abondant (++)
<i>Rosmarinus</i>	blanche	Abondant (++)
<i>Artemisia</i>	Blanche à blanche rosée	Abondant (++)
<i>Ethanol</i>	blanche	Abondant (++)
<i>Fongicide</i>	Rose claire	Abondant (+)



**Figure 13 :** Effet des extraits éthanolique sur la couleur et l'abondance des colonies des colonies de *Fusarium sp*:  
 A. *P. Harmala* ; B. *Rosmarinus o* ; C. *Artemisia Herba-alba* ; D. *Ethanol* ; E. *Fongicide*

#### IV.1. Effet des différents extraits sur l'aspect et la couleur du mycélium d'*Alternaria solani*

Les extraits aqueux des trois plantes médicinales étudiés pour leurs effets sur la couleur et l'abondance de mycélium aérien de d'*Alternaria solani*, les résultats sont résumés dans le tableau 05, l'extrait qui semble avoir réprimé la production de pigment mycélien est *Peganum harmala* (figure 14).



**Figure 14 :** Effet des extraits éthanolique sur la couleur et l'abondance des colonies des colonies d'*Alternaria solani*:

A. *P. Harmala* ; B. *Rosmarinus o* ; C. *Artemisia Herba-alba* ; D. *Ethanol* ; E. *Fongicide*

**Tableau 05 :** Effet des différents traitements sur le mycélium d'*Alternaria solani* après 15 jours.

<b>Traitement</b>	<b>Couleur de mycélium</b>	<b>Aspect de mycélium</b>
<i>PDA (témoin)</i>	Blanche foncé	Abondant (+++)
<i>Peganum</i>	Blanche avec des points noirs	Abondant (++)
<i>Rosmarinus</i>	Blanche	Abondant (++)
<i>Artemisia</i>	Blanche	Abondant (++)
<i>Ethanol</i>	Blanche avec des points noirs	Abondant (++)
<i>Fongicide</i>	Blanche clair	Abondant (+)

## DISCUSSION GENERALE

Deux champignons ont été testés dans notre étude, *Alternaria solani* et *Fusarium sp*, ils présentent un caractère pathogène important. D'après (**Breault et al., 2009**), ces sont à l'origine de maladies de céréales et de pomme de terre, apparaissant à la fin de la saison de croissance où les feuilles desséchées sont recouvertes d'une pigmentation noire.

L'effet des extraits des trois plantes utilisée à différentes concentrations sur la croissance de *Fusarium sp* et d'*Alternaria solani* est étudié, et a permis de distinguer deux groupes d'extraits :

Le 1<sup>er</sup> groupe représenté par le *Péganum harmala* et le *Rosmarinus* les extraits de ces plantes inhibent la croissance radiale d'une façon importante, comparés au fongicide de synthèse, (taux d'inhibition proche de 70% du *Fusarium sp*, 80 Jusqu'à 100 % d'*Alternaria solani* chez les plus fortes concentrations après 15 jours d'incubation), avec une réduction de l'abondance mycélienne et une répression de la pigmentation des deux champignons testés. Le 2<sup>ème</sup> groupe représenté par le *l'Artimisia herba alba*: l'extrait de cette plante possède un faible effet inhibiteur de la croissance radiale d'*Alternaria solani*, (taux d'inhibition proche de 44% chez la concentration 1 % après 15 jours d'incubation), possède aussi un moyen effet inhibiteur contre le *Fusarium sp* comparé au fongicide de synthèse, (taux d'inhibition proche de 64% chez la concentration 1 % après 15 jours d'incubation). Quant au à l'éthanol, il possède une faible activité antifongique comparativement au fongicide de synthèse.

Ces résultats ont permis de tirer des conclusions sur propriétés physicochimiques des bio molécules responsables de cet effet antifongique que contenaient les extraits de ces trois plantes : Il s'agit de molécules stables dans les températures élevées puisqu'elles ont résisté à l'autoclavage.

Les plantes sont riches en composés bioactifs tels que les tanins, les terpénoïdes, les saponines, les alcaloïdes, les flavonoïdes et d'autres composés qui auraient des propriétés antifongiques in vitro (**Arif et al., 2009**). Les plantes étudiées contenaient de grandes quantités de composés bioactifs tels que des composés phénoliques totaux et simples, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, de la saponine et des glycosides cyanogéniques (**Hassan et Maswada, 2012**). Par conséquent, l'efficacité de différents extraits de plantes a été testée contre la croissance mycélienne de deux champignons pathogènes, *Alternaria solani* et *Fusarium sp*.

