

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biologie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Abed Bilal

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

THÈME

**Evaluation de l'activité antifongique de l'huile
essentielle de *Salvia officinalis* vis-à-vis de
Colletotrichum gloeosporioides agent de
l'antracnose sur tomate**

Jury :

Président : BADAOUI M.I.

M.C.B

Université de Mostaganem

Encadreur : SAIAH F.

M.C.B

Université de Mostaganem

Examinatrice:BERGHEUL S.

M.C.B

Université de Mostaganem

Année universitaire : 2020/2021

Dédicace

Avec toute fierté, avec toute sincérité et avec tout mon respect je dédie le

fruit de ma vie étudiante :

D'abord à mon cher papa que DIEU lui accorde sa miséricorde.

A la lumière de ma vie et l'espoir de mon existence ma très chère mère. Je prie

DIEU le tout puissant de la garder pour moi.

A mes sœurs et à toutes ma famille ABED et BOUDIA.

A mes amis, Mohamed, Houda et Hala

A mon meilleur ami Nasreddine

A toute la promotion BVP.

Bilel

Remerciements

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

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche en n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme SAIAH FARIDA, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.

Je remercie mesdames BADAOUI M.I. et BERGHEUL S. pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire et plus particulièrement :

Les ingénieures de laboratoire pour leur aide et orientations.

Résumé:

La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels « bio insecticide », afin de lutter contre l'antracnose de la tomate causée par *Colletotrichum gloeosporioides*, considérée comme redoutable pour cette culture en Algérie. Pour répondre à cet objectif, nous avons évalué ; l'activité antifongique de l'huile essentielle de la plante aromatique *Salvia officinalis*, «in vitro» sur la croissance de cet agent pathogène et l'activité antifongique de l'extrait aqueux de la même plante aromatique sur le développement «in vivo» de l'antracnose sur les feuilles de tomate détachées.

Les résultats obtenus révèlent que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* inhibe remarquablement la croissance mycélienne « in vitro ». Alors que l'extrait a réussi à diminuer l'incidence de l'antracnose sur les feuilles inoculées.

Cette étude doit être poursuivie et approfondie afin de vérifier cet effet antifongique « in vitro » et par la suite à grande échelle, en plein champs.

Mots clés: *Salvia officinalis*, huile essentielle, extrait aqueux, tomate, antracnose, *Colletotrichum sp.*

Abstract:

The objective of this study is to propose alternative solutions based on the use of natural "bio-insecticide" products, in order to fight against anthracnose of tomatoes caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, considered to be redoubled for this crop in Algeria. To meet this aim, we evaluated; the antifungal activity of the essential oil of the aromatic plant *Salvia officinalis*, "in vitro" on the growth of this pathogen and the antifungal activity of the aqueous extract of the same aromatic plant on the "in vivo" development of anthracnose on detached tomato leaves.

The results obtained show that the essential oil of *Salvia officinalis* remarkably inhibits mycelia growth "in vitro". While, the extract was successful in decreasing, the incidence of anthracnose on the inoculated leaves.

This study must be continued and deepened in order to verify this antifungal effect "in vitro" and subsequently on a large scale, in the open field.

Key words

Salvia officinalis, essential oil, aqueous extract, tomato, anthracnose, *Colletotrichum* sp.

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو اقتراح حلول بديلة تعتمد على استخدام منتجات "المبيدات الحيوية" الطبيعية ، من أجل مكافحة أنثراكنوز الطماطم التي تسببها *Colletotrichum gloeosporioides* ، والتي تعتبر مضاعفة لهذا المحصول في الجزائر. لتحقيق هذا الهدف ، قمنا بتقييم ؛ النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري للنبات العطري *Salvia officinalis* ، "in vitro" على نمو هذا العامل الممرض والنشاط المضاد للفطريات للمستخلص المائي للنبات العطري نفسه على التطور "in vivo" لأنثراكنوز على أوراق الطماطم المنفصلة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيت العطري لـ *Salvia officinalis* يثبط بشكل ملحوظ نمو الفطريات "in vitro". بينما نجح المستخلص في تقليل حدوث الأنثراكنوز على الأوراق الملقحة.

يجب مواصلة هذه الدراسة وتعميقها من أجل التحقق من هذا التأثير المضاد للفطريات ومن ثم على نطاق واسع .

