



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques

# MÉMOIRE DE MASTER

Science de la Nature et de la Vie  
Sciences Agronomiques  
Protection des végétaux

Réf. : .....

Présenté et soutenu par :  
**SOLTANE Fatima EL Zahra**

Le : 27 juin 2022

## Thème :

---

**L'effet de quelques plantes spontanées sur le  
champignon *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*  
agent causal de la fusariose de la tomate**

---

### Jury :

Mr. MEHAOUA Med Seghir	MCA	Université de Biskra	Président
Mr. HADJEB Ayoub	MCA	Université de Biskra	Encadreur
Mr. BOUBAKEUR Nabil	MCA	I.N.P.V.	Co-Encadreur
Mr. DJEKIREF Laâla	MCB	Université de Biskra	Examineur

**Année universitaire : 2021 – 2022.**

## Remerciements

Au-dessus de tout, je remercie **ALLAH** le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage, la volonté et surtout la patience pour réaliser ce travail.

J'ai la chance d'exprimer mes sincères gratitudee tout particulièrement à Monsieur **HADJEB Ayoub** Maître de conférences classe -A- au département des Sciences Agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra. Je le remercie infiniment tout d'abord pour son encadrement et d'avoir dirigé ce travail et surtout sa disponibilité malgré ses nombreuses occupation, sa patience, ses conseils constructifs durant la correction de ce document et ses qualités humaines et ses intérêts portés sur mon travail.

Mes remerciements les plus chaleureux vont au président du jury, à Monsieur **MEHAOUA Mohamed Seghir**, Maître de conférences classe -A- au département des Sciences Agronomiques, Université Mohamed Khider, de m'avoir accepté aimablement de présider et de juger ce travail. Je suis très particulièrement reconnaissant pour sa participation à ce jury.

Je tiens à remercier également Monsieur **DJEKIREF Laâla**, Maître de conférences classe -B- au département des Sciences Agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra. D'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement de critiquer et d'examiner ce travail. Je suis très reconnaissant et honoré par sa participation au jury de ce travail.

Ce travail a été aussi, Co-encadré par Monsieur **BOUBAKEUR Nabil**, Maître de conférences classe -A- au l'institut national de protection des végétaux. Ses apports scientifiques ainsi que son suivi pour la finalisation de mes travaux de recherche ont été d'une qualité supérieure et très fructueuse. Je tiens également, à lui exprimer ma profonde reconnaissance gratitude.

Je tiens à exprimer mes sentiments les plus profonds et mes remerciements infinis à mes chers **PARENTS** à qui je dois ce que je suis devenu. Guides affectueux et attentifs, en, reconnaissance pour leur soutien moral et pour les charges supportées pendant ces longues années.

Enfin je tiens d'adresser mes vifs et respectueux remerciements à mes enseignants de départements sciences agronomiques, et toutes les personnes qui m'ont aidé ne serait-ce qu'avec un mot d'encouragement.

## **Dédicace**

**Je dédie ce modeste travail à :**

À mon précieux père *Saleh*

À ma tendre mère *Hafidha*

À mon chaleureux frère *Amine*

À mes sœurs adorées *Khadidja, Aicha, Zineb, Asma, Belkisse*

À mes chères et proches amies *Selma, Samah, Wahiba, Chahinez, Hanina, Hadjer, Oumnia*

Je les remercie pour leur soutien moral, leur encouragement incessant et la confiance qu'elle  
a mise en moi.

À tous Ceux et Celles que j'estime et que je n'ai pas cité.

*Fatima*

## Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1
<b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b>	
<b>1. Matériel Végétal .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. La nigelle « <i>Nigella sativa</i> L. » .....</b>	<b>5</b>
1.1.1. Présentation .....	5
1.1.2. Position systématique .....	5
1.1.3. Description botanique .....	5
1.1.4. Usage médical et traditionnel .....	6
<b>1.2. Pergularia « <i>Pergularia tomentosa</i> » .....</b>	<b>6</b>
1.2.1. Présentation .....	6
1.2.2. Position systématique .....	7
1.2.3. Description botanique .....	7
1.2.4. Usage médical et traditionnel .....	8
<b>1.3. Hénne « <i>Lawsonia inermis</i> L. » .....</b>	<b>8</b>
1.3.1. Présentation .....	8
1.3.2. Position systématique .....	8
1.3.3. Description botanique .....	8
1.3.4. Usage médical et traditionnel .....	9
<b>1.4. Coloquinte « <i>Citrullus colocynthis</i> » « vulgaris » .....</b>	<b>9</b>
1.4.1. Présentation .....	9
1.4.2. Position systématique .....	10
1.4.3. Description botanique .....	10
1.4.4. Usage médical et traditionnel .....	11
<b>2. Matériel biologique .....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Champignon <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .....</b>	<b>11</b>
2.1.1. Généralité sur <i>Fusarium oxysporum</i> .....	11
2.1.2. Position systématique .....	12
2.1.3. Les maladies causées par <i>Fusarium oxysporum</i> .....	12
2.1.4. Les symptômes causés par <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .....	13
2.1.5. Cycle général de la maladie de flétrissement vasculaire causée par <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .....	14

---

<b>3. Méthodologie</b> .....	16
<b>3.1. Préparation des plantes</b> .....	16
<b>3.2. Préparation des extraits</b> .....	17
<b>3.2.1. Extraction méthanolique et éthanolique</b> .....	17
<b>3.2.2. Extraction aqueuse</b> .....	18
<b>3.3. Etude de l'activité antifongique</b> .....	18
<b>3.3.1. Préparation du milieu de culture Potato Dextrose Agar</b> .....	19
<b>3.3.2. Préparation des souches champignon pathogène</b> .....	19
<b>3.3.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits bruts</b> .....	23
<b>3.3.3.1. Méthode de diffusion en gélose</b> .....	23
<b>3.3.3.2. Estimation du taux d'inhibition</b> .....	24
<b>3.3.3.3. Effet de différents concentration des extraits Henné et Pergularia sur les isolats de <i>Fusarium sp.</i> de LICHANA</b> .....	25
<b>3.3.3.4. Analyse statistique</b> .....	25

## **Chapitre II : Résultats**

<b>1. Identification des isolats</b> .....	26
<b>1.1. Caractères morphologiques macroscopiques</b> .....	26
<b>1.2. Caractères morphologiques microscopiques</b> .....	26
<b>2. Evaluation de l'activité antifongique des extraits bruts</b> .....	27
<b>2.1. Test de diffusion en gélose « méthode de disque »</b> .....	27
<b>2.1.1. Effet des extraits des plantes sur la souche <i>Fusarium sp</i> d'El-Horaya</b> .....	27
<b>2.1.2. Effet des extraits des plantes sur la souche <i>Fusarium sp</i> de Lichana</b> .....	30
<b>2.1.3. Effet des extraits des plantes sur la souche <i>Fusarium sp</i> de Lihrichate</b> .....	33
<b>2.1.4. Effet des extraits des plantes sur la souche <i>Fusarium sp</i> de NABKRA</b> .....	36
<b>2.2. Effet des différentes concentrations des extraits éthanolique de Henné et Pergularia sur les isolats de <i>Fusarium sp.</i> de LICHANA</b> .....	39

## **Chapitre III : Discussion**

<b>Discussion</b> .....	41
<b>Conclusion</b> .....	43
<b>Références bibliographiques</b> .....	45

**Annexes**

**Résumé**

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> La nigelle ; <b>A</b> : Plante, <b>B</b> : Fleur, <b>C</b> : Grains, <b>D</b> : Tige ( <a href="https://pin.it/6nxbeXr">https://pin.it/6nxbeXr</a> ). .....	6
<b>Figure 2:</b> Pergularia ; <b>A</b> : Plante, <b>B</b> : Feuille, <b>C</b> : Fruit, <b>D</b> : Fleurs, <b>E</b> : Tige, Pergularia tomentosa - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain (teline.fr). .....	7
<b>Figure 3:</b> Henné ; <b>A</b> : Plante, <b>B</b> : Tige, <b>C</b> : Feuilles, <b>D</b> : Fleurs et fruits ( <a href="https://pin.it/7a7MYTb">https://pin.it/7a7MYTb</a> ). .....	9
<b>Figure 4:</b> La coloquinte ; <b>A</b> : Feuilles, <b>B</b> : Fruits à maturité, <b>C</b> : Des graines d'un fruit immature, <b>D</b> : Fleur femelle ( <b>Leber et al., 2020</b> ) .....	11
<b>Figure 5:</b> Les symptômes de la flétrissure fusarienne ( <i>Fusarium wilt</i> ) <b>a</b> ) Jaunissement et flétrissement unilatéral des folioles et des feuilles de la tomate <b>b</b> ) Brunissement longitudinal de la tige <b>c</b> ) Une coupe longitudinale de la tige montrant le brunissement des vaisseaux ( <b>Blancard, 2013</b> ).....	14
<b>Figure 6:</b> Cycle général de la maladie de flétrissement vasculaire causée par <i>F.oxysporum f.sp lycopersici</i> chez la tomate ( <b>Agrios, 2005</b> ). .....	15
<b>Figure 7:</b> Séchage des plantes (Original). .....	16
<b>Figure 8:</b> Broyage des plantes, <b>A</b> : Pergularia ; <b>B</b> : Henné ; <b>C</b> : La nigelle ; <b>D</b> : Coloquinte (original). .....	17
<b>Figure 9:</b> Extraction méthanolique et éthanolique (original).....	17
<b>Figure 10:</b> Extraction aqueuse (Original). .....	18
<b>Figure 11:</b> <b>A</b> : Milieu PDA préparé ; <b>B</b> : Boîtes de pétri et tubes à vice préparés avec milieu PDA. 19	
<b>Figure 12:</b> Echantillon de tomate infecté par fusariose (original). .....	20
<b>Figure 13:</b> Les étapes d'isolement (original). .....	21
<b>Figure 14:</b> Purification de l'agent pathogène (original). .....	21
<b>Figure 15:</b> Technique de culture sur lame gélosée (original). .....	22
<b>Figure 16:</b> Conservations des isolats (Original). .....	23
<b>Figure 17:</b> Les étapes de méthode diffusion par disque en gélose (Originale).....	24
<b>Figure 18:</b> <b>A</b> : Les boîtes de pétri avec extrait de Henné et Pergularia, <b>B</b> : Le témoin. ....	25
<b>Figure 19:</b> Observation à l'œil nu les souches. ....	26
<b>Figure 20:</b> Observation microscopique, <b>A</b> : Grossissement (Gr : 10 x 40) ; <b>B</b> : (Gr : 10 x 10). .....	26
<b>Figure 21:</b> Aspect macroscopique d'effet de différentes concentrations des extraits éthanolique de Henné et Pergularia ( <b>S2-Lichana</b> ). .....	40

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Position systématique de <i>Fusarium oxysporum</i> . .....	12
<b>Tableau 2:</b> Echantillonnage des souches de <i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i> . .....	20
<b>Tableau 3:</b> Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait ( <b>S1-El-Horaya</b> ). ...	27
<b>Tableau 4:</b> ANOVA à un facteur ( <b>S1- El-Horaya</b> ). .....	28
<b>Tableau 5:</b> Test du Tukey ( <b>S1- El-Horaya</b> ).....	28
<b>Tableau 6:</b> Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S1- El-Horaya. ....	29
<b>Tableau 7:</b> Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait ( <b>S2-Lichana</b> ).....	30
<b>Tableau 8:</b> ANOVA à un facteur ( <b>S2- Lichana</b> ). .....	30
<b>Tableau 9:</b> Test de Tukey ( <b>S2- Lichana</b> ).....	31
<b>Tableau 10:</b> Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S2-Lichana. ....	32
<b>Tableau 11:</b> Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait ( <b>S3-Lihrichate</b> ). .	33
<b>Tableau 12:</b> ANOVA à un facteur ( <b>S3- Lihrichate</b> ).....	33
<b>Tableau 13:</b> Test du Tukey ( <b>S3- Lihrichate</b> ).....	34
<b>Tableau 14:</b> Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S3-Lihrichat. ....	35
<b>Tableau 15:</b> Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait ( <b>S4-NABKA</b> ). ....	36
<b>Tableau 16:</b> ANOVA à un facteur ( <b>S4-Nabka</b> ). .....	36
<b>Tableau 17:</b> Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S4-Nabka. ....	37
<b>Tableau 18:</b> Récapitulation de l'effet des extraits sur les différentes souches fongiques sujet tu test.	38
<b>Tableau 19:</b> Le développement mycélien en mm de la souche de <i>Fusarium sp.</i> de Lichana.....	39

## Liste des abréviations

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**DSA** : Direction des Services Agricoles.

**PDA** : Potato Dextrose Agar.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**FOL**: *Fusarium. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

**FORL**: *Fusarium. oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* .

**APG** : Groupe de phylogénie des angiospermes.

**S1** : Souche 1.

**S2** : Souche2.

**S3** : Souche3.

**S4** : Souche4.

**R1** : Répétition 1.

**R2** : Répétition 2.

**R3** : Répétition 3.

**Ext** : Extrait.

**Hén éth** : Henné éthanol.

**Hén méth** : Henné méthanol.

**Per éth**: Pergularia éthanol.

**Per méth**: Pergularia méthanol.

**Nig éth**: Nigella éthanol.

**Nig méth** : Nigella méthanol.

**Cit éth** : Citrillus éthanol.

**Cit méth** : Citrillus méthanol.

### Unités de mesure

**°C** : Degré Celsius.

**Min** : minute.

**g** : gramme.

**g/l** : gramme /litre.

**Bar** : Unité de pression.

**Gr** : Grossissement.

**Cm** : Centimètre.

**ml** : millilitre.

**µl** : microlitre.

**%** : Pourcentage.

**h** : Heure.

**tr /min** : Tour/minute.

**mm** : millimètre.

**µm** : micromètre.

## Introduction

La tomate est une liane tropicale de la famille des Solanacées, appartenant au genre *Solanum*, qui compte environ 1300 espèces, sa culture s'est adaptée à une variété de climats, grâce notamment aux possibilités offertes par la production en serre. Deux grands types de production coexistent : la production de fruits frais, qui selon les régions est issue de serres, d'abris, ou de plein champ et la production de fruits destinés à la transformation industrielle, essentiellement issue de cultures en plein champ (**Lecompte et Mathilde, 2014**).

En raison de sa valeur nutritionnelle, la tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) est le deuxième maraîcher le plus important au monde, sa culture contient une grande quantité de sources alimentaires de vitamines A, B, C, E et d'acide nicotinique (**Kanneh et al., 2015; Godia, 2014**).

En Algérie la culture de la tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher. Elle est de ce fait, considérée comme une espèce prioritaire. Toutefois, les superficies cultivées en tomate a connu une évolution importante au cours des dernières années dans la production de la tomate fraîche, en passant simplement, de 1 280 000 tonnes en 2017 contre 718 235 tonnes en 2010 (**FAOSTAT, 2018**). Selon les statistiques de la **DSA de Biskra, 2022** , la production régionale de la wilaya sur les serres tunnels de la tomate est de 2 313 000 de quintaux et de 1 301 500 de quintaux sur les serres multichappels.

La culture de la tomate est affecté par de plus de 200 maladies causées par des champignons pathogènes, des bactéries, des virus et des nématodes qui ont un impact important sur la production (**Abad et Abad, 1997 ; Koch et al., 1992; Lukyanenko, 1991; Moriones et Navas, 2000**), tels que : la septoriose, la moisissure des feuilles, l'oïdium, la pourriture des racines et la fonte des semis (**Panthee et Chen, 2010**). Ainsi que le mildiou, la pourriture grise et l'alternariose et le flétrissement de la tomate causé par *Ralstonia solanacearum*, *Verticillium alboatrum* et *Fusarium oxysporum* est l'une des maladies les plus destructrices des légumes dans les régions chaudes et humides et des régions subtropicales et tempérées du monde (**Takahashi et al., 2005 ; Arie et al., 2007**).

Les pathologies causées par les microorganismes, notamment les champignons constituent un obstacle majeur qui touche de nombreuses cultures agricoles, menant ainsi à leur altération et à de grandes pertes économiques (**Zahir, 2016 ; Zahir et al., 2018** ). Ils provoquent des dégâts importants sur l'homme ainsi que sur des espèces végétales (**Dorrance et al., 2004**).

Parmi les champignons telluriques où l'espèce ubiquitaire *Fusarium oxysporum* est présente dans tous les types de sols et sous différents climats (**Burgess, 1981**). Ce type de champignon mène une vie saprophyte dans le sol. Il fait partie des champignons filamenteux développant un mycélium aérien sur le milieu de culture potato-dextrose-agar (PDA) où il prend différentes couleurs allant du blanc au violet (**Snyder et Hansen, 1940**), ayant une grande diversité génétique, écologique et une pathogénicité vis-à-vis des espèces végétales cultivées à intérêt économique (**Si Mohamed, 2017**).

En effet certaines souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* sont responsables des maladies telles que la flétrissure et la pourriture des racines et du collet chez des plantes hôtes. Deux formes spéciales différentes sont inféodées à la tomate : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) qui provoque des trachéomycoses vasculaires et *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) qui engendre des pourritures au niveau des racines et du collet. Dans les deux cas, la fusariose se traduit par un flétrissement de la plante pouvant aller jusqu'au dessèchement des feuilles et la mort de la plante (**Laterrot et al., 1988**).

La fusariose est parmi les maladies fongiques les plus répandues qui affectent la culture de la tomate et cause une dégradation sur le plan économique. Cet agent phytopathogène est à l'origine des pertes de rendement de 30 à 40% et pouvant atteindre même 80% de perte, dans des conditions météorologiques favorables (**Nirmaladevi et al., 2016**).

En Algérie, la fusariose de la tomate a été signalée par plusieurs auteurs qu'ils ont utilisé des isolats de FOL algériens dans leurs études telles que (**Henni et al., (1994), Mezaache et al., (2012), et Toua et al., (2013)**). Jusqu'à présent, les trois races physiologiques 1, 2 et 3 de *F. oxysporum* f. sp. tomate a été reconnu dans le monde entier. Ils diffèrent par leur pathogénicité, les variétés de tomates avec des gènes de résistance dominants sont appelées "gènes de résistance dominants spécifiques à la race" (**Mes et al., 1999**).

Au cours des vingt dernières années, une forte progression de ces maladies fongiques, qui touchent un très large éventail d'hôtes a été constatée. Pour remédier à ces problèmes plusieurs méthodes ont été trouvées, la méthode de lutte la plus courante est la lutte chimique par l'utilisation des fongicides synthétiques.

Toutefois, ce traitement rencontre rapidement ses limites en raison de nombreux désavantages liés aux phénomènes de pollution, à la phytotoxicité, au déséquilibre biologique et surtout au risque de sélection de souches résistantes aux fongicides (**Arias et al., 1998 ; Dorrance et al., 2004**). Ainsi que les impacts négatifs sur l'environnement, toxicité pour les

mammifères et les coûts élevés rendent leur utilisation peu attrayante, d'où la recherche d'alternatives comme les produits chimiques naturels à base de plantes (Asawalam, 2006).

En outre, la lutte biologique qui présente une des méthodes alternatives pour lutter contre les maladies fongiques et les maladies phytopathogène (Emmert et Handelsman 1999), sa été étudiée en utilisant des composés dérivés de sources végétales dans le but de réduire l'utilisation de fongicides synthétiques (Rongai et al., 2015).

Dans la recherche de molécules bioactives, les ressources naturelles issues des plantes médicinales ont été utilisées pour traiter diverses maladies depuis préhistoire. Autour, 250 à 500 mille espèces végétales sont estimés présentes sur la planète, dont 1 à 10% d'entre eux sont utilisés comme nourriture par les êtres humains et d'autres animaux (Cowan, 1999). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 80% de la population mondiale dépend principalement des médecines traditionnelles et utilise des extraits de plantes dans les traitements traditionnels (WHO, 1993). Elles sont facilement accessibles et largement utilisées contre différentes phytopathologies (Tabuti et al., 2003 ; Sardi et al., 2011). Les plantes ont la capacité de synthétiser des métabolites secondaires aromatiques, comme les phénols, les acides phénoliques, les quinones, les flavones, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (Cowan, 1999), et donc constituent une source intarissable de substances naturelles qui, de par leur biodiversité, peuvent être utilisées dans la formulation de nouveaux agents antifongiques (Cannas et al., 2014). L'étude de (Debbi, 2018), a porté sur la distribution et la variabilité génétique du *Fusarium oxysporum* associé aux maladies de la tomate en Algérie, avec la stratégie de biocontrôle avec des *Trichoderma spp* indigènes. En outre Mao et al., (1998) ont pu réduire dans le champ les maladies de la tomate due aux *S. rolfsii*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* par l'utilisation de deux agents biologiques *Gliocladium vireus* et *Burkholderia cepacia*. Le traitement de Tegegne et al., (2008) qui sont utilisé dans leurs études les extraits de feuilles d'*Agapanthus africanus* ont a montré une bonne activité antifongique.

Cette démarche s'inscrit dans le cadre du développement d'une protection biologique telle que l'utilisation de biopesticides. L'accent est donc mis dans notre étude d'évaluer l'efficacité d'agents bioactifs variés d'après les propriétés des plantes médicinales pour le contrôle des maladies causées par ce champignon.

L'objectif de cette étude consiste à tester in vitro les extraits éthanoliques et méthanoliques et aqueux de différents plantes (*Nigella sativa* L., *Pergularia tomentosa*,

*Lawsonia ennermis* L., et *Citrullus colocynthis*) vis-à-vis les souches de *Fusarium.sp.* Afin d'évaluer l'activité antifongique de *Fusarium.sp.*, ces extraits qui pourraient éventuellement être utilisés dans des programmes de lutte contre la fusariose de la tomate.

Les points contenus dans cette étude :

- Extraction méthanolique et éthanolique et aqueuse des plantes *Nigella sativa* L., *Pergularia tomentosa*, *Lawsonia ennermis* L., et *Citrullus colocynthis*.
- Isolement et purification et identification de l'agent fongiques à partir de différentes parties infectées de la tomate (collet, racines) provenant de différentes zones de la région de Biskra, Algérie.
- Teste de la diffusion en gélose (méthode de disque) entre l'extrait des plantes et l'agent pathogène (*Fusarium sp*) pour étudier l'activité antifongiques de *Fusarium .sp.*

Notre travail est divisé en 3 parties :

**Chapitre I :** Présenter le matériel végétal et biologique utilisés et les méthodes adoptées pour réaliser ce travail.

**Chapitre II :** Les résultats obtenus sont affichés.

**Chapitre III :** Présenter la discussion de notre travail et la comparer avec d'autres études.

## Chapitre I Matériel et méthodes

### 1. Matériel Végétal

#### 1.1. La nigelle « *Nigella sativa* L. »

##### 1.1.1. Présentation

*Nigella sativa* L. est une plante herbacée de la famille des Renonculaceae (Guignard, 2001). Du latin nigellus "noirâtre", la nigelle nous offre ses petites graines aromatiques menées d'un noir intense communément connues sous le nom de cumin noire, black seed en anglais, حبة البركة ou encore الحبة السوداء dans les pays arabes, Sinoudj en Algérie (Ghedira, 2006).

##### 1.1.2. Position systématique

La Classification botanique de *Nigella Sativa* selon (Guignard, 2001) :

- **Sous Règne** : Cormophyte
- **Supra embranchement** : Rhizophyte
- **Embranchement** : Spermaphyte
- **Sous embranchement** : Angiosperme
- **Classe** : Eudicotylédone
- **Sous classe** : Audicots archaïques
- **Ordre** : Ranunculales
- **Famille** : Renonculacées
- **Sous famille** : Helloboroidées
- **Genre** : *Nigella*
- **Espèce** : *Nigella sativa* L.

##### 1.1.3. Description botanique

*Nigella sativa* est une plante annuelle herbacée atteignant 30 à 60 cm de haut. Les feuilles pennatiséquées, divisées en lobes étroits, elles sont lancéolées à linéaires et présentent des onglets nectarifères, les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues (Bonnier, 1990 ; Ghedira, 2006). Les fleurs sont petites avec des pétales et des sépales blancs, et elles ont de nombreuses étamines incrustées dans le réceptacle (Ghedira, 2006). La plante est hermaphrodite à reproduction autonome, et le fruit est une capsule composée de 3 à 6 carpelles fusionnés jusqu'à la base des styles persistants (Bonnier, 1990).

Chaque capsule contient plusieurs blanchâtres triangulaires, et à mesure qu'ils mûrissent, ils s'ouvrent et l'exposition des grains à l'air les noircit. Ses grains sont des ovoïdes dont la taille varie de 2 à 3,5 mm, avec 3 à 4 angles et un grain finement granuleux et réticulé face supérieure (Ghedira, 2006).



Figure 1: La nigelle ; A : Plante, B : Fleur, C : Grains, D : Tige (<https://pin.it/6nxbeXr>).

#### 1.1.4. Usage médical et traditionnel

*N.sativa* est un remède naturel pour une variété de pathologies, y compris l'asthme, l'inflammation, la toxine, l'eczéma et les troubles de préhension. Le grain ou l'huile qui en résulte est utilisé comme diurétique, carminatif, cholagogue et vermifuge (Ghedira, 2006).

Leur popularité était raisonnée par la croyance idéologique de pouvoir guérir plusieurs maladies. En effet, cette plante a occupé une place particulière dans la civilisation islamique en raison de la prophétie du Prophète Mohamed (salut et miséricorde soit sur lui) ; "El habbah sauda est un médicament pour toutes les maladies sauf la mort", ces mots sont restés un mystère pour la science jusqu'à l'arrivée de techniques modernes qui ont réussi à démontrer les propriétés thérapeutiques des grains de cette plante (Meziti, 2008).

## 1.2. La pergularia « *Pergularia tomentosa* »

### 1.2.1. Présentation

La famille des Asclépiadacées contient environ 355 genres et près de 3 700 espèces qui se trouvent principalement dans les régions tropicales et subtropicales, mais avec quelques représentants qui se trouvent principalement dans les zones tempérées (Good, 1951). La plante *Pergularia tomentosa* s'est largement disséminée au Libye, en Palestine, au Pakistan et en Arabie Saoudite (Gohar et al., 2000 ; Al-Farraj et Al-Wabel, 2007), dans le désert Égyptien,

le long de la côte de la Mer Rouge , et en Sina (Boulos, 2000), et le Sahara Algérien (Abegaz et Demissew, 1998).

### 1.2.2. Position systématique

La classification de *P. tomentosa* présentée est faite selon Maman (2003) et in Kemassi et al., (2008).

- Règne : Plantes
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Magnoliopsidae
- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Gentianales
- Famille : Asclepiadaceae
- Genre : Pergularia
- Espèce : *Pergularia tomentosa* L.

### 1.2.3. Description botanique

Cette plante peut atteindre 1 m, l'arbuste vivace environ 50- 60 cm. Ainsi que des tiges ligneuses plus anciennes autour desquelles les plus jeunes s'enroulent. Des poils verts dressés recouvrent les tiges et les feuilles sont opposées, entières, 1-2 cm. long, en forme de cœur, avec de longues tiges également couvertes de poils verts. De petites fleurs à 5 pétales libres jaune-blanchâtre sont également présentes. Les fruits sont des follicules oblongs, globuleux, couverts de soies charnues. Un liquide collant blanc des feuilles et des fruits est sécrété au moindre contact avec la plante. Il fleurit au printemps dans le nord du Sahara et à tout moment de l'année dans le centre du Sahara (Benhouhou, 2005).



**Figure 2:** Pergularia ; A : Plante, B : Feuille, C : Fruit, D : Fleurs, E : Tige, [Pergularia tomentosa - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain \(teline.fr\)](http://Biodiversité végétale du sud-ouest marocain (teline.fr)).

#### 1.2.4. Usage médical et traditionnel

*Pergularia tomentosa* est utilisé pour la bronchite et la tuberculose et pour les morsures de serpent. Les feuilles, le latex et les racines sont utilisés à des fins médicinales. Ces printemps et sont préparées sous forme d'infusion, décoction, poudre et mélangée à d'autres plantes et prises par voie orale ou utilisées en usage externe (Benhouhou, 2005).

### 1.3. Le henné « *Lawsonia inermis* L. »

#### 1.3.1. Présentation

*Lawsonia inermis* L. est une plante vivace souvent connue sous le nom de Henné en Français, henna en anglais et حنة en arabe. C'est une espèce originaire d'Afrique du Nord et du Sud Est Asiatique (Malekzadeh, 1968).

La plante doit son nom scientifique au botaniste suédois Carl *Linnaeus*, qui l'a donnée à son assistant, le physicien Ecossois, Issac Lawson. *Inermis* est un mot latin qui signifie « non armé » ou « sans défense » (Kazandjieva et al., 2007). *Lawsonia alba*, *Lawsonia spinosa* et *Ligustrum egypticum* sont tous des noms scientifiques pour un arbuste qui appartient à la famille des Lythraceae (Wichtl, 1999 in Benabdallah, 2012).

#### 1.3.2. Position systématique

D'après (Roques, 1960), la classification botanique de la *L.inermis* est la suivante :

- **Règne** : Plante
- **Embranchement** : Phanérogames
- **Sous embranchement** : Angiospermes
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Ordre** : Myrtales
- **Famille** : Lythraceae
- **Genre** : *Lawsonia*
- **Espèce** : *Lawsonia inermis* L.

#### 1.3.3. Description botanique

Le henné est un arbuste ramifié et élancé aux feuilles simples, entièrement glabres, opposées qui sont elliptiques ou obovale en forme, pointes aux deux extrémités et un pétiole court mesurant jusqu'à 5 cm de long et de 5 à 10 mm de diamètre. Ses panicules sont constitués de cymes blanches, jaunes ou rouges d'un diamètre d'un centimètre et d'une longueur allant jusqu'à 20 cm. Ces fleurs ont quatre pétales et quatre sépales qui adhèrent au fruit globuleux,

qui a la forme d'une capsule cylindrique d'un diamètre 5 mm et est densément rempli de grains (Boullard 2001 ; Ait Youssef, 2006 in Mansour, 2014).



Figure 3: Henné ; A : Plante, B : Tige, C : Feuilles, D : Fleurs et fruits (<https://pin.it/7a7MYTb>).

#### 1.3.4. Usage médical et traditionnel

Le Henné est à la fois, une plante aromatique, rituelle et médicinale (Boullard 2001), les médecines ayurvédique et traditionnelle en font grand usage pour soigner aussi bien les personnes que les animaux domestiques, dans toutes sortes de maladies de la peau, les brûlures, mais aussi comme anti diarrhéique, antiépileptique ou abortif (Forestier 1982 ; Botineau 2010). Les principaux constituants des plantes de Lythraceae comprennent les flavonoïdes, isocoumarines, coumarines, quinoïde, triterpénoïdes, dérivés du naphthalène. Certains d'entre eux présentent des anti-inflammatoires, propriétés antimycotiques, antifongiques, antibactériennes et antiparasitaires en tant que composants primaires (Yang et al., 2017).

En outre, *Lawsonia inermis*, comme beaucoup de plantes médicinales, a une variété de composés chimiques dans ses différentes parties. Les plus importants d'entre eux sont les 1,4-naphtoquinones, qui appartiennent à la famille des quinones et sont principalement représentés par le 2-hydroxy-1,4-naphtoquinone, également reconnu sous le nom de Lawsone (Wichtl, 1999 in Bebabdallah 2012).

### 1.4. La coloquinte « *Citrullus colocynthis* » « *vulgaris* »

#### 1.4.1. Présentation

La coloquinte est une plante qui pousse sur les sols désertiques et est assez commune dans les climats tropicaux humides ou modérément secs. Il est moins fréquent dans les climats tempérés. Elle couvre une vaste zone qui comprend le désert du Sahara en Afrique du Nord,

l'Arabie saoudite, l'Égypte et l'Inde, ainsi que les régions méditerranéennes (**Batonouny et al., 1999 in Medane , 2012**).

#### 1.4.2. Position systématique

En 1988, un groupe de chercheurs (Angiosperm Phylogeny Group, APG) élabore un nouveau système de classification basé sur des critères phylogénétiques. Cette classification a été révisée à deux reprises « **APG II** » en 2003 et « **APG III** » en 2009.

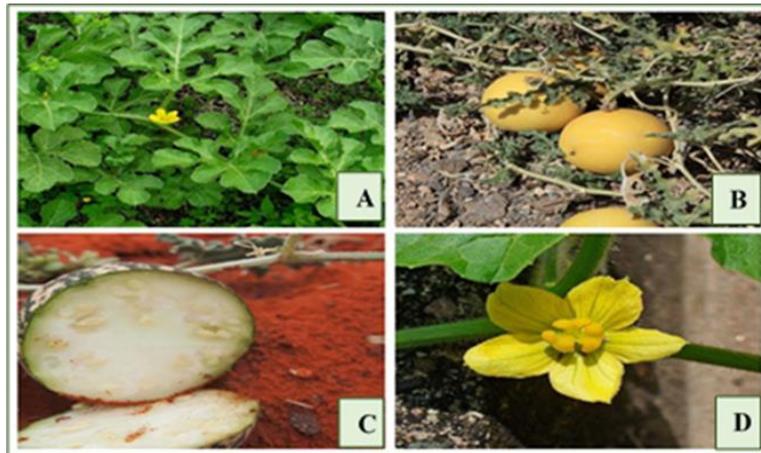
- **Règne** : Végétale
- **Sous règne** : Plantes vasculaires
- **Super division** : Spermaphytes
- **Division** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Dialypétales
- **Ordre** : Violales
- **Famille** : Cucurbitaceae
- **Genre** : *Citrullus*
- **Espèce** : *Citrullus colocynthis*

#### ➤ Noms vernaculaires

- **Arabe**: Amdal, Hadadja, Hadja, Hantel
- **Berber** : (**Algérie**) : Ifersil, Ikam, Tabarka, Tadjellat,
- **Français** : Coloquinte, chicotin
- **Anglais** : Colocynth, bitter apple, wild gourd (**Hammiche et al., 2013**).

#### 1.4.3. Description botanique

La coloquinte (*C. colocynthis*) est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace, ses tiges sont angulaires, rugueuses, migrantes et rudes. Les feuilles, de 5 à 10 cm de longueur, ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes. Les fleurs, jaunes verdâtres, monoïques à sexes séparés, solitaires, apparaissent l'été entre Mai et Août à l'aisselle des feuilles. Les fruits sphériques, de 7 à 10 cm de diamètre, ressemblent à une petite pastèque de couleur verte panachée de jaune clair. Ils deviennent complètement jaunes à maturité. Les graines sont de petites tailles (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisses, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et ont une saveur amère (**Duke, 1983**).



**Figure 4:** La coloquinte ; **A** : Feuilles, **B** : Fruits à maturité, **C** : Des graines d'un fruit immature, **D** : Fleur femelle (Leber et al., 2020) .

#### 1.4.4. Usage médical et traditionnel

L'utilisation médicale traditionnelle de *C.colocynthis* a déclenché une série d'études pharmacologiques. Dans de nombreuses régions du monde, il est utilisé pour traiter le diabète, la constipation, le lèpre, l'asthme, la bronchite, le jaunisse, les douleurs articulaires, le cancer et la mammite (Hussain et al., 2014). On la trouve dans les arthralgies, les myalgies et les allergies dentaires, ainsi que dans les dermatoses, la blennorragie, les morsures de scorpion et le coup de vent dromadaire (Leber et al., 2020). La décoction de la coloquinte serait insecticide, il est destiné à l'élimination des mouches, lorsqu'elle est mélangée avec du blé, peut être utilisée comme insecticide, notamment pour protéger les récoltes des attaques du charançon. Une utilisation d'antimites est également indiquée (Hammiche et al., 2013).