Le Romarin est à utiliser avec précaution chez les patients utilisant des médicaments métabolisés par les CYP, des salicylates et des antidiabétiques. Le

Romarin a une action synergique avec les antibiotiques, les anxiolytiques (**Posadzki et al., 2013**). En évaluant l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du *Romarin*, les résultats ont montré que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les levures examinées (**Sacchetti et al., 2005**), l'effet antifongique est dû à l'acide rosmarinique (**Monero et al., 2006**).

En phytothérapie, l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, est utilisée pour ces propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine fongique, contre des dermatophytes, contre les maladies d'origine bactérienne. (**Mehani et al., 2016**). L'effet des huiles d'*Artemisia herba-alba* sur la germination des spores, l'allongement mycélium et la sporulation ont été étudiés dans trois champignons, les trois étapes de reproduction asexuée fongique ont été affectés, mais la croissance du mycélium a été le plus sensible, suivie de la germination des spores puis la sporulation des trois champignons étudiés, *Zygorrhynchus Sp* s'est révélée être le plus sensibles suivie par *Aspergillus Niger* puis *Penicillium italicum* (**Tantaoui et al., 1993**).

Les alcaloïdes de *Peganum harmala* sont connus pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, et antivirales, (**Bellakhdar, 1997**). L'activité antifongique d'extraits prélevés dans différentes parties de *Peganum harmala* à été examinée sur plusieurs champignons phytopathogènes isolé des plantes cucurbitacées et a révélé des résultats significatifs (**Sarpeleh et al., 2009**). La différence du pouvoir antifongique des différents extrais peut être attribuée à leurs compositions chimiques.

## CONCLUSION GENERALE

Les dégâts enregistrés en santé humaine et sur l'environnement dû à l'utilisation des pesticides conventionnels sont fréquent. C'est dans le but de la recherche d'une solution alternative et de proposer des produits de substitution moins toxiques et moins onéreux que nous avons effectué ce travail pour tester le potentiel de trois plantes steppique algérienne (*Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba-alba*, *Peganum harmala*) à fournir des substances pouvant remplacer les fongicides conventionnels utilisés dans la lutte contre l'Alternariose de la pomme de terre et le Fusariose de céréales.

Les plantes médicinales ont un rôle de médicament, que leurs actions thérapeutiques sont souvent puissantes et nécessitent qu'elles soient utilisées de manière appropriée. En effet, les tests réalisés in vitro sur *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba-alba*, *Peganum harmala* à trois doses 0,5 %, 1 % et 1,5 %, ont montré que les trois extraits ont présenté des pourcentages d'inhibition de la maladie supérieure à 50 %. Les extraits de *Peganum harmala* et le *Rosmarinus* ont inhibés la croissance radiale des deux champignons testés d'une façon importante, comparativement à *Artemisia herba alba*. Ces trois extraits ont manifesté un bon effet antifongique à l'échelle du laboratoire.

Par ailleurs, ces résultats qui restent préliminaires, devront être confirmés et approfondies par des essais en plein champ et par des études de fractionnement ciblant l'identification et le profilage des substances responsables de l'activité anti-Alternariose et anti-fusariose.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Aidoud. A., 1989.** Les écosystèmes Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso). II: Phytomasse et productivité primaire. *Biocénoses*, 1, 2, p.p.70-90.
- **Al-Wailins., 1986.** *Clin Exp Pharmacol Physiol*. Jul, 13, 7, p.p. 73-569.
- **Amarti. F., Satrani. B., Aafi. A., Ghanmi. M., Farah. A., Aberchane. M., El Ajjouri. M., El Antry. S. et Chaouch. A., 2008.** Composition chimique et activite'antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytother Res*, 6, p.p. 342-347.
- **Aouadhi. S., 2010.** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. A étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Tunisie, p.p.155.
- **Arif. T., Bhosalea. D., Kumara. N., Mandala. T., Bendreb. R., Lavekara. G. et Dabur. R., 2009.** Natural products-antifungal agents derived from plants. *J. Asian Nat. Prod.Res.*, 11, p.p. 621-638.
- **Arras. G., Usai. M., 2001.** Fungitoxic activity of 12 essential oils against four post-harvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* essential oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *J Food Protect*, 67, 1025-1029 p.
- **Aruoma. O., Spencer. J., Rossi. R., Aeschbach. R., Khan. A., Mahmood. N., Munoz. A., Murcia. A., Butler. J et Halliwell. B., 1996.** An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology*, 34, 5, p.p. 449-456.
- **Atik bekkara.F., Taleb bendiab. S. A., Laila .B. et Casanova. J., 2007.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaid, 7, 1, p.p. 119.
- **Auzias. D., Labourdette. J. P., 2015.** Avignon-Vaucluse 2015/2016 Petit Futé. Le Petit Futé.
- **Bazylo., Strzelecka., 2007.** Natural flavonoid as antimicrobial agents.*Journal of theAmerican Nutraceutical Association*, 7, 2, p.p.24-26.
- **Benbelaïd. F., Khadir. A., Abdoune. M. A. et Bendahou. M., 2013.** Phytochemical screening and in vitro antimicrobial activity of *Thymus lanceolatus* Desf. from Algeria, 3, 6, p.p. 454-459.