الكلمات المفتاحية

Salvia officinalis ، زيت عطري ، مستخلص مائي ، طماطم ، أنثراكنوز *sp. Colletotrichum*

Liste des abréviations

CPG	Chromatographie en phase gazeuse	P6
CPG /SM	Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse	P6
ES COP	The European Scientific Cooperative on Phytotherapy	P8
HMPC	Committee on Herbal Medicinal Products	P10
LDL	Low Density Lipoprotein	P11
UV	Ultraviolet	P11
AINS	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	P12
ISO	Organisation Internationale de normalisation	P22
HE	Huile essentielle	P22
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'agriculture	P35
CMV	Infection à cytomégalovirus	P36
TMV	Tobacco mosaic virus	P36
TSWV	Virus de la maladie bronzée	P36
PDA	Potato Dextrose Agar	P45
CMI	Concentration minimale inhibitrice	P53
PCA	Plate Count Agar	P56

Liste des figures

Figure 01	<i>Salvia officinalis</i>	P4
Figure 02	Principales molécules et huiles essentielles contenant des phénols	P12
Figure 03	Aldéhyde cinnamique	P13
Figure 04	Principales molécules et huiles essentielles contenant des cétones	P13
Figure 05	L'acétate linalyle	P14
Figure 06	Le bergaptène	P14
Figure 07	A-pinène	P14
Figure 08	Principales molécules contenant des alcools	P15
Figure 09	Principales molécules contenant des aldéhydes le gèranial et le néral	P20
Figure 10	Les feuilles de tomate	P34
Figure 11	Effet de l'huile essentielle des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> sur la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	P36
Figure 12	Effet de différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur l'isolat de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	P37
Figure 13	Effet des différentes concentrations de l'extrait de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> sur l'isolat de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	P37
Figure 14	Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> sous l'effet de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .	P38
Figure 15	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum sp</i> sous l'effet des différentes concentrations de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> .	P38
Figure 16	Sévérité de l'anthracnose sur feuilles de tomate détachées traité à l'extrait aqueux des feuilles <i>Salvia officinalis</i>	P39
Figure 17	Les symptômes de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> sur les feuilles de tomate	P40
Figure 18	Evolution des diamètres des lésions sur les feuilles de tomate.	P40

Table de matière

Introduction.....	1
I-Généralité sur les plantes médicinales.....	3
I-2 La sauge.....	3
1,6-Propriétés thérapeutiques de la sauge.....	5
1-7-Les activités biologiques de la sauge	7
1-7-1-Activité hypoglycémiant	7
1-7-2-Activité oestrogénique	7
1-7-3-Activité antitumorale	7
1-7-4-Activité anti-inflammatoire et antalgique	7
1-7-5-Activité antimicrobienne	7
1-7-6-Activité antiparasitaire	8
1-7-7-Fonctions cognitives	8
1-8-Toxicologie	8
II-2-Historique	10
II-3-Origine des huiles essentielles	10
II-4-Répartition botanique	11
II-5-Les principes chimiques des huiles essentielles	11
II-7-Mode d'obtention des huiles essentielles	15
II-8-Les distillations	16
II-8-1-L'hydrodistillation	16
II-8-2-La distillation à la vapeur d'eau	16
II-8-3-La distillation sèche	16
II-8-4-L'expression à froid	17
II-8-5-Autres moyens	17
II-8-5-1-L'enfleurage	17
II-8-5-2-L'extraction micro-onde sans solvant	17
II-8-5-3-La turbo distillation	18
II-8-5-4-L'extraction par solvant volatils	18
II-8-9-Les activités biologiques et pharmacologiques	18
II-8-10-Activités biologiques	19
Activités pharmacologiques	19
3-1-3-1-Le système racinaire	23
3-1-3-2-La tige	23
3-1-3-3-Le feuillage	23
3-1-3-4-Les fleurs	23

3-1-4-2-L'eau et l'humidité.....	24
3-1-4-3-Le sol.....	25
3-1-5-Cycle biologique de tomate.....	25
3-1-5-1-La culture.....	25
3-1-5-2-Serriculture.....	26
3-1-6-La composition biochimique de la tomat.....	26
3-1-7-La production nationale et mondiale de la tomate.....	26
3-1-7-1-La production mondiale.....	26
3-1-7-2-La production nationale.....	26
3-1-8-Les contraintes de la production de tomate.....	26
3-2-Maladie de l'antracnose.....	27
3-2-1-Généralité sur la maladie.....	27
3-2-2-Les symptômes.....	27
3-2-7-Moyen de protection.....	30
1-1-2-Matériel fongique.....	31
I-1-4-2-Détermination du rendement d'extraction.....	32
I-1-4-3-Estimation de la croissance mycélienne.....	33
I-1-4-4-Détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne.....	33
I-1-5-2-Extraction surchauffage.....	34
I-1-5-4- Conduite de l'essai.....	34
Chapitre 3: Discussion.....	41

Introduction

Introduction

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Qu'est-ce qui les a guidés à employer une plante plutôt qu'une autre? Le hasard? La religion? La superstition? L'expérience, certainement. Plusieurs théoriciens ont entrepris d'expliquer l'action des plantes sur l'organisme (Iserin, 2001).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIII^{-ème} siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs (Iserin, 2001).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. En effet, dès le XVIII^{-ème} siècle, les savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. Depuis, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs.

En outre, chaque plante médicinale contient des centaines de composantes chimiques qui se trouvent à plus forte dose dans quelques plantes médicinales où elle a un rôle important dans l'activité thérapeutique. Parmi ses plantes on retrouve la sauge (Rombi et Robert, 2015).

Le nom scientifique de la sauge (*Salvia officinalis*) indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de *salvre* qui, en latin, signifie « guérir ». Un dicton médiéval n'affirma-t-il pas : « pour quelle raison un homme devrait-il mourir alors que la sauge pousse dans son jardin ? », la sauge agit contre les maux de gorge et les troubles de la digestion ; elle est légèrement stimulante. Sa saveur est chaude, amère et astringente. Elle contient jusqu'à 50% de thuyone, substance en partie responsable de l'activité oestrogénique, antiseptique et digestive de la plante. (Iserin, 2001).

En dehors des glucides, lipides, protéides et vitamines que l'on retrouve chez tous les êtres vivants, la sauge contient de très nombreux composés spécifiques comme les huiles essentielles. De très nombreuses activités ont été reconnues à ces composés. La plupart du temps, les effets sont liés à une famille chimique déterminée et comme la sauge, possède plusieurs de ces familles dans sa composition, elle est susceptible d'agir dans des domaines très variés. Parmi les effets les plus fréquemment mentionnés, on retrouve son activité antifongique. (Rombi et Robert, 2015).

Parmi les champignons phytopathogènes des plantes, les *Colletotrichum* et leur forme parfaite *Glomerella* tiennent une place importante du fait de leur très large répartition sur une gamme d'hôtes extrêmement variée (Maurice, 1982).

Introduction

Ils sont le plus souvent responsables de maladies désignées sous le terme général d'antracnose qui correspondent à des altérations nécrotiques affectant principalement les parties aériennes des plantes: rameaux, feuilles et fruits (Maurice, 1982).

L'objectif visé par cette présente étude est de déterminer l'effet antifongique « in vitro » de l'huile essentielle des feuilles de la sauge sur la croissance mycélienne du champignon *Colletotrichum gloeosporioides* et d'évaluer l'activité antifongique « in vivo » d'extrait par l'eau surchauffée des feuilles de sauge.

Partie bibliographique

Salvia officinalis

I-Généralité sur les plantes médicinales

Depuis la nuit des temps les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et relèvent de la magie. D'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (Iserin, 2001; Gernez, 2019).

Selon la définition de la pharmacopée Européenne, les plantes sont dites médicinales lorsqu'au moins une partie de leurs constituants chimiques possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Limonier, 2018).

Une plante médicinale, contrairement à une plante « classique » possède donc des principes actifs responsables d'une action thérapeutique mais aussi responsables d'effets indésirables appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques (Limonier, 2018).

I-2 La sauge

Cette plante vivace est originaire de la Méditerranée orientale. Préférant les terrains chauds et calcaires, elle est spontanée et cultivée dans tout le bassin méditerranéen, de l'Espagne à la Turquie et en Afrique du Nord (Rombi et Robert, 2015).

Le nom scientifique de la sauge, *Salvia officinalis* indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie: *Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie « guérir ». Un dicton médiéval n'affirma-t-il pas: « pour quelle raison un homme devrait-il mourir alors que la sauge pousse dans son jardin ? (Callery, 1998; Iserin, 2001).

1-3-Classification botanique

Selon Brieskorn et *al*, (2019) la sauge appartient à:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnolipsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i> L.
Nom commun	La sauge

1-3-Characteristiques botaniques

La plante de la sauge peut atteindre 60 cm de haut pour une envergure de 45 cm. Ses tiges sont robustes et ligneuses et ses feuilles, oblongues, font environ 6 cm de long pour 2 cm de large. Les fleurs, qui apparaissent au milieu de l'été, longues d'environ 2,5 cm, éclosent en grappes longues et recourbées (Callery, 1998).



Figure n°01 : *Salvia officinalis*

1-5-Composition chimique

Dans la composition chimique de la sauge on retrouve des dérivés de l'acide hydroxycinnamique et des acides-phénols comme l'acide rosmarinique; des flavonoïdes (1 à 3%) : 7-glycosyl-apigénol et 7-glucosyl-lutéolol, 5-méthoxy salvigénine et autres flavones, la plupart méthoxylées en 6; de triterpènes: surtout des dérivés carboxyliques de la série de l'oléanane notamment de l'acide ursolique; des phénols diterpéniques comme l'acide carnosolique qui se transforme au séchage en carnosol (picrosalvine) responsable de l'amertume de la feuille, le rosmanol, le gladosol, le safficinolide.

1-5-1-Huile essentielle

La teneur de l'huile essentielle varie de 0,8 à 2,5% et sa composition a été très étudiée. Les constituants majoritaires sont des cétones monoterpéniques bicycliques, les α - et β -thuyones (35-60%, l' α -thuyone étant, sauf rares exceptions, nettement prédominante). L'huile essentielle renferme également, comme composants majoritaires, du camphre (10-40%, parfois moins), du cinéole, du bornéol (libre et estérifié). Parmi les autres constituants identifiés (par CPG et CPG/SM) et assez constamment retrouvés on note une dizaine de carbures mono et sesquiterpéniques: α - et β -pinène, camphène, myrcène, limonène, α - et β -caryophyllène etc. les proportions de ces différents constituants peuvent varier de façon importante en fonction de nombreux critères: origine géographique, époque et fréquence des récoltes (Rombi et Robert, 2015).

1,6-Propriétés thérapeutiques de la sauge

Connue depuis l'Antiquité égyptienne, la sauge est restée célèbre depuis des siècles, notamment pour ses propriétés toniques et emménagogues. D'autres propriétés sont attribuées à la sauge et plusieurs d'entre elles ont fait l'objet d'investigations expérimentales.

Des travaux anciens ont mis en évidence des propriétés antisudorales de la sauge (réduction de 18 à 52% de la transpiration). Une activité antispasmodique lui est reconnue; à faible dose (0,16 mg/ml) l'huile essentielle inhibe à 50% les contractions induites par une stimulation électrique de l'iléon isolé du cobaye: le camphre et l'acétate de bornyle sont les composants les plus actifs. D'autres composants de la feuille de sauge sont également des inhibiteurs des spasmes provoqués par l'acétylcholine, l'histamine ou la sérotonine sur les muscles lisses. Il n'est pas sans intérêt de rapprocher cette donnée de l'activité spasmolytique démontrée pour de nombreux flavonoïdes et en particulier pour les flavones polyméthoxylées isolées du thym. Concernant son activité antiseptique, elle se révèle antimicrobienne et modestement

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre I : présentation de l'espèce *Salvia officinalis*

antifongique « in vitro ». Efficace à 100% contre *Kelbsiella* et les entérobacéries, à 96% contre *Escherichia coli*, à 83% contre *Proteus mirabilis* et à 75% contre *Morganella morganii*, l'activité bactéricide de l'huile essentielle de sauge, inférieure à celle de thym, est nulle à l'encontre de *Staphylococcus aureus*. Des extraits isolés par des chercheurs russes présenteraient par contre une activité antibiotique (Rombi et Robert, 2015).

Les extraits aqueux sont également antiseptiques et antioxydants, cette dernière propriété étant liée à la présence d'acide rosmarinique et de diterpènes. A faible dose, un effet anxiolytique lui est reconnu. Pour d'autres chercheurs, l'acide ursolique joue un rôle important dans l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuille de sauge (Rombi et Robert, 2015). Si l'huile essentielle n'a pas d'effet sur la glycémie, les extraits méthanoïques de la feuille de sauge diminuent significativement le taux de glucose.

L'activité immunomodulatrice reconnue aux parties aériennes de la sauge est attribuée à ses polysaccharides (Rombi et Robert, 2015).

Les feuilles de la sauge officinale sont proposées en phytothérapie (gélule de poudre totale) dans le traitement symptomatique de divers troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulence ainsi que, par voie locale, en bain de bouche, pour l'hygiène buccale (Rombi et Robert, 2015).

Plusieurs de ses constituants (les flavones apigénol, hispiduline et cirsimaritrine et surtout les diterpènes 7-méthoxyrosmanol et gladosol) présentent une affinité avec les récepteurs des benzodiazépines situées dans le cerveau humain. Des études cliniques ont montré que la sauge, par ses propriétés anti-choli-nestéras, améliore les facultés cognitives, la mémoire et l'humeur des sujets sains. Elle apparaît comme un traitement d'appoint intéressant dans les démences séniles et la maladie d'Alzheimer (Rombi et Robert, 2015).

L'association d'extraits de *S. officinalis* (sauge) a donné des résultats intéressants dans le traitement des troubles de la ménopause et notamment sur les bouffées de chaleurs, les insomnies, la transpiration nocturne, les vertiges, les maux de tête et les palpitations. Les auteurs de l'étude les attribuent à un effet anti dopaminergique (Rombi et Robert, 2015).

L'efficacité anti-inflammatoire d'un extrait liquide de sauge vaporisé dans la gorge de patients atteints de pharyngites aiguës a été mise en évidence récemment dans un essai clinique en double aveugle contre placebo. Associée à la rhubarbe, une crème à base de sauge s'est révélée aussi performante que le Zovirax (aciclovir) dans le traitement de l'herpès labial (Rombi et Robert, 2015).

1-7-Les activités biologiques de la sauge

1-7-1-Activité hypoglycémiante

La sauge, en plus d'un traitement à base de metformine et d'atorvastatine, permet de baisser plus considérablement et plus rapidement la glycémie post-prandiale, mais également l'HbA1c, le cholestérol total, les triglycérides et le LDL, à l'opposé, le cholestérol HDL est augmenté (Baricevic, 2001).

Un autre essai randomisé en double aveugle sur une durée de deux mois, chez des patients présentant une hyperlipidémie, a démontré une diminution de la cholestérolémie, de la concentration sérique en HDL, ceci avec un extrait de feuilles à la dose de 500 mg trois fois par jour (Kianbakht, 2011).

1-7-2-Activité oestrogénique

Une étude a été menée sur un groupe de patientes ménopausées depuis au moins douze mois et présentant au moins cinq bouffées de chaleur par jour. Pendant huit semaines, elles ont pris des feuilles fraîches de *Salvia officinalis*. Dès la première semaine de traitement, le nombre moyen de bouffées de chaleur a diminué avec une amélioration au fil du temps. (Bommer, 2011).

1-7-3-Activité antitumorale

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* inhibe la mutagenèse induite par UV chez *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae* (Vukovic-Gacic, 2006).

L'extrait méthanolique, contenant principalement des acides phénoliques, présente une activité protectrice contre le stress oxydatif et la génotoxicité induit par le cyclophosphamide chez le rat (Ersilia, 2018).

1-7-4-Activité anti-inflammatoire et antalgique

Un essai randomisé en double aveugle, a montré qu'un collutoire dosé à 15% en extrait fluide de *Salvia officinalis* permet de soulager les symptômes de la pharyngite en 2 heures après son administration, par rapport à un placebo. Il ne présente que très peu d'effets indésirables, sécheresse du pharynx et moyennes sensations de brûlures (Hubbert, 2006).

En usage local, différents extraits ont été testés afin d'évaluer les mêmes propriétés. Il semble que l'extrait chloroformique soit le plus efficace pour diminuer un œdème sur des modèles murins. Le composé principal de cet extrait est l'acide ursolique, testé seul, ce principe actif présente une activité anti-inflammatoire deux fois plus forte que l'indométacine, un AINS utilisé comme référence dans cette étude (Baricevic, 2001).

1-7-5-Activité antimicrobienne

L'huile essentielle de sauge inhibe la croissance de certaines bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. Ces résultats sont d'autant plus intéressants, que certaines de ces souches peuvent être pathogènes chez l'homme et présentent des résistances aux antibiotiques classiques (Ben Kheder, 2017).

Les acides oléaniques et ursolique, testés séparément, permettent d'inhiber la croissance de certains bactéries multi-résistantes comme *Streptococcus pneumonia* résistant à la pénicilline, les enterococci résistants la vancomycine et *Streptococcus aureus* résistant à la méthicilline (Ghorbani, 2017).

1-7-6-Activité antiparasitaