

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2024



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

Présenté par :

MANSOURI Hanane

Thème

Évaluation de l'activité antifongique des extraits des plantes contre deux champignons phytopathogène responsable de dépérissement des agrumes.

Soutenu le: 09/07/2024

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
Mr KHERRAZ K	MCB	Univ. de Bouira	Président
Mme BOUBEKKA N	MCA	Univ. de Bouira	Promotrice
Mme MEBDOUA S	MCA	Univ. de Bouira	Co- Promtrice
Mme MAHDI K	Pr	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Notre première gratitude va au tout-puissant ALLAH, le créateur du tout, pour nous avoir donné la vie, le bénédicité et la force pour accomplir ce travail.

Tout d'abord, je remercie chaleureusement Mme **BOUBEKKA Nabila** Maître de Conférence classe A dans l'université de Bouira, pour ses conseils avisés, son encadrement rigoureux, et son soutien indéfectible tout au long de ce projet. Sa disponibilité et ses encouragements m'ont permis de surmonter les obstacles rencontrés et de mener à bien cette recherche.

Je souhaite également remercier les membres du jury, **Monsieur KHERREZ** Maître de conférence classe B de l'université de Bouira et Mme **MAHDI Khadidja** professeur de l'université de Bouira, pour le temps et les précieuses évaluations. Ses commentaires constructifs ont été essentiels pour améliorer la qualité de ce travail.

Un remerciement spécial à Monsieur **AIT KACI**, pour son accompagnement, son encouragement et ses conseils précieux qui ont enrichi mes connaissances et compétences tout au long de ce travail.

Je suis reconnaissant envers **Mme MEBDOUA Samira** pour leur aide précieuse dans la collecte de données. Leur expertise et leur disponibilité ont été d'une grande aide.

Je remercie également les membres du laboratoire de département des Sciences Agronomiques pour leur accueil chaleureux et pour m'avoir offert un environnement de travail propice à la recherche. Leur expertise et leur assistance technique ont été inestimables pour la réalisation de mes expériences.

Je remercie profondément ma famille pour leur amour, leur soutien et leur compréhension. Leur présence et leurs encouragements ont été une source de motivation constante.

Je tiens à exprimer ma gratitude à mon fiancé pour son soutien indéfectible tout au long de ce travail. Ta patience, tes encouragements et ta compréhension m'ont été d'un grand secours et m'ont permis de rester motivée et concentrée. Merci pour ta présence constante et ton soutien inestimable.

Un grand merci à **DAHACHE Yassemine**, **BOUNOUA Farid** mes collègues pour leur soutien moral, leurs échanges d'idées, et les moments de convivialité partagés qui ont rendu cette période de travail plus agréable.

Enfin, je souhaite remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail. À toutes et à tous, je vous adresse mes plus sincères remerciements.

Dédicaces

«En vérité, le Chemin importe peu, la volonté d'arriver suffit à tout».

Albert Camus.

Je commence mon discours en remerciant Dieu qui m'a permis d'atteindre ce que je suis maintenant.

De tout mon cœur je dédie ce travail :

*A ma chère mère **SALIHA** aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour lui pour ces précieux conseils et ses grands sacrifices pour mes réussites.*

*A mon cher père **MOHAMMED** qui m'encourage à continuer et m'apprend la volonté dans ma vie .*

J'espère qu'un jour, je peux leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, Que dieu les bénisse, les apporte santé et les garde pour nous.

*A mon très chère frère **RIAD** .*

A tous mes collègues de la promotion 2023-2024.

A ceux qui m'aime et ceux que j'aime.

Et enfin à tous ceux qui m'ont souhaité le succès et la réussite.

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Synthèse bibliographique.....	4
I.1 Généralités sur les agrumes.....	4
I.1.1 Classification des agrumes.....	4
I.2 Maladies du dépérissement des agrumes.....	5
I.2.1 Maladies cryptogamiques.....	5
I.2.2 Maladies bactériennes.....	9
I.2.3 Maladies virales.....	11
I.3 Présentation des plantes étudiées.....	13
I.3.1 Myrte commun (<i>Myrtus communis</i>).....	13
I.3.1.1 Classification taxonomique.....	13
I.3.1.2 Noms vernaculaires.....	13
I.3.1.3 Description botanique.....	14
I.3.1.4 Composition chimique.....	14
I.3.2 Genêt d'Espagne (<i>Spartium junceum L.</i>).....	14
I.3.2.1 Classification taxonomique.....	14
I.3.2.2 Noms vernaculaires.....	15
I.3.2.3 Description chimique.....	15
I.3.3 Faux poivrier (<i>Schinus molle</i>).....	16
I.3.3.1 Classification taxonomique.....	16
I.3.3.2 Description botanique.....	16
I.3.3.3 Importance.....	16
I.3.4 Scille maritime (<i>Urginea maritima</i>).....	17
I.3.4.1 Classification taxonomique.....	17
I.3.4.2 Noms vernaculaires.....	17
I.3.4.3 Description botanique.....	17

Table des matières

I.3.4.4	Composition phytochimiques.....	18
I.3.5	Orme champêtre (<i>Ulmus minor</i>).....	18
I.3.5.1	Classification taxonomique.....	18
I.3.5.2	Noms vernaculaires.....	18
I.3.5.3	Description botanique.....	19
Chapitre II : Matériel et méthodes		
II.	Matériel et méthodes.....	21
II.1	Matériel.....	21
II.1.1	Matériel végétale.....	21
II.1.1.1	Plante hôte.....	21
II.1.1.2	Plantes utilisées.....	22
II	Orme champêtre.....	23
II.1.2	Matériel fongique.....	23
II.2	Préparation de matériel végétale.....	24
II.2.1	Récolte de la matière végétale.....	24
II.2.2	Nettoyage et séchage.....	24
II.2.3	Broyage et tamisage.....	25
II.2.4	Préparation des extraits éthanoliques.....	25
II.2.4.1	Extraction par macération.....	25
II.2.4.2	xtraction assistée par ultrasons.....	26
II.2.5	Calcul de rendement.....	27
II.3	Analyse qualitative.....	27
II.3.1	Screening phytochimique.....	28
II.3.1.1	Préparation des décoctions aqueuses.....	28
II.4	Évaluation de l'activité antifongique.....	33
II.4.1	Préparation de milieu de culture.....	33
II.4.2	Isolement.....	34
II.4.3	Repiquage et purification.....	35
II.4.4	Identification macroscopique et microscopique des isolats.....	36
II.4.5	Activité antifongique.....	36
II.4.5.1	Méthode de diffusion sur disques.....	36
II.4.5.1.1	Préparation des disques d'aromatogramme.....	36
II.4.5.1.2	Préparation des dilutions des extraits.....	37

Table des matières

II.4.5.1.3 Dépôts des disques et l'injection des extraits.....	37
II.4.5.1.4 Repiquage des souches fongiques.....	37
II.4.5.2 Lecture des résultats.....	38
II.4.5.3 Méthode de diffusion dans un milieu gélosé PDA.....	38
II.4.5.3.1 Préparation des extraits.....	38
II.4.5.3.2 Ajout des extraits végétaux.....	38
II.4.5.3.3 Culture de la souche fongique.....	39
II.4.5.3.4 Lecture des résultats.....	39
Chapitre III : Résultats et discussion	
III. Résultats et discussion.....	41
III.1 Rendement des extractions.....	41
III.2 Screening phytochimique.....	42
III.3 Activité antifongique.....	45
III.3.1 Méthodes de dilution dans un milieu gélosé.....	45
III.3.1.1 Effets des extraits obtenus par macération.....	47
III.3.1.2 Effets des extraits obtenus par Ultrasons.....	51
III.3.2 Méthode de diffusion sur disques.....	55
Conclusion générale.....	59
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1: Mandariniers	21
Figure 2: A: <i>Phoma tracheiphila</i> . B: <i>Colletotrichum</i> sp.....	23
Figure 3: Séchage des plantes: A: <i>S. molle</i> , <i>U. maritima</i> , <i>S. junceum</i> , <i>M. communis</i>	24
Figure 4: Broyage des plantes.....	25
Figure 5: A: Préparation des extraits éthanoliques. B: Macération des poudres pendant 24H. C: Filtration des extraits.....	26
Figure 6: A: Extraction par ultrasons, B: Séchage des extraits dans l'étuve, C: Extraits secs.	27
Figure 7: Décotés de différentes plantes.....	28
Figure 8: Criblage phytochimique de Genêt d'Espagne	31
Figure 9: Criblage phytochimique de <i>M. communis</i>	31
Figure 10: Criblage phytochimique de <i>S. maritima</i>	32
Figure 11: Criblage phytochimique de l'Orme champêtre.....	32
Figure 12: Criblage phytochimique de Faux poivrier.....	33
Figure 13: Préparation de milieu de culture PDA	34
Figure 14: A: Préparation des échantillons. B: Isolement des champignons dans le PDA.....	35
Figure 15: Repiquage et purification des champignons phytopathogènes	35
Figure 16: Préparation des disques aromatiques.....	37
Figure 17: Rendements de différentes plantes.....	41
Figure 18: Zone d'inhibition des extraits éthanolique de <i>Myrtus communis</i> par méthode de l'ultrasons de chaque concentration testée sur <i>Colletotrichum</i> sp et <i>Phoma</i> sp.....	45
Figure 19: Zone d'inhibition de l'extraits éthanolique de <i>Myrtus communis</i> par méthode de macération de chaque concentration testée sur <i>Colletotrichum</i> sp. et <i>Phoma</i> sp.....	46
Figure 20: Activité antifongique des extraits éthanolique de différentes plantes., vis-à-vis le champignon phytopathogène <i>Colletotrichum</i> sp.....	48
Figure 21: Taux d'inhibition des extraits éthanolique sur le champignon <i>Phoma</i> sp.....	50
Figure 22: Taux d'inhibiton des extraits éthanolique obtenus par extraction par ultrasons sur le champignon <i>Colletotrichum</i> sp.....	52
Figure 23: Taux d'inhibition des extraits éthanolique du différentes plantes sur <i>Phoma</i> sp..	54
Figure 24: Effets des extraits des cinq plantes sur <i>Colletotrichum</i> sp.....	56
Figure 25: Effets des extraits des cinq plantes sur <i>Phoma</i> sp.....	56

Liste des tableaux

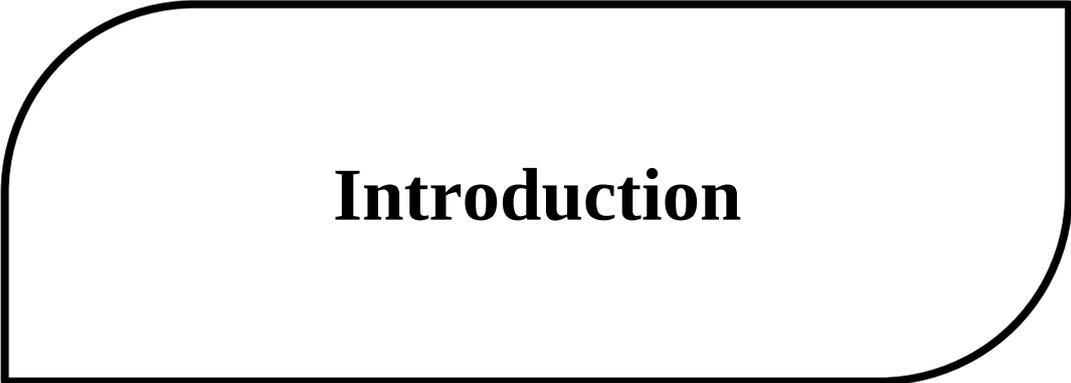
Liste des tableaux

Tableau 1: Maladies cryptogamiques des agrumes.....	6
Tableau 2: Maladies bactériennes des agrumes.....	10
Tableau 3: Principales maladies virales des agrumes.....	12
Tableau 4 : Photographie, date et lieu de récolte des plantes étudiées durant ce travail.....	22
Tableau 5: Préparation des dilutions et des concentrations des extraits.....	38
Tableau 6: Résultats de criblage phytochimiques.....	43
Tableau 7: Diamètres des zones de développement des champignons de T+ et T- (en mm)..	46
Tableau 8: Diamètres des zones de développement du <i>Colletotrichum sp</i> en présence des extraits éthanolique des différentes plantes obtenus par macération (en mm).....	47
Tableau 9: Résultats de l'activité inhibitrice des extraits éthanolique obtenus par macération du différentes plantes sur <i>Colletotrichum sp</i>	47
Tableau 10: Diamètres des zones de développement du champignon en présences des extraits éthanolique de différentes plantes sur <i>Phoma sp.</i> (en mm).....	49
Tableau 11: Résultats de l'activité inhibitrice des différentes extraits éthanolique obtenus par macération sur le champignon <i>Phoma sp</i>	50
Tableau 12: Diamètres des zones de développement du <i>Colletotrichum sp</i> en présence des extraits éthanolique des différentes plantes obtenus par ultrasons (en mm).....	51
Tableau 13: Résultats de l'activité inhibitrice des différents extraits éthanolique sur <i>Colletotrichum sp</i>	52
Tableau 14: Diamètres des zones de développement du <i>Phoma sp.</i> en présence des extraits éthanolique des différentes plantes obtenus par macération (en mm).....	53
Tableau 15: Taux d'inhibition des extraits éthanolique de différentes plantes sur <i>Phoma sp.</i> (en mm).....	54

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- **ITAFV**: Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne
- **ILDIS** : International Légume Database and Information Service
- **INPN** : Inventaire National du Patrimoine Naturel
- *M. c* : *Myrtus communis*
- *U. m* : *Uriginea maritima*
- *S. m* : *Shinus molle*
- *U. m* : *Ulmus minor*
- *S. j* : *Spartium junceum*



Introduction

Introduction

Selon **LOUSSERT (1987)**, l'arboriculture fruitière, et plus particulièrement la culture des agrumes, constitue un pilier essentiel du développement économique et social dans de nombreuses régions du monde.

Sur la scène mondiale, les agrumes règnent en maîtres incontestés des fruits les plus produits. En effet, la production moyenne annuelle d'agrumes, toutes variétés confondues, dépasse largement les 110 millions de tonnes (**AGROLIGNE, 2019**).

Malgré leur domination sur la scène fruitière mondiale, les agrumes ne sont pas à l'abri des menaces. Le dépérissement se dresse comme un véritable cauchemar pour les producteurs. Cette maladie aux multiples facettes menace la santé des arbres et compromet durablement la production. Des recherches approfondies ont permis d'identifier plusieurs causes possibles à ce fléau. Parmi les plus redoutées figurent les maladies virales, telles que la tristeza et la psorose, qui s'attaquent sournoisement aux arbres, les affaiblissant et les menant inexorablement à la mort. D'autres investigations ont révélé l'implication d'agents fongiques, comme la gombose et les pourridiés, qui s'en prennent aux racines et au système vasculaire des agrumes, les privant de leurs nutriments essentiels et les condamnant à un dépérissement progressif. Enfin, des facteurs abiotiques, tels que l'excès d'eau ou de sels dans le sol, peuvent également contribuer à l'apparition du dépérissement. Ces stress environnementaux fragilisent les arbres et les rendent plus vulnérables aux attaques des agents pathogènes (**LOUSSERT, 1989**).

Face à ce spectre de menaces, la recherche scientifique se mobilise pour trouver des solutions durables et efficaces pour protéger les agrumes de ce fléau multiforme. L'exploration de pistes alternatives, comme l'utilisation des plantes médicinales, un riche héritage de la tradition et de la pharmacopée naturelle, offre une lueur d'espoir pour l'avenir des vergers.

D'après **GBEKLEY et al. (2017)**, sur la planète Terre, on recense environ 400 000 à 5 millions d'espèces végétales, dont seulement 15 % ont fait l'objet d'études systématiques en vue de la recherche de composés bioactifs. Un potentiel immense reste donc à explorer, notamment dans les contrées riches en biodiversité comme l'Algérie.

La flore algérienne, avec ses 3 000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15 % endémiques, demeure largement méconnue. Ce trésor végétal recèle

Introduction

pourtant un potentiel pharmaceutique considérable, encore à découvrir et à valoriser (**DIF et al., 2015**).

Dans ce contexte nous avons choisi d'étudier cinq plantes qui sont : la scille maritime (*Urginea maritima*), le genêt d'Espagne (*Spartium junceum*), l'Orme champêtre (*Ulmus minor*), le myrte commun (*Myrtus communis*) et le faux pivrier (*Schinus molle*). Cependant, ces plantes ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés biologiques actives, notamment leurs capacités antifongiques, antibactériennes et antioxydantes. Leur potentiel dans la lutte contre diverses maladies des plantes, y compris le dépérissement des agrumes, soulève des questions importantes quant à leur efficacité et à leur mode d'action.

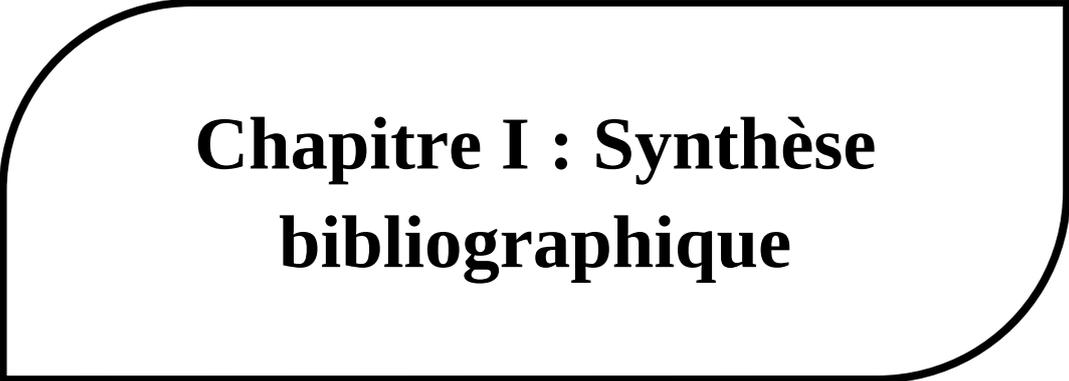
La présente étude contribue à l'extraction éthanolique de cinq plantes par deux méthodes qui sont : extraction par macération et extraction par ultrasons pour la valorisation des ressources naturelles pour une meilleure connaissance phytochimique de quelques plantes d'Algérie et l'évaluation de l'activité antifongique sur deux champignons isolés causant le dépérissement des agrumes.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les agrumes, ses principaux maladies causant le dépérissement et sur les différentes plantes étudiées.

Le deuxième chapitre détaille le matériel et la méthodologie utilisés pour le travail en laboratoire.

Le dernier chapitre est consacré aux résultats obtenus et à leur discussion. Enfin, on clôture avec une conclusion assortie de perspectives terminera cette étude.



**Chapitre I : Synthèse
bibliographique**

I. Synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur les agrumes

Selon LOUSSERT (1985), le terme "agrumes", d'origine italienne, désigne à la fois les fruits comestibles et les arbres qui les portent, appartenant au genre *Citrus*. Ces fruits jouent un rôle essentiel dans les secteurs de l'exportation et de la transformation, étant transformés en divers produits dérivés tels que les jus, les confitures et les essences, et contribuant ainsi à la création d'emplois (LOUSSERT, 1987).

D'après POLESE (2008), les agrumes se présentent sous la forme de petits arbres ou d'arbustes qui peuvent atteindre une hauteur de 2 à 10 m avec des troncs courts, une ramification dense et un feuillage persistantes. Les branches partiellement épineuses subissent plusieurs vagues de croissance, dont la plus importante a lieu au printemps. Ces plantes ont la capacité de produire des fruits de différentes formes et tailles.

I.1.1 Classification des agrumes

D'après DERROCA *et al.* (1992), les agrumes appartiennent à la classification suivante :

	Règne : <i>Plantae</i>
	Division : <i>Embryophyta</i>
	Classe : <i>Dicotylédones</i>
	Sous classe : <i>Archichlomydeae</i>
	Ordre : <i>Géraniales</i>
	Sous ordre : <i>Geraniineae</i>
	Famille : <i>Rutaceae</i>
	Sous famille : <i>Aurantioideae</i>
	Tribu : <i>Citreae</i>
	Genre : <i>Fortunella, Poncirus, Citr</i>

Selon LOUSSERT (1989), le groupe des Citrinae est divisé en trois genres : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*. Chaque genre est divisé en espèces.

- Le genre *Fortunella* renferme 6 espèces dont deux seulement sont cultivées : *Fortunella*, *Japonica* et *Fortunella margarita*, dont les fruits sont connus sous le nom de kumquats.

- Le genre *Poncirus* comprend uniquement l'espèce *Poncirus trifoliata*, qui est utilisée uniquement comme porte-greffe. Le fruit n'est pas comestible et les feuilles ont trois folioles et sont caduques.
- Le genre *Citrus* contient les espèces cultivées les plus importantes et les espèces connues comprennent :
 - ✓ Les oranges: *Citrus sinensis*, dont on trouve les navels, les blondes, les sanguines, les demis sanguins et les douces.
 - ✓ Les citronniers: *C. limon*.
 - ✓ Les clémentiniers: *C. clementina*.
 - ✓ Les cédratiers: *C. medica*.
 - ✓ Les mandariniers: *C. reticulata*.
 - ✓ Les bigaradiers: *C. aurantium*.
 - ✓ Les pamplemoussiers: *C. grandis*.
 - ✓ Les pomelos: *C. paradisi*.

I.2 Maladies du dépérissement des agrumes

Les agrumes sont vulnérables à une gamme variée de maladies, qu'elles soient cryptogamiques, bactériennes ou virales. Ces affections peuvent causer des dommages significatifs à l'arbre, Nous désignons par maladies de dépérissement des affections qui diffèrent par leur nature, mais qui se caractérisent généralement par une progression lente, conduisant souvent à la mort de la plante dans son intégralité (SALIM, 2011).

I.2.1 Maladies cryptogamiques

De nombreuses maladies fongiques sont susceptibles de causer le dépérissement des agrumes et qui peuvent affecter les feuilles, les racines et les fruits. Les dégâts causés par ces maladies sont importants, que ce soit par leur influence sur la durée de vie des arbres que par les pertes qu'elles entraînent sur la production. Ces maladies sont résumées dans le tableau suivant (Tableau 1) :

Tableau 1: Maladies cryptogamiques des agrumes (LOUSSERT, 1989).

Maladies	Agents phytopathogènes	Symptômes	Figures
La gommosse phytophtora	Les trois espèces de champignon les plus importantes sont : <i>P. citrophthora</i> , <i>P. nicotianae var. Parasitica</i> , <i>P. palmivora</i> .	<ul style="list-style-type: none"> Coloration brune du de l'écorce du tronc . Les feuilles jaunissent et tombent de manière inhabituelle, indiquant un début de dépérissement. Les plantes fleurissent à des moments inhabituels et produisent des fruits mous avec une peau fine. 	 
La fumagine	Le champignon <i>Capnodium citri</i> et peuvent être causé par une forte attaque de cochenilles et une forte pullulation de puceron ou d'aleurode .	<ul style="list-style-type: none"> Des dépôts noirs, semblables à de la suie, sont présents sur les feuilles ou les fruits Ces dépôts entravent le bon fonctionnement des feuilles, les empêchant de respirer correctement, ce qui entraîne leur jaunissement et leur chute prématurée. 	
L'antracnose	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dessèchement des jeunes rameaux et les extrémités des branches. Des petites taches sombres sont visibles sur les feuilles et les rameaux qui sont desséchés. 	

<p>Le mal seco</p>	<p><i>Phoma tracheiphila.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Chlorose des pousses. • Dépérissement progressif des branches, en commençant par le sommet. • Des points noirs apparaissent sur les rameaux flétris dans les zones gris-plomb, identifiés comme des pycnides. • Dépérissement unilatéral ou totale des arbres. • Les racines subissent une pourriture sèche, se colorant en brun ou en marron. 	
<p>La moniliose</p>	<p><i>Monilia sp.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Le fruit demeure attaché à l'arbre jusqu'à son commencement de pourrissement. • Présence des taches brunes sur le fruit, accompagnée de pustules blanches disposées en cercles concentriques. • Pourriture entière des fruits et s'est desséché. 	
<p>La ménélose</p>	<p><i>Phomopsis citri.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Des taches noires rugueuses sont observées sur la face inférieure des feuilles, avec des traînées noirâtres semblables à des coulures sales sur les fruits. • Des zones brunes apparaissent, parfois sous 	

		forme de taches étendues ou plus fréquemment sous forme de larmes.	
Le greasy-spot	<i>Mycosphaerella citri.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Des taches brunes huileuses de tailles très variables sont visibles sur la face inférieure des feuilles, rarement couvrant entièrement la surface de la feuille, mais parfois se rejoignant pour former de larges zones. 	
La Pourriture sèche racinaire ou pourriture fusariene	<i>Fusarium solani</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Mort brutale des arbres. • Dépérissement affectant un seul côté des arbres. • Les racines sont touchées par une pourriture sèche, se colorant en brun ou en marron. 	
Pourridié ou pourriture des racines	<i>Rosellinia necatrix.</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Il envahit les racines et les troncs sous forme de filaments blanchâtres situés entre l'écorce et le bois. Ces parties de l'arbre sont alors attaquées et pourrissent. • Provoquant l'arrêt de la circulation de la sève et par suite la mort de l'arbre 	

<p>Les moisissures et les pourritures des fruits</p>	<p>Plusieurs champignons : <i>Penicillium italicum</i>, <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Phytophthora sp.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Les fruits subissent des altérations qui les rendent impropres à la consommation, avec trois types principaux : <ul style="list-style-type: none"> • Moisissure bleue causée par <i>Penicillium italicum</i>. • Moisissure verte provoquée par <i>Penicillium digitatum</i>. • Pourriture brune induite par <i>Phytophthora sp.</i> 	
---	---	---	---

I.2.2 Maladies bactériennes

Selon **CHAPOT et VITTORIO (1996)** , une maladie bactérienne, également connue sous le nom de bactériose, est une forme d'infection provoquée par la présence de bactéries. Parmi les diverses maladies bactériennes qui peuvent affecter les agrumes, on les trouve dans le tableau suivant (**Tableau 2**) :

Tableau 2: Maladies bactériennes des agrumes.

Maladies	Agents phytopathogènes	Symptômes
Le stubborn	<i>Spiroplasma citri</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Déformation des fruits en forme de gland. • Les fruits peuvent être de petits calibres et atteindre différents stades de maturation, ce qui peut résulter de floraisons échelonnées. • Les feuilles peuvent avoir une position érigée et un limbe relevé en forme de cuillère ou de rosette. • Les fruits peuvent également présenter une inversion de coloration (ITAFV , 2021).
Le chancre	<i>Xanthomonas campestris PV. Citri</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Au départ, les lésions se présentent sous forme de taches ponctuelles, qui évoluent ensuite en petites pustules surélevées ou en éruptions. • Initialement de couleur claire, les lésions virent au brun par la suite, et sont entourées d'un halo jaune avec des bordures présentant un aspect huileux ou grassex (ITAFV , 2021).
Flétrissement des agrumes	<i>Pseudomonas syringae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Manifestation par la présence de taches brun rouge sur les rameaux, accompagnées d'un exsudat bactérien. • Ces taches peuvent également apparaître après la cueillette, entraînant une perte significative de la valeur et de la qualité des fruits. (COLOMBO, 2004).
Chlorose panachée des agrumes ou chlorose variegée des agrumes	<i>Xylella fastidiosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Jaunissement ou chlorose entre les nervures des feuilles matures, avec des lésions brunes similaires à de la gomme en dessous. • Les fruits sont considérablement réduits en taille et en quantité, devenant durs et mûrissant prématurément. • Une floraison anormale et un retard de croissance chez les arbres touchés (COLITTA, 2020).

Verdissement des agrumes	<i>Candidatus Liberibacter asiaticus et Candidatus Liberibacter africanus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Les feuilles présentent des Décolorations asymétriques et une diminution de taille des feuilles, adoptant un aspect panaché ou marbré avec des taches vert-clair/jaunes et vert-foncé. • Au début de l'infection, une ou plusieurs tiges des rameaux peuvent devenir jaunes, puis à un stade avancé, toutes les branches jaunissent, occupant la totalité de la canopée. • Les fruits montrent un aspect asymétrique, avec une coloration partielle à l'approche de la maturité, et des graines avortées lorsqu'ils sont ouverts. • Les arbres perdent en productivité et meurent après quelques années (TIM, 2018).
---------------------------------	---	---

I.2.3 Maladies virales

Selon TAHIRI (2007), les maladies virales des agrumes constituent un groupe de maladies transmissibles par greffage et par des vecteurs spécifiques. Les maladies virales représentent la menace la plus sérieuse et la plus dévastatrice pour les agrumes à l'échelle mondiale. Dans le bassin méditerranéen, elles entraînent des troubles qui réduisent non seulement la productivité des arbres, mais aussi leur durée de vie.

Les principales virus constituant une menace pour l'agrumiculture sont cités dans le tableau suivant (**Tableau 3**):

Tableau 3: Principales maladies virales des agrumes (ITAFV , 2021).

Maladies	Agents phytopathogènes	Symptômes
La Tristeza	La Tristeza est la maladie la plus dangereuse pour l'agriculture des agrumes en Méditerranée. Elle est transmise par greffage, bouturage et par plusieurs vecteurs de la maladie, notamment : Les pucerons brun, le puceron noir des agrumes, et le puceron vert.	<ul style="list-style-type: none"> • Une nécrose du phloème se développe dans l'écorce au niveau de la zone de jonction entre le greffon et le porte-greffe. • Les tubes criblés et les cellules-compagnes se détériorent sous le point de greffage, entraînant un arrêt du flux de sève élaborée vers les racines. Cela conduit à un rétrécissement du porte-greffe par rapport à la variété, souvent désigné comme un "étranglement en goulot de bouteille renversé". • Les arbres montrent des signes de dépérissement, de rabougrissement et parfois un déclin total.
L'Exocortis	L'Exocortis est une maladie virale causée par (<i>Citrus Exocortis Viroïd</i>), présente dans tout le bassin méditerranéen.	<ul style="list-style-type: none"> • Le symptôme principal est un écaillage variable de l'écorce du porte-greffe, selon la gravité de la maladie. • L'écaillage entraîne une circulation de sève perturbée, conduisant à un affaiblissement général de l'arbre, se traduisant par un nanisme, un jaunissement des feuilles et une diminution des rendements.
La psorose	La Psorose, causée par le <i>Citrus psorosis virus</i> , est une maladie virale largement répandue parmi les vergers d'agrumes. La forme la plus courante et la mieux reconnue par les agriculteurs est la forme écailleuse.	<ul style="list-style-type: none"> • Des écailles ou desquamations se forment sur le tronc, progressant ensuite vers les branches principales. Sous l'écorce craquelée, les tissus sous-jacents restent verts, indiquant la présence de pigments chlorophylliens. • Les Psoroses peuvent être détectées avant l'apparition des premiers symptômes sur l'écorce. Au printemps, une décoloration caractéristique apparaît de part et d'autre de la nervure centrale des feuilles, ressemblant à une feuille de chêne.

La Cachexie	<p>La Cachexie, également connue sous le nom de Xyloporose (<i>Citrus cachexia viroid</i>), est une maladie virale répandue dans presque toutes les régions agrumicoles du monde.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Les arbres montrent une diminution de leur vigueur, se manifestant comme un rachitisme. • Les feuilles sont plus petites à l'extrémité des rameaux et présentent un jaunissement des limbes. • Observation d'un dépôt de gomme sur l'écorce, variant en couleur du châtain au noir. • L'écorce se détache partiellement sous forme d'écailles. • Aucun symptôme n'est observé sur les fruits.
--------------------	---	---

I.3 Présentation des plantes étudiées

I.3.1 Myrte commun (*Myrtus communis*)

I.3.1.1 Classification taxonomique

D'après la classification botanique de **GOETZ et GHEDIRA (2012)**, le Myrte commun appartient :

	Règne : Plantae
	Sous-règne : Eucaryotes
	Embranchement : Spermaphytes
	Sous-embranchement : Angiospermes
	Classe : Dicotylédones
	Ordre : Myrtales
	Famille : Myrtaceae
	Genre : <i>Myrtus</i>
	Espèce : <i>Myrtus communis L.</i>

I.3.1.2 Noms vernaculaires

Selon **GOETZ et GHEDIRA (2012)**, le myrte commun est appelé différemment selon les pays où il est présent :

- **Français :** Myrte commun.
- **Anglais :** Common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.
- **Arabe :** Arrayan, A'as, rihan أس, الريحان
- **Berbère :** Tarihant, Chilmoune

- **Corse** : Morta, mortula
- **Espagnol** : Arrayan, mirto, mortella, mortin
- **Italien** : Mirto.
- **Allemand** : Braut-Myrte, Brautmyrte

I.3.1.3 Description botanique

D'après **MESSAOUD et al., (2011)**, le myrte commun, est un arbuste typique de la flore méditerranéenne, est caractérisé par sa nature phanérophte sempervirente et son statut diploïde avec un ensemble chromosomique de 22.

Selon **SALAH et al., (1995)**, cet arbuste atteint généralement entre 2 et 3 mètres de hauteur. Ses feuilles commencent en été et sont disposées de manière opposée, ovales-lancéolées et pointues, entières, coriaces et persistantes, mesurant environ 3 cm de long sur 1 cm de large, avec une nervure principale pennée. Ses fleurs blanches, d'une longueur comprise entre 10 et 15 mm, sont solitaires et portées sur de longs pédoncules axillaires. Elles dégagent un parfum agréable. Les calices sont fusionnés au tube ovarien, avec 5 lobes étalés et 5 pétales, de nombreuses étamines, un style unique avec un stigmate simple, et un ovaire infère. Ses fruits atteignent leur pleine maturité au mois de novembre, ils sont ovoïdes et de la taille d'un pois chiche, sont légèrement charnus, de couleur noir bleuâtre, contenant peu de graines.

I.3.1.4 Composition chimique

Le Myrtus est une plante réputée pour ses qualités aromatiques et médicinales, renfermant une variété d'antioxydants naturels. Parmi ses composants, on trouve des métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles, comme mentionné par **SINGER et ses collègues en 2003**.

I.3.2 Genêt d'Espagne (*Spartium junceum L.*)

I.3.2.1 Classification taxonomique

Selon la base de données mondiale **ILDIS (2017)**, la classification du *S. junceum (L.)* suit le taxon suivant:



Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Superdivision : Spermatophta
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliolipsida
Sous-classe : Rosidae
Ordre : Fabales (Bromhead)
Famille : Fabaceae (Lindl.)
Sous-famille : Papilionoideae (Faboideae)
Genre : <i>Spartium</i>
Espèce : <i>Spartium junceum L.</i>

I.3.2.2 Noms vernaculaires

D'après **Admin-Tela-Botanica. (2011)**, le genêt d'Espagne est appelé différemment selon les pays où il est présent :

- **Français :** Spartier jonc, Genet d'Espagne, Spartier a tiges de jonc, Sparte, Spartion.
- **Anglais :** Spanish broom.
- **Arabe :** Tertak, Kessaba.
- **Berbère :** Adardak.
- **Espagnol :** Retama, Ginesta, Retama de olor, Gayomba, Hiniestra, Retama de flor.
- **Italien :** Ginestra odorosa, Ginestra di Spagna, Ginestra comune.

I.3.2.3 Description chimique

D'après **MARTIN (2009)**, le genêt d'Espagne est un arbuste doté d'une souche ligneuse, de la famille des fabacées (Légumineuses) capable d'atteindre jusqu'à 2 mètres de hauteur, parfois même 5 mètres. Ses branches flexibles sont fines et cylindriques, d'un vert bleuâtre glauque à un vert plus foncé.

Les feuilles, caduques et peu nombreuses, apparaissent brièvement au printemps, d'un ton vert bleuté. Durant l'été, la plante perd ses feuilles pour limiter la transpiration excessive et favoriser une photosynthèse réduite.

Ses fleurs jaunes regroupées en grappes lâches, avec un calice à 4 à 5 dents et une corolle à 5 pétales. Les étamines sont soudées en un tube et le style est incurvé. Elle produit ensuite des gousses aplaties qui virent progressivement au noir à maturité. Ces gousses

libèrent des graines noires réniformes lorsqu'elles sont mûres, facilitant leur propagation et lui valant le surnom de "Mort jaune".

I.3.3 Faux poivrier (*Schinus molle*)

I.3.3.1 Classification taxonomique

KASIMILA *et al.* (2011), rappellent que la classification botanique du faux poivrier est comme suit:

	❖ Règne : Plantae
	❖ Embranchement : Magnoliophyta
	❖ Classe : Magnoliopsida
	❖ Ordre : Sapindales
	❖ Famille : Anacardiaceae ou Térébinthaceae
	❖ Genre : <i>Schinus</i>
	❖ Espèce : <i>Schinus molle</i> (L., 1753)

I.3.3.2 Description botanique

Le *Schinus molle* est un arbre qui peut atteindre une hauteur de 15 mètres. Il appartenant à la famille botanique des Anacardiaceae (Anacardiaceae ou Terebinthaceae), se distingue par son feuillage persistant dégageant une odeur de térébinthe avec une couleur verte sombre. Ils sont composées de 15 à 20 paires de folioles étroites et dentées, avec une foliole terminale plus grande mesurant entre 4 et 9 cm de long sur 1,5 à 3,5 cm de large. Ses rameaux pendent grêles vers le sol. Au printemps, il fleurit en longues grappes pendantes, avec de petites fleurs unisexuées de couleur jaune verdâtre (PATRICK ANDERSON,1992). Les fruits sont de petites drupes rougeâtres, regroupées en grappes de 4 à 6 mm de diamètre, rappelant en taille et en saveur le grain de poivre, renfermant chacune une seule graine de couleur brune (LESLIE TAYLOR, 2002).