- **Berrougui. H., Cordero. C. M., Khalil. A., Hmamouchia. M., Ettaib. A., Marhuenda. E. et Herrera M. D., 2006.** Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum harmala* L. seed's in isolated rat aorta. *Pharmacol Res*, 54, p.p. 150–157.
- **Bellakhdar. J., 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed Ibis Press, Maroc, p.p. 318-319.
- **Bessadat. N., 2014.** Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Thèse de Doctorat, Université d'Oran, p.p. 199.
- **Bhaskara. M., Angers. P., Gosselin. A. et Arul. J., 1998.** Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47, p.p. 1515-1520.
- **Bounatirou. S., Smiti. S., Miguel. M., Faleiro. L., Rejeb. M., Neffati. M., Costa. M., Figueiredo. A., Barroso. J. et Pedro. L., 2007.** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. *Food Chem*, 105 p.p. 146-155.
- **Bouraoui. N., Lafi. B., 2003.** Mémoire de fin d'études supérieures section nutrition humaine, Tunis.
- **Bouزيد. N., 2006.** Les champignons parasites des plantes cultivées. Centre de publication universitaire, Tunisie, p.p. 456.
- **Breault. J., Duval. B., Parent. C., Pouleur. S. et Rioux. S., 2009.** Maladies Des Céréales et Stratégies de Lutte. Réseau D'avertissement Phytosanitaire. Bulletin d'information. Grande Culture. 11, p.p. 1-10.
- **Bruneton. J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier, Paris, p.p. 915.
- **Chemat. S., Cherfouh. R., Meklati. B. et Belanteur. K., 2012.** Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis genuinus*) essential oil. *J Essent Oil Res*, 24, p.p. 5-11.
- **Cheung. S., Tai. J., 2007.** Anti-proliferative and antioxidant properties of rosmarin *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports*, 17, 6 p.p. 1525-1531.
- **Chopra. I. C., Abral. B. K. et Handa. K. L., 1960.** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Ed UNESCO, 48 p.

- **Cowan., 1999.,** Plant products as antimicrobial agents. *Clinicalmicrobioloyreviews*, 12, 4, p.p. 564-570.
- **Daferera. D., Ziogas. B. et Polissiou. M., 2000.** GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J Agric Food Chem*, 48, p.p. 2576-2581.
- **Decaux. I., 2002.** Phytothérapie : Mode d'emploi. Edition : Le bien public, p.p. 6.
- **Djermoun. A., 2009.** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques, Algérie, p.p. 45-53.
  
- **Fenardji. F., Klur. M., Furlon. C. et Ferrando R., 1974.** White Artemisia (*Artemisia herba-alba* L.). *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop*, 27, 2, p.p. 6-203.
  
- **Figueiredo. A., Barroso. J., Pedro. L., Salgueiro. L., Migue.l M. et Faleiro. M., 2008.** Portuguese *Thymbra* and *Thymus* species volatiles: chemical composition and biological activities. *Curr Pharm Des*, 14, 29, 31, p.p. 20–3140.
  
- **Friedman. J., Yaniv. Z., Dafni. A., Palewitch. D. et Israel. J., 1986.** *ethnopharmacol*, 16, 2-3, p.p. 87-275.
- **Guzman. C.C., 1999.** *Rosmarinus officinalis* L. In: *Plant Resources of South-East Asia* No. 13: Spices. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publisher, p.p. 194-197.
- **Hanafey. F., Sabry. A., 2013.** In vitro Antifungal Activity of Three Geophytic plant Extracts against Three Post-harvest Pathogenic Fungi, 16, 23, p.p. 1698-1705.
- **Harborne. J., Baxter. H., 1993.** *Phytochemical dictionary*. Taylor and Francis, London.
- **Hartmann. T., 2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research ofplant secondary metabolism, *Review. Phytochemistry*, 68, p.p. 2831–2846.
- **Hassan. N., Maswada. H., 2012.** Proximate and Phytochemical analyses of *Asparagus stipularis* and *Cyperus capitatus* and their antioxidant activities. *Proceedings of the 11 th Conference of the Agricultural Development Researches*, Ain Shams University, Egypte.
- **Hazzit. M., Baaliouamer. A. et Verissimo. A., 2009.** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chem*, 116, p.p. 21-714.
- **Henrich. et al., 2006.** *Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile*.