## 2. Matériel biologique

### 2.1. Champignon *Fusarium oxysporum* .f.sp. *lycopersici*

#### 2.1.1. Généralité sur *Fusarium oxysporum*

Les champignons telluriques du genre *Fusarium*, et plus particulièrement l'espèce *oxysporum*, sont les plus nuisibles des cultures commerciales (Armstrong et Armstrong, 1981), où ils sont connus pour leur forte phytopathogénicité. Elle est responsable de diverses maladies appelées fusarioses (trachéomycose, nécrose, semis fonte) (Fravel et al., 2003).

*Fusarium oxysporum* est un champignon tropical largement répandu qui est également l'un des plus agressifs, provoquant la pourriture et la pourriture racinaire chez un large éventail d'espèces végétales économiquement importantes (Hibar et al., 2007). En effet certaines souches de *F. oxysporum* dites pathogènes engendrent des fusarioses sur les plantes hôtes (Hibar et al., 2007) et comme une grave pathogène émergent de l'homme en raison du nombre

croissant de cas graves rapportés et à sa large résistance aux médicaments antifongiques disponibles (Ito et al., 2007).

### 2.1.2. Position systématique

*Fusarium oxysporum* est considéré comme Ascomycète proche du groupe Téléomorphique Gibberella que Nectria (Pietro et al., 2003 ; Michielse et Rep, 2009) et ayant plus de 120 formes spéciales :

**Tableau 1:** Position systématique de *Fusarium oxysporum*.

<b>Règne</b>	<b>Fungi</b>
<b>Division</b>	<b>Ascomycota</b>
<b>Classe</b>	<b>Ascomycètes</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Sordariomycètes</b>
<b>Ordre</b>	<b>Hypocreales</b>
<b>Famille</b>	<b>Nectriaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Fusarium</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Fusarium oxysporum</i></b>

### 2.1.3. Les maladies causées par *Fusarium oxysporum*

La tomate est sujette à deux maladies fusariennes :

- **Pourriture des racines et du collet « Fusarium crown and root rot »** causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicis-lycopersici* (katan et al., 1997).
- **Flétrissure fusarienne classique « Fusarium wilt »** causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*. (Snyder et Hansen, 1940).

#### a. Pourriture racinaire (Fusarium crown and root rot)

La maladie a été découverte pour la première fois au Japon en 1969 (Menzies et Jarvis, 1994), et on la trouve maintenant dans un certain nombre de pays à travers le monde. Ce champignon décapant est avant tout infecté par le système racinaire du plant de tomate, provoquant de nombreux rougeâtres humides bruns, le développement d'un chancre brun sur un côté de la tige et la formation d'une flamme sur le collet. Suite à ces changements, des symptômes de flétrissement et de jaunissement apparaissent sur les limbes des nombreuses feuilles, suivie d'une nécrose des pétioles et d'une chute des feuilles (Blancard et al., 2013).

## b. La flétrissure fusarienne « *Fusarium wilt* »

Flétrissure fusarienne, causée par *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, est une maladie dévastatrice qui affecte les cultures de tomates dans le monde entier (Walker, 1971). Ce champignon terricole, qui est véhiculé dans la plante par les racines, infeste les tissus mous de la plante, provoquant errance, flétrissure et mort (Blancard, 1997). Cependant, comme il existe maintenant de nombreuses variétés résistantes de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, ce pathogène n'est plus une menace majeure pour la culture de la tomate.

Il existe trois races de *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*. Sont distinguent par leur degré de virulence par rapport aux cultivars de tomate contenant un seul gène de résistance (McGrath et al., 1987 ; Stall, 1962).

- **Race 1** : la plus cosmopolite a été initialement décrite en 1886 (Booth, 1971).
- **Race 2** : a été d'abord découverte en 1945 à Ohio (Alexander et Tucker, 1945).
- **Race 3** : a été observée en Australie en 1978 (Grattidgeet, 1982) et a été successivement rapportée aux Etats Unis : en Californie (Davis et al., 1988), Floride (Volin et Jones,1982), Géorgie (Chellimi et al., 1992) ,Arkansas et Nord Carolina (Marlatt et al., 1996) et au Tennessee ( Bost, 2001). Elle a également été retrouvée au Mexique (Valenzuela-Ureta et al., 1996). Actuellement, peu de cultivars résistants à la race 3 sont commercialisés (Jones et al., 1991).

### 2.1.4. Les symptômes causés par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

#### a. Les symptômes externes

Ce champignon tellurique pénètre dans la plante par les racines, envahit les tissus lignagers de la plante et provoque le jaunissement, la flétrissure et la mort (Blancard, 1997). La maladie progresse rapidement, et les parties des limbes atteints flétrissent comme s'ils étaient déshydratés, c'est le flétrissement rapide (Si Mohammed, 2017). Les feuilles asséchées gardent leur chlorophylle et apparaissent avec un aspect gris verdâtre (Laterrot et al., 1978). Vient ensuite un jaunissement du bas vers le haut des feuilles suivi d'une nécrose d'une partie ou du limbe entier, avec des éclaircissements au niveau des nerfs (Messiaen, 1981 ; Gindrat, 1975). Une dépression longitudinale de couleur brune apparaît à la base du limbe de la plante en commençant par le collet puis remonte unilatéralement (Bouhot, 1972).

## b. Les symptômes internes

Les tissus conducteurs apparaissent d'une couleur brune après une coupe longitudinale au niveau du rameau d'une plante atteinte, alors qu'après une coupe transversale, des foncés bruns contenant souvent des mycéliens apparaissent (Si Mohammed, 2017).



**Figure 5:** Les symptômes de la flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*) **a)** Jaunissement et flétrissement unilatéral des folioles et des feuilles de la tomate **b)** Brunissement longitudinal de la tige **c)** Une coupe longitudinale de la tige montrant le brunissement des vaisseaux (Blancard, 2013).

### 2.1.5. Cycle général de la maladie de flétrissement vasculaire causée par *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

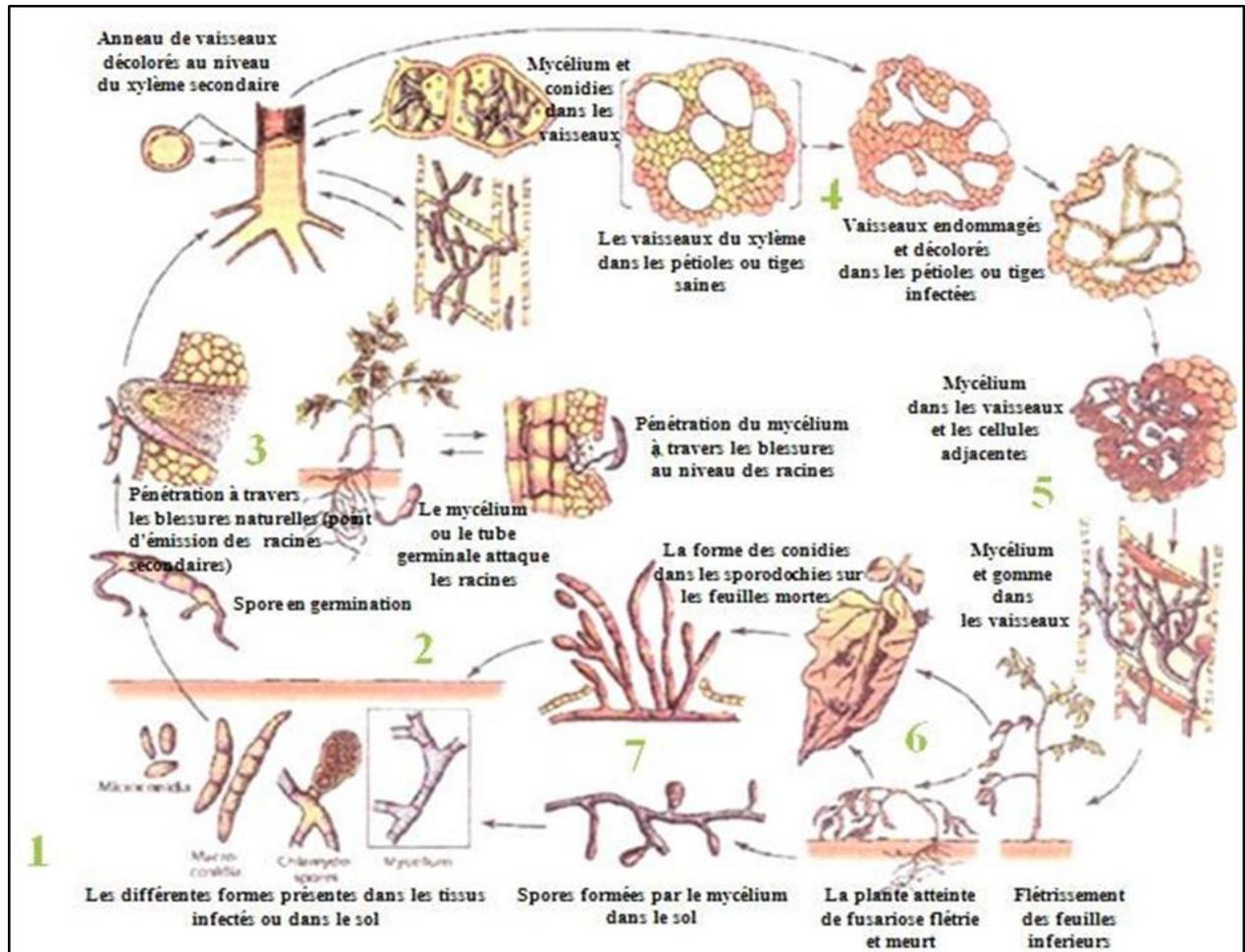
*Fusarium. oxysporum* a une origine tellurique, ce qui explique leur forte prévalence au niveau du sol, où ils représentent environ 40 à 70 % de la population tellurique fusarienne totale (Smith, 1965). Ces derniers vivent comme des saprophytes en l'absence de la plante hôte (Blancard, 1997). Ils s'agissent en fait des parasites des climats tempérés, avec des températures optimales de croissance allant de 25 à 30 °C (Blancard, 1997).

Ces champignons se trouvent le plus souvent dans le sol, sous forme de spores résistantes (Chlamydospores) (Alabouvette et al., 1993) qui en contact de l'hôte, s'adhèrent au niveau des racines de la plante et germent à l'extérieur, une partie du mycélium pénètre à l'intérieur des racines et se ramifie au niveau des cellules épidermiques .

Grâce à ses enzymes hydrolytiques, ce pathogène est capable de franchir les barrières dures de la plante hôte, représentées par les indispensables parois de pectine et de cellulose (Horsfall et Dimond, 1960).

Lorsque le parasite atteint le cylindre central, il s'installe dans les vaisseaux du xylème (tissu conducteur), ce qui fait que la plante prend une teinte brun foncé. De là, il se propage dans toute la tige via des microconidies portées par la sève montante (Gäumann, 1957).

A l'extérieur. Ils se forment des organes fructifères (sporodochies) à la surface des feuilles donnant naissance à des macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes, transportées par le vent, l'érosion ou bien par les insectes.



**Figure 6:** Cycle général de la maladie de flétrissement vasculaire causée par *F.oxysporum* f.sp *lycopersici* chez la tomate (Agris, 2005).

1. Conidies, chlamydoconidies ou mycélium vivant dans le sol ;
2. Germination des spores ;
3. Pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines ;
4. Invasion des vaisseaux par les conidies et/ou mycélium ;
5. Production de gomme à l'intérieur des vaisseaux ;
6. Flétrissement et mort de la plante ;
7. Sporodochies ou mycélium produisant des conidies.

### 3. Méthodologie

Ce présent travail a été entrepris entre le laboratoire de la station régionale de la protection des végétaux (SRPV) de Biskra et le laboratoire de département des sciences agronomiques à l'université Mohamed Khider de Biskra afin d'évaluer l'activités antifongiques des extraits de quatre espèces végétales ; la nigelle « *Nigella sativa* L. », Pergularia « *Pergularia tomentosa* », Henné « *Lawsonia ennermis* L. » et Coloquinte « *Citrullus colocynthis* » ; vis-à-vis quatre souches fongiques de *Fusarium oxysporum* .f.sp. *lycopersici* (champignon phytopathogène de la tomate) prélevées au niveau de zones potentielles de production de tomate de la Wilaya. L'activité antifongique des extraits a été réalisée par la méthode de diffusion sur l'agar (méthode de disque).

#### 3.1. Préparation des plantes

Le matériel végétal sujet d'extraction utilisé a été récolté à travers la commune de Loutaya.

##### a. Séchage

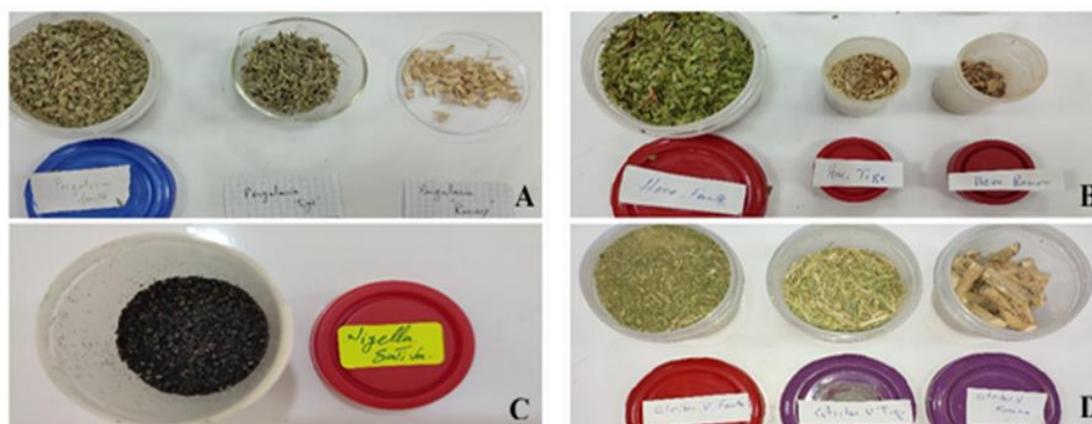
Les plantes sont nettoyées des impuretés, et laisser sécher à l'abri de la lumière pendant dix jours (**Figure7**).



**Figure 7:** Séchage des plantes (Original).

##### b. Broyage

Une fois séchées, les quatre plantes subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène. Les broyats sont stockés dans des boîtes et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité. Chaque boîte porte le nom de l'espèce, la partie utilisée (feuille, tige et racine) (**Figure 8**).



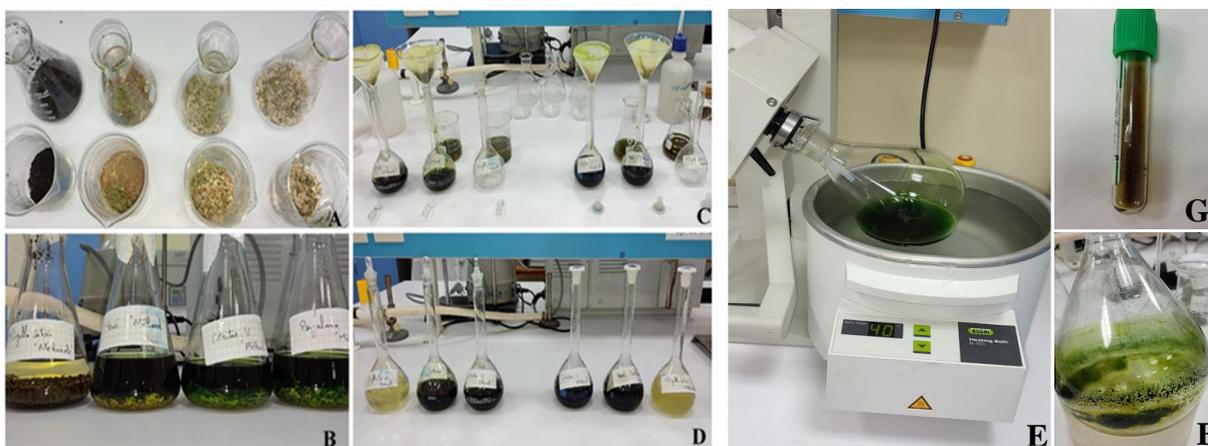
**Figure 8:** Broyage des plantes, **A** : Pergularia ; **B** : Henné ; **C** : La nigelle ; **D** : Coloquinte (original).

### 3.2. Préparation des extraits

L'extraction est le processus de séparation des composants actifs des composants inactifs ou inertes dans les tissus végétaux ou animaux à l'aide de solvants sélectifs, tels que l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits qui en résultent sont des liquides, des semi-solides ou des poudres quelque peu impurs, destinés uniquement à un usage interne ou externe. Il s'agit de préparations bien connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handa, 2008).

#### 3.2.1. Extraction méthanolique et éthanolique

Les extraits méthanoliques et éthanoliques sont préparés selon la méthode décrite par Motamed et Naghibi (2010). 10 g de la poudre végétale de chaque plante est macérée dans 150 ml de solvant 95% pendant 48 h. après macération, le solvant est filtré à travers un papier filtre Wattman (N° 1). Les filtrats sont ensuite évaporés sous vide par un évaporateur rotatif à 40°C. Les extraits bruts obtenus sont conservés en verre hermétiquement fermé au froid jusqu'à leur utilisation. (Figure9).



**Figure 9:** Extraction méthanolique et éthanolique (original).

### 3.2.2. Extraction aqueuse

Les extraits aqueux sont préparés selon la méthode décrite par Lee *et al.*, 2007 sans utilisation d'eau bouillante. 10g de la poudre végétal a été macéré dans 150 ml d'eau distillé avec agitation pendant 72h à température ambiante. Ensuite les extraits ont été filtrés par un papier Wattman (N°1). Les filtrats ont subi une centrifugation à 300 tr/min pendant deux fois 10 min pour la séparation des impuretés. Les extraits obtenus sont conservées en verre hermétiquement fermé au froid jusqu'à l'utilisation (**Figure10**).



**Figure 10:** Extraction aqueuse (Original).

### 3.3. Etude de l'activité antifongique

Les souches fongiques utilisées dans cette étude ont été obtenus par isolement, purification et conservation à partir des plants de tomate présentant des symptômes de flétrissement unilatéral des feuilles et/ou pourriture du collet.

L'activité antifongique est étudiée *in vitro*. Le repiquage des isolats de *Fusarium* .sp. est réalisé en présence de différents extraits des plantes sur le milieu PDA, avec trois répétitions pour chaque traitement et chaque extrait végétal. La dose de 5µl/disque a été choisie pour une évaluation primaire de l'efficacité des différents extraits.

L'inhibition de la croissance mycélienne par rapport au contrôle non traité, exprimée en efficacité de l'extrait, a été calculée après 8 jours d'incubation à 25°C, dans l'obscurité.

### 3.3.1. Préparation du milieu de culture Potato Dextrose Agar

Le milieu de culture PDA est favorable pour la croissance des champignons phytopathogène (Fabrice, 2010).

La méthode de préparation du milieu PDA à partir de pommes de terre est décrite par (M127 2001) dans laquelle l'infusion de pommes de terre est préparée en faisant bouillir 200 g de pommes de terre lavées, coupées en tranches, dans de l'eau distillée pendant 30 min, puis en filtrant le bouillon. Ce dernier est ensuite dilué avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final d'un litre. On ajoute ensuite 20 g de dextrose et la même quantité de poudre d'agar-agar avant de le stériliser par autoclavage à 120°C à 1,06 bar pendant 20 min (Figure 11).

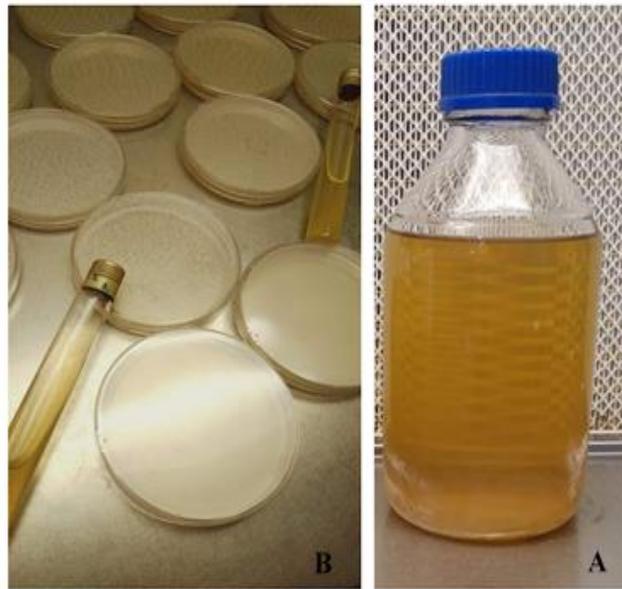


Figure 11: A : Milieu PDA préparé ; B : Boîtes de Petri et tubes à vice préparées avec milieu PDA.

### 3.3.2. Préparation des souches champignon pathogène

- *Echantillonnage*

Les échantillons ont été prélevés à partir de quatre différentes exploitations agricoles de tomate, qui présentent des symptômes typique de la fusariose de tomate « flétrissement et pourriture du collet » (Tableau 2) (Figure 12).



**Figure 12:** Echantillon de tomate infecté par fusariose (original).

**Tableau 2:** Echantillonnage des souches de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*.

	Lieu	Commune	Date d'échantillonnage	Position géographique
<b>Champignon de tomate</b> « <i>Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici</i> »	NABKA	Ain naga	14.10.2021	34.41.42 N 06.02.48 E
	HORAYA	Sidi okba	11.10.2021	34.42.43 N 05.58.38 E
	TFAILA	Lichana	23.12.2021	34.44.11 N 05.25.31 E
	LIHRICHAT	Tolga	11.10.2021	34 54 05 N 05.24.34 E

- **Isolement de l'agent phytopathogène**

Les isolats de *Fusarium .sp.* ont été obtenus sur base d'isolements réalisés à partir de plantes de tomate présentant des symptômes de flétrissement fusarienne. Différentes parties de la plante (collets et tiges) ont été prélevées pour l'isolement du pathogène. Les échantillons ont été coupés en fragments d'environ 0,5 cm, puis désinfectés superficiellement par trempage dans l'eau de javel 2 % pour une durée de 5 min. Les fragments ont été ensuite lavés avec de l'eau distillée stérile 3 fois et pendant 3min, puis séchés entre 3 papiers filtres stériles (**Figure13**). Une fois séchés, les fragments ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) Les boîtes ont été incubées à l'obscurité dans une étuve à une température de 25 °C pendant 7 jours (**Hibar, Daami-Remadi et al., 2007**).

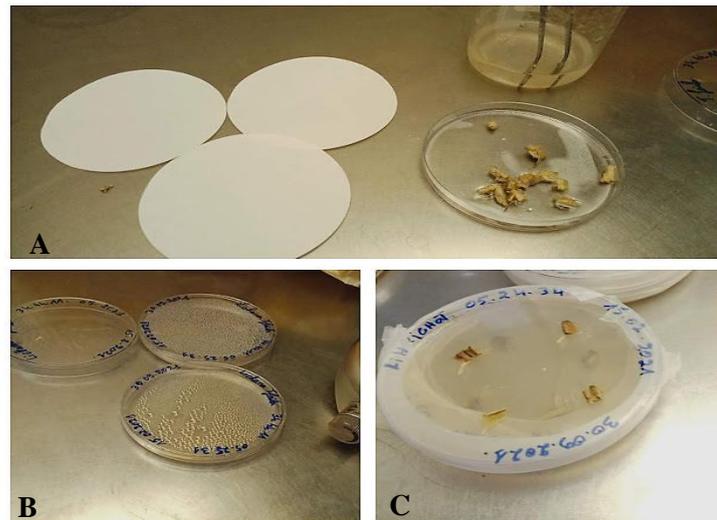


Figure 13: Les étapes d'isolement (original).

- *Purification des isolats*

Les isolats dont la morphologie correspond à l'espèce *F. oxysporum* selon les critères établis par (Leslie et Summerell, 2006) sont ensuite purifiés par des repiquages successifs jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

La purification de l'agent pathogène a été réalisée en repiquant successivement des fragments du front de croissance des jeunes cultures en développement et de les ensemercer aseptiquement au centres de boîtes de pétri contenant du PDA. Afin de s'assurer de l'état de pureté des colonies (Figure14).

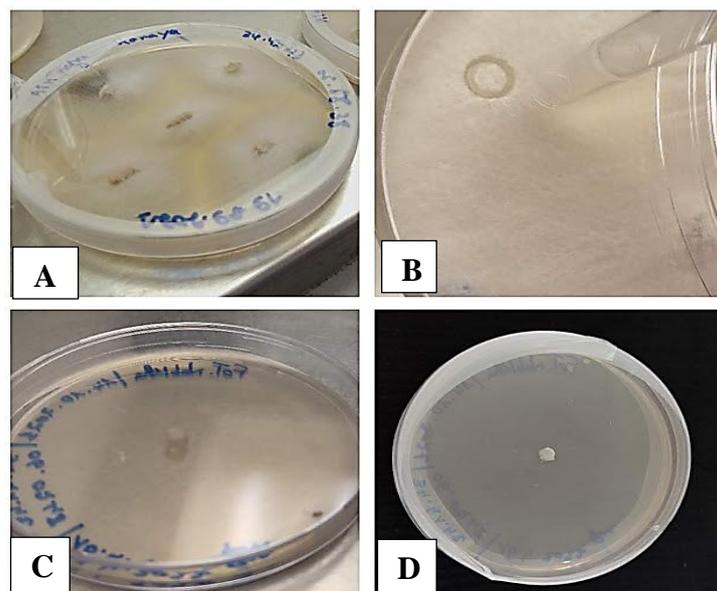


Figure 14: Purification de l'agent pathogène (original).

- **Identification des isolats**

L'identification de l'agent pathogène a été réalisée par la caractérisation macroscopique et microscopique des isolats :

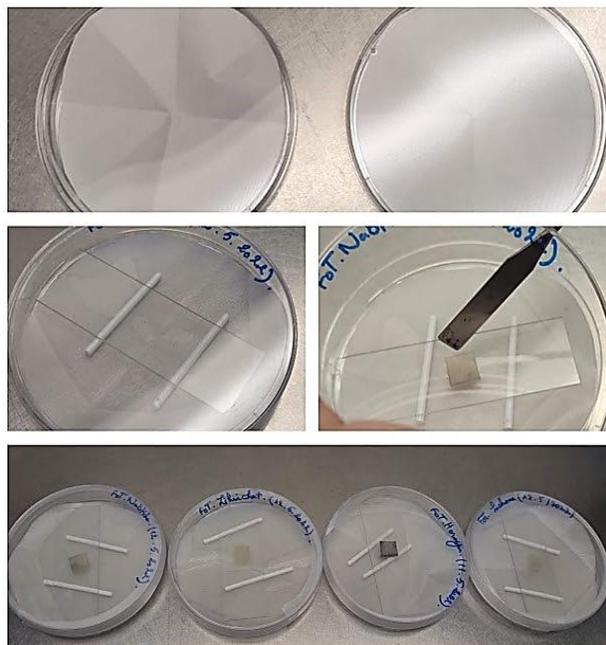
- **Caractérisation macroscopique**

La caractérisation morphologique est réalisée à l'œil nu par observation des colonies de l'isolat de *Fusarium*.sp. ont souvent des tons roses, jaunes, rouges ou violets, souvent avec une teinte bleutée, et sont claires et abondantes. Les champignons *Fusarium* ont un mycélium à sept couleurs à leur surface (**Booth, 1971**).

- **Caractérisation microscopique**

L'identification microscopique est basée sur des critères cultureux et morphologiques observés au microscope : forme et taille des macros conidies, présence ou absence de micro conidies et de chlamydospores, ainsi que leur forme, et structure des conidiospores (**Smahi, 2008**).

L'observation a été réalisée selon la technique de culture sur lame gélosée, qui consiste à mettre au fond de boîte de pétri un papier filtre Wattman N°1 imbibé d'eau stérile pour éviter la dessiccation. Ensuite ensemencer au centre de la lame un fragment de gélose contient le mycélium jeune en plein développement ensuite une incubation à l'étuve à 25°C pendant 3 jours (**Figure 15**).



**Figure 15:** Technique de culture sur lame gélosée (original).

- **Conservation des isolats**

Les souches purifiées peuvent être conservées à 4°C dans des tubes à vis contenant du milieu PDA incliné, et ceci pour une utilisation ultérieure (**Rappily, 1998**) (**Figure16**).



**Figure 16:** Conservations des isolats (Original).

### 3.3.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits bruts

Les méthodes d'évaluation de l'activité antibiotique in vitro les plus couramment utilisées sont en particulier la diffusion en gélose, le test de dilution bouillon/agar, la méthode de micro- dilution en bouillon et la technique de l'aliment empoisonné (**Jing, et al., 2014**).

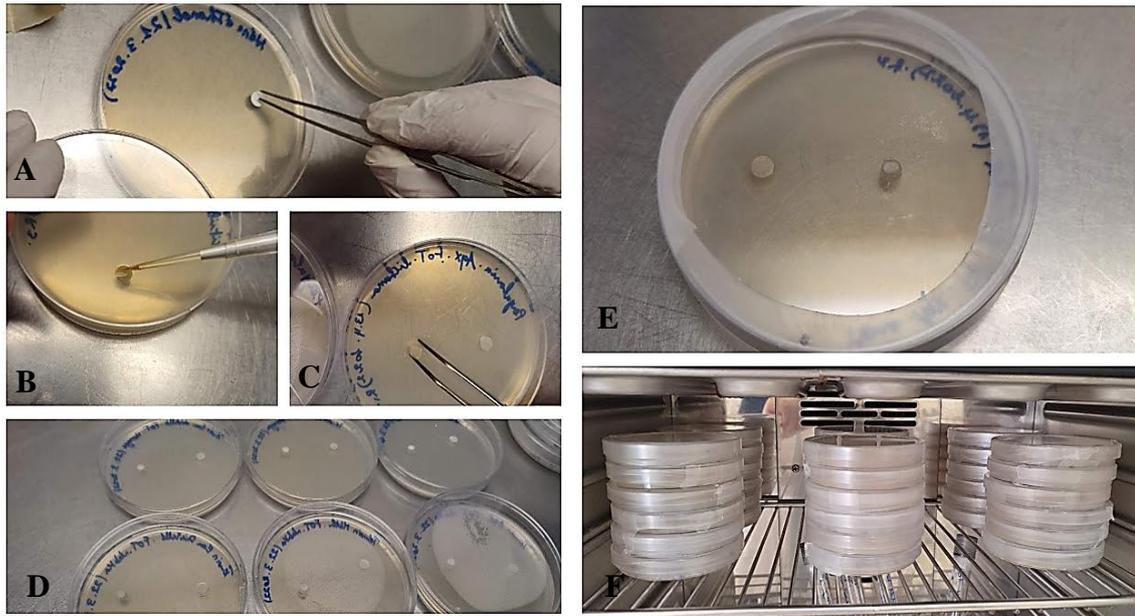
Dans notre étude on a utilisé la méthode des disques de diffusion qui est la technique permettant la plus couramment utilisée en raison de sa simplicité, son efficacité et des quantités d'extraits nécessaire pour son exécution. Cette méthode nous permet d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un extrait à inhiber la croissance fongique (**Abdallah et al., 2019**).

#### 3.3.3.1. Méthode de diffusion en gélose

La méthode de diffusion sur disque est décrite par **Adam et al., 1998**, consiste à mettre des disques de papier filtre (Wattman N° 1 de diamètre) contenant une quantité déterminé de l'extrait à étudier sur la surface d'une boîte de pétri contenant 15ml de milieu PDA. La boîte de Petri est mise en incubation pendant 30 minutes à une température de 37°C pour permettre la diffusion de l'extrait sur le milieu de culture. Après la période d'incubation, une pastille gélosée de pathogène pure (*Fusarium .sp.*) est introduite dans la boîte de pétri de façon qu'elle soit opposée au disque d'extrait (**Figure 17**). Le témoin est créé en déplaçant le pathogène

(*Fusarium* .sp.) au fond de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA sans extraits. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant 8 jours à 25 °C ± 1.

- Dans cette étude, 3 répétitions ont été effectuées pour chaque souche de *Fusarium* .sp.extrait de plante et témoin.
- Le choix de la dose de 5ul/disque a été basé sur la littérature dont laquelle on mentionne l'utilisation des doses entre 0,25 µl à 60 µl selon la méthode choisie.



**Figure 17:** Les étapes de méthode diffusion par disque en gélose (Originale).

### 3.3.3.2. Estimation du taux d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne par chaque extrait a été calculé en utilisant la formule suivante (Sobia et al., 2011) :

$$I = (C - T)/C \times 100.$$

I = pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

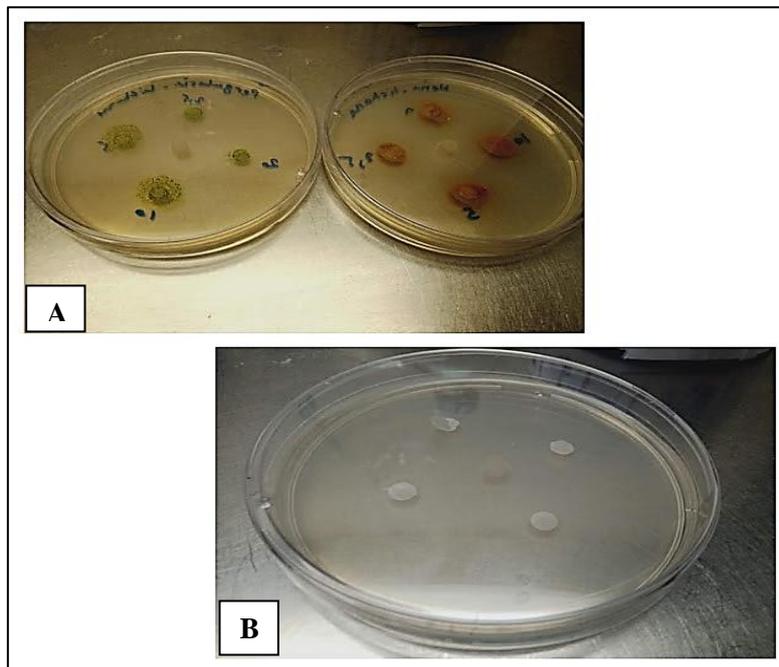
C = croissance mycélienne du champignon dans la plaque témoin.

T = croissance mycélienne du champignon dans le traitement.

### 3.3.3.3. Effet de différents concentration des extraits Henné et Pergularia sur les isolats de *Fusarium sp.* de LICHANA

Sur un milieu gélose PDA, on mettra 4 disques de papier filtre Wattman (N°1) contenant différents concentrations d'extraits (1 ; 2,5 ; 5 ; 10  $\mu$ l), puis on repique une pastille gélosée de pathogène pure (*Fusarium .sp.*) au centre de la boîte pétri. Et pour le témoin on repique au centre de boîte pétri une pastille gélosée de *Fusarium sp* et autour de ce pathogène on mettra 4 disques de papier Wattman (N°1) sans extrait, pour observer la zone d'inhibition. (**Figure 18**).

- 3 répétitions ont été effectuées pour chaque extrait et témoin. Les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve pendant 3 jours à 25 °C  $\pm$  1.



**Figure 18:** A : Les boîtes de pétri avec extrait de Henné et Pergularia, B : Le témoin.

### 3.3.3.4. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel statistique SPSS (version 10). L'effet des extraits sur *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a été analysé en utilisant une ANOVA à un facteur. Les tests de Tukey ont été utilisés pour comparer l'importance des différences entre les traitements à des valeurs P < 0,05.

## Chapitre II Résultats

### 1. Identification des isolats

#### 1.1. Caractères morphologiques macroscopiques

Les isolats de quatre sites ont montré l'aspect suivant : des colonies duveteuses de couleur blanche et un revers blanc avec une teinte violette avec un mycélium aérien blanc (Figure 19).

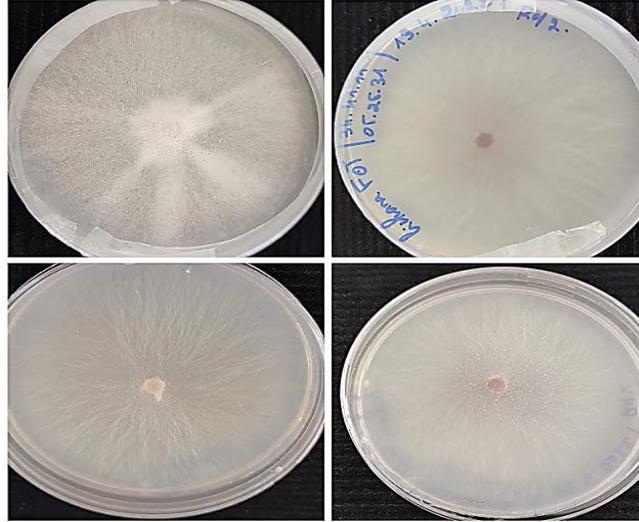


Figure 19: Observation à l'œil nu les souches.

#### 1.2. Caractères morphologiques microscopiques

Selon l'observation au microscope optique, on remarque la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées, des microconidies d'aspect ovoïde et chlamydospore cylindrique et lisse (Figure 20.A) d'autre part on observe la présence des conidioformes (Figure 20.B).

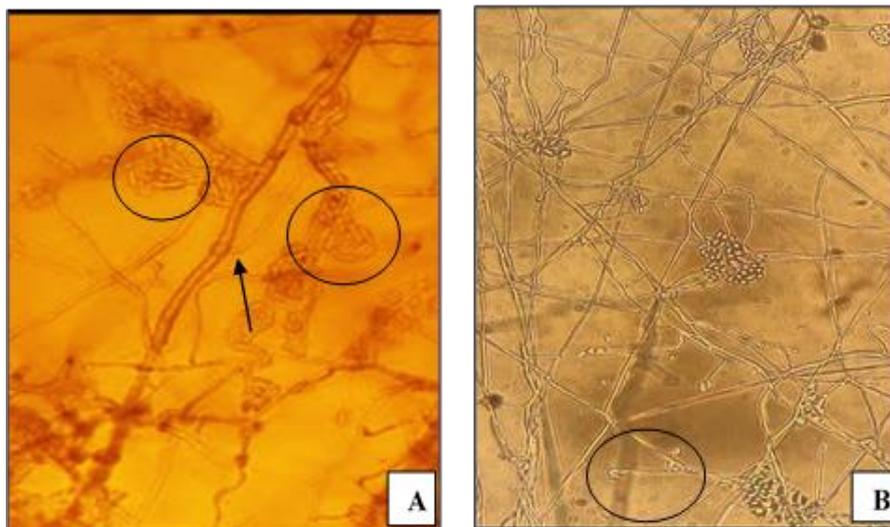


Figure 20: Observation microscopique, A : Grossissement (Gr : 10 x 40) ; B : (Gr : 10 x 10).

## 2. Evaluation de l'activité antifongique des extraits bruts

### 2.1. Test de diffusion en gélose « méthode de disque »

Après 8 jours d'incubation, l'évaluation de l'efficacité des extraits testés repose sur le calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour les quatre souches, les résultats sont représentés dans les tableaux suivants :

#### 2.1.1. Effet des extraits des plantes sur la souche *Fusarium .sp* d'El-Horaya

Le tableau ci-dessous représente le taux d'inhibition de croissance de mycélium pour les isolats de *Fusarium sp.* d'El-Horaya vis-à-vis les extraits des plantes testés.

**Tableau 3:** Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait (S1-El-Horaya).

	S1-El-Horaya		
	Méthanol	Ethanol	Aqueux
<i>Lawsonia ennermis</i>	7,48%	23,13%	6,80%
<i>Pergularia tomentosa</i>	8,84%	15,64%	8,16%
<i>Nigella sativa</i>	8,84%	8,16%	2,04%
<i>Citullus colocynthis</i>	11,56%	10,88%	1,36%

D'après les résultats du tableau (3), on peut observer que l'activité antifongique des extraits éthanoliques semble être la plus importantes entre les trois extraits utilisés (entre 8.16 et 23.13%) alors que valeurs obtenus pour les extraits aqueux sont les plus faible (entre 1.36 et 8.16 %). Seuls les deux extraits éthanoliques de *L. inermis* et *P. tomentosa* respectivement de 23.13 et 15.64 % ont montré un effet relativement important sur le développement du champignon. Le reste des extraits ont une activité antifongique estimé entre moyenne et faible (entre 1.36 et 11.56 %).

Un test statistique (ANOVA à un facteur) a été réalisé pour confirmer nos observations sur l'effet de chaque produit par rapport à un témoin non traité et les niveaux d'efficacité de ces extraits.

- **Analyse statistique**

Le tableau suivant représente l'analyse statistique ANOVA à un facteur avec un intervalle de confiance de 5% sur l'effet des extraits vis-à-vis de la souche d'El-Horaya.

Tableau 4: ANOVA à un facteur (S1- El-Horaya).

ANOVA					
Inhibition					
	Somme des carrés	ddl	Moyennes des carrés	F	P
Inter-Groupes	379,333	8	47,417	9,145	0,000
Intra-Groupes	93,333	18	5,185		
Total	472,667	26			

D'après les résultats obtenus dans le Tableau (4), on remarque que l'analyse de la variance a révélé une interaction très hautement significative entre les extraits éthanolique et méthanoliques testés sur l'isolat de *Fusarium* .sp. d'El-Horaya avec une valeur de  $P < 0,05$ .

Le tableau (5) suivant indique le test de multiple comparaison entre les moyennes de Tukey avec un intervalle de confiance de 95% et les niveaux d'efficacité obtenues pendant notre expérimentation.

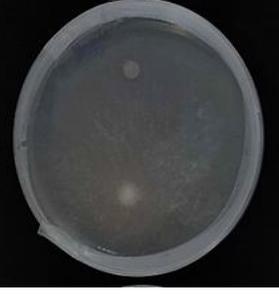
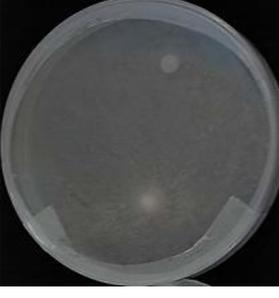
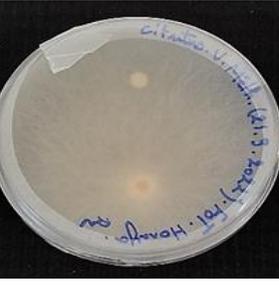
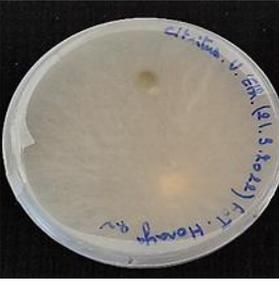
Tableau 5: Test du Tukey (S1- El-Horaya).

Inhibition						
	Traitement	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Tukey B <sup>a</sup>	hén_éth	3	37,6667 <sup>a</sup>			
	per_éth	3	41,3333 <sup>ab</sup>	41,3333 <sup>ab</sup>		
	cit_méth	3		43,3333 <sup>cd</sup>	43,3333 <sup>cd</sup>	
	cit_éth	3		43,6667 <sup>cd</sup>	43,6667 <sup>cd</sup>	
	nig_méth	3		44,6667 <sup>cd</sup>	44,6667 <sup>cd</sup>	
	per_méth	3		44,6667 <sup>cd</sup>	44,6667 <sup>cd</sup>	
	hén_méth	3		45,3333 <sup>cd</sup>	45,3333 <sup>cd</sup>	
	témoin	3			49,0000 <sup>de</sup>	49,0000 <sup>de</sup>
	nig_éth	3				51,3333 <sup>f</sup>

Les résultats du tableau ci-dessus regroupent les niveaux d'efficacité en quatre groupes homogènes. Ces résultats confirment nos observations initiales sur l'efficacité remarquable des extraits éthanoliques par rapport aux autres extraits et l'effet antifongique important des deux extraits éthanoliques de *L.inermis* et *P.tomentosa*.

Pour les extraits aqueux, l'analyse statistique ANOVA à un facteur n'a révélé aucune différence significative entre les extraits et le témoin non traité (voir annexe 2).

Tableau 6: Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S1- El-Horaya.

S1	Ext Méthanol	Ext Ethanol	Ext Aqueuse	Témoin
Lawsonia inermis				
Pergularia tomentosa				
Nigella sativa				
Citrillus colocynthis				

### 2.1.2. Effet des extraits des plantes sur la souche *Fusarium sp* de Lichana

Le tableau ci-dessous représente le taux d'inhibition de croissance de mycélium (en mm) pour les isolats de *Fusarium .sp.* de Lichana vis-à-vis les extraits des plantes testés.

**Tableau 7:** Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait (S2-Lichana).

S2- Lichana			
	Méthanol	Ethanol	Aqueux
<i>Lawsonia ennermis</i>	28,76%	42,46%	0%
<i>Pergularia tomentosa</i>	10,95%	16,43%	6,84%
<i>Nigella sativa</i>	7,53%	6,84%	6,16%
<i>Citullus colocynthis</i>	4,10%	17,80%	3,42%

D'après les résultats ci-dessus, on remarque que l'activité inhibitrice des produits éthanologiques est plus importante par rapport aux autres extraits, et que l'activité des extraits aqueux est largement inférieure en comparaison avec les deux autres extraits. On peut observer une activité antifongique très importante de l'extraits éthanologiques de *L. inermis* avec un pourcentage d'inhibition de 42.46% une inhibition assez importante pour les trois extraits de *L.inermis* méthanologiques de 28.76 % et *C. colocynthis* éthanologiques de 17.80% et *P. tomentosa* méthanologiques de 16.43%. Le reste des extraits ont une activité inhibitrice de faible à moyenne variant de 0 à 10.95%. (**Tableau 7**).

- *Analyse statistique*

Le tableau suivant représente l'analyse statistique ANOVA à un facteur avec un intervalle de confiance de 5% sur l'effet des extraits vis-à-vis du développement mycélien après huit jours d'incubation de la souche de Lichana.

**Tableau 8:** ANOVA à un facteur (S2- Lichana).

ANOVA					
Inhibition					
	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	P
Inter- Groupes	1020,296	8	127,537	15,724	0,000
Intra-Groupes	146,000	18	8,111		
Total	1166,296	26			

D'après les résultats obtenus dans le Tableau (8), on remarque que l'analyse de la variance a révélé une interaction très hautement significative entre les extraits éthanoliques et méthanoliques testés sur l'isolat de *Fusarium* .sp. de Lichana avec une valeur de  $P < 0,05$ .

Le tableau (9) suivant indique le test de Tukey de multiple comparaison entre les moyennes de développement du champignon (en mm) après huit jours d'incubation avec un intervalle de confiance de 95% et les niveaux d'efficacités obtenues pendant l'essai.

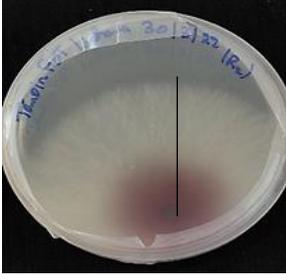
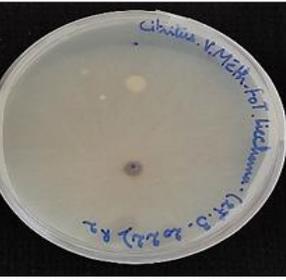
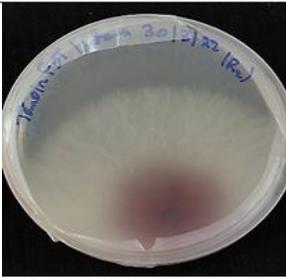
**Tableau 9:** Test de Tukey (S2- Lichana).

Inhibition						
	Traitement	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
			1	2	3	4
<b>Tukey B<sup>a</sup></b>	Hén_eth	3	28,0000 <sup>a</sup>			
	Hén_meth	3		34,6667 <sup>b</sup>		
	Cit_eth	3		40,0000 <sup>bc</sup>	40,0000 <sup>bc</sup>	
	Per_eth	3		40,6667 <sup>bc</sup>	40,6667 <sup>bc</sup>	
	Per_meth	3			43,3333 <sup>cd</sup>	43,3333 <sup>cd</sup>
	Nig_meth	3			45,0000 <sup>cd</sup>	45,0000 <sup>cd</sup>
	Nig_eth	3			45,3333 <sup>cd</sup>	45,3333 <sup>cd</sup>
	Cit_meth	3			46,6667 <sup>cd</sup>	46,6667 <sup>cd</sup>
	Témoin	3				48,6667 <sup>e</sup>

Les résultats du tableau ci-dessus regroupent les niveaux d'efficacités en quatre groupes homogènes. Le premier groupe représenté par l'extrait éthanoliques du henné avec un développement mycélien qui a été le plus inhibé à 28 mm après huit jours, le deuxième groupe représenté par l'extrait méthanoliques de la même espèce avec un développement mycélien inhibé à 34.66 mm et le troisième et quatrième groupe représenté par l'ensemble des autres extraits avec un développement mycélien de 40 à 48 mm après huit jours.

Pour les extraits aqueux, l'analyse statistique ANOVA à un facteur n'a révélé aucune différence significative entre les extraits et le témoin non traité (**voir annexe 2**).

Tableau 10: Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S2-Lichana.

S2	Ext Méthanol	Ext Ethanol	Ext Aqueuse	Témoin
<i>Lawsonia inermis</i>				
<i>Pergularia tomentosa</i>				
<i>Nigella sativa</i>				
<i>Citrillus colocynthis</i>				

### 2.1.3. Effet des extraits des plantes sur la souche *Fusarium sp* de Lihrichate

Le tableau ci-dessous représente le taux d'inhibition de croissance de mycélium pour les isolats de *Fusarium .sp.* de Lihrichate vis-à-vis les extraits des plantes testés.

**Tableau 11:** Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait (S3-Lihrichate).

<b>S3-Lehrichate</b>			
	<b>Méthanol</b>	<b>Ethanol</b>	<b>Aqueux</b>
<i>Lawsonia ennermis</i>	21,15%	27,56%	10,89%
<i>Pergularia tomentosa</i>	17,30%	14,74%	8,33%
<i>Nigella sativa</i>	10,89%	7,05%	12,17%
<i>Citullus colocynthis</i>	8,97%	16,02%	6,41%

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que l'activité inhibitrice est variable pour les trois extraits (méthanol et éthanol et aqueux). L'activité inhibitrice est supérieure pour l'extrait éthanoliques et méthanolique de *L.inermis* à respectivement 27,56% ; 21,15%, une activité antifongique plus ou moins importante des extraits de de *P.tomentosa* méthanoliques à 17,30%, et *C.colocynthis* éthanoliques à 16,02% et *P. tomentosa* éthanoliques à 14,74%. Le reste des extraits montrent une activité antifongique de moyenne à faible variant de 7 à 11% (**Tableau11**).

On peut remarquer que la dominance d'efficacité des extraits éthanoliques est moins importante sur la souche de Lihrichate.

- **Analyse statistique**

Le tableau suivant représente l'analyse statistique ANOVA à un facteur avec un intervalle de confiance de 5% sur l'effet des extraits vis-à-vis du développement mycélien après huit jours d'incubation de la souche de Lihrichate.

**Tableau 12:** ANOVA à un facteur (S3- Lihrichate).

<b>ANOVA</b>					
<b>Inhibition</b>					
	<b>Somme des carrés</b>	<b>ddl</b>	<b>Moyenne des carrés</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Inter- Groupes</b>	429,407	8	53,676	4,736	0,003
<b>Intra-Groupes</b>	204,000	18	11,333		
<b>Total</b>	633,407	26			

D'après les résultats obtenus dans le Tableau (12), on remarque que l'analyse de la variance a révélé une interaction très hautement significative entre les extraits éthanolique et méthanoliques testés sur l'isolat de *Fusarium sp.* de Lihrichate avec une valeur de  $P < 0,01$ .

Le tableau (13) suivant indique le test de Tukey de multiple comparaison entre les moyennes de développement du champignon (en mm) après huit jours d'incubation avec un intervalle de confiance de 95% et les niveaux d'efficacité obtenues pendant l'essai .

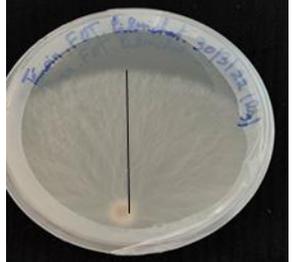
**Tableau 13:** Test du Tukey (S3- Lihrichate).

Inhibition					
	Traitement	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
			1	2	3
<b>Tukey B<sup>a</sup></b>	Hén_eth	3	37,6667 <sup>a</sup>		
	Hén_meth	3	41,0000 <sup>ab</sup>	41,0000 <sup>ab</sup>	
	Per_meth	3	43,0000 <sup>abc</sup>	43,0000 <sup>abc</sup>	43,0000 <sup>abc</sup>
	Cit_eth	3	43,6667 <sup>abc</sup>	43,6667 <sup>abc</sup>	43,6667 <sup>abc</sup>
	Per_eth	3	44,3333 <sup>abc</sup>	44,3333 <sup>abc</sup>	44,3333 <sup>abc</sup>
	Nig_meth	3	46,3333 <sup>abc</sup>	46,3333 <sup>abc</sup>	46,3333 <sup>abc</sup>
	Cit_meth	3		47,3333 <sup>cd</sup>	47,3333 <sup>cd</sup>
	Nig_eth	3		48,3333 <sup>cd</sup>	48,3333 <sup>cd</sup>
	Témoin	3			52,0000 <sup>e</sup>

Selon le tableau ci-dessus, et malgré la différenciation de trois niveau d'efficacité des extraits testé sur la souche de Lihrichate, seuls deux extraits exercent une activité antifongique notable, les extraits éthanoliques et méthanoliques de *L.inermis* avec une inhibition du développement mycélien de 37.6 et 41 mm respectivement. Le reste des extraits ont une activité faible à nulle. (**Tableau 13**). Par contre, la souche de Lihrichate présente une sensibilité statistiquement significative par rapport à l'extrait aqueux de *N. sativa* (**voir annexe 2**) mais cette sensibilité est beaucoup moins importante que celle exercé par les extraits éthanoliques et méthanoliques sur les autres souches de champignons.

Pour les extraits aqueux, l'analyse statistique ANOVA à un facteur n'a révélé aucune différence significative entre les extraits et le témoin non traité (**voir annexe 2**).

Tableau 14: Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S3-Lihrichtat.

S3	Ext Méthanol	Ext Ethanol	Ext Aqueuse	Témoin
<i>Lawsonia inermis</i>				
<i>Pergularia tomentosa</i>				
<i>Nigella sativa</i>				
<i>Citrillus colocynthis</i>				

#### 2.1.4. Effet des extraits des plantes sur la souche *Fusarium sp* de NABKRA

Le tableau ci-dessous représente le taux d'inhibition de croissance du mycélium pour les isolats de *Fusarium .sp.* de NABKA vis-à-vis les extraits des plantes testés.

**Tableau 15:** Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque extrait (S4-NABKA).

S4-NABKA			
	Méthanol	Ethanol	Aqueux
<i>Lawsonia ennermis</i>	11,72%	19,75%	20,98%
<i>Pergularia tomentosa</i>	9,25%	12,96%	20,37%
<i>Nigella sativa</i>	11,11%	4,32%	16,66%
<i>Citullus colocynthis</i>	11,72%	12,96%	11,72%

D'après les résultats (**Tableau 15**) on peut remarquer que la souche de Nabka est la seule souche qui présente une sensibilité importante aux extraits aqueux avec un taux d'inhibition qui varie entre 11 et 22 %. L'activité antifongique la plus notable est celle des trois extraits de *L.inermis* éthanoliques et aqueux, et de *P.tomentosa* aqueux respectivement 19,75% ; 20,98% et 20,37%. Le reste des extraits montrent un effet de moyen à faible variant entre 9 et 17 %.

- *Analyse statistique*

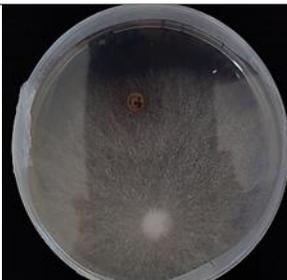
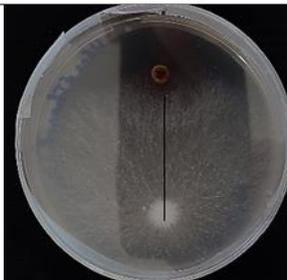
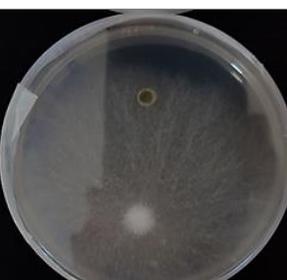
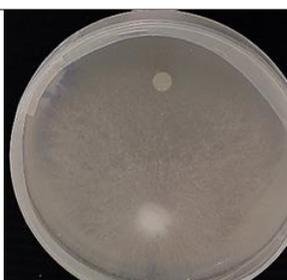
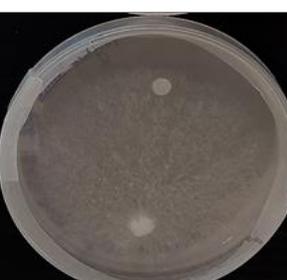
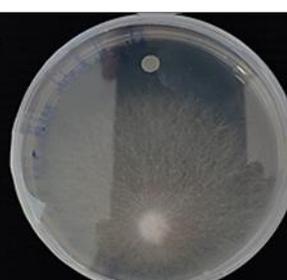
Le tableau suivant représente l'analyse statistique ANOVA à un facteur avec un intervalle de confiance de 5% sur l'effet des extraits vis-à-vis du développement mycélien après huit jours d'incubation de la souche de Nabka.

**Tableau 16:** ANOVA à un facteur (S4-Nabka).

ANOVA					
Inhibition					
	Somme des carrés	Ddl	Moyenne des carrés	F	P
<b>Inter-Groupes</b>	218,000	8	27,250	2,243	0,074
<b>Intra-Groupes</b>	218,667	18	12,148		
<b>Total</b>	436,667	26			

D'après les résultats obtenus dans le Tableau (16), on remarque que l'analyse de la variance n'a révélé effet antifongique significative des extraits testés sur la souche d Nebka avec une valeur de  $P > 0.05$ .

Tableau 17: Aspect macroscopique d'effet des extraits des plantes sur S4-Nabka.

S4	Ext Méthanol	Ext Ethanol	Ext Aqueuse	Témoin
<i>Lawsonia inermis</i>				
<i>Pergularia tomentosa</i>				
<i>Nigella sativa</i>				
<i>Citrillus colocynthis</i>				

- **RECAP**

Le tableau ci-dessous représente une récapitulation de l'effet des extraits sur les différentes souches fongiques sujet tu test.

**Tableau 18:** Récapitulation de l'effet des extraits sur les différentes souches fongiques sujet tu test.

	Extrait des plantes											
	<i>L.ennermis</i>			<i>P.tomentosa</i>			<i>N.sativa</i>			<i>C.colocynthis</i>		
	Ethanol	Méthanol	aqueux	Ethanol	Méthanol	aqueux	Ethanol	Méthanol	aqueux	Ethanol	Méthanol	aqueux
<b>S1- HORAYA</b>	***	*	-	**	*	-	-	*	-	*	*	-
<b>S2- LICHANA</b>	***	**	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
<b>S3- LIHRICHAT</b>	**	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>S4- NABKA</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Du tableau ci-dessus (18), on peut retirer les conclusions suivantes :

Les extraits alcooliques de *L. inermis* sont les produits les plus efficaces contre la majorité des souches utilisées dans cet essai avec une dominance des extraits éthanoliques. Mise à part l'effet de *P. tomentosa* sur la souche d'El-Horaya le reste des extraits exercent un effet moyen à faible contre la fusariose de la tomate.

Parmi les trois types d'extractions testées, les extraits éthanoliques sont les plus efficaces sur presque l'ensemble des souches fongiques alors que les extraits aqueux n'ont montré aucun effet inhibiteur sur les souches fongiques sauf l'effet faible des extraits sur la souche de Lihrichate.

La sensibilité des souches fongiques aux extraits testés n'est pas la même, la souche d'El-Horaya semble être la souche la plus sensible avec un effet positif de presque la totalité des extraits alcooliques tandis que la souche de Nabka semble être la souche la plus résistante aux différents traitements réalisés.

## 2.2. Effet des différentes concentrations des extraits éthanolique de Henné et Pergularia sur les isolats de *Fusarium .sp.* de LICHANA

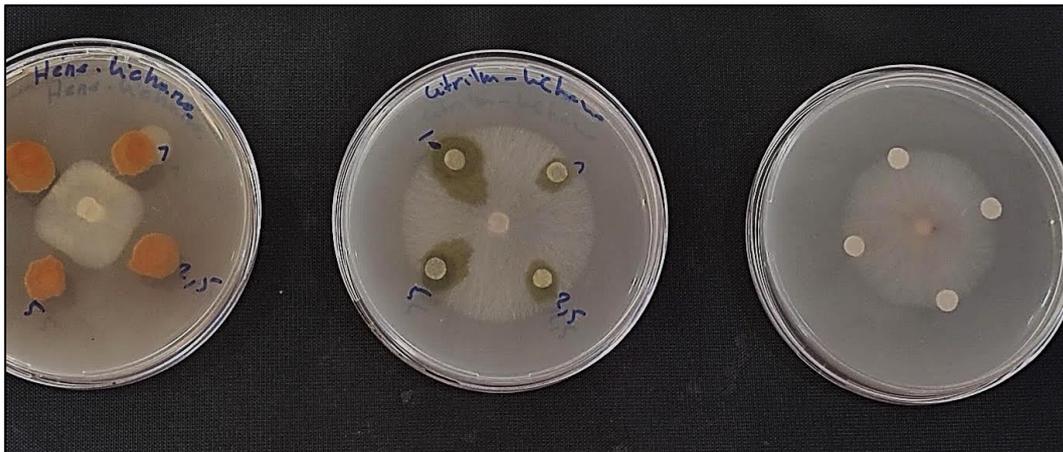
Après incubation de 3 jours, l'évaluation de l'efficacité des différentes concentrations des extraits testés repose sur le calcul de développement mycélien en mm de la souche de *Fusarium .sp.* de LICHANA, les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 19:** Le développement mycélien en mm de la souche de *Fusarium .sp.* de Lichana.

Concentration	Henné			Moyenne	Pergularia			Moyenne
	R1	R2	R3		R1	R2	R3	
1	1	1,5	1,4	1,3	2,2	2,2	2,3	2,23
2,5	1,2	1,5	1,3	1,33	2,3	2,4	2,2	2,30
5	1,2	1,4	1,3	1,30	2,2	2,3	2	2,16
10	1,1	1,2	1,3	1,2	2,1	2,4	2,1	2,1
Témoin	2	2,1	2,2	2,06	2	2,1	2,2	2,06

D'après le tableau ci-dessus (19), le résultat ont montré que seuls les extraits éthanoliques de Henné ont un effet inhibiteur sur la souche de Lichana, mais cet effet n'est pas liée à la concentration en fait, les différente concentrations ont statiquement le même effet.

Les différentes concentrations de l'extrait éthanoliques de *P.tomentosa* n'ont pas montré d'effet antifongique avec des valeurs qui avoisine celle du témoin non traité, ces résultats contradictoires avec l'évaluation initiale peuvent être expliqués par le non stabilité des extraits de cette plante par rapport à celle de *L. inermis*.



**Figure 21:** Aspect macroscopique d'effet de différentes concentrations des extraits éthanolique de Henné et Pergularia (S2-Lichana).

## Chapitre III Discussion

L'identification des champignons est basée sur des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques (**Botton et al., 1990**). Parmi les caractères macroscopique on prend compte la couleur et la texture des colonies et de mycélium sur le milieu PDA. Le *Fusarium.sp.* crée des colonies ressemblant à des duvets ou à du coton, dans une différents couleurs (blanche jusqu'à violette), le revers peut être de couleur crème, rouge à pourpre ou violet. Selon **Boivin et Richard, 1994** qui ont montré dans leur étude qu'au début de la croissance, le mycélium aérien est blanc et peut ensuite, changer vers la couleur rose.

Pour les caractères microscopiques obtenus par observation au microscope des isolats de *Fusarium .sp.* est basé sur la présence ou absence des microconidies, macronidies et chlamydospore et sont formes. D'après **Agrios, 2005 ; Nelson et al., 1983** les microconidies sont ovo-elliptiques, cylindriques, à incurvées et mesurent 5 à 12 sur 2,2 à 35  $\mu\text{m}$ . Les macroconidies à parois minces, généralement tri-cloisonnées à fuselées-subulées (**Boivin et Richard, 1994**).

Notre étude a permis de mettre en évidence l'existence d'une activité antifongique des extraits des plantes testés in vitro sur quatre souches de *Fusarium .sp.* où le taux d'inhibition de la croissance mycélienne augmenté parallèlement avec l'efficacité d'extrait.

D'après les résultats, on a trouvé que les extraits éthanoliques pour les quatre plantes (*L.inermis*, *P.tomentosa*, *N.sativa* et *C. colocynthis*) ont exercé une efficacité plus puissante sur les souches de *Fusarium .sp.* par rapport aux deux autres extraits méthanolique et aqueux. Cette différenciation pourrait s'expliquer par la faible masse de la matière végétale utilisée pour réaliser l'extraction ou par la résistance de la souche utilisée dans ce criblage (**Rahmoun et al., 2013**). Alors que l'absence d'activité antifongique pour les extraits aqueux peut être due à la nature chimique et/ou au mécanisme d'action (**Boulenouar et al., 2009**).

L'évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de *L. inermis* a montré que l'extrait éthanolique présentait la meilleure activité par rapport aux autres extraits testés, notamment avec un taux d'inhibition de 42,46% de la croissance de *Fusarium .sp.* Ces résultats sont comparables avec ceux obtenus par **Rahmoun et al., (2013)** avec un taux d'inhibition de 72%. D'autre étude a également montré l'effet antifongique significatif de *L. inermis* (**Dixit et al., 1980**). D'autre part, **Tripathi et al., (1978)** travaillant sur la même plante ont montré une forte fongitoxicité.

L'étude de **Begum et al., (2007)** indique que l'extrait éthanolique des feuilles de *L. inermis* a montré un effet antifongique significatif contre les champignons phytopathogène. Ces résultats nous permettent de conclure que l'extrait éthanolique de la plante *L. inermis* présente une activité antifongique intéressante contre la souche *Fusarium.sp.*

Le pouvoir antifongique de *P.tomentosa* dans notre étude est efficace pour les deux extraits éthanolique et méthanolique respectivement à 16,43% et 17,30% sur la souche de *Fusarium .sp* D'autres études ont indiqué l'efficacité des extraits de *P.tomentosa* avec l'utilisation des différents solvants, tels que **Lahmar et al., (2017)** qui prouvé dans le cas de l'extrait d'acétate d'éthyle de fruits de *P.tomentosa*, l'action d'inhibition totale est supérieure à 2 mg/mL et 75 % des *Fusarium .sp* peuvent se développer en présence de 1 mg/mL d'extrait pergularia. Ainsi que l'extrait aqueux des feuilles montre une inhibition de 25% de la croissance fongique à 20 mg/mL. D'ailleurs **Rahmoun et al., (2013)** ont illustré dans leurs études que à l'intensité de l'effet antifongique contre *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, l'effet le plus important est observé pour l'extrait hexanique de Pergularia avec zone d'inhibition 20 mm, et pour la plante *C. colocynthis* qu'il est montré a une efficacité d'extrait méthanoliques contre *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* avec zone d'inhibition 19 mm, donc l'activité antifongique est influencée par le type de solvant dans l'extrait.

Concernant la plante *N.sativa* dans notre étude a marqué une faible efficacité par rapport les 3 autres plantes précédentes à 8,16% pour l'extrait éthanolique et 11,11% pour l'extrait méthanolique, Dans une autre étude, l'extrait éthanolique a montré une zone considérable d'inhibition contre *Aspergillus niger* and cela dépend effectivement de la concentration (**Zishan et Manzoor, 2020**), et **Haloci et al., (2012)** montre dans leur étude que l'extrait méthanolique d'huile de nigelle a plus d'activité antifongique que l'extrait d'éther et plus efficace que le Clomatrizol.

La comparaison entre l'effet des trois solvants a reflété la présence de polaires et de non polaires dans ces plantes présentant l'effet antifongique. **Boulenouar et al., (2009)**, et la différence peut être due au temps de macération, l'origine géographique de la plante (climat et sol), la saison de la récolte, la durée et les conditions de stockage influencent également le rendement d'extraction (**Kada, 2018**).

## Conclusion

La tomate est exposée aux attaques de plusieurs agents pathogènes qui peuvent diminuer la qualité et le rendement de cette culture. Parmi ceux-ci, le champignon *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* est l'un des principaux agents pathogènes qui cause la fusariose de la tomate ont été rencontrés au cours de cette étude.

Le présent travail est axé sur identifier et étudier in vitro la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* obtenus à partir de plants de tomate prélevé dans différent zones de la région de Biskra (NABKA, HORAYA, LICHANA, LIHRICHRAT), présentant des symptômes typiques de la maladie de fusariose de la tomate. Afin d'évaluer l'efficacité des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de quatre plantes médicinale « *Lawsonia inermis*. L, *Pergularia tomentosa*, *Nigella sativa*. L, *Citrillus colocynthis* » sur les souches de *Fusarium .sp*, et étudier l'activité antifongique entre les extraits testé et les souches.

L'étude de l'activité antifongique in vitro par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé entre les extraits des plantes et 4 souches de *Fusarium .sp*. a révélé que l'effet des extraits éthanolique des 4 plantes sont plus efficace par rapport les extraits méthanolique et aqueux pour inhiber la croissance du mycélienne de *Fusarium .sp*.

En effet, on a noté une activité antifongique élevé pour les extraits éthanolique et méthanolique de *L.inermis* avec un taux d'inhibition à respectivement 42,46% et 28,76% pour la souche de *Fusarium .sp* de LICHANA, et pour la plante *P.tomentosa* a été exercée une activité antifongique avec un taux d'inhibition 17,30% pour l'extrait méthanolique (*Fusarium .sp* de LIHRICHRAT) et 16,43% pour l'extrait éthanolique (*Fusarium .sp* de LICHANA).

Ainsi que les extraits éthanolique et méthanoliques de la plante *C.colocynthis* a marqué des taux d'inhibition à respectivement 17,80% et 11,72 sur la croissance mycélienne de *Fusarium.sp*. Alors que *N.sativa* a montré la plus faible d'activité antifongique sur les souches de *Fusarium .sp* avec des taux d'inhibition 8,16% (extrait éthanolique) et 11,11% (extrait méthanolique).

A la lumière de nos résultats on peut conclure de cette étude que la souche de *Fusarium .sp* d'EL-NABKA est plus résisté aux différents extraits testés. Alors que la souche de *Fusarium .sp* d'EL-HORAYA et LICHANA sont plus sensible aux différents traitements utilisés avec un effet positif de presque la totalité des extraits alcooliques pour la souche d'EL-HORAYA. Ainsi

que *L.inermis* est l'un des plantes qui contient des composés bioactifs qui mérite d'être pris en considération en raison de ses activités antifongique in vitro intéressantes.

En se basant sur ces résultats, il est d'intérêt primordial de fixer les points suivants comme perspectives :

- ✓ Pour la plante *Lawsonia inermis*, il est important de renforcer encore nos recherches dans plus d'un modèle d'espèce fongique afin d'établir une base pour l'utilisation d'un extrait ou d'une préparation dans des tests in vivo ou cliniques.
- ✓ Etablir des analyses chromatographie, plus avancé comme les GC-MS, pour déterminer la molécule ou les molécules bioactives responsables à l'interaction antifongique.
- ✓ Tester d'autres espèces végétales pour évaluation l'activité antifongique.
- ✓ Essaie l'extrait de l'huile essentielle de plantes précédentes.
- ✓ Essaie l'extraction avec d'autres solvants.
- ✓ Utilisation de différentes concentrations des extraits des plantes (CMI, CMF).
- ✓ Essaie d'utilisation de quelques IGR qui peuvent être une autre alternative à la lutte chimique.

## Références bibliographiques

- **Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1998).** Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1739-1745.
- **Agrios, G.N. (2005).** Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, California 92101, 524-539.
- **Ait yousef, M. (2006).** Plantes médicinales de Kabylie. Edition Ibis press 349 p.
- **Alabouvette, C., Lemanceau, P., & Steinberg, C. (1993).** Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. *Pesticide Science*, 37(4), 365-373.
- **Alexander, L. J., & Tucker, C. M. (1945).** Physiological specialization in the Tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. *Journal of Agricultural Research*, 70(9).
- **Al-Farraj, A. S., & Al-Wabel, M. I. (2007).** Heavy metals accumulation of some plant species grown on mining area at Mahad AD'Dahab, Saudi Arabia. *Journal of Applied Sciences*, 7(8), 1170-1175.
- **Angiosperm Phylogeny Group (2003).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: p 399-436.
- **Angiosperm Phylogeny Group (2009).** « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III », *Botanical Journal of the Linnean Society*, vol. 161, no 2, p. 105-121
- **Arie, T., Takahashi, H., Kodama, M., & Teraoka, T. (2007).** Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology*, 24(1), p.135-147.
- **Armstrong, G.M. & Armstrong, J.K. (1981).** "Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases", in: Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J. (Eds.) *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*, The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA: 391-399.
- **Asawalam, E. F. (2006).** Insecticidal and repellent properties of *Piper guineensis* seed oil extract for the control of maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Journal of Environmental Agriculture and Food Chemistry* 5:1389-1394.

- **Batanouny K.H., Abou-Tabl S., Shabana M., Soliman F. (1999).** Wild medicinal plants in Egypt: An Inventory to Support Conservation and Sustainable Use. Chapitre 2: Pharmacopoeial Wild Medicinal Plants in Egypt Academy of Scientific Research and Technology, Egypt International Union for Conservation (IUCN).
- **Begum, J., Yusuf, M., Chowdhury, J. U., Khan, S., & Anwar, M. N. (2007).** Antifungal activity of forty higher plants against phytopathogenic fungi. Bangladesh Journal of Microbiology, 24(1), 76-78.
- **Benabdallah M. (2012).** Préparation et étude de la réactivité de quelques dérivés de Nphptoquinones en vue de leurs applications biologiques potentielles. Thèse de Doctorat en chimie. Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen.
- **Benhouhou S., A. (2005).** Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN. P : 179.
- **Blancard, D. (1997).** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 212 P.
- **Blancard, D., Sorel, M., Fermaud, M. (2013).** Moisissure grise (*Botrytis cinerea*) : Biologie, épidémiologie. in site e-phytia, [en ligne]. <ephytia.inra.fr/fr/C/6089/Vigne-Moisissure-grise-botrytis-cinerea> .
- **Boivin G., Richard C. (1994).** Maladies et ravageurs des cultures légumières au Canada : un traité pratique illustré. Société canadienne de phytopathologie. 25:380-381.
- **Bonnier, G. (1990).** La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1. pp: 17.
- **Booth C. (1971).** The Genus *Fusarium*, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- **Bost, S. C. (2001).** First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Tennessee. *Plant Disease*, 85(7), 802-802.
- **Botineau. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs édition Lavoisier 501pp.
- **Botton B., Breton A., Fèvre M., Ganthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond Reymond, P., Sanglierj.J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2eEd Masson. Paris, Milan, Barcelone et Mexico. 512p.
- **Bouhot, D., Rouxel, F., Louvet, J. (1972).** Premières observations de la fusariose vasculaire de la tomate en France. *Ann. Phytopath.* 4(2) : 187-191.

- **Boulenouar, N., Marouf, A., & Cheriti, A. (2009)**. Effect of some poisonous plants extracts on *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *J. Biol. Sci*, 9(6), 594-600.
- **Boullard B. (2001)**. Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. Edition ESTEM 307 pp.
- **Boulos, L. (2000)**. Flora of Egypt, Vol. 2: Geraniaceae- Boraginaceae. Cairo, Al-Hadara Publishing, Livre.
- **Burgess, L. W. (1981)**. General ecology. In : Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Cook, R. J editors. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania. pp. 225-235.
- **Burgess, L. W., Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1985)**. *Fusarium scirpi*: emended description and notes on geographic distribution. *Mycologia*, 77(2), 212-218.
- **Cannas, S., Molicotti, P., Usai, D., Maxia, A., & Zanetti, S. (2014)**. Antifungal, anti-biofilm and adhesion activity of the essential oil of *Myrtus communis* L. against *Candida* species. *Natural Product Research*, 28(23), 2173-2177.
- **Cowan, M. M. (1999)**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- **Davis, R. M., Kimble, K. A., & Farrar, J. J. (1988)**. A third race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* identified in California. *Plant Disease*, 72(5).
- **Debbi, A. (2019)**. Etude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* agent du flétrissement de la tomate et recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. à l'égard de l'agent pathogène (Doctoral dissertation).P :113.
- **Dixit SN, Srivastava HS, Tripathi RD. (1980)**. Lawsone, the antifungal antibiotic from the leaves of *Lawsonia inermis* and some aspects of its mode of action. *Indian Phytopathol*, 31, 131–133.
- **Dorrance, A. E., Berry, S. A., & Lipps, P. E. (2004)**. Characterization of *Pythium* spp. from three Ohio fields for pathogenicity on corn and soybean and metalaxyl sensitivity. *Plant Health Progress*, 5(1), 10.
- **DSA, (2022)**. Direction des Services Agricoles de la wilaya de Biskra.

- **Ducke J A, (1983).** *Citrulluscolocynthis* (L) Schars.Handbook of Energy Corps.
- **Emmert, E. A., & Handelsman, J. (1999).** Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology letters*, 171(1), 1-9.
- **Fabrice, I. (2010).** Institut supérieur agro- vétérinaire de Kimwenza RDC - Ingénieur technicien en agriculture et en élevage, p1.
- **FAOSTAT.** Données de l'alimentation et de l'agriculture (En ligne) <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>.
- **Forestier, J.P., (1982).** Henné, Absorption de la lawsone par le cheveu. *International Journal of Cosmetic Science*, 4 : 153-174.
- **Fravel, D., Olivain, C., & Alabouvette, C. (2003).** *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New phytologist*, 157(3), 493-502.
- **Gauman, E. (1957).** Fusaric acid as a wilt toxin. *Phytopathology*.(47): 342-357.
- **Ghedira, K. (2006).** La nigelle cultivée : L.(Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 5(4), 220-226.
- **Gindrat, D. (1975).** La fusariose vasculaire de la tomate de plein champ en Suisse. *Revue suisse de viticulture arboriculture horticulture* 7 (2) : 69-72.
- **Godia, A. K. G. (2014).** Evaluation of some introduced fresh market tomato (*Solanum lycopersicum* L.) for genetic variability and adaptability in Ghana using morphological and molecular markers. M.Sc. Thesis, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.
- **Gohar, A. A., El-Olemy, M. M., Abdel-Sattar, E., El-Said, M., & Niwa, M. (2000).** Cardenolides and  $\beta$ -Sitosterol Glucoside from *Pergularia tomentosa* L. *Natural Product Sciences*, 6(3), 142-146.
- **GOOD R. (1951).** Atlas of the Asclepiadaceae. University college, Hull. Pages 198-209.
- **Grattidge, R., & O'Brien, R. G. (1982).** Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. *Plant Disease*, 66(2), 165-166.
- **Guignard, J.L. (2001)** In : Botanique systématique moléculaire. 12ème Edition Masson (Paris), P : 304.

- **Haloci, E., Manfredini, S., Toska, V., Vertuani, S., Ziosi, P., Topi, I., & Kolani, H. (2012).** Antibacterial and antifungal activity assesment of nigella sativa essential oils. *International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 270-272.
- **Hamliche V., Merad R., Azzouz M. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. *Springer-Verlag Paris*.
- **Handa, S. S. (2008).** An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1, 21-40.
- **Henni, J., Boisson, C., & Geiger, J. P. (1994).** Variabilité du pouvoir pathogène chez le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathologia Mediterranea*, 10-16.
- **Hibar, K., Daami-Remadi, M., & El Mahjoub, M. (2007).** Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Tropicultura*, 25(3), 146-152.
- **Hibar, K., Daami-Remadi, M., & El Mahjoub, M. (2007).** Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Tropicultura*, 25(3), 146-152.
- **Horsfall, JG. Dimond, AE. (1960).** An advanced treatise, Plant pathology, New York, Londo.
- **Hussain, A. I., Rathore, H. A., Sattar, M. Z., Chatha, S. A., Sarker, S. D., & Gilani, A. H. (2014).** *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (bitter apple fruit): A review of its phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 54-66.
- **Ito, S. I., Ihara, T., Tamura, H., Tanaka, S., Ikeda, T., Kajihara, H., ... & El-Sayed, M. A. (2007).**  $\alpha$ -Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. *FEBS letters*, 581(17), 3217-3222.
- **Jarvis, W. R., Epidemiology. In: J. R. Coley-Smith. (1980).** Eds. The biology of Botrytis. Academic Press, London, UK, pp. 219-250.

- **Jing, L., Lei, Z., Li, L., Xie, R., Xi, W., Guan, Y. ... & Zhou, Z. (2014).** Antifungal activity of citrus essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(14), 3011-3033.
- **Jones, JB. Jones, JP. Stall, RE. Zitter, TA. (1991).** Compendium of tomato diseases. American Phytopathological Society, St Paul, MN. p.15.
- **Kada, S. (2018).** Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques (Doctoral dissertation).
- **Kanneh, S. M., Osei, M. K., Akromah, R., & Gyau, J. (2016).** Generation mean analysis of yield and yield components of early generations of interspecific crosses of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 10(2), 98-103.
- **Katan, T., Shlevin, E., & Katan, J. (1997).** Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology*, 87(7), 712-719.
- **Kazandjieva, J., Grozdev, I., & Tsankov, N. (2007).** Temporary henna tattoos. *Clinics in dermatology*, 25(4), 383-387.
- **Kemassi A. (2008).** Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de Magister en Agronomie Saharienne, université Kasdi Merbah-Ouargla, 168 p .
- **Koch, E., Meier, B. M., Eiben, H. G., & Slusarenko, A. (1992).** A lipoxygenase from leaves of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is induced in response to plant pathogenic pseudomonads. *Plant Physiology*, 99(2), 571-576.
- **Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F., & Belghith, K. (2017).** Nutritional composition and phytochemical, antioxidative, and antifungal activities of *Pergularia tomentosa* L. *BioMed research international*.
- **Laterrot, H. Rouxel, F. Davet, P. Mineau, R. Nourriseau, JG. et Jonan, B. (1978).** La fusariose vasculaire de la tomate en France. *PH.M. Rev. Hrticol.*(137) : 35-40.

- **Laterrot, H., Blancard, D., Couteaudier, Y. (1988).** Les fusarioses de la tomate. PHM -Rev. Hortic. 288 : 29-32.
- **Leber, M., Schrad, L., Matthieu, L., & Hakim, M. E. O. (2020).** Intoxications par les Cucurbitaceae ( notamment *Citrullus colocynthis* ( L .) Schrad .). Prise en charge à l ' officine To cite this version : HAL Id : dumas-02447049 pour le DIPLOME D ' ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE par Intoxications par les Cucurbitaceae .P : 149.
- **Lecompte, F., & Causse, M. (2014).** Variétés et systèmes de culture de tomate : les apports conjoints de la génétique et de l'agronomie. *Agronomie, Environnement & Sociétés*, 4(2), 23-34.
- **Lee, S. H., Chang, K. S., Su, M. S., Huang, Y. S., & Jang, H. D. (2007).** Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food control*, 18(12), 1547-1554.
- **Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008).** The *Fusarium* laboratory manual. John Wiley & Sons.
- **Lukyanenko, A.N. (1991).** Disease resistance in Genetic Improvement of Tomato. In Kallo, G. (Ed), Vol. 14 of Monographs on Theoretical and Applied Genetics, Springer, Berlyn, Germany: 99-119.
- **M127, B. M. (2001).** Potato Dextrose Agar.
- **Malekzadeh, F. (1968).** Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* L. *Applied microbiology*, 16(4), 663-664.
- **Maman S. (2003).** Contribution à l'étude de l'écologie de *Pergularia tomentosa* et son impact sur les ressources sylvopastorales au niveau du massif forestier de Daddaria (Mainé Soroa) ; mémoire d'Ingénieur IPR/IFRA de Katibougou (Mali) 61 p.
- **Mansour, H. D. (2014).** Evaluation Chimique Et Activite Antidermatophyte De Quelques Plantes Medicinales D'Algerie. Thèse du Doctorat En Sciences. Université De Constantine 1, P : 161.
- **Mao, W. E. I. L. I., Lewis, J. A., Lumsden, R. D., & Hebbar, K. P. (1998).** Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. *Crop Protection*, 17(6), 535-542.

- **Marlatt, ML. Correl, JC. Kaufmann, P. Cooper, PE. (1996).** Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 2 and 3 of *Lycopersicon pennellii* Aust. J. Agric. Res(38) :729-733.
- **Mcgrath, D. J., Gillespie, D., & Vawdrey, L. (1987).** Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 2 and 3 in *Lycopersicon pennellii*. *Australian Journal of Agricultural Research*, 38(4), 729-733.
- **Medane.A. (2012).** Evolution des paramètres biochimiques sériques chez les rats wistar traités par l' extrait chloroformique des graines de la coloquinte *Citrullus colocynthis* Mémoire de Master en biologie. Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen.66p.
- **Menzies, C.M. (1981).** Les variétés résistantes. Méthodes de lutte contre les maladies et ennemies des plantes. Edition INRA. Paris. 374 P
- **Mes, J. J., Weststeijn, E. A., Herlaar, F., Lambalk, J. J., Wijbrandi, J., Haring, M. A., & Cornelissen, B. J. (1999).** Biological and molecular characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* divides race 1 isolates into separate virulence groups. *Phytopathology*, 89(2), 156-160.
- **Messiaen, C.M. (1981).** Les variétés résistantes. Méthodes de lutte contre les maladies et ennemies des plantes. Edition INRA, Paris. 374 p.
- **Mezaache-Aichour, S., Guechi, A., Nicklin, J., Drider, D., Prevost, H., & Strange, R. N. (2012).** Isolation, identification and antimicrobial activity of pseudomonads isolated from the rhizosphere of potatoes growing in Algeria. *Journal of Plant Pathology*, 89-98.
- **Meziti, A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa L* Étude in vitro et in vivo (Doctoral dissertation, Université de Batna 2), P : 105.
- **Michielse, C. B., & Rep, M. (2009).** Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular plant pathology*, 10(3), 311.
- **Moriones, E., & Navas-Castillo, J. (2000).** Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus research*, 71(1-2), 123-134.
- **Motamed, S. M., & Naghibi, F. (2010).** Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry*, 119(4), 1637-1642.

- **Nelson P E., Toussoun T A., Marasas W F O. (1983).** Fusarium species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, 193.
- **Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R. K., Uppalapati, S. R., Gupta, V. K., Yli-Mattila, T., ... & Chandra, N. S. (2016).** Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Scientific reports*, 6(1), 1-14.
- **Panthee, D. R., & Chen, F. (2010).** Genomics of fungal disease resistance in tomato. *Current genomics*, 11(1), 30-39.
- **Pietro, A. D., Madrid, M. P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., & Roncero, M. I. (2003).** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular plant pathology*, 4(5), 315-325.
- **Rahmoun, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Benabdallah, M., & Choukchou-Braham, N. (2013).** Antifungal activity of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Pharmaceutical biology*, 51(1), 131-135.
- **Rapilly, F. (1998).** Évolution historique des concepts de résistance des plantes aux agents pathogènes. *Cahiers Agricultures*, 7(3), 223-228.
- **Rongai, D., Pulcini, P., Pesce, B., & Milano, F. (2015).** Antifungal activity of some botanical extracts on *Fusarium oxysporum*. *Open Life Sciences*, 10(1).
- **Roque H. (1960).** Précis de botanique pharmaceutique, Phanérogamie. Libraire Maloine S.A. p 546.
- **Sardi, J. C. O., Almeida, A. M. F., & Giannini, M. J. S. M. (2011).** New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites—a brief review. *Archives of oral biology*, 56(10), 951-959.
- **Si Mohammed, A. (2016).** Caractérisation Et Lutte Biologique Vis A Vis *Fusarium Oxysporum* (Doctoral Dissertation, Université D'oran1-Ahmed Ben Bella).P :124.
- **Smahi, A. (2008).** Contrôle biologique de la Fusariose vasculaire de la Tomate causé par (*Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*) (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

- **Smith, S. N., Jeffers, D., & DeVay, J. E. (1994).** Effect of glucose and biotin on the growth and sporulation of *Fusarium* species, especially pathogenic and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Mycologia*, 86(4), 547-554.
- **Snyder, W. C., & Hansen, H. N. (1940).** The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 64-67.
- **Sobia, C., Rashida, A., Mirza, A. M., Safina, N., Bushra, S., & Ghazala, Y. (2011).** Efficacy of few plant extracts against *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*, the cause of corm rot of *gladiolus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), 3887-3890.
- **Stall, RE. (1962).** Development of *Fusarium* wilt on resistant varieties of tomato caused by a strain different from race 1 isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp *lyopersici*. *Plant Disease*. (69):917-920.
- **Tabuti, J. R., Lye, K. A., & Dhillon, S. S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), 19-44.
- **Takahashi, H., Shimizu, A., Arie, T., Rosmalawati, S., Fukushima, S., Kikuchi, M., & Watanabe, Y. (2005).** Catalog of Micro-Tom tomato responses to common fungal, bacterial, and viral pathogens. *Journal of general plant pathology*, 71(1), 8-22.
- **Tegegne, G., Pretorius, J. C., & Swart, W. J. (2008).** Antifungal properties of *Agapanthus africanus* L. extracts against plant pathogens. *Crop Protection*, 27(7), 1052-1060.
- **Toua D, Benchabane M, Bensaid F and Bakour R. (2013).** Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of *fusarium* wilt in tomato and flax. *African Journal of Microbiology Research* 7 (48): 5449-5458.
- **Tripathi, R. D., Srivastava, H. S., & Dixit, S. N. (1978).** A fungitoxic principle from the leaves of *Lawsonia inermis* Lam. *Experientia*, 34(1), 51-52.
- **Valenzuela-Ureta, JG. Lawn, DA. Heisey, RF. Zamudio-Guzman, V. (1996).** First report of *Fusarium* wilt race 3, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lyopersici* of tomato in Mexico. *Plant Dis.* (80) : 105.
- **Volin, R. B., & Jones, J. P. (1982).** A new race of *Fusarium* wilt of tomato in Florida and sources of resistance. In *Proceedings of the Florida State Horticultural*

- Society* (Vol. 95, pp. 268-269).Chellemi, D. O., Dankers, H. A., & Crosier, B. (1992). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Northwest Florida and Georgia. *Plant Disease*, 76(8).
- **Walker, J.C. (1971)**. Fusariumwilt of tomato. Monogr. 6. American phytopathological Society, St. Paul, MN.
  - **Who. (1993)**. Summar Who Guidelines For The Assessment Of Herbalmedicines. *Herbal Grom.*, 28:13-14 .
  - **Wichtl M. (1999)**.Plantes thérapeutiques, Tradition ,pratique officinale. Science et thérapeutique 3éme édition. Edition francaise par Robert Anton. Technique et documentation.pp 262-264.
  - **Yang, C. S., Chen, J. J., Huang, H. C., Huang, G. J., Wang, S. Y., Chao, L. K., ... & Kuo, Y. H. (2017)**. New flavone and eudesmane derivatives from *Lawsonia inermis* and their inhibitory activity against NO production. *Phytochemistry Letters*, 21, 123-127.
  - **Zahir, I. (2016)**. Effect of Moroccan plants against phytopathogenic microorganisms: a review. *British Biotechnology Journal*, 10(1), 1-36.
  - **Zahir, I., Babouchi, M., Boulanour, H., & El-Louyti, M. (2018)**. Effect of microorganisms isolated from Moroccan biotopes against phytopathogens. A review. *AgroBiologia*, 8(2), 971-983.
  - **Zishan, M., & Manzoor, U. (2020)**. Antifungal Activity of *Aloe Barbadensis* and *Nigella Sativa*: A Review. *International Journal of Biological, Physical and Chemical Studies*, 2(2), 11-14.

## Sitographie

- <https://pin.it/6nxbEXr>
- <https://pin.it/7a7MYTb>
- [Pergularia tomentosa - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain \(teline.fr\)](#).

## Annexes

### Annexe 1 : Composition du milieu PDA.

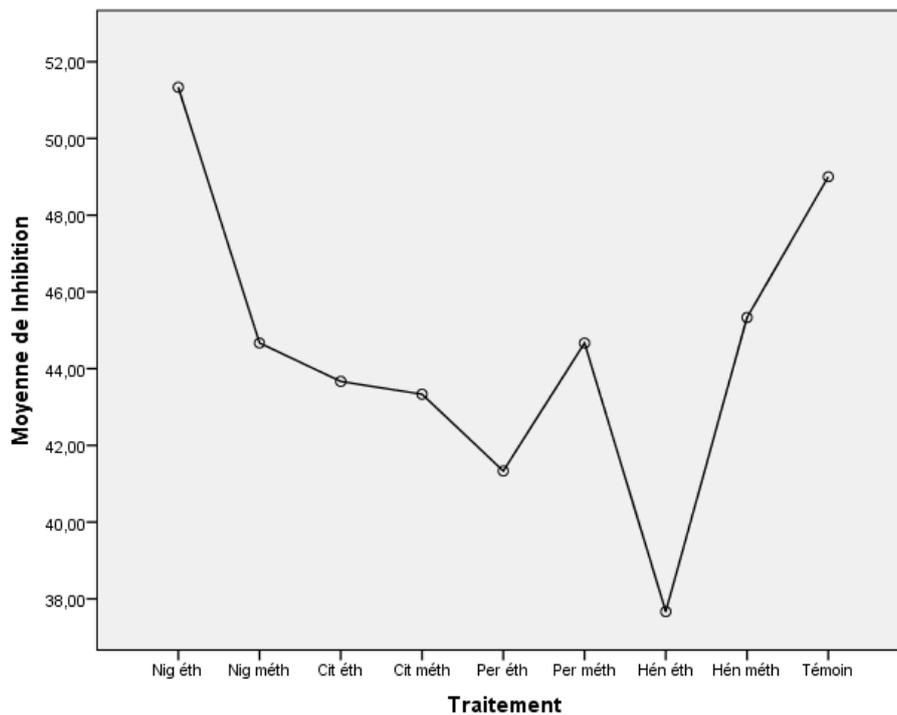
#### Composition du milieu PDA (g/l)

<b>Pomme de terre</b>	<b>200 g</b>
<b>Glucose</b>	<b>20 g</b>
<b>Agar-Agar</b>	<b>20 g</b>
<b>Eau distillé</b>	<b>1 L</b>

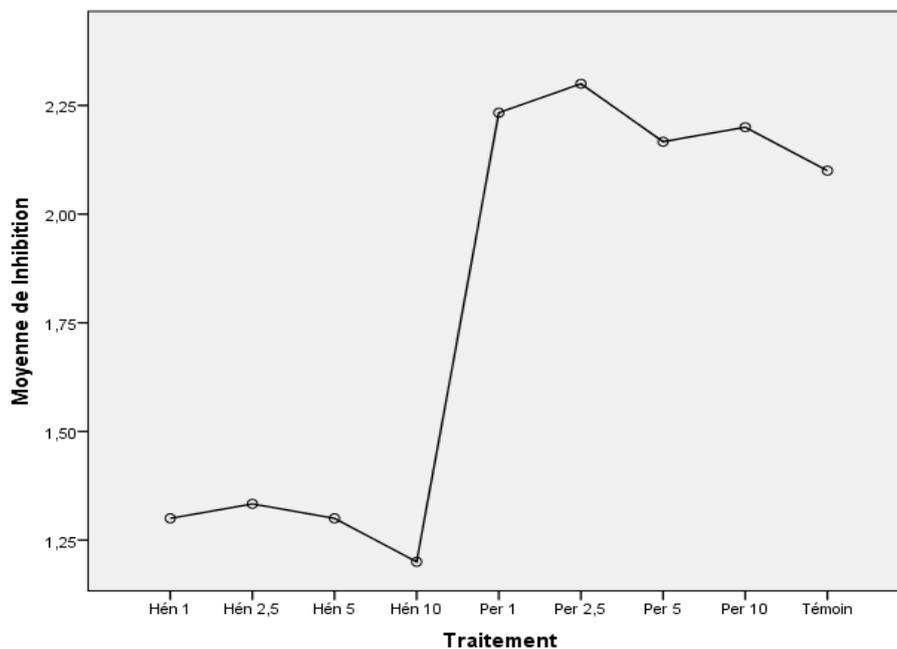
### Annexe 2 : Tableau ANOVA à un facteur pour les extraits aqueux des quatre souches.

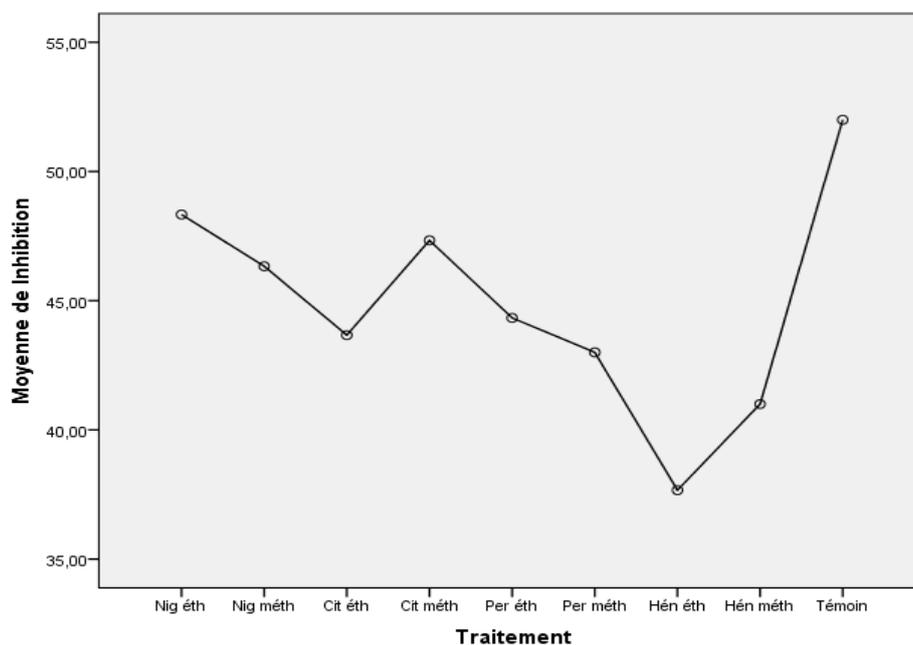
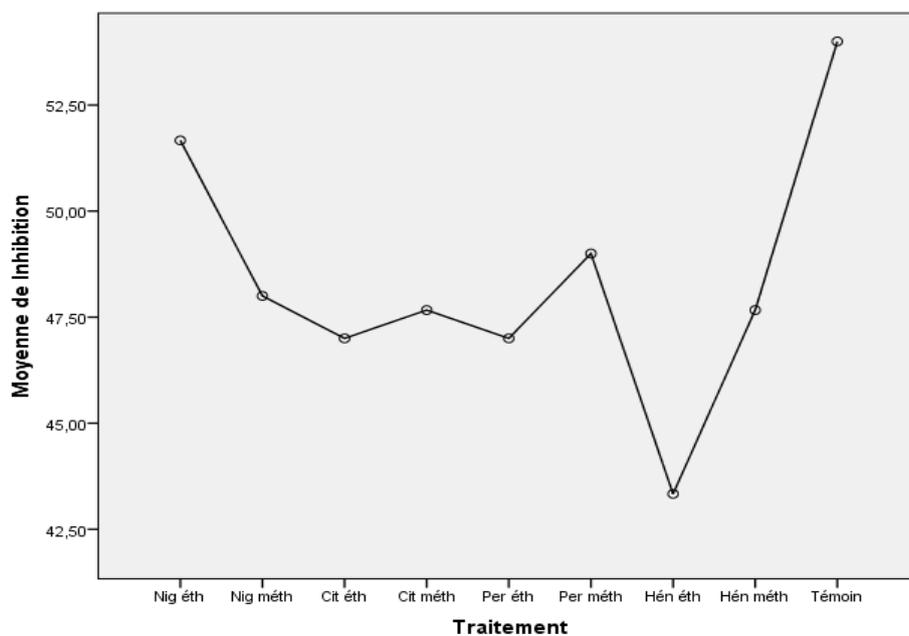
ANOVA à 1 facteur						
Inhibition						
Les souches		Somme des carrés	ddl	Moyennes des carrés	F	P
S1- HORAYA A	Inter-groupes	35,733	4	8,933	3,116	<b>0,066</b>
	Intra-groupes	28,667	10	2,867		
	Total	64,400	14			
S2- LICHANA B	Inter-groupes	30,267	4	7,567	,938	<b>0,481</b>
	Intra-groupes	80,667	10	8,067		
	Total	110,933	14			
S3- LIHRICHAT C	Inter-groupes	74,267	4	18,567	3,396	<b>0,053</b>
	Intra-groupes	54,667	10	5,467		
	Total	128,933	14			
S4- NABKA D	Inter-groupes	260,400	4	65,100	3,110	<b>0,066</b>
	Intra-groupes	209,333	10	20,933		
	Total	469,733	14			

**Annexe 3** : Diagrammes des moyennes (S1-HORAYA) pour les extraits alcooliques.



**Annexe 4** : Diagrammes des moyennes (S2-LICHANA) pour les extraits alcooliques.



**Annexe 5** : Diagrammes des moyennes (S3-LIHRICHAT) pour les extraits alcooliques.**Annexe 6** : Diagrammes des moyennes (S4-NABKA) pour les extraits alcooliques.

## المخلص

تأثير بعض النباتات المتطوعة على فطر *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* العامل المسبب لذبول الطماطم  
الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتعريف وتنقية فطر "*Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*" الذي يسبب مرض ذبول الطماطم من  
السيقان، جذور نبات طماطم مصابة على مستوى أربع مناطق بولاية بسكرة، الجزائر. وكذلك الدراسة المخبرية للنشاط المضاد للفطريات للمستخلصات  
الإيثانولية والميثانولية والمائية لأربعة نباتات طبية "*Citrillus*، *Nigella sativa* L.، *Pergularia tomentosa*، *Lawsonia inermis* L." على سلالات *Fusarium. sp*. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلصات الإيثانولية تمارس فعالية عالية على جميع  
السلالات الفطرية تقريباً مقارنة بالمستخلصات الميثانولية والمائية. في حين أن المستخلصات المائية لم تظهر أي تأثير مثبت على السلالات الفطرية  
باستثناء التأثير الضعيف للمستخلصات على سلالة *Lihrichate*، بالنسبة لنبات *L. inermis* سجلت معدلات تثبيط أعلى من النباتات الأخرى بنسبة  
42.46% (مستخلص إيثانولي) و 28.76% (مستخلص ميثانولي). في حين أن التأثير المضاد للفطريات للمستخلصات الإيثانولية والميثانولية لـ *P. tomentosa*  
أظهر معدلات تثبيط على التوالي (16.43% و 17.30%)، وبالنسبة للنباتات *C. colocynthis* و *N. sativa*، فإن تأثير مضاد الفطريات  
ضعيف بالنسبة للمستخلصات الكحولية يختلف بين (8.16 و 11.72%). في الواقع، أثبتت تجارب مكافحة البيولوجية الأولية أن المستخلصات الكحولية  
من *L. inermis* يمكن استخدامها في برامج مكافحة البيولوجية ضد ذبول الطماطم.

الكلمات المفتاحية: *Fusarium.sp.*، طماطم، مكافحة البيولوجية، مستخلصات نباتية، مسبب الأمراض، نشاط مضاد للفطريات.

## Résumé

L'effet de quelques plantes spontanées sur le champignon *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* agent causal de la fusariose de la tomate

Le but de cette étude est d'isoler, d'identifier et de purifier le champignon « *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* » qui cause la maladie fusariose de la tomate à partir des tiges, racines d'une plante de tomate infectée au niveau de 4 zones de la région de la wilaya de Biskra, Algérie. Ainsi que l'étude in vitro de l'activité antifongique des extraits éthanoliques et méthanoliques et aqueux de 4 plantes médicinales « *Lawsonia inermis* L., *Pergularia tomentosa*, *Nigella sativa* L., *Citrillus colocynthis* » sur les souches de *Fusarium .sp*. Les résultats obtenus révèlent que les extraits éthanoliques ont exercé une efficacité élevée sur presque l'ensemble des souches fongiques par rapport aux extraits méthanoliques et aqueux. Alors que les extraits aqueux n'ont montré aucun effet inhibiteur sur les souches fongiques sauf l'effet faible des extraits sur la souche de *Lihrichate*, pour la plante *L.inermis* a enregistré des taux d'inhibition supérieures aux autres plantes à 42,46% (extrait éthanolique) et 28,76% (extrait méthanolique). Alors que l'effet antifongique des extraits éthanoliques et méthanoliques de *P.tomentosa* ont marqué des taux d'inhibition à respectivement (16,43% et 17,30%), et pour les plantes *C.colocynthis* et *N.satava* l'effet antifongique est faible pour les extraits alcooliques varient entre (8,16 et 11,72%). En effet, les essais préliminaires de la lutte biologique prouvent que les extraits alcooliques de *L.inermis* pourraient éventuellement être utilisés dans des programmes de lutte biologique contre la fusariose de la tomate.

Mots clés : Tomate, *Fusarium.sp.*, lutte biologique, extrait de plante, agent pathogène, activité antifongique.

## Abstract

The effect of some volunteer plants on the fungus *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* causative agent of Fusarium wilt of tomato

The aim of this study is to isolate, identify and purify the fungus "*Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*" which causes Fusarium disease of tomato from the stems, roots of an infected tomato plant in 4 areas of the wilaya region of Biskra, Algeria. As well as the in vitro study of the antifungal activity of ethanolic and methanolic and aqueous extracts of 4 medicinal plants "*Lawsonia inermis* L., *Pergularia tomentosa*, *Nigella sativa* L., *Citrillus colocynthis* " on the strains of *Fusarium .sp*. The obtained results reveal that the ethanolic extracts are exerted a high efficiency on almost all the fungal strains compared to the methanolic and aqueous extracts. While the aqueous extracts showed no inhibitory effect on the fungal strains except the weak effect of the extracts on *Lihrichate* strain, for the plant *L.inermis* recorded higher inhibition rates than the other plants at 42.46% (ethanolic extract) and 28.76% (methanolic extract). While the antifungal effect of ethanolic and methanolic extracts of *P.tomentosa* marked inhibition rates at respectively (16.43% and 17.30%), and for the plants *C.colocynthis* and *N.satava* the antifungal effect is low for alcoholic extracts vary between (8.16 and 11.72%). Indeed, preliminary biological control trials proved that alcoholic extracts of *L.inermis* could eventually be used in biological control programs against Fusarium wilt of tomato.

Keywords: Tomato, *Fusarium.sp.*, biological control, plant extract, pathogen, antifungal activity.