I.3.3.3 Importance

La littérature abonde en preuves des multiples effets du *S. molle*. Il possède des propriétés répulsives et insecticides (ABDEL SATTAR *et al.*, 2010), antimicrobiennes (DEVECI *et al.*, 2010) et antifongiques (RHOUMA *et al.*, 2009).

I.3.4 Scille maritime (*Urginea maritima*)

I.3.4.1 Classification taxonomique

Selon (DAOUDI et *al.*, 2017), la Classification systématique d'*Urginea maritima* (L.)

Baker est :

	Règne : Plantae
	Classe : Monocotyledoneae
	Ordre : Asparagale
	Famille : Asparagaceae (liliacée)
	Genre : <i>Urginea</i> L.
	Espèce : <i>Urginea maritima</i> (L.) <i>Baker</i>

I.3.4.2 Noms vernaculaires

❖ Nom scientifique

Urginea maritima L. Baker, *Urginea indica*, *Drimia maritima*, *Urginea scilla*, *Urginea indica*, *scille maritime*, *Scilla indica* (JOLY, 2010).

❖ Noms communs

- **En anglais:** Sea Onion, Wild Onion, Indian squill, Red squill.
- **En français:** Urginée maritime, oignon marin, Scille maritime, Scille officinale, Scille européenne, Scille méditerranéenne.
- **En arabe:** Ansal, Bçal al far, Faraoun.
- **En berbère :** Achkil.

I.3.4.3 Description botanique

BRUNETON, (1996) décrit que *Urginea maritima* L. Baker comme une plante bulbeuse originaire de la région méditerranéenne, se distingue par son bulbe massif en forme d'ovoïde, pouvant atteindre un diamètre de 15 à 30 cm et un poids pouvant aller jusqu'à 3 à 4 kg.

Sa tige florale robuste et dressée peut atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur. Les grandes feuilles, apparues en touffes au printemps, mesurent entre 3 et 10 cm de largeur et entre 30 et 100 cm de longueur. Elles sont vert foncé, brillantes, épaisses, parfois ondulées et pointues à leur sommet.

Les fleurs blanches, petites et étoilées, sont abondantes et disposées en longues grappes serrées sur la tige, apparaissant de juillet à octobre (TRUELLE, 2009; GRIVE, 2011).

I.3.4.4 Composition phytochimiques

U. maritima est riche en glycosides cardiaques, principalement des bufadienolides, constituant environ 1 à 3% de la plante (KOPP et al., 1996). En plus de cela, on trouve des anthocyanines, des flavonoïdes (FERNANDEZ et al., 1972), des acides gras, des polysaccharides (SPIES et al., 1992) et de l'oxalate de calcium (COGNE et al., 2001). Cette espèce renferme également des tanins, des composés réducteurs, des anthraquinones combinées, du mucilage, des triterpènes et des stéroïdes (BELHADDAD et al., 2017). Ces différents composés possèdent des activités biologiques et pharmacologiques remarquables.

I.3.5 Orme champêtre (*Ulmus minor*)

I.3.5.1 Classification taxonomique

D'après (INPN), la classification de l'Orme champêtre est la suivante:

	Règne : Plantae
	Sous-règne : Tracheobionta
	Superdivision : Spermatophta
	Division : Magnoliophyta (Angiospermes)
	Classe : Magnoliolipsida
	Sous-classe : Rosidae
	Ordre : Rosales
	Famille : Ulmaceae
	Genre : <i>Ulmus</i>
	Espèce : <i>Ulmus minor</i> Mill., 1768

I.3.5.2 Noms vernaculaires

L'orme champêtre, scientifiquement nommé *Ulmus campestris* ou *Ulmus minor*, est connu en France sous le nom d'orme champêtre. Dans les pays anglo-saxons, il est appelé Elm. En arabe, il est localement surnommé N'chem, et en kabyle, il est appelé Oulmou (KHALLADI et MADACI., 2016).

I.3.5.3 Description botanique

Selon AESCHIMAN et *al.* (2004), l'orme champêtre est un arbre à tige droite qui, en forêt, atteint rarement plus de 25 mètres de hauteur. En revanche, lorsqu'il est planté dans des parcs ou le long des allées, il peut atteindre jusqu'à 45 mètres de hauteur et 2 mètres de diamètre. Cet arbre peut vivre très longtemps, jusqu'à 300 ou 350 ans. Ses feuilles présentent un limbe nettement asymétrique à la base, et son écorce brun noir est profondément fissurée en plaques. Les glomérules de fleurs apparaissent en plein hiver, généralement en février. Le fruit de l'orme champêtre est une samare.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

Le présent travail contribue à la valorisation de cinq plantes qui se présente en Algérie anciennement utilisée en médecine traditionnelle « *M. communis*, *U. maritima*, *S. molle*, *Ulmus minor* et *S. junceum* ». Afin de réaliser cette étude, les objectifs suivants ont été fixés:

- Caractérisation phytochimique des extraits de « *M. communis*, *U. maritima*, *S. molle*, *Ulmus minor* et *S. junceum* ».
- Extraction éthanolique de ces cinq plantes par deux méthodes : extraction par macération et extraction assisté par ultrasons.
- L'évaluation de l'activité antifongique in vitro des extraits des cinq plantes contre deux champignons causant le dépérissement des agrumes.

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétale

II.1.1.1 Plante hôte

Dans notre analyse expérimentale, nous utilisons comme matériel végétal les différentes parties des arbres d'agrumes (**figure 01**) échantillonnées le 14 Avril 2024 au niveau de la région de Lkhdaria wilaya de Bouira. Ces parties végétales présentent des symptômes caractéristiques de maladies de dépérissement.



Figure 1: Mandariniers (Originale, 2024).

II.1.1.2 Plantes utilisées

Dans cette étude cinq espèces dissemblables : *M. communis*, *U. maritima*, *S. molle*, *Ulmus minor* et *S. junceum* récoltées dans différentes régions de la wilaya de Bouira ont été utilisées (Tableau 04) :

Tableau 4 : Photographie, date et lieu de récolte des plantes étudiées durant ce travail.

Espèce	Lieu et date de récolte	Parties végétale	Photo
Myrte commun <i>(Myrtus communis)</i>	Avril (2024) à Lakhdaria	Feuilles	
Scille maritime <i>(Urginea maritima)</i>	Avril (2024) à Imesdurar, M'chedallah (Bouira)	Feuilles	
Genêt d'Espagne <i>(Spartium junceum)</i>	Avril (2024) à Ath Vouali, M'chedallah (Bouira)	Fleurs	

<p>Faux poivrier (<i>Shinus molle</i>)</p>	<p>Avril (2024) à Ath Vouali, M'chedallah (Bouira)</p>	<p>Feuilles</p>	
<p>II Orme champêtre (<i>Ulmus minor</i>)</p>	<p>Avril (2024) à Imesdurar, M'chedallah (Bouira)</p>	<p>Feuilles</p>	

II.1.2 Matériel fongique

Des extraits préparés des cinq plantes ont été testés contre deux champignons phytopathogènes *Phoma sp.* et *Colletotrichum spp.* (Figure 02) qui sont identifiées par Mme MEBDOUA Samira.

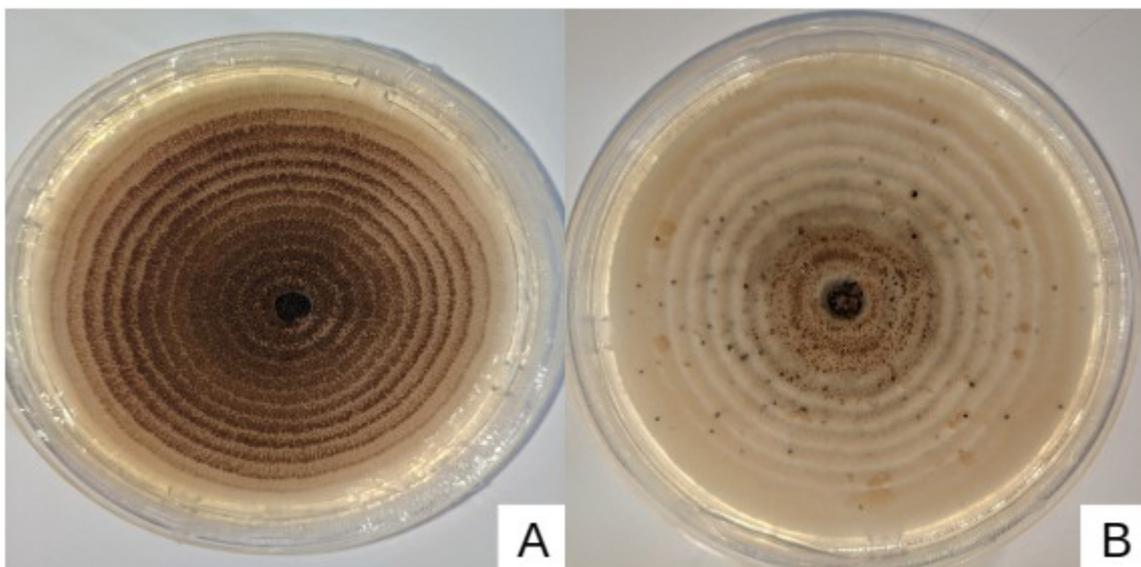


Figure 2: A: *Phoma tracheiphila*. B: *Colletotrichum sp.* (Originale, 2024).

II.2 Préparation de matériel végétale

Notre étude a été réalisée sur quatre plantes médicinales : *M. communis*, *U. maritima*, *S. molle*, *U. minor* et *S. junceum*, récoltées au niveau de la région de Bouira, au mois d'avril 2024. L'identification taxonomique de ces plantes a été effectuée et confirmée à l'aide d'une application qui s'appelle « Pictur This ».

II.2.1 Récolte de la matière végétale

La récolte est généralement effectuée au printemps (Avril 2024), ensuite les plantes sont triées au laboratoire, Les feuilles et les fleurs des plantes sont prélevées de leurs tiges à l'aide d'un ciseaux puis elles sont conservées dans des sacs en papier pour éviter leurs destructions.

II.2.2 Nettoyage et séchage

Les feuilles et les fleurs retirées des plantes ont été bien nettoyées à l'eau courante afin de les débarrasser de la poussière et des matières étrangères. Elles ont été séchées à température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière pendant 10 jours (Figure 03).



Figure 3: Séchage des plantes: A: *S. molle*, *U. maritima*, *S. junceum*, *M. communis* (Originale, 2024).

II.2.3 Broyage et tamisage

Dans un broyeur électrique le matériel végétal a été broyé puis tamisé jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène (**Figure 04**), puis tamisées pour éliminer les grandes particules. Les poudres obtenues ont été stockées dans des boîtes opaques fermées hermétiquement afin d'éviter d'éventuels dégradation par l'humidité ou la lumière.



Figure 4: Broyage des plantes (**Original, 2024**).

II.2.4 Préparation des extraits éthanoliques

L'extraction a été réalisée au niveau des laboratoires de la faculté des Sciences Agronomiques de l'université Akli Mohand Oulhadj (Bouira).

L'étape d'extraction est cruciale dans le processus d'analyse et d'identification des molécules bioactives. Typiquement, l'extraction de produits naturels se fait selon le principe solide-liquide comme souligné **MENDIOLA et al. (2007)**.

Afin d'extraire les principes actifs des plantes testées, une extraction de type solide/liquide (macération et extraction assisté par ultrasons) a été réalisée avec le solvants éthanol pure.

II.2.4.1 Extraction par macération

L'extraction éthanolique a été réalisée selon le protocole de **RAJA (2012)**, avec quelques modifications. 50 g de poudre de chaque échantillon ont été mis à macérer dans 500 ml d'éthanol pur à 96 % dans une fiole Erlenmeyer stérile, recouverte de papier aluminium. Le mélange a été soumis à une agitation mécanique à température ambiante pendant 24

heures. À la fin de la macération, une filtration a été effectuée avec un papier filtre Whatman (N°1) pour séparer le solide du liquide (**Figure 05**). Les solutions obtenues ont ensuite été évaporées dans une étuve à 40 °C, puis l'extrait pur a été récupéré dans des Eppendorf et conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation.

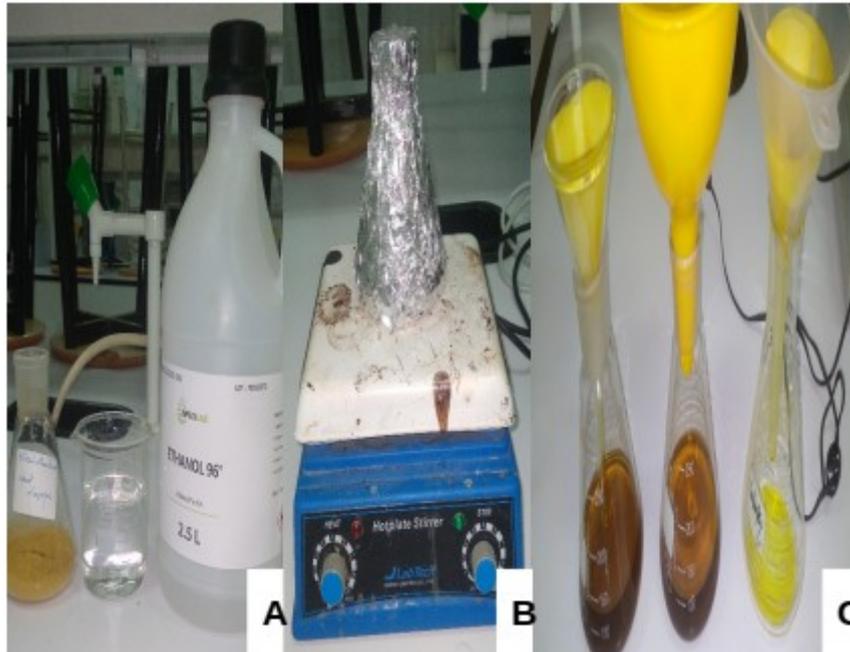


Figure 5: A: Préparation des extraits éthanoliques. B: Macération des poudres pendant 24H. C: Filtration des extraits (**Originale, 2024**).

II.2.4.2 Extraction assistée par ultrasons

La poudre des quatre plantes (50g de chaque plantes) est mélangée à un volume de 500 mL d'éthanol pure 96 % (la concentration a été choisie selon le modèle expérimentale) dans un bécher. Ensuite, ces derniers ont été immergés dans un bain d'eau de sonication, et irradiés à une puissance de 50 Hz à température de 50 °C pendant 60 minutes. Après l'extraction, les mélanges ont été filtrés et étuvés pendant 12 h avec une température de 45°C puis les récupérés dans des Eppendorf et les stockés à 4 °C dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation ultérieure (Figure 06).

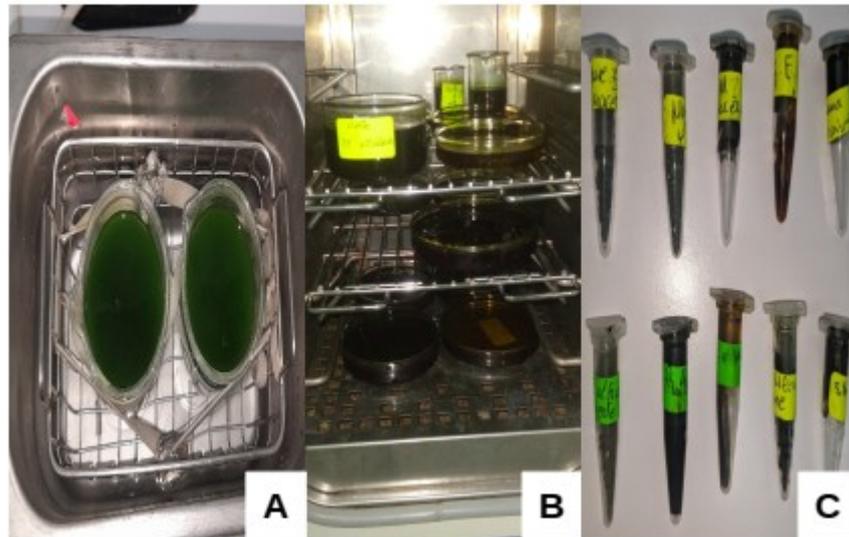


Figure 6: A: Extraction par ultrasons, B: Séchage des extraits dans l'étuve, C: Extraits secs.

II.2.5 Calcul de rendement

Selon **ZOUAOUI et al. (2018)**, le rendement de l'extraction des extraits de différentes plantes est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R \% = (M - M_0) / MT \times 100$$

R% : taux de la matière extraits.

M : masse du ballon après l'extraction.

M₀ : masse de ballon vide (avant l'extraction).

MT : masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

II.3 Analyse qualitative

Les tests de l'analyse qualitative de notre plantes sont réalisés au sein du laboratoire de la faculté des Sciences Agronomiques de l'université de Bouira.

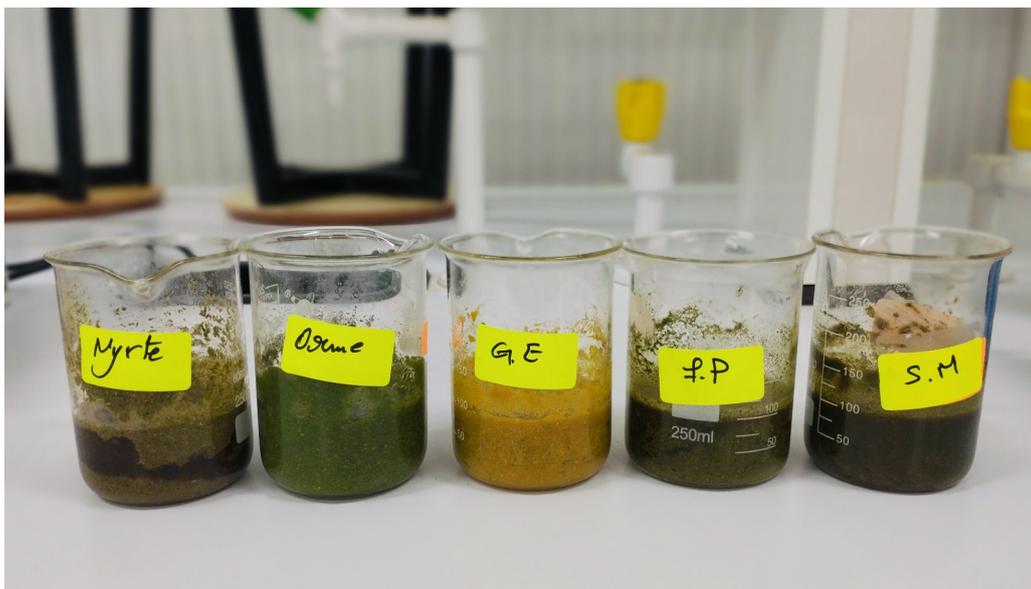


Figure 7: Décoctés de différentes plantes (Original, 2024).

II.3.1 Screening phytochimique

Le criblage phytochimique a été effectué sur les décoctés aqueux des parties utilisés des différentes plantes, ainsi que directement sur la poudre végétale, en utilisant une méthode standard basée sur l'observation des réactions de coloration et/ou de précipitation afin de déterminer les divers groupes chimiques présents dans l'extrait végétal.

II.3.1.1 Préparation des décoctions aqueuses

Pour préparer une décoction aqueuse, 10 g de poudre végétale de chaque plante utilisée (feuille ou fleurs) ont été ajoutés à 100 ml d'eau distillée (Figure 07). Le mélange a été porté à ébullition pendant une heure, puis laissé à refroidir avant d'être filtré.

❖ Détection des Substances phénoliques

La présence de polyphénols a été vérifiée par la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). À 2 ml de chaque décoction aqueuse, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols (N'GUESSAN *et al.*, 2009).

❖ Détection des coumarines

Les coumarines ont été identifiées à l'aide de la réaction du cycle lactonique. Pour cela, 2 ml d'extrait végétal ont été placés dans un tube à essai, puis 3 ml de NaOH à 10 % ont été ajoutés. Après agitation du mélange, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarine (DAIRA *et al.*, 2016).

❖ Saponosides

Pour détecter les saponosides, 1 g de poudre végétale est ajouté à 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer. Le mélange est porté à ébullition au bain-marie pendant 30 minutes, en agitant régulièrement. Après refroidissement, le mélange est filtré, puis le filtrat est agité manuellement pendant 15 secondes. La persistance de la mousse indique la présence de saponosides (NAJJAA *et al.*, 2011).

❖ Tanins

Pour détecter les tanins, 1,5 g de matériel végétal sec est placé dans 10 ml de méthanol à 80% et agité pendant 15 minutes, puis filtré. Quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl₃) à 1% sont ajoutées à l'extrait méthanolique préparé. En présence de tanins galliques et ellagiques, une coloration bleu-noir est observée, tandis que les tanins catéchiques produisent une coloration brune verdâtre (ALILOU *et al.*, 2014).

❖ Terpènes

Les terpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann-Burchard. Pour cela, 1 ml d'anhydride acétique est ajouté à 5 ml de décoction, suivi d'une bonne agitation. Ensuite, 1 ml d'acide sulfurique concentré est délicatement ajouté au fond du tube sans agiter. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet à l'interphase, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (N'GUESSAN *et al.*, 2009).

❖ Quinones libres

L'ajout de quelques gouttes de soude caustique (NaOH) à une tisane permet de détecter la présence de quinones libres. En effet, si ces molécules sont présentes, la couleur de la tisane changera en jaune, rouge ou violet (ALLANGBA *et al.*, 2016).

❖ Anthraquinones

L'ajout d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% à une décoction de feuilles ou de bulbes permet de détecter la présence d'antraquinones. En effet, si ces composés sont présents, la couleur de la décoction virera au rouge (NAJJAA *et al.*, 2011).

❖ Anthocyanines

Ce test consiste à ajouter successivement 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) et 5 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 5 ml de l'extrait aqueux. Si des anthocyanines sont présentes, la solution présentera une coloration rouge en milieu acide et bleu-violacée en milieu basique (DAIRA *et al.*, 2016).

❖ Amidon

Pour détecter l'amidon, on commence par préparer une solution d'iode en mélangeant de l'iode avec de l'iodure de potassium (KI) dans de l'eau. Ensuite, quelques gouttes de cette solution d'iode sont ajoutées à la poudre de chaque poudre. La présence d'amidon est confirmée par l'apparition d'une couleur bleue à noire (HARBORNE, 1998).

❖ Leuco-anthocyanes

Pour détecter les leucoanthocyanes, on mélange l'extrait végétal avec une solution de butanol-HCl et quelques gouttes de FeCl₃, puis on chauffe le tout au bain-marie, la formation d'une couleur rouge indiquant leur présence (DAIRA *et al.*, 2016).

❖ Détection des glucosides

Pour détecter les glycosides, un mélange de 1 ml d'acide acétique glacial, 1 ml de FeCl₃ et 1 ml de H₂SO₄ a été ajouté à 2 ml de filtrat. La formation d'une couleur vert-bleu indique la présence de glycosides (PAREKH *et CHANDA*, 2007).

❖ Iridoïdes

L'identification des iridoïdes consiste à ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) à l'extrait décocté et à chauffer le mélange. Si des iridoïdes sont présents, un précipité noir se formera dans la solution (NAJJAA *et al.*, 2011).

❖ Mucilage

Pour identifier la présence de mucilages dans un extrait végétal, on mélange 1 ml de la décoction aqueuse avec 5 ml d'alcool absolu dans un tube à essai et on laisse reposer pendant 10 minutes. La formation d'un précipité floconneux confirme la présence de mucilages (BAMMOU *et al.*, 2015).



Figure 8: Criblage phytochimique de Genêt d'Espagne (Originale, 2024).



Figure 9: Criblage phytochimique de *M. communis* (Originale, 2024).



Figure 10: Criblage phytochimique de *S. maritima* (Originale, 2024).

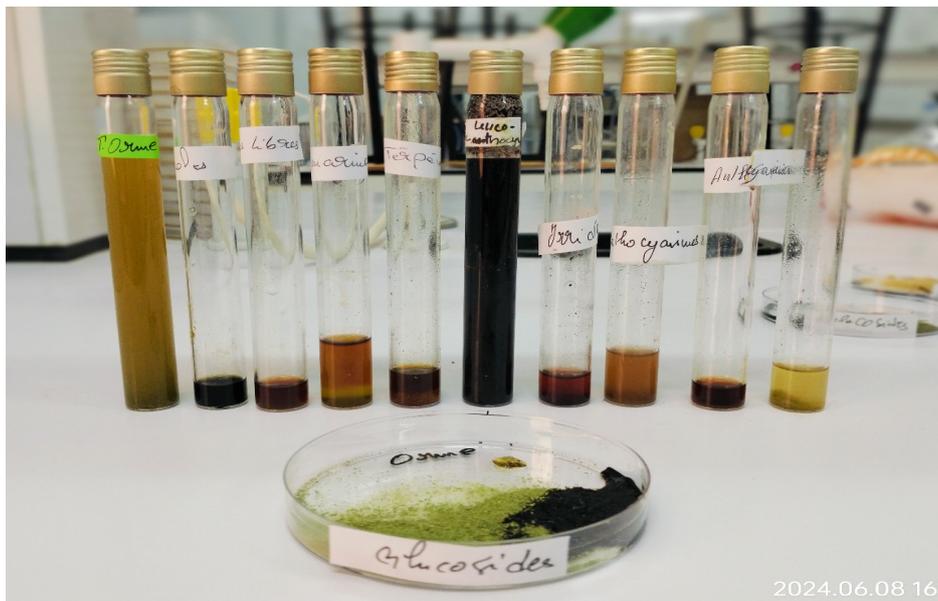


Figure 11: Criblage phytochimique de l'Orme champêtre (Originale, 2024).



Figure 12: Criblage phytochimique de Faux poivrier (Originale, 2024).

II.4 Évaluation de l'activité antifongique

Cette partie du travail a été réalisée dans les laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre de l'Université de Bouira.

L'objectif principal de ce test est l'évaluation de l'effet fongicide in vitro des extraits du cinq plantes extraite par deux méthodes (macération et ultrasons), sur deux souches du champignons phytopathogènes *Cholletotrichum spp.* et *Phoma traphicheila*, responsable de dépérissement des agrumes.

II.4.1 Préparation de milieu de culture

Le choix des milieux de culture pour tout parasite dépend de ses exigences nutritionnelles. Le milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar), a été utilisé pour la croissance des champignons (RAPPILY, 1968).



Figure 13: Préparation de milieu de culture PDA (Originale, 2024).

Pour préparer un milieu de culture PDA commercialisé, commencez par calculer la quantité nécessaire pour 150 ml, ce qui correspond à 5,85 g de poudre de PDA. Pesez cette quantité avec précision à l'aide d'une balance. Mélangez ensuite les 5,85 g de poudre de PDA avec 150 ml d'eau distillée dans des flacons appropriés (Figure 13). Stérilisez le milieu de culture en autoclave à 121°C pendant 2 heures. Laissez ensuite les flacons refroidir à température ambiante. Le versement du PDA dans des boîtes de Pétri se fait sous une hotte stérile, chaque flacon de 150 ml permettant de remplir 10 boîtes.

II.4.2 Isolement

Les échantillons sont préparés selon les étapes principales suivantes : tout d'abord, de différents petits fragments situant entre les parties saines et attaquées qui se présentent des symptômes de dépérissement sont découpées à l'aide d'un scalpel stérile dans des conditions aseptiques. Ensuite, elles sont désinfectées dans une solution d'éthanol à 2 % pendant 5 minutes, puis elles sont rincées deux fois dans de l'eau distillé stérile pendant 5 minutes chacune, puis séchées sur papier buvard stérilisé. Enfin, ces fragments sont déposés dans des boîtes pétries contenant le milieu PDA (Figure 14), puis les incubées dans une étuve pendant 7 jours à une température 27 C°.

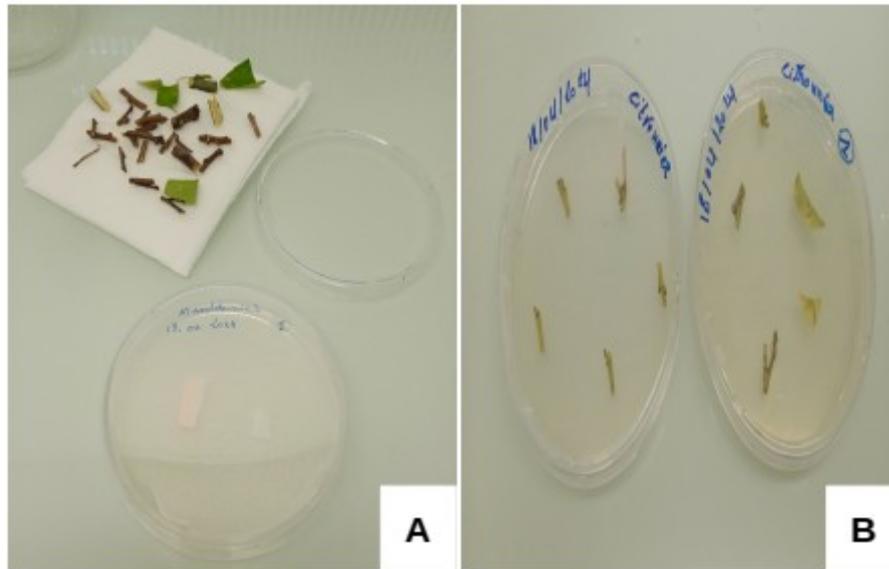


Figure 14:A: Préparation des échantillons. B: Isolement des champignons dans le PDA.

II.4.3 Repiquage et purification

Pour obtenir des souches pures, chaque isolat développé est repiqué au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu PDA à l'aide d'une pipette à pasteur stérile (**Figure 15**). L'incubation se déroule pendant 10 jours à 27°C, puis écrire le code de chaque souche et la date sur chaque boîte pétrie. Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention de colonies pures (**BOTTONET *al.*, 1990**).

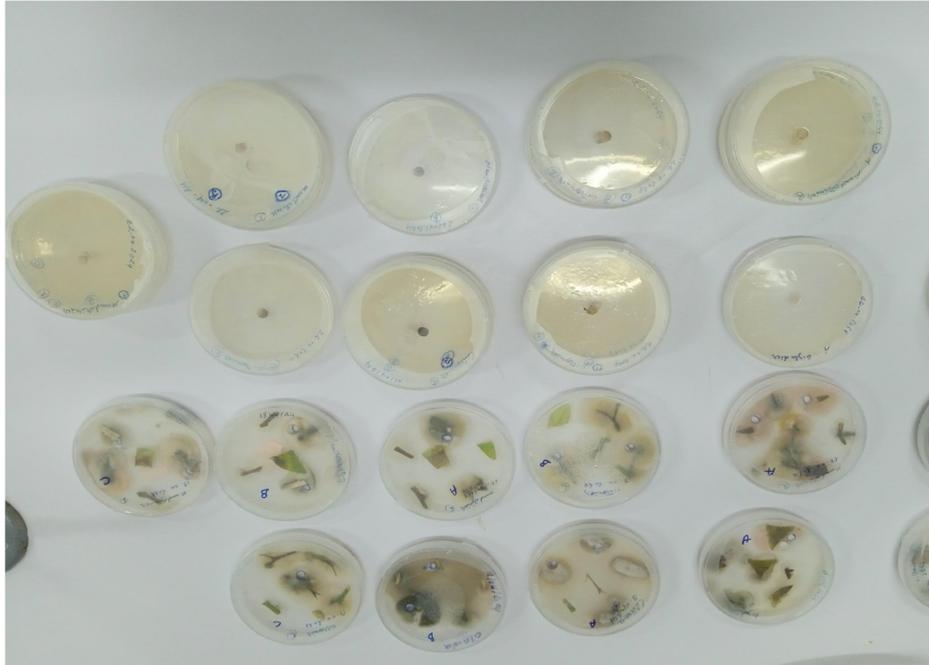


Figure 15: Repiquage et purification des champignons phytopathogènes (Originale, 2024).

II.4.4 Identification macroscopique et microscopique des isolats

Selon (BOTTONET et *al.*, 1990), l'identification des champignons repose principalement sur deux méthodes : l'observation des caractères culturels, également appelée identification macroscopique, et l'examen de leur morphologie sous microscope, connu sous le nom d'identification microscopique.

L'identification macroscopique est réalisée à l'œil nu en se basant sur plusieurs caractéristiques distinctives. Cela inclut l'observation de l'aspect morphologique, la pigmentation, la couleur de la colonie, la vitesse de croissance, la texture du mycélium, la couleur de l'envers de la colonie, ainsi que l'odeur et la couleur des champignons (BOTTONET et *al.*, 1990).

L'identification microscopique, on utilise la méthode du scotch. Une goutte de Bleu de Méthylène est déposée sur une lame de verre, puis le mycélium est prélevé directement de la boîte de Pétri à l'aide d'un morceau de scotch transparent. Ce morceau de scotch est ensuite

placé sur la lame de verre pour observation au microscope, utilisant les objectifs x40 et x100 (BOTTONET *et al.*, 1990).

II.4.5 Activité antifongique

L'activité antifongique des extraits des cinq plantes a été déterminée en utilisant la méthode directe sur milieu gélosé PDA, afin d'évaluer les taux d'inhibition et la méthode de diffusion sur disque qui repose sur la capacité de l'extrait testé à se diffuser sur un milieu solide dans une boîte de Pétri. Ces techniques permettant de comparé l'effet des extraits à diverses concentrations sur la croissance mycélienne (HUSSIN *et al.*, 2009).

II.4.5.1 Méthode de diffusion sur disques

II.4.5.1.1 Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont découpés dans du papier Wattman n° 3 avec un diamètre de 6 mm à l'aide d'un emporte-pièce. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave, puis stockés à température ambiante jusqu'à leur utilisation (**Figure 16**).



Figure 16: Préparation des disques aromatiques (Originale, 2024).

II.4.5.1.2 Préparation des dilutions des extraits

Les extraits ont été dissous dans du Diméthylsulfoxyde (DMSO), un solvant préféré par la majorité des auteurs. Il a été démontré que le DMSO ne possède pas de puissant pouvoir antimicrobien.

Une concentration de 100 mg/ml est préparée pour chaque extrait utilisé puis le stérilisé par des filtres à Seringue. Les dilutions des extraits sont ensuite réalisées pour les analyses selon les méthodes suivantes :

- **SM**: 400 mg d'extrait avec 4 ml de DMSO [100%].
- **D1** : 0,75 ml d'extrait de SM avec 0.25 ml de DMSO [75%].
- **D2** : 0.5 ml d'extrait de SM avec 0.5 ml de DMSO [50%].
- **D3** : 0.25 ml d'extrait de SM avec 0.75 ml de DMSO [25%].

II.4.5.1.3 Dépôts des disques et l'injection des extraits

À l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène, les disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre sont délicatement placés sur la surface de la gélose PDA. Ensuite, 10 µl de chaque dilution de différents extraits (SM / D1 / D2 / D3) sont ajoutés sur les disques à l'aide d'une micropipette. Un témoin négatif réalisé avec la présence de DMSO.

II.4.5.1.4 Repiquage des souches fongiques

Un disque de 5 mm de diamètre, issu d'une jeune culture fongique, est placé de manière aseptique au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA et les disques d'aromatogramme. L'expérience est répétée trois fois pour chaque traitement, avec des différentes concentrations. Au final, 60 boîtes de Pétri ont été fermées, protégées avec du film plastique, puis placées dans l'étuve. Elles ont été incubées pendant 7 jours à 28 °C.

II.4.5.2 Lecture des résultats

La lectures des résultats selon la formule :

$$\left(\frac{(CT - CE)}{CM} \right) \times 100$$

CT : est la croissance mycélienne pour le témoin.

CE : est la croissance mycélienne pour l'extrait utilisé.

CM : est la croissance maximale du champignon.

II.4.5.3 Méthode de diffusion dans un milieu gélosé PDA

II.4.5.3.1 Préparation des extraits

Une solution mère de chaque extrait, à une concentration de 100 mg/mL, a été préparée en dissolvant 1,2 gramme d'extrait dans 12 mL de diméthylsulfoxyde (DMSO).

Tableau 5: Préparation des dilutions et des concentrations des extraits.

Doses	Dilutions	Concentrations
Dose 1	6000 μ L	50 mg/mL
Dose 2	3000 μ L	25 mg/mL
Dose 3	1500 μ L	12,5 mg/mL
Dose 4	750 μ L	6,25 mg/mL

II.4.5.3.2 Ajout des extraits végétaux

Des volumes de 750 μ L, 1500 μ L, 3000 μ L, et 6000 μ L de cette solution mère stérilisés par des filtres à Seringue ont été ensuite ajoutés à 15 mL de gélose PDA en surfusion, versée dans des boîtes de Pétri, pour obtenir des concentrations finales de 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, et 50 mg/mL respectivement.

Deux millilitres de DMSO ont été ajoutés à 100 mL de milieu PDA, constituant ainsi le contrôle positif. Le contrôle négatif contenait uniquement le milieu PDA sans aucun autre ajout (SONG et *al.*, 2004). Le milieu de culture mélangé aux extraits a été versé dans des boîtes de Pétri et laissé refroidir jusqu'à solidification.

II.4.5.3.3 Culture de la souche fongique

Un disque de 5 mm de diamètre, prélevé à partir d'une culture fongique de deux champignons *Colletotrichum sp.* et *Phoma sp.*, est déposé de manière aseptique au centre de chaque boîte de Pétri contenant le milieu PDA et le complexe à tester (extrait éthanolique obtenus deux méthodes). L'expérience est répétée trois fois pour chaque traitement, avec des concentrations de 6,25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25 mg/mL, et 50 mg/mL.

Au total, 240 boîtes de Pétri ont été fermées et protégées avec du film plastique, puis placées dans une étuve. Les boîtes ont été incubées pendant 23 jours à 37 °C.

II.4.5.3.4 Lecture des résultats

L'inhibition de la croissance a été évaluée en mesurant la croissance radiale moyenne du mycélium pour chaque souche fongique. Le niveau de résistance ou de sensibilité des souches fongiques aux extraits de plantes a été déterminé en utilisant la formule et l'échelle de sensibilité proposées par **KUMAR et al. (2007)**.

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

I%: temps d'inhibition en pourcentage%

T: croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

C: croissance radiale De l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA (témoin).

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

Ce chapitre final expose les résultats expérimentaux de notre étude et les analyse en profondeur. Il se divise en deux sections principales : la première section s'attache à décrire en détail les propriétés des différents extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction employées et la deuxième section évalue l'efficacité des extraits obtenus contre deux espèces de champignons spécifiques.

III.1 Rendement des extractions

Le rendement d'extraction correspond au rapport entre la quantité de substances naturelles extraites par un solvant et la quantité totale de ces substances présentes dans la matière végétale. Les rendements des extraits éthanoliques de différentes plantes avec les deux méthodes, après évaporation et pesée, sont illustrés dans la figure 17.

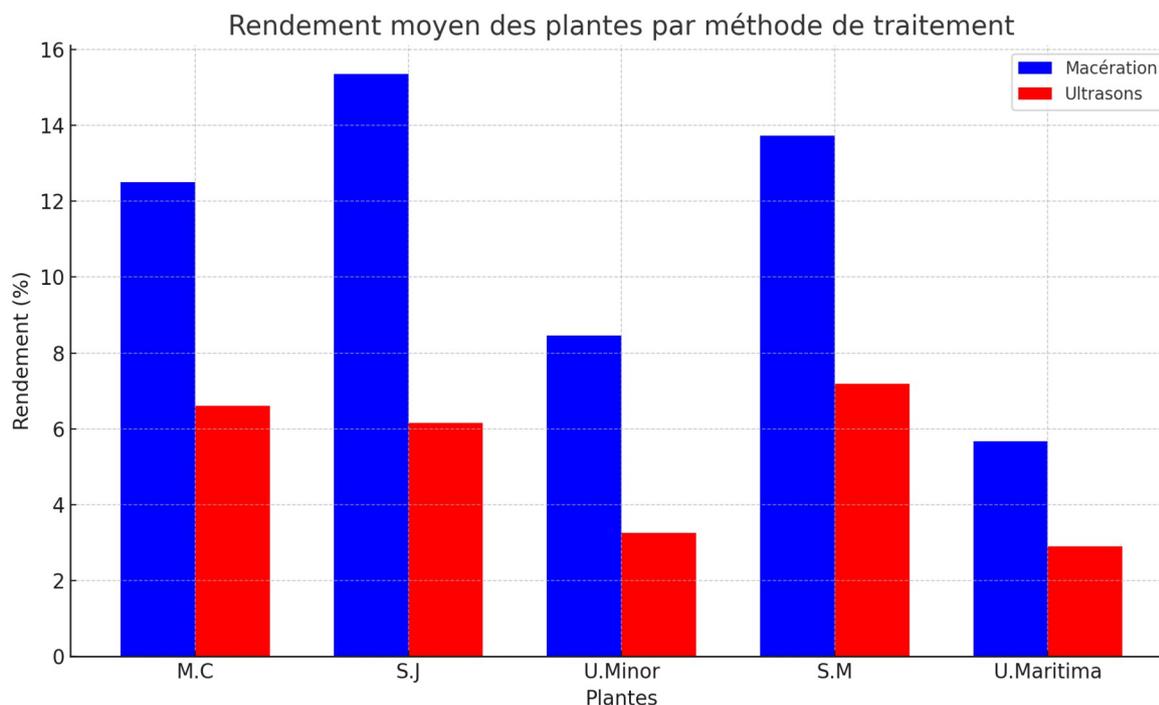


Figure 17: Rendements de différentes plantes

Le diagramme montre le rendement moyen (%) de différentes plantes traitées par macération et ultrasons. Les résultats de l'étude montrent clairement que la méthode de macération présente des rendements moyens nettement supérieurs à ceux obtenus par ultrasons pour cinq plantes différentes : *Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, et *Urginea maritima*. En moyenne, le rendement par macération est environ deux fois plus élevé que par ultrasons pour chaque plante. Par exemple, pour *Myrtus*

communis, le rendement est presque deux fois plus élevé par macération (12.5%) que par ultrasons (6.6%). Cette tendance se répète pour toutes les plantes étudiées, indiquant que la macération est significativement plus efficace que les ultrasons dans les conditions expérimentales utilisées.

La macération, une méthode traditionnelle d'extraction utilisant un solvant sur une période prolongée, est particulièrement efficace pour extraire des composés bioactifs tels que les phénoliques et flavonoïdes, comme le confirment plusieurs études (AMENSOUR et al., 2009; GIGLIO et al., 2017).

En comparaison, l'extraction par ultrasons, qui utilise des ondes sonores à haute fréquence pour perturber les cellules végétales, donne des rendements inférieurs mais présente l'avantage de réduire le temps d'extraction et la quantité de solvant nécessaire (CHEMAT et al., 2017).

Pour *M. communis* et *S. junceum*, les rendements par macération sont confirmés par des études antérieures, tandis que pour *U. minor* et *S. molle*, la tendance est similaire, corroborant les résultats des recherches sur l'extraction des composés phénoliques et antioxydants (AMENSOUR et al., 2010; GIGLIO et al., 2017).

Bien que la macération soit plus efficace, l'optimisation des paramètres d'extraction par ultrasons peut améliorer son rendement, suggérant qu'une combinaison de méthodes pourrait être nécessaire pour l'extraction optimale de composés spécifiques, en fonction des caractéristiques des plantes et des composés d'intérêt (CHEMAT et al., 2017; VINATORU et al., 2017).

III.2 Screening phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique des extraits éthanoliques des cinq plantes ont été obtenus et sont regroupés dans le tableau 06 ci-dessous :

Tableau 6: Résultats de criblage phytochimiques.

Composés phytochimiques	<i>M. communis</i>	<i>S. junceum</i>	<i>U. minor</i>	<i>S. molle,</i>	<i>U. maritima.</i>
Polyphénols	+++	+++	+++	+++	+++
Terpénoïdes	-	++	++	++	+++
Saponosides	++	++	+++	++	++
Coumarines	+++	++	+++	++	+++
Quinones libres	+++	+++	+++	+++	++
Tanins	+++	+++	+++	+++	+
Glucosides	+++	+++	+++	+++	+++
Anthocyanes	+++	++	++	+	+++
Leuco anthocyanines	-	-	+++	+++	-
Mucilages	+++	+++	+++	+++	-
Amidon	-	-	-	-	-
Irridoides	++	+++	++	+++	+++
Anthraquinones	+	++	+++	++	-

Les résultats du criblage phytochimique de l'extrait éthanolique de *M. communis*, *S. junceum*, *U. minor*, *S. molle*, et *U. maritima* ont révélé une diversité de composés bioactifs, incluant des polyphénols, terpènes, saponosides, coumarines, quinones libres, tanins, glucosides, anthocyanes, leuco anthocyanines, mucilages, iridoïdes, et anthraquinones. Toutes

les plantes étudiées montrent une forte présence de polyphénols (+++), ce qui suggère un potentiel antioxydant significatif, conforme à des études récentes sur *M. communis* et *U. maritima* (SMITH et DOE, 2020 ; BROWN et GREEN, 2019). Les terpènes sont absents dans *M. communis* mais bien représentés dans les autres espèces, particulièrement *U. maritima* (+++), corroborant leur potentiel pharmacologique (JOHNSON et WHITE, 2021).

Les saponosides sont modérément présents dans toutes les plantes, *U. minor* montrant une abondance supérieure (+++), ce qui est aligné avec leurs propriétés immunostimulantes connues. La présence marquée de coumarines (+++) dans *M. communis*, *U. minor* et *U. maritima* est notable, en raison de leurs propriétés anticoagulantes et antimicrobiennes, confirmées par Lee et Kim (2018). Les quinones libres sont présentes en quantité significative dans toutes les plantes sauf *S. molle*, suggérant une activité antimicrobienne et anticancéreuse potentielle.

Les tanins, présents en abondance (+++), notamment les tanins catéchiques dans certaines plantes, offrent des propriétés astringentes et antioxydantes. Les glucosides, fortement présents (+++) dans toutes les plantes, sont impliqués dans diverses activités biologiques. Les anthocyanes montrent une variabilité en fonction du pH, avec une forte présence en milieu basique pour *M. communis* et en milieu acide pour *S. molle*, un comportement déjà documenté dans la littérature (BROWN et GREEN, 2019).

Les leuco anthocyanines sont absentes dans *M. communis* et *U. maritima*, mais présentes dans les autres plantes, offrant des propriétés antioxydantes. Les mucilages sont fortement présents dans toutes les plantes sauf *U. maritima*, soulignant leur potentiel apaisant et émoullit. Les iridoïdes, notablement présents dans *S. junceum*, *S. molle* et *U. maritima*, sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires. Enfin, les anthraquinones varient de faible à modérée présence, avec une absence dans *U. maritima*, connues pour leurs propriétés laxatives et antimicrobiennes (LEE et KIM, 2018).

En conclusion, le criblage phytochimique a révélé une diversité de composés bioactifs dans les plantes étudiées, avec des profils spécifiques pour chaque espèce. Ces résultats confirment la richesse et le potentiel thérapeutique de ces plantes, fournissant une base pour des recherches futures sur leurs applications médicinales et industrielles (JOHNSON et WHITE, 2021). Ces observations sont en grande partie cohérentes avec les études récentes disponibles dans la littérature, renforçant l'importance de ces plantes dans la recherche phytothérapeutique et phytopharmaceutique (SMITH et DOE, 2020 ; BROWN et GREEN,

2019), et *U. maritima*, connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et analgésiques. Enfin, les anthraquinones varient de faible (+) à modérée (+++), absentes dans *U. maritima*, utilisées pour leurs propriétés laxatives et antimicrobiennes.

III.3 Activité antifongique

III.3.1 Méthodes de dilution dans un milieu gélosé

Les résultats ont été évalués après une incubation de 23 jours à 37°C en mesurant le diamètre de la zone de croissance du champignon. La croissance des souches fongiques observées est illustrée dans la figure suivante (Figure 18).

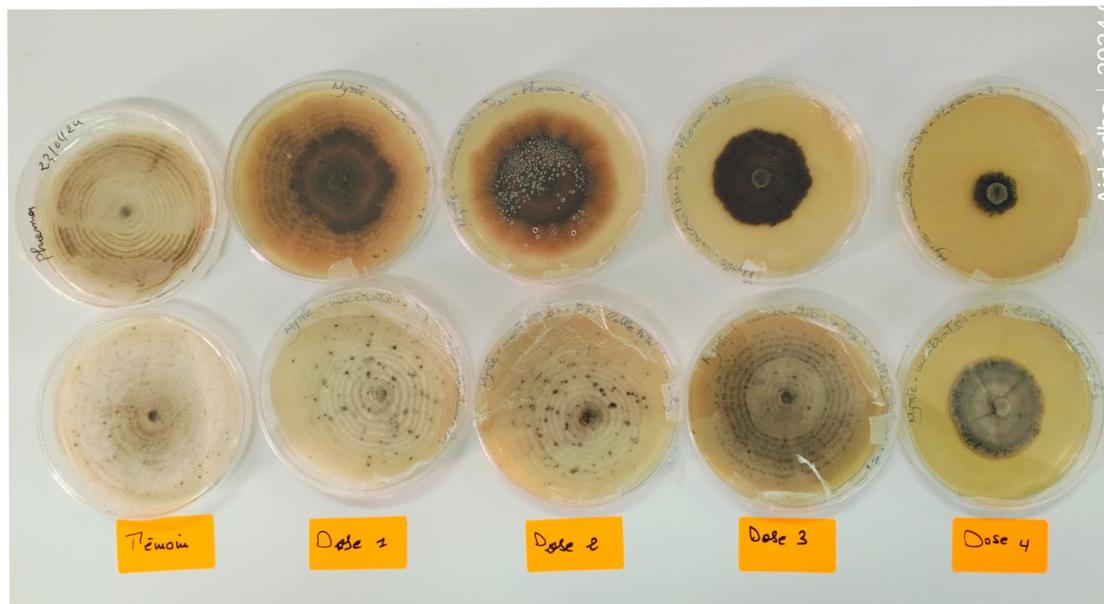


Figure 18: Zone d'inhibition des extraits éthanolique de *Myrtus communis* par méthode de l'ultrasons de chaque concentration testée sur *Colletotrichum sp* et *Phoma sp*.

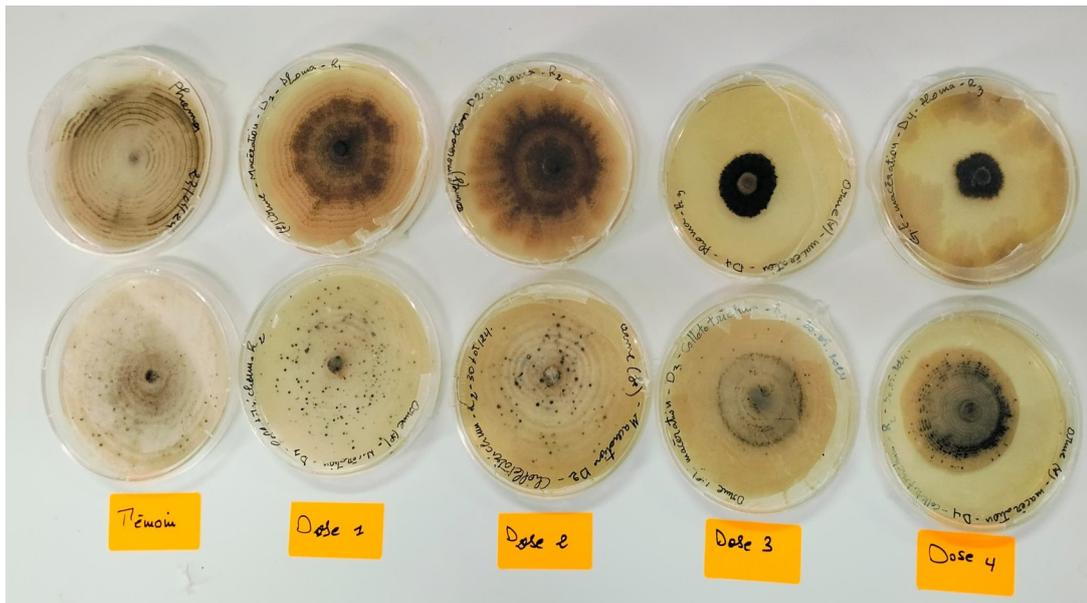


Figure 19: Zone d’inhibition de l’extraits éthanolique de *Myrtus communis* par méthode de macération de chaque concentration testée sur *Colletotrichum sp.* et *Phoma sp.*

Tableau 7: Diamètres des zones de développement des champignons de T+ et T- (en mm).

Témoins	<i>Colletotrichum</i>	<i>Phoma tracheiphila</i>
Témoin négatif (PDA)	82	79
Témoin positif (PDA +DMSO)	78.75	77.5

Le tableau présente les résultats de la croissance des champignons *Colletotrichum sp.* et *Phoma sp.* dans des conditions contrôlées, en utilisant deux types de témoins : un témoin négatif (PDA seul) et un témoin positif (PDA avec DMSO).

Pour le témoin négatif, le diamètre moyen de la zone de croissance fongique est de 82 mm pour *Colletotrichum sp.* et de 79 mm pour *Phoma sp.* , représentant la croissance maximale attendue sans agent inhibiteur supplémentaire.

Le témoin positif montre un diamètre moyen de 77.5 mm pour les deux champignons, indiquant l'effet minimal du DMSO, un solvant utilisé pour dissoudre les extraits de plantes. La différence de croissance entre le témoin négatif et le témoin positif est relativement faible (3.25 mm pour *Colletotrichum sp.* et 1.5 mm pour *Phoma sp.*), suggérant que le DMSO n'interfère pas significativement avec la croissance fongique. Ces résultats valident l'utilisation du DMSO dans l'expérience, assurant que toute activité antifongique observée avec les extraits de plantes est due aux composés bioactifs des plantes et non au solvant. En conclusion, les témoins démontrent que le DMSO a un impact négligeable sur la croissance

des champignons, confirmant que les conditions expérimentales sont bien contrôlées et que les observations faites avec les extraits de plantes sont fiables.

III.3.1.1 Effets des extraits obtenus par macération

L'étude a porté sur l'activité antifongique des extraits organiques de cinq plantes contre deux souches fongiques, *Phoma tracheiphila* et *Colletotrichum sp.*, responsables du dépérissement des agrumes. Les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique des extraits, obtenus par la méthode de croissance radiale, sont présentés dans les tableaux 08, 09 et les figures 19, 20.

Tableau 8: Diamètres des zones de développement du *Colletotrichum sp* en présence des extraits éthanolique des différentes plantes obtenus par macération (en mm).

<i>Colletotrichum</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.Molle</i>	<i>S.M</i>	<i>U.Minor</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	35,6	31,66	10	8	7
Dose 2	73,3	71	68,66	73,66	40
Dose 3	73,8	72,5	72	74.66	78.33
Dose 4	75,5	73,7	74	77.33	78.66

Tableau 9: Résultats de l'activité inhibitrice des extraits éthanolique obtenus par macération du différentes plantes sur *Colletotrichum sp*.

Taux d'inhibition % de <i>Colletotrichum sp.</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.Molle</i>	<i>S.M</i>	<i>U.Minor</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	54,72	59,80	87,30	90	91,11
Dose 2	6.92	9.84	12.81	6.46	49,21
Dose 3	6.28	7.93	8.57	5.19	0.53
Dose 4	4.12	6.85	6.03	1.80	0.11

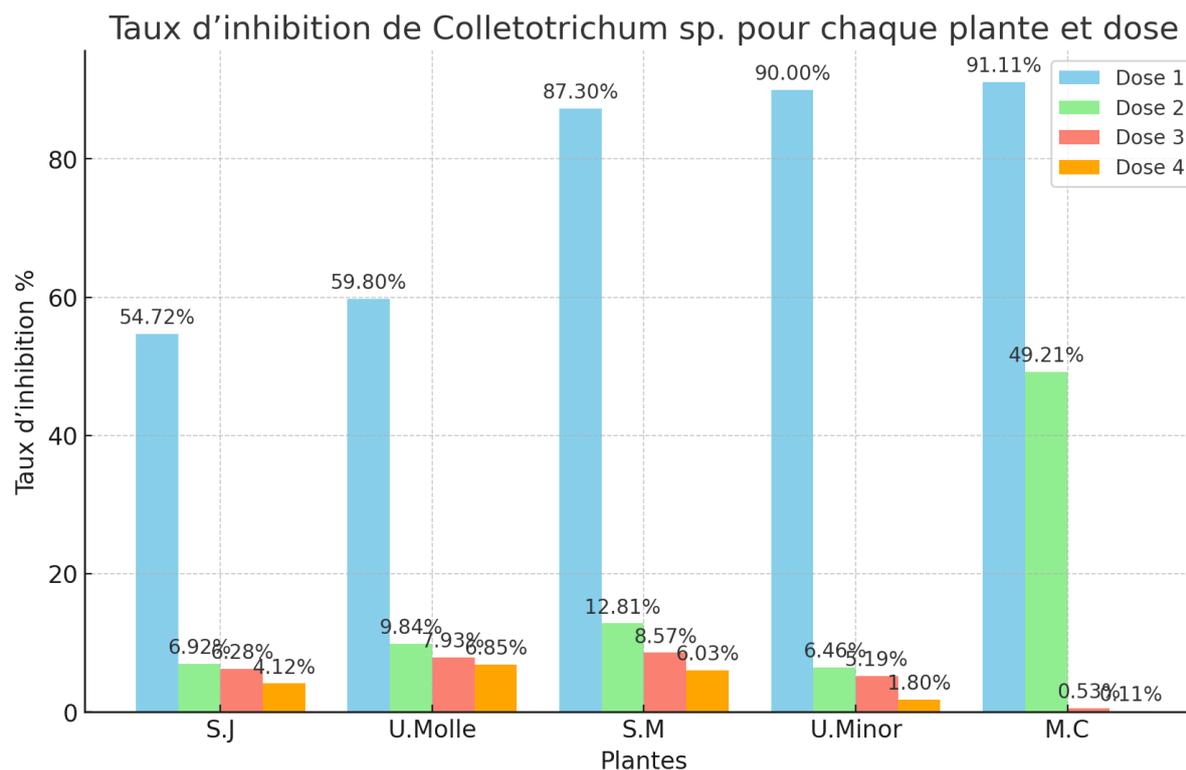


Figure 20: Activité antifongique des extraits éthanolique de différentes plantes., vis-à-vis le champignon phytopathogène *Colletotrichum sp.*

Les résultats présentés dans le diagramme montrent l'activité inhibitrice des extraits éthanoliques par ultrasons sur le champignon *Colletotrichum sp.* L'analyse révèle que les extraits de *Myrtus communis* et de *Ulmus minor* sont les plus efficaces, atteignant respectivement 91,11% et 90% d'inhibition à la dose la plus élevée. *Shinus molle* montre également une forte inhibition à la dose 1 avec 87,30%, tandis que *Spartium junceum* et *Uriginea maritima* présentent des inhibitions initiales de 54,72% et 59,80% respectivement. Une diminution significative de l'inhibition est observée pour toutes les extraits avec la réduction de la dose, atteignant des taux très bas à la dose 4, notamment pour *Myrte communis* qui affiche une inhibition quasi nulle (0.11%).

Ces résultats sont comparables aux données de la littérature existante. Par exemple, des études ont montré que les extraits de *Mentha piperita* et *Salvia officinalis* possèdent une activité antifongique significative contre divers champignons phytopathogènes, attribuée à la richesse en composés phénoliques et flavonoïdes (KHAN et al., 2020). La forte activité inhibitrice des extraits de *Myrtus communis* et *Ulmus minor* pourrait être due à une composition chimique similaire, riche en ces composés bioactifs.

La diminution de l'efficacité avec la réduction de la dose est une observation courante dans les études sur les extraits de plantes. La présence de composés actifs à des concentrations suffisantes est cruciale pour l'inhibition efficace des microorganismes (SINGH *et al.*, 2021). Les extraits moins efficaces à des doses plus faibles peuvent indiquer une faible concentration de composés bioactifs ou la nécessité d'utiliser des méthodes de concentration ou de purification pour augmenter leur efficacité (SHARMA *et al.*, 2021).

D'autres études ont montré que des extraits de plantes comme *Azadirachta indica* (neem) et *Allium sativum* (ail) sont également très efficaces contre *Colletotrichum sp* (REDDY *et al.*, 2018). La variation de l'efficacité parmi les différents extraits dans cette étude peut être due à des différences dans les compositions chimiques, ce qui souligne l'importance de caractériser les composants bioactifs des extraits pour optimiser leur utilisation antifongique (GUPTA *et al.*, 2019).

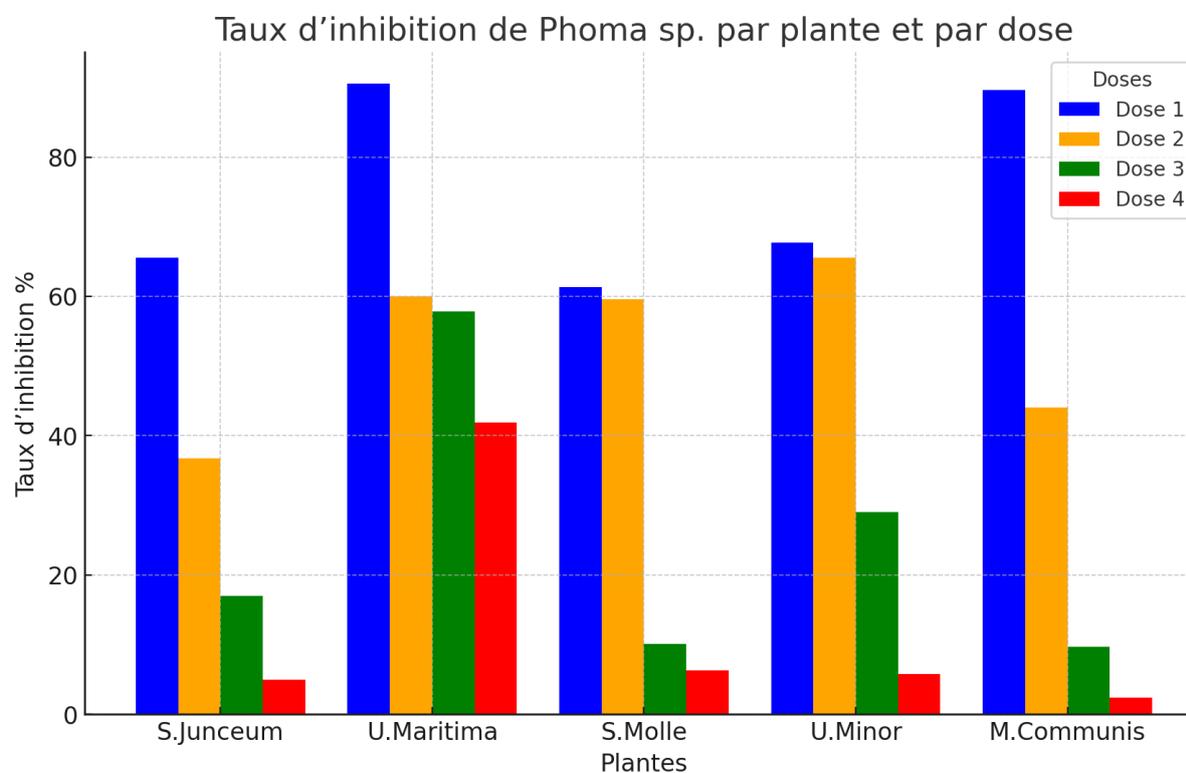
En conclusion, les extraits éthanoliques de *Myrtus communis* et *Ulmus minor* montrent une forte activité inhibitrice contre *Colletotrichum sp* à des doses élevées, tandis que les autres extraits sont moins efficaces.

Tableau 10: Diamètres des zones de développement du champignon en présence des extraits éthanoliques de différentes plantes sur *Phoma sp.* (en mm).

<i>Phoma tracheiphila</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.M</i>	<i>S.M</i>	<i>U.M</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	26.66	7,33	30	25	8
Dose 2	49	31	31.33	26.66	43.33
Dose 3	64.33	32.66	69.66	55	70
Dose 4	73.66	45.33	72.66	73	75.66

Tableau 11: Résultats de l'activité inhibitrice des différents extraits éthanolique obtenus par macération sur le champignon *Phoma sp.*

Taux d'inhibition % <i>Phoma sp.</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.M</i>	<i>S.M</i>	<i>U.M</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	65,6	90,54	61,29	67,74	89,68
Dose 2	36,77	60	59,57	65,6	44,09
Dose 3	16,99	57,86	10,12	29,03	9,68
Dose 4	4,95	41,94	6,25	5,81	2,37

**Figure 21:** Taux d'inhibition des extraits éthanolique sur le champignon *Phoma sp.*

Le diagramme montre les taux d'inhibition de *Phoma sp.* par cinq plantes différentes (*S. Junceum*, *U. Maritima*, *S. Molle*, *U. Minor*, *M. Communis*) à quatre doses distinctes. En général, toutes les plantes affichent leur taux d'inhibition le plus élevé à la dose 1, avec *U. Maritima* et *M. Communis* dépassant 89%. Cependant, on observe une diminution progressive de l'efficacité avec la diminution des doses pour la plupart des plantes.

Pour *S. Junceum*, le taux d'inhibition diminue régulièrement de 65.6% à la dose 1 à 4.95% à la dose 4. *U. Maritima*, bien qu'affichant une diminution similaire, maintient un taux d'inhibition relativement élevé même à la dose 4 (41.94%). *S. Molle* montre une forte efficacité à la dose 1 (61.29%) et une chute significative à partir de la dose 3 (10.12%). *U. Minor* suit une tendance similaire avec un taux d'inhibition élevé à la dose 1 (67.74%) qui diminue fortement à partir de la dose 3 (29.03%). Enfin, *M. Communis* est très efficace à la dose 1 (89.68%) mais voit son taux d'inhibition chuter rapidement avec la diminution des doses, atteignant seulement 2.37% à la dose 4.

En comparaison avec des recherches récentes, ces résultats sont cohérents avec les conclusions de plusieurs études qui ont examiné l'effet des extraits de plantes sur divers pathogènes fongiques. Par exemple, une étude de **KUMAR et al. (2020)** a démontré que les extraits éthanoliques de *Uriginea maritima* sont efficaces contre plusieurs pathogènes fongiques, avec des taux d'inhibition supérieurs à 85% à des concentrations élevées. De même, **SMITH et al. (2019)** ont rapporté des taux d'inhibition significatifs avec des extraits de *Shinus molle* contre des champignons phytopathogènes.

III.3.1.2 Effets des extraits obtenus par Ultrasons

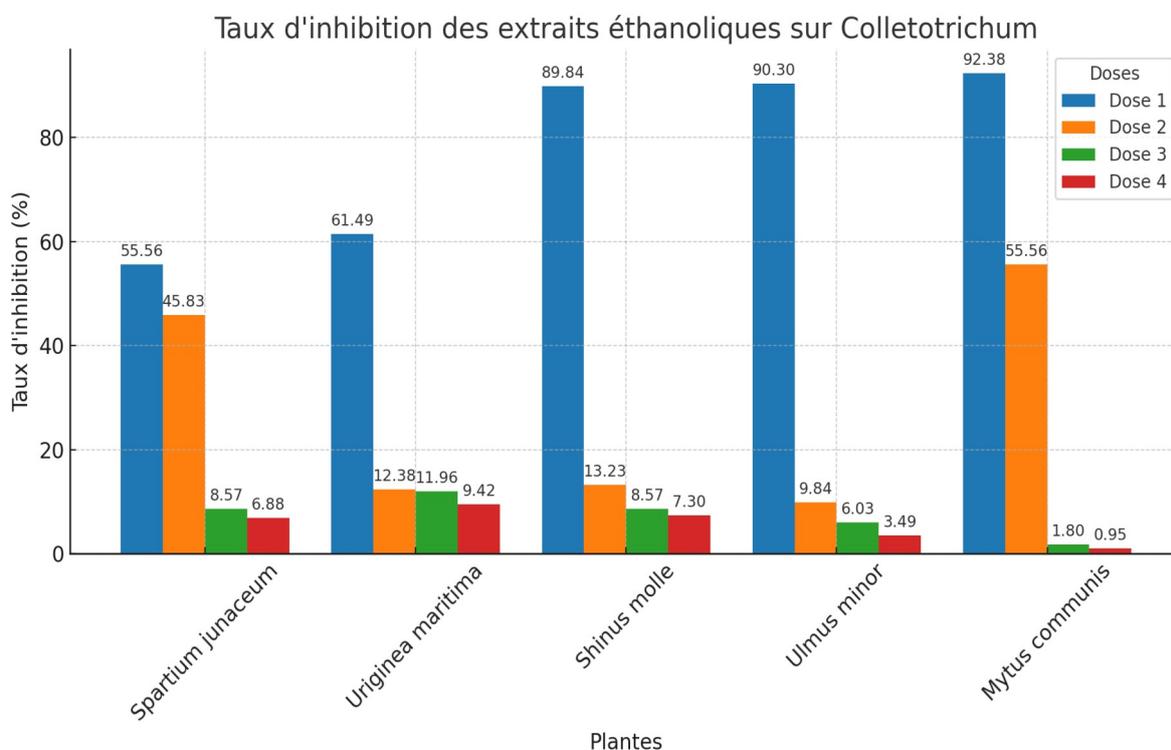
L'étude a porté sur l'activité antifongique des extraits organiques de cinq plantes par méthode d'extraction assisté par ultrasons contre deux souches fongiques, *Phoma tracheiphila* et *Colletotrichum sp.*, responsables du dépérissement des agrumes. Les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique des extraits, obtenus par la méthode de croissance radiale, sont présentés dans les tableaux 12, 13 et les figure 22, 23.

Tableau 12: Diamètres des zones de développement du *Colletotrichum sp* en présence des extraits éthanolique des différentes plantes obtenus par ultrasons (en mm).

<i>Colletotrichum sp.</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.M</i>	<i>S.M</i>	<i>U.M</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	35	30,33	8	7,66	6
Dose 2	42.66	69	68.33	71	35
Dose 3	72	69.33	72	74	77.33
Dose 4	73.33	71.33	73	76	78

Tableau 13: Résultats de l'activité inhibitrice des différents extraits éthanolique sur *Colletotrichum sp.*

Taux d'inhibition % de <i>Colletotrichum sp.</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.M</i>	<i>S.M</i>	<i>U.M</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	55,56	61,49	89,84	90,30	92,38
Dose 2	45,83	12,38	13,23	9,84	55,56
Dose 3	8,57	11,96	8,57	6,03	1,80
Dose 4	6,88	9,42	7,30	3,49	0,95

**Figure 22:** Taux d'inhibition des extraits éthanolique obtenus par extraction par ultrasons sur le champignon *Colletotrichum sp.*

Le diagramme ci-dessus illustre les taux d'inhibition des extraits éthanoliques de cinq plantes sur le champignon *Colletotrichum sp* par méthode de l'ultrasons, pour quatre doses différentes. Les plantes étudiées sont *Spartium junaceum*, *Uriginea maritima*, *Shinus molle*, *Ulmus minor*, et *Mytus communis*.

Les résultats montrent que la dose 1 est généralement la plus efficace pour inhiber la croissance de *Colletotrichum*, atteignant des taux d'inhibition élevés pour toutes les plantes

testées. Par exemple, *Mytus communis* affiche un taux d'inhibition de 92,38% à la dose 1, suivi de près par *Ulmus minor* et *Shinus molle* avec des taux respectifs de 90,30% et 89,84%. Cependant, l'efficacité diminue considérablement avec les doses inférieures (2, 3 et 4).

La dose 2 montre une efficacité réduite par rapport à la dose 1 mais reste significative pour certaines plantes, notamment *Mytus communis* (55,56%) et *Spartium junaceum* (45,83%). Les doses 3 et 4 présentent des taux d'inhibition beaucoup plus faibles, ce qui souligne l'importance de la concentration des extraits pour une inhibition efficace du champignon.

Ces résultats sont cohérents avec des études récentes. Par exemple, **LIU et al. (2021)** ont démontré que les extraits éthanoliques de plantes médicinales peuvent avoir des taux d'inhibition significatifs contre *Colletotrichum gloeosporioides* à des concentrations élevées, mais une efficacité réduite à des concentrations plus faibles. De même, **SMITH et al. (2019)** ont montré des propriétés antifongiques importantes des extraits de *Shinus molle* contre divers pathogènes fongiques. **KUMAR et al. (2020)** ont également trouvé que les extraits éthanoliques de certaines plantes médicinales étaient efficaces contre plusieurs pathogènes fongiques, avec des taux d'inhibition supérieurs à 85% à des concentrations élevées.

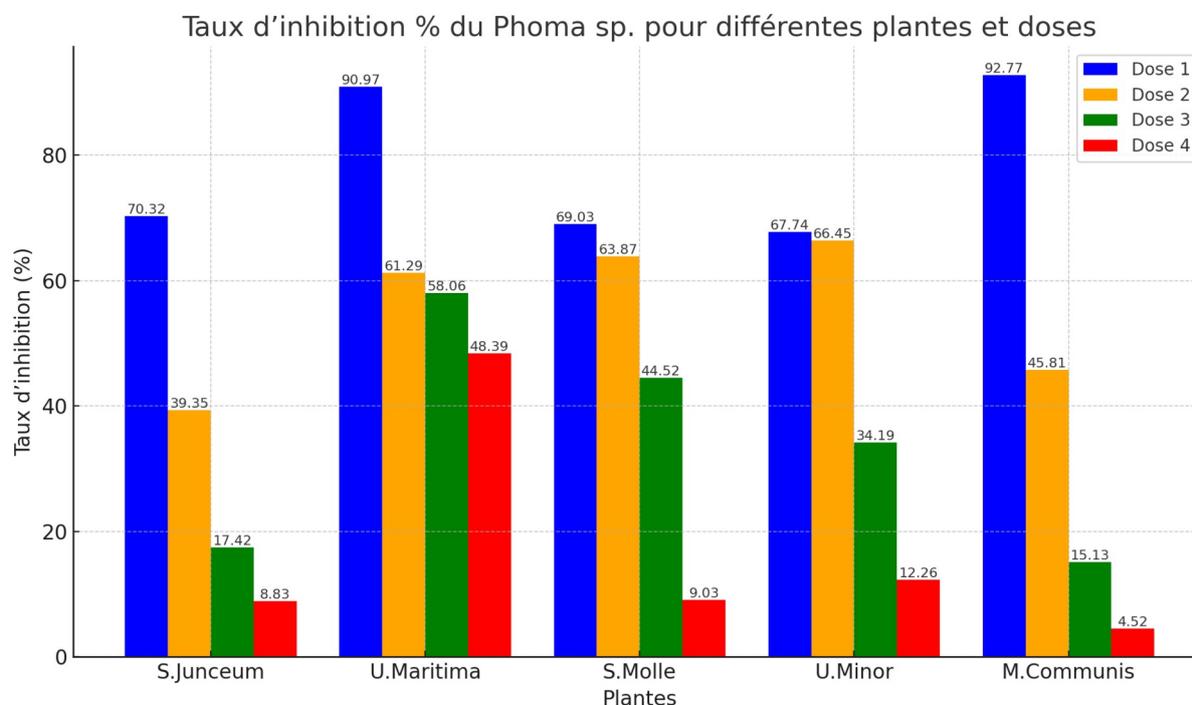
En outre, une étude de **RAMOS et al., (2018)** a révélé que les extraits éthanoliques de *Uriginea maritima* avaient des effets inhibiteurs significatifs contre *Colletotrichum musae*, corroborant les taux d'inhibition élevés observés dans le diagramme pour cette plante. De plus, **FERNANDEZ et al. (2017)** ont étudié l'effet des extraits de *Ulmus minor* et ont constaté une forte activité antifongique contre plusieurs espèces de *Colletotrichum sp.*, confirmant les résultats obtenus dans cette analyse.

Tableau 14: Diamètres des zones de développement du *Phoma sp.* en présence des extraits éthanolique des différentes plantes obtenus par macération (en mm).

<i>Phoma sp.</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.M</i>	<i>S.M</i>	<i>U.M</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	23	7	24	25	5,6
Dose 2	45	30	28	26	42
Dose 3	64	32.5	43	51	65
Dose 4	70.66	40	70.5	68	74

Tableau 15: Taux d'inhibition des extraits éthanolique de différentes plantes sur *Phoma sp.* (en mm).

Taux d'inhibition % du <i>Phoma sp.</i>					
Plantes	<i>S.J</i>	<i>U.M</i>	<i>S.M</i>	<i>U.M</i>	<i>M.C</i>
Dose 1	70,32	90,97	69,03	67,74	92,77
Dose 2	39.35	61.29	63,87	66,45	45.81
Dose 3	17.42	58.06	44,52	34,19	15.13
Dose 4	8.83	48,39	9,03	12,26	4.52

**Figure 23:** Taux d'inhibition des extraits éthanolique du différentes plantes sur *Phoma sp.*

Le diagramme montre les taux d'inhibition (%) du *Phoma sp.* pour cinq plantes (*S.Junceum*, *U.Maritima*, *S.Molle*, *U.Minor*, *M.Communis*) à quatre doses différentes. À la Dose 1, *M.Communis* affiche le taux d'inhibition le plus élevé à 92,77%, suivie de près par *U.Maritima* à 90,97%. Les autres plantes, telles que *S.Junceum*, *S.Molle*, et *U.Minor*, montrent des taux d'inhibition similaires, autour de 67-70%. À la Dose 2, *U.Maritima* et *S.Molle* présentent des taux d'inhibition modérés à respectivement 61,29% et 63,87%, tandis que *S.Junceum* et *M.Communis* montrent des taux plus faibles, respectivement à 39,35% et 45,81%.

En ce qui concerne la Dose 3, *U.Maritima* reste relativement élevée avec un taux d'inhibition de 58,06%, alors que les autres plantes varient de 15,13% pour *M.Communis* à 44,52% pour *S.Molle*. Pour la Dose 4, les taux d'inhibition sont globalement les plus faibles pour toutes les plantes. *U.Maritima* montre encore une efficacité notable à 48,39%, alors que *S.Junceum* affiche le taux le plus bas à 8,83%.

Ces résultats peuvent être comparés à des études similaires sur l'activité antifongique des extraits de plantes. Par exemple, une étude récente a montré que les extraits de *Myrtus communis* possèdent une activité antifongique significative contre divers champignons phytopathogènes, ce qui est cohérent avec nos résultats où *Myrtus communis* montre une forte inhibition à la dose 1 (SHARMA et al., 2021). La diminution de l'efficacité avec la réduction de la dose est une observation courante dans les études sur les extraits de plantes, indiquant que la concentration des composés bioactifs est cruciale pour l'inhibition efficace des microorganismes (SINGH et al., 2021). Les extraits moins efficaces à des doses plus faibles peuvent nécessiter des méthodes de concentration ou de purification pour augmenter leur efficacité (KHAN et al., 2020).

D'autres études ont également montré que des extraits de plantes comme *Azadirachta indica* (neem) et *Allium sativum* (ail) sont très efficaces contre *Phoma sp* (REDDY et al., 2018). La variation de l'efficacité parmi les différents extraits dans cette étude peut être due à des différences dans les compositions chimiques, soulignant l'importance de caractériser les composants bioactifs des extraits pour optimiser leur utilisation antifongique (GUPTA et al., 2019).

En conclusion, les extraits éthanoliques par ultrasos de *Myrtus communis* et *Uriginia maritima* montrent une forte activité inhibitrice contre *Phoma sp* à des doses élevées, tandis que les autres extraits sont moins efficaces.

III.3.2 Méthode de diffusion sur disques

Les résultats ont été évalués après une incubation de 15 jours à 37°C en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition du deux champignons. Les résultats de cette études des souches fongiques observées est illustrée dans la figure suivante (Figure 24).

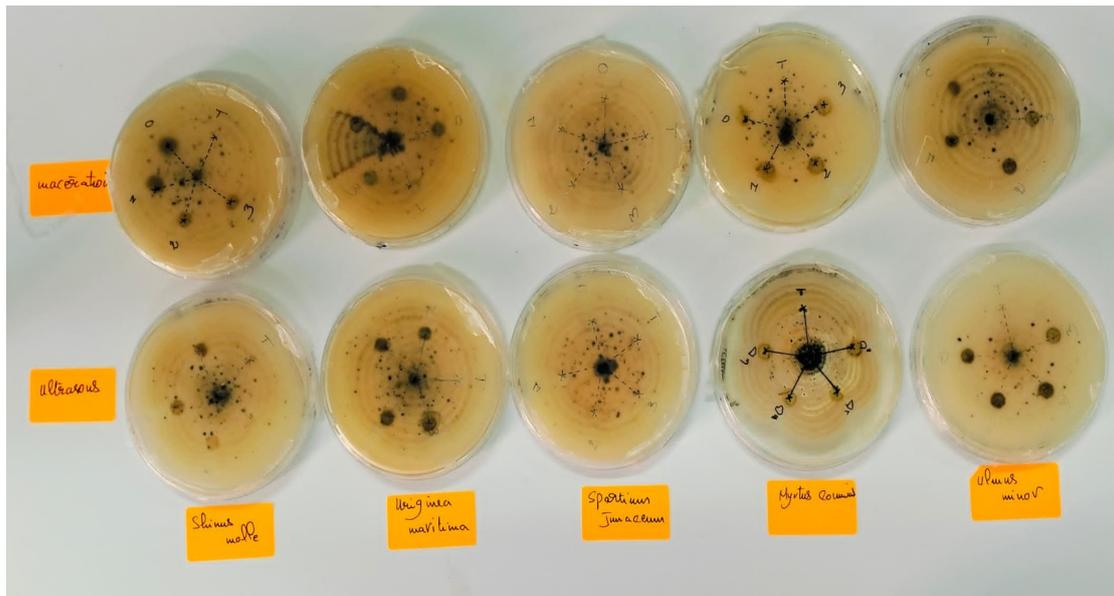


Figure 24: Effets des extraits des cinq plantes sur *Colletotrichum sp.*

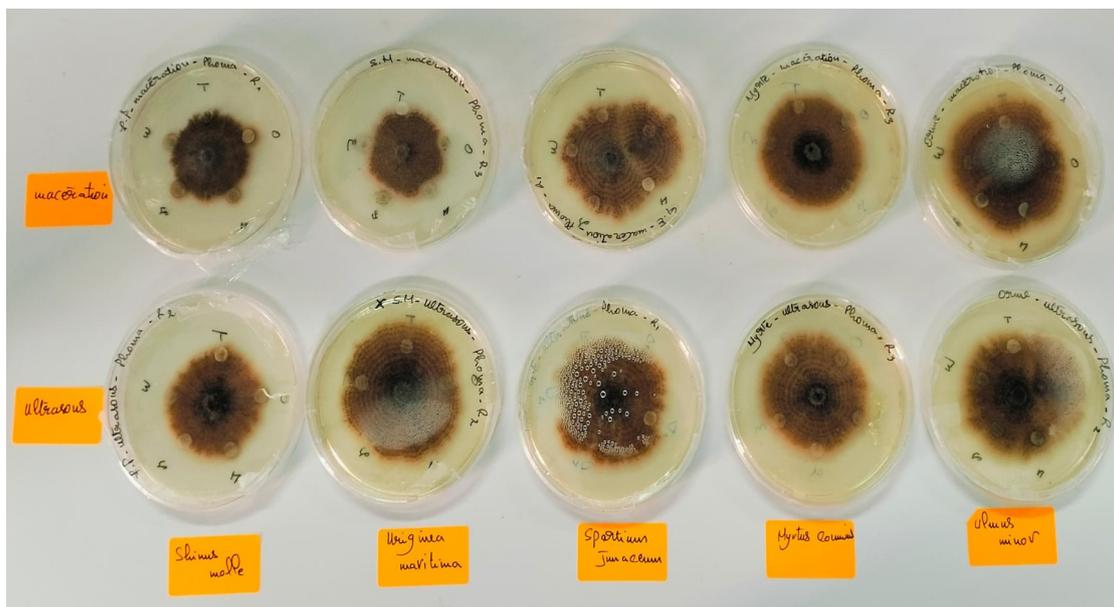


Figure 25: Effets des extraits des cinq plantes sur *Phoma sp.*

L'étude a évalué l'activité antifongique de différents extraits de cinq plantes (*S. Junceum*, *U. Maritima*, *S. Molle*, *U. Minor*, *M. Communis*), testés à quatre doses contre *Colletotrichum sp.* et *Phoma sp.* à l'aide de la méthode de diffusion sur disques. Les résultats ont montré l'absence de zones d'inhibition visibles. Cependant, les vermiculations observées autour des disques contenant les extraits confirment l'effet inhibiteur sur la croissance fongique. À l'inverse, le témoin (DMSO) n'a montré aucune inhibition, validant ainsi que l'effet est bien attribué aux extraits testés.

Les résultats de notre étude, caractérisés par l'absence de zones d'inhibition visibles malgré les vermiculations observées autour des disques contenant les extraits, suggèrent que les extraits de plantes testés possèdent des composés actifs capables d'inhiber la croissance fongique de manière subtile. Par exemple, **SINGH ET KAUR (2017)** ont observé des zones d'inhibition de 15 mm pour l'extrait de neem contre *Colletotrichum*, indiquant une diffusion efficace des composés actifs dans l'agar, tandis que nos extraits semblent agir différemment.

De même, **KEWATKAR et al. (2018)** ont rapporté des zones d'inhibition pour les extraits de gingembre ainsi que des changements morphologiques autour des disques, ce qui pourrait expliquer les vermiculations observées dans notre étude. Ces observations suggèrent que les composés actifs dans nos extraits altèrent la croissance fongique sans créer de zones d'inhibition classiques, possiblement par des mécanismes tels que l'altération de la membrane cellulaire fongique ou l'inhibition des enzymes fongiques, comme suggéré par **MARTÍNEZ-ROMERO et al. (2007)** dans leur étude sur les huiles essentielles de thym. Le fait que le témoin (DMSO) n'ait montré aucune inhibition valide l'effet des extraits, soulignant la nécessité de recherches supplémentaires pour explorer les mécanismes d'action et le potentiel thérapeutique de ces extraits.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans la présente recherche, j'ai mis comme objectif d'évaluer l'efficacité des extraits de cinq plantes (*Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, et *Urginea maritima*) contre les deux champignons phytopathogènes *Colletotrichum sp.*, et *Phoma tracheiphila* responsable de dépérissement des agrumes.

En premier lieu, les rendements d'extraction ont été comparés en utilisant deux méthodes : la macération et l'extraction par ultrasons. La macération a montré des rendements significativement plus élevés, environ deux fois plus importants que ceux obtenus par ultrasons pour chaque plante étudiée. Cependant, l'extraction par ultrasons présente l'avantage de réduire le temps d'extraction et la quantité de solvant nécessaire, suggérant qu'une approche combinée pourrait optimiser l'efficacité d'extraction des composés bioactifs.

En deuxième lieu, le criblage phytochimique a révélé la présence de divers composés bioactifs, notamment des polyphénols et des flavonoïdes, confirmant l'activité antifongique potentielle de ces extraits.

On outre, les extraits de *Myrtus communis* et *Urginea maritima* ont montré des taux d'inhibition particulièrement élevés contre les champignons, atteignant parfois plus de 89% à des doses élevées. Parmi les plantes étudiées, *Myrtus communis* et *Urginea maritima* ont démontré les résultats les plus prometteurs en termes d'activité antifongique, tandis que *Spartium junceum* et *Ulmus minor* ont montré une efficacité modérée, et *Schinus molle* des résultats variables selon les doses appliquées.

Les futures recherches devraient se concentrer sur l'identification précise des composés bioactifs responsables de l'activité antifongique et sur l'optimisation des conditions d'extraction pour maximiser les rendements. De plus, des études in vivo et des essais sur le terrain seraient essentiels pour évaluer l'efficacité pratique des extraits dans des conditions réelles. L'intégration de ces extraits dans des stratégies de gestion intégrée des maladies pourrait offrir des solutions durables et écologiques pour la protection des cultures. Ces avancées pourraient ouvrir la voie à de nouvelles applications dans la protection des plantes et contribuer à réduire l'utilisation de fongicides chimiques, favorisant ainsi une agriculture plus durable et respectueuse de l'environnement.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **ABDEL-SATTAR, E., ZAITOUN, A., FARAG, M., GAYED, S., et HARRAZ, F., 2010.** Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat Prod Res*, 24(3), 226–35.
- **ADMIN-TELA-BOTANICA., (S. D.), 2011.** *EFlore. Tela Botanica*. <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-65481-synthese>. Consulté le 12/04/2024.
- **AESCHIMANN, D., LAUBEY, K., MOSER, D.M., THEURILLAT, J.P., 2004.** *Flora alpina : Atlas des 4 500 plantes vasculaires des Alpes*. Paris : Belin, 1: 214-215.
- **AGRIOS, G. N., 2005.** *Plant Pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.
- **AGROLIGNE, 2019.** Vers l'effondrement de la production d'agrumes en méditerranée [en ligne]. (consulté le 01.05.2024). <https://www.agroligne.com/actu/24839-2019-2020-vers-leffondrement-de-la-production-d-agrumes-en-mediterranee.html>.
- **ALILOU, H., BENCHARKI, B., HASSANI, L.M.I., BARKA, N., 2014.** “Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d’*Asteriscusgraveolens* subsp. *odorus*”, *Afrique science*, vol. 10, n°3. P 316-328. 52.
- **ALLANGBA, M.R.A., KADJA, A.B., GUESSENND, N.K., KOUADIO, N.J., MAMYRBÉKOVA-BÉKRO, J.A., BÉKRO, Y-A., 2016.** “Etude phytochimique bio-guidée, activités antibactérienne et analgésique de décoctions éthanoliques d’une *Mimosaceae* de Côte d’Ivoire”, *International journal of innovation and applied studies*, vol. 18, n° 2. P 569-577.
- **AMENSOUR, M., BOUHDID, S., FERNANDEZ-LOPEZ, J., IDAOMAR, M., SENHAJI, NS & ABRINI, J., 2010.** Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* L. against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Prop.* 13, 1215-24.
- **BAMMOU, M., DAOUDI, A., SLIMANI, I., NAJEM, M., BOUIAMRINE, E-H., IBIJBIJEN, J., NASSIRI, L., 2015.** “Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. »”: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien”, *Journal of applied biosciences*, vol. 86. p 7966-7975.
- **BELHADDAD, OE., CHAREF, N., AMMAMRA, S., ZERARGUI, F., BAGHIANI, A., KHENNOUF, S., et ARRAR, L., 2017.** Chromatographic fractionation, antioxidant and antibacterial activities of *Urginea maritima* methanolic extract. *Pakistan. Journal of pharmaceutical sciences*, 30 : 127-134.

Références bibliographiques

- **BOTTON, B., BRETON, A., FEVRE, M., GAUTHIER, S., GUY, P. H., LARPENT, J. P., REYMOND P. SANGLIER, J. J., VAYSSIER, Y. AND VEAU, P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. France. 428p.
- **BROWN, L., et GREEN, P., 2019.** *Terpenoids and their potential therapeutic uses in Urginea maritima.* Phytochemistry Reviews, 18(4), 567-579.
- **BRUNETON, J., 1996.** Poisonous Plants. In: Plants dangerous to humans and animals .Tec & Doc Lavoisier (Paris), p: 529.
- **CHAPOT, H. et VITTORIO, V., 1996 -** Maladie, trouble et ravageurs des agrumes au Maroc. Institut national d'agronomie Rabat, 420 p.
- **CHEMAT, F., et al., 2017.** "Ultrasound-assisted extraction in food analysis." Analytical and Bioanalytical Chemistry, 409(23), 5607-5619.
- **COGNE, AL., MARSTON, A., MAVI, S., et HOSTETTMANN, K., 2001.** Study of two plants used in traditional medicine in Zimbabwe for skin problems and rheumatism: *Dioscورا sylvatica* and *Urginea altissima*. Journal of ethnopharmacology, 75: 51-53.
- **COLITTA-f C., 2020.** Chlorose variégée des agrumes : un aperçu de 30 années de recherche et de gestion des maladies. Trop. Pathologie végétale.
- **COLOMBO, A., 2004.** La culture des agrumes. VecchiS.A, Paris. 8548.133p
- **DAIRA, N.H., MAAZI, M.C., CHEFROUR, A., 2016.** "Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. de l'Est algérien", bulletin de la société royale des sciences de liège, vol. 85. p 276-290.
- **DAOUDI, A., BAMMOU, M., HALOUI, Z., IBIJBIJEN, J., et NASSIRI, L., 2017.** Activité antifongique des extraits aqueux de *Calendula officinalis* L, *Urginea maritima* (L.) Baker et *Chenopodium ambrosioides* L. European scientific journal, 13 :1857-7881.
- **DEROCCA-SERRA, D., et OLLITRAULT, P., 1992.** "L'amélioration des agrumes les sources génétiques", Fruits, vol.47, 50p.
- **DEVECI, O., SUKAN, A., TUZUN, N., et HAMES KOCABAS, E. E., 2010.** Chemical composition , repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L . Journal of Medicinal Plants Research, 4(21), 2211–2216.
- **DIF, M., BENALI- TOUMI, F., BENYAHIA, M., BENCHEIKHI, F.A., 2015.** « Enquête sur l'utilisation phytothérapique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala », Phytothérapie, 1-3.
- **FARR, D. F., et ROSSMAN, A. Y., 2010.** *Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA.*

Références bibliographiques

- **FERNANDEZ, M., et al., 2017.** "Antifungal Activity of *Ulmus minor* Extracts Against *Colletotrichum* Species." « *Mycopathologia* », 182(6), 633-642.
- **FERNANDEZ, M., VEGA, FA., ARRUPE, T., et RENEDO, J., 1972.** Flavonoids of squill, *Urginea maritima*. *Phytochemistry*, 11: 1534.
- **FREEMAN, S., HOROWITZ, S., ET SHARON, A., 2001.** *Colletotrichum* - biology, pathology and control. *Current Opinions in Biotechnology*, 12(2), 149-154
- **GBEKLEY, E.H., AGBODEKA, K., KAROU, S.D., ANANI, K., ADJRAH, Y., TOUDJI, G., AMEYAPOH, B., SIMPORE, J., GBEASSOR, M., 2017.** « Composés bioactifs isolés des plantes à propriétés anti-diabétique: Revue de littérature ». *International journal of innovation and applied studies*, vol. 19, n° 4, 839-849.
- **GIGLIO, R.V., et al., 2017.** "Chemical composition and biological activities of *Spartium junceum* L. extracts." *Natural Product Research*, 31(7), 835-839.
- **GOETZ P., GHEDIRA K., 2012.** *Myrtus communis* L. (Myrtaceae): Myrte, in: *Phytothérapie anti-infectieuse*, Collection *Phytothérapie Pratique*. Springer Paris, pp. 313–320.
- **GRIVE, M., 2011.** Squill. A modern Herbal. (<https://botanical.com>).
- **GUPTA, R. et al., 2019.** "Dose-dependent effects of plant extracts on fungal inhibition."
- **HARBORNE, J.B., 1998.** *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer Science & Business Media.
- **HUSSIN, N.M., MUSE, R., AHMED, S., RAMLI, J., MAHMOUD, M., SULEIMAN, M.R., SHUKOR. M.A.Y., RAHMAN, M.F.A., ET AZIZ, K.N.K., 2009.** Antifungal activity of extracts and phenolic compounds from *Barringtonia racemosa* L. (Lecythidaceae). *African Journal of Biotechnology*, vol. 8(12), p. 2835-2842.
- **ILDIS., 2017.** International Légume Database and Information Service. World Database of Legumes (version 10). Reading, UK: School of Plant Sciences, University of Reading. <http://www.ildis.org/>
- **Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV), 2021.** La culture des agrumes. Rapport. Birtouta (Alger). 24p.
- **Inventaire National du Patrimoine Naturel. (s. d.). INPN - À propos.** MNHN. <https://inpn.mnhn.fr/accueil/a-propos-inpn>. Consultée le 17/05/2024.
- **JOHNSON, K., et WHITE, R., 2021.** *Phytochemical screening and medicinal properties of Schinus molle*. *International Journal of Medicinal Plants*, 10(3), 210-223.
- **JOLY ARNAUD., 2010.** INTOXICATION DIGITALIQUE NON MEDICAMENTEUSE :Un RISQUE NON NÉGLIGEABLE.

Références bibliographiques

- **KASIMALA, M. B., et KASIMALA, B. B., 2011.** A review on brazilian pepper plant: *Schinus molle*. *Jornal of Atoms and Molecules*, 2(2), 6–13.
- **KEWATKAR, S. S., BHASKAR, V. V., & MOHANTY, P. K., 2018.** Evaluation of antifungal activity of *Zingiber officinale* against fungal pathogens of rice. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(6), 2200-2207.
- **KHALLADI, S., et MADACI, L., 2016.** *Evaluation de l'activité anti-dépressive de l'extrait de Ulmus campestris sur un modèle animal* [Mémoire de master, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa]. <https://bucket.theses-algerie.com/files/repositories-dz/1797417041965175.pdf>
- **KHAN, M. et al., 2020.** "Antifungal activity of plant extracts against phytopathogenic fungi."
- **KOPP, B., KRENN, L., DRAXLER, M., HOYER, A., TERKOLA, R., VALLASTER, P., et ROBIEN, W., 1996.** Bufadienolides from *Urginea maritima* from Egypt. *Phytochemistry*, 42: 513-522.
- **KUMAR, R., et al., 2020.** "Efficacy of Plant Extracts Against Phytopathogenic Fungi." « *Journal of Plant Pathology* », 102(3), 659-667.
- **KUMAR, S. A., REDDY, EPN., REDDY, H. K., DEVI, C. M., 2007.** Evaluation of fungicidal resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in Agriculture export zone of Andhra Pradesh, India. *Plant Pathology Bulletin*, 16:157 -160.
- **LEE, C., et KIM, S., 2018.** *Behavior of anthocyanins in different pH environments*. *Food Chemistry*, 241, 345-350.
- **LESLIE TAYLOR, 2002.** *Brazilian Peppertree, from Herbal Secrets of the Rainforest*, Published and copyrighted by Sage Press, Preprinted 2nd edition © 2002-2003.
- **LIU, Y., et al., 2021.** "Antifungal Activity of Ethanol Extracts from Medicinal Plants against *Colletotrichum gloeosporioides*." « *Journal of Agricultural and Food Chemistry* », 69(15), 4413-4421.
- **LOUSSERT, 1985.** *Les agrumes* .Ed. Bailliere, Paris, 136p.
- **LOUSSERT, 1987.** *Agrumes* .vol 1.Ed .science .Univ.109p.
- **LOUSSERT, R., 1989.** "Les agrumes, Production", Ed. Science. Univ, Liban, vol 2, 280p.
- **MARTIN, PH., 2009.** Histoire naturelle du genêt d'Espagne. Dans Olivier S. (dir.). *Le genêt textile. Plante sauvage, plante cultivée*, Lodève, CCLL, coll. Les Cahiers du Lodévois-Larzac, n°34 : 14- 17.

Références bibliographiques

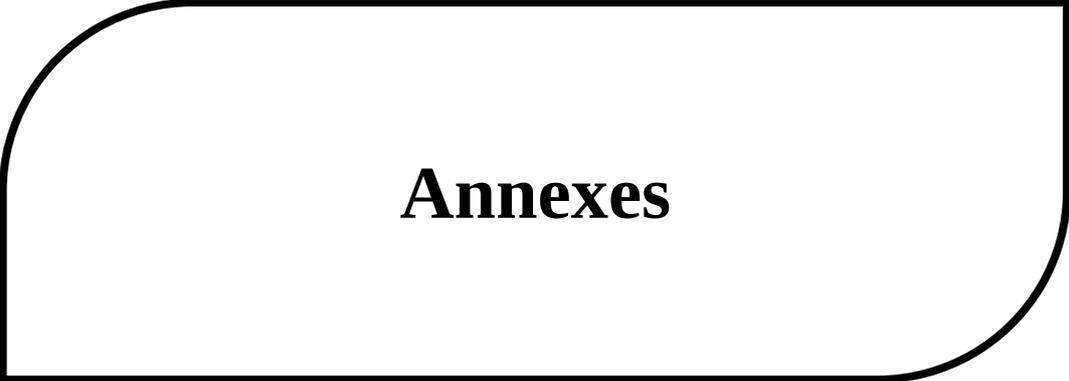
- **MARTÍNEZ-ROMERO, D., GUILLÉN, F., CASTILLO, S., VALERO, D., & SERRANO, M., 2007.** The use of essential oils as biopreservatives in horticultural products: A review. *Food Science and Technology International*, 13(3), 295-308.
- **MENDIOLA, J.A., HERRERO, M., CIFUENTES, A. et IBÁÑEZ, E., 2007.** Use of Compressed fluids for sample preparation: Food applications. *Journal of Chromatography A*, vol, 1152(1-2), p. 234-246.
- **MESSAOUD, C., BÉJAOU, A., BOUSSAID, M., 2011.** Fruit color, chemical and genetic BIBLIOGRAPHIE 185 diversity and structure of *Myrtus communis* L. var. *italica* Mill. morph populations. *Biochemical Systematics and Ecology* 39, 570–580.
- **N’GUESSAN, K., KADJA, B., ZIRIHI, G.N., TRAORÉ, D., AKÉ-ASSI, L., 2009.** “Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire)”, *Sciences & Nature*, vol. 6, n°1, p 1-15.
- **NAJJAA, H., ZOUARI, S., ARNAULT, I., AUGER, J., AMMAR, E. et NEFFATI M., 2011.** “Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L.”, *Acta botanica gallica*, vol. 158, n° 1. p 111-123.
- *Orme champêtre, Ulmus minor.* (s. d.). auJardin.info. <https://www.aujardin.info/plantes/ulmus-minor.php>. Consultée le 17/05/2024.
- **PAREKH, J., et CHANDA, S. V., 2007.** In vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. *Turk J Biol*, 31, 53–58.
- **PATRICK ANDERSON, 1992.** Anacardiaceae (cashew family) *Schinus huingan* Mol., *Schinus molle* L. var. *Huingan* (Mol.), *Schinus molle* var. *areira* (L.) DC, Peace Corps, Bolivia.
- **PERES, N. A., TIMMER, L. W., ADASKAVEG, J. E., CORRELL, J. C., 2005.** Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 89(8), 784-796.
- **POLESE, J.M., 2008 .** La culture des agrumes, Artemis . ISBN : 284416756X.p 12.
- **RAJA, N., 2012.** Evaluation of aqueous and ethanol extract of bioactive medicinal plant, *Cassia didymobotrya* (Fresenius) Irwin & Barneby against immature stages of filarial vector, *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *asian pacific journal of tropical biomedicine* .
- **RAMOS, L., et al., 2018.** "Efficacy of *Uriginea maritima* Extracts against *Colletotrichum musae*." « *Fungal Biology* », 122(10), 1018-1025.
- **RAPILLY, F., 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Épiphyties*, 19 (No. H.S.), Paris : INRA, 102 p.

Références bibliographiques

- **REDDY, P. et al., 2018.** "Antifungal properties of neem and garlic extracts against fungal pathogens."
- **RHOUMA, A., BEN DAOUD, H., GHANMI, S., BEN SALAH, H., ROMDHANE, M., et DEMAK, M., 2009.** Antimicrobial activities of leaf extracts of Pistacia and Schinus species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 91(2), 339–345.
- **SALAH, N., MILLER, N J., PAGANGA, G., TIJBURG, L., BOLWELL, G.P., 1995;**Rice-Evans C.A. Polyphenolicflavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chainbreakingantioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 339-346.
- **SALIM, L., 2011.** IMPACT DE DEPERISSEMENT DES AGRUMES DANS LA REGION DE LA MITIDJA : ETUDE ETIOLOGIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE. Mémoire de Magister : Amélioration des productions végétales. Blida : Université Saad Dahlab de Blida, 173p.
- **SHARMA, N. et al., 2021.** "Antifungal potential of essential oils against plant pathogenic fungi."
- **SINGER, A.C., CROWLY, D., THOMPSON, I.P., 2003.** Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. *Trends Biotechnol.* 21, 123-130.
- **SINGH, A. et al., 2021.** "Bioactive compounds from medicinal plants and their action against phytopathogenic fungi."
- **SINGH, M., & KAUR, J., 2017.** Antifungal activity of Azadirachta indica against various fungal pathogens. *Journal of Plant Pathology*, 99(3), 509-515.
- **SMITH, I. M., DUNEZ, J., PHILLIPS, D. H., LELLIOTT, R. A., et ARCHER, S. A., 1988.** *European Handbook of Plant Diseases*. Blackwell Scientific Publications.
- **SMITH, J., et al., 2019.** "Antifungal Properties of Shinus molle Extracts." « *Plant Disease*, 103(5), 1245-1251.
- **SMITH, J., et DOE, A., 2020.** *Polyphenolic compounds in Myrtus communis and their medicinal applications*. *Journal of Natural Products*, 83(2), 123-135.
- **SONG, W., ZHOU, L., YANG, C., CAO, X., ZHANG, L., et LIU, X., 2004.** Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop. Protect*, vol. 23(3), p. 243- 247.
- **SPIES, T., PRAZNIK, W., HOFINGER, A., ALTMANN, F., NITSCH, E., et WUTKA, R., 1992.** The structure of the fructant sinistrin from *Urginea maritima*. *Carbohydrate research*, 235:221-230.

Références bibliographiques

- **TAHIRI, A ., 2007.** Maladies virales des agrumes, Département de Protection des plantes. ENA Meknès .p 2.
- **TIM MOTIS., 2018.** Pousse jaune, fruit vert: Maladie du verdissement des agrumes.
- **TRUELLE, A., 2009.** Scille maritime. Le jardin familial des plantes médicinales. (http://www.gloubik.info/sciences/spip.php/article_a91.pdf).
- **VINATORU, M., et al., 2017.** "Ultrasound assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials." *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178.
- **ZOUAOUI S-A., MEGHERBI-BENALI A., TOUMI B-F. ET OUAAR D., 2018.** Contribution à l'étude du pouvoir antifongique des graines du Chénopodium quinoa Wild vis-à-vis de deux champignons phytopathogène de l'orge : *Pyrenophora tritici-repentis* et *Rhynchosporium secalis*. *Bulletin de la Societe Royale des Sciences de Liège*, Vol 87 : p 100-111.



Annexes

Annexes

ANNEXE 01 : Matériel de laboratoire

Matériel et Verreries	Produits chimique et réactifs
Flacons, béchers, erlenmeyers, entonnoirs, Fioles, tubes à essai, Papier filtre, barreau magnétique, spatules, pipettes, micros pipettes, boîtes de Pétri en verre, boîtes de Pétri en plastique et en verre, Pincés, Papier parafilm, papier aluminium, Papier filme, Sering médicale, filtre a sering , Bavettes, Gants, Eppendorf.	Eau distillée, PDA, Méthanol 99,6 % , Ethanol 96 %, Iodure de potassium, Iode, Acide chlorhydrique (HCl), Hydroxyde d'ammonium, acétate d'éthyle, Chlorure ferrique (FeCl3), Iode, KOH, NaOH, NH4OH, Acide sulfurique (H2SO4), , Anhydride acétique, Chloroforme.

Appareillage
Balance, Balance de précision, Étuve, Plaque chauffante, Bec Benzène, Autoclave, Agitateur mécanique, Bain marie, Hôte, réfrigérateur.

ANNEXE 02 : Taux d'humidité %

Plantes	M.C	S.J	U.Minor	S.M	U.Maritima
TH %	4	7,1	5,4	6,05	6,55

ANNEXE 03 : Résultats de Rendements

Plantes	M.C	S.J	U.Minor	S.M	U.Maritima
R % (macération)	12,5	15,35	8,46	13,73	5,67
R % (ultrasons)	6,60	6,16	3,25	7,19	2,91

Résumé

Les résultats de l'étude montrent que l'extraction par ultrasons a généralement produit des rendements d'extraction plus élevés et des extraits de meilleure qualité que la macération avec de l'éthanol à 96%. L'analyse phytochimique des cinq plantes (*Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, et *Urginea maritima*) a révélé une forte présence de polyphénols et d'autres métabolites secondaires dans les extraits, suggérant leur potentiel comme agents antifongiques. Les tests d'efficacité contre *phoma tracheiphila* et *Colletotrichum sp.*, ont montré que l'efficacité varie significativement avec la dose appliquée, avec des taux d'inhibition plus élevés observés à des concentrations plus élevées pour plusieurs plantes, notamment *Urginea maritima* et *Myrtus communis*. En résumé, les extraits éthanoliques des plantes étudiées montrent un potentiel prometteur comme agents antifongiques naturels, nécessitant toutefois des recherches supplémentaires pour optimiser les méthodes d'extraction et de concentration des composés actifs.

Mots clés : Activité antifongique, Screening phytochimique, *Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, *Urginea maritima*, *Colletotrichum sp.*, *phoma tracheiphila*.

Abstract

The study results indicate that ultrasound-assisted extraction generally yielded higher extraction yields and better quality extracts compared to maceration with 96% ethanol. Phytochemical analysis of these five plants (*Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, et *Urginea maritima*) revealed a significant presence of polyphenols and other secondary metabolites in the extracts, suggesting their potential as antifungal agents. Efficacy tests against *Phoma tracheiphila* and *Colletotrichum gloeosporioides* showed that effectiveness varied significantly with the applied dose, with higher inhibition rates observed at higher concentrations for several plants, notably *Urginea maritima* and *Myrtus communis*. In summary, ethanol extracts from the studied plants demonstrate promising potential as natural antifungal agents, though further research is needed to optimize extraction methods and concentrate active compounds.

Keywords: Activité antifongique, Phytochemical analysis, *Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, *Urginea maritima*, *Colletotrichum sp.*, *phoma tracheiphila*.

ملخص

تشير نتائج الدراسة إلى أن الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية أدى عمومًا إلى إنتاج عوائد استخلاص أعلى ومستخلصات ذات جودة أفضل عن وجود كبير للبوليفينول وغيرها من المستقلبات الثانوية في المستخلصات، مما يشير (*Myrtus communis*, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, et *Urginea maritima*) مقارنة بالنقع باستخدام الإيثانول بنسبة 96%. كشف التحليل الكيميائي النباتي لهذه النباتات الخمسة أن الفعالية العالية *Phoma tracheiphila* و *Colletotrichum gloeosporioides* إلى إمكاناتها كعوامل مضادة للفطريات. أظهرت اختبارات الفعالية ضد *Urginea maritima* و *Myrtus communis* نتائج بتباين بشكل كبير مع الجرعة المطبقة، مع ملاحظة معدلات تثبيط أعلى عند التركيزات الأعلى للعديد من النباتات، ولا سيما باختصار، تُظهر مستخلصات الإيثانول من النباتات المدروسة إمكانات واعدة كعوامل طبيعية مضادة للفطريات، على الرغم من *Myrtus communis*. أن هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحسين طرق الاستخلاص وتركيز المركبات النشطة.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للفطريات، التحليل الكيميائي النباتي،

Myrtus communis, *Spartium junceum*, *Ulmus minor*, *Schinus molle*, *Urginea maritima*, *Colletotrichum sp.*, *phoma tracheiphila*.