- **Hostettmann. K., 1997.** Tout savoir sur le pouvoir des plantes. Ed. Favre. S.A. Lausanne. Suisse.
- **Huang. M. T., Ho. C. T., Wang. Z. Y., Ferraro. T., Lou. Y. R., Stanber. K., Ma.W., Hoffman. L., Besseau. S., Geoffroy. P., Rizenthaler. C., Meyer. D., Lepierre. C., Pollet. B. et Legrand. M., 1994.** Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*, 16, 4, p.p. 1446-1465.
- **Kang. K., Fong. W. et Tsang. P., 2010.** Novel antifungal activity of purpurin against *Candida* species in vitro. *Medical Mycology*, 48, p.p. 904-911.
- **Kartal. M., Altun. M. et Kurucu. S., 2003.** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis*, 31, p.p. 263-269.
- **Khashimov. K., Telezhenetskaya. M. et Yunusov. S., 1969.** Desoxypeganine: A new alkaloid from *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, 5, p.p. 381-382.
- **Kim. J., Haff. R., Faria. N., Martins. M., Chan. K. et al., 2013.** Targeting the Mitochondrial Respiratory Chain of *Cryptococcus* through Antifungal Chemosensitization: A Model for Control of Non-Fermentative Pathogens. *Molecules*, 18, p.p. 8873-8894.
- **Leslie. S., 2010.** Classification of Secondary Metabolites: How Plants and Humans Use Them.
- **Ibañez. E., Cifuentes. A., Crego. A. L., Señoráns. F. J., Cavero. S. et Reglero. G., 2000.** Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48, 9, p.p. 4060-4065.
- **Ignacio. J. C., 1779.** *Artemisia herba alba*.
- **Izcan. T., Chachat., 2004.** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in turkey bulg.j.plant phisiol, 30, 4, p.p.7-68.
- **Lemonica. I. P., Damasceno. D. C., Di-Stasi L. C., 1996.** Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* ). *Brazilian journal of medical and biological research*, 29, 2, p.p. 223-227.
- **Marandi. R., Hassani. A., Ghosta. Y., Abdollahi. A., Pirzad A. et Sefidkon. F., 2011.** Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on pear with *Thymus*

*kotschyanus*, *Ocimum basilicum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *J Med Plants Res*, 4, p.p. 626-634.

- **Mc Clanahan. C., 2009.** Antifungals. *Biofiles* 2009.
- **Mehani. M., Segni. L., Terzi. V., Morcia. C., Ghizzoni. R., Goudgil. B. et Benchikh. S., 2016.** Activité antifongique de l'armoise blanche sur différents *Fusarium*, 10, p.p. 1071.
- **Monod. T., 1978.** Les Rosas de Sancta Marya de Gil Eanes (1434). Vol 107. UC Biblioteca Geral, p.p. 1, 9.
- **Morales. R., 2002.** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Stahl-Biskup E, Sáez F, editors. *Thyme: the genus Thymus*. London: Taylor et Francis, p.p. 1-43.
- **Nabli. M., 1989.** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. Edition MAB, Faculté des sciences de Tunis, p.p.186-188.
- **Nagata. T., Tsushida. T., Hamaya. E., Enoki. N., Manabe. S. et Nishino. C., 1985.** Camellidins: antifungal saponins isolated from *Camellia japonica*. *Agric Biol Chem* 49, p.p. 1181-1186.
- **Offord. E., Mace. K., Ruffieux. C., Malnoë. A. et Pfeifer. A., 1995.** Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis*, 16, 9, p.p. 2057-2062.
- **Olli. S., Kirti. P., 2006.** Cloning, characterization and antifungal activity of defensin Tfgd1 from *Trigonella foenum-graecum* L. *J Biochem Mol Biol* 39, p.p. 278-283.
- **Ouraïni. D., Agoumi. A., Ismaïli-Alaoui. M., Alaoui. K., Cherrah. Y., Amrani. M. et Belabbas. M. A., 2005.** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 3, 4, p.p. 147-157.
- **O'fel. A., 1982.** Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques, Association des professeurs de parasitologie. Paris : E.Crouan et Roques, p.p. 349.
- **Ozenda. P., 1977.** Flore du Sahara, Ed du CNRS, p.p. 312-322.
- **Paris. A., Strukelj. B., Renko. M., Turk. V., Pukl. M., Umek. A. et Korant. B., 1993.** Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products*, 56, 8, p.p. 1426-1430.

- **Paster. N., Bullerman. L. B., 1988.** Mould spoilage and mycotoxin formation in grains as collected by physical means. *Int. J. Food Microbial*, 7, p.p. 257-265.
- **Patrick. M., 2010.** *Le Truffaut du Potager. cultiver vos légumes, fruits et herbes aromatiques*, Édition Protea. France, p.p. 509.
- **Perez. M., Calderon. N., Croci. C., 2007.** Radiation–induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Food chemistry*, 104, p.p. 585-592.
- **Posadzki. P., Watson. L., Ernst. E., 2013.** Herb–drug interactions: an overview of systematic reviews. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75, 3, p.p. 18-603.
- **Pottier. G., 1981.** *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones–gamopétales, p.p. 1012.
- **Quezel. P., Santa. S., 1963.** Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 36, p.p. 84-679.
- **Rasooli. I., Abyaneh. M.R., 2004.** Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *aspergillus parasiticus*. *food control* 15.
- **Sacchetti. et Collaborateurs., 2005.** Growing in Argentina. *Bioresource Technology*. (In press)
- **Sandro. P., 1982.** Flore d’Italie. Bologne, Edagricole, 2, 88, p.p. 506-2449.
- **Sarpeleh. A., Sharifi. K. et Sonbolkar. A., 2009.** Evidence of antifungal activity of wild rue (*Peganum harmala L.*) on phytopathogenic fungi, 116, 5, p.p. 208-213.
- **Schultz. T.P., Nicholas. D., 2000.** Naturally durable heartwood: évidence for the proposed dual défensive function of the extractives. *Phytochemistry*, 54, p.p. 47-52.
- **Singletary. K. W., Nelshoppen J. M., 1991.** Inhibition of dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis andof in vivoformation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer lettres.*, 60, 2, p.p. 169-175.
- **Solar. J., 2003.** La production maraîchère : Les grands secteurs de l’Agriculture algérienne, Algérie.

- **Souza. C., Schiavetto. I., Thomazini. F. et Olivieira. W., 2008.** Processing of *Rosmarinus officinalis* extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering*, 25, 1, p.p. 59-69.
- **Tahara. S., Ingham. J., Nakahara. S., Mizutani. L. et Harborne. J., 1984.** Fungitoxic dihydrofurano-isoflavones and related compounds in white lupin, *Lupinus albus*. *Phytochemistry*, 23, p.p. 1889–1900.
- **Tahri. D., Seba. M., 2013.** Etude de l'effet inhibiteur des extraits de *Peganum harmala L.* sur la lipase de *Candida rugosa*. Mémoire de master. Science de la nature de vie. Université de Laghouat.
- **Takeuchi. et al., 2004.** Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovary an dysfunction. *Endocrj*, 5, p.p. 165-169.
- **Teimouri. M., 2012.** Antimicrobial activity and essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak from Iran. *J Med Plants Res*, 6, p.p. 631-635.
- **Tyler. V.E., Brady. L.R. et Robbers. J.E., 1881.** *Pharmacognosy*. Lea & Febiger, Philadelphia, p.p. 520.
- **Viuda-Martos. M., Ruiz-Navajas. Y., Fernandez Lopez. J. et Perez-Alvarez. J., 2007.** Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. *J Food Safety*, 27, p.p. 91-101.
- **Walker. G., White. N., 2011.** Introduction to Fungal Physiology. In: *Fungi: Biology and Applications*, Kavanagh K (ed) John Wiley and Sons, Ltd , UK.
- **Wang. W., Wu. N., Zu. Y. G. et Fu. Y. J., 2008.** Antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis L* oil compared to its main compounds. *Food chemistry*, 108, 3, p.p. 1019-1022.
- **Young. M., Braga. M., Dietrich. S., Gottlieb. H., Trevisan. L. et Bolzani. V., 1992.** Fungitoxic non-glycosidic iridoids from *Alibertia macrophylla*. *Phytochemistry*, 31, p.p. 3433.
- **Zalat. S., Gilbert. F., 1999.** "A Walk in Sinai". *Egyptian Journal of Natural History. Egyptian British Biological Society*, 1, p.p. 1110-6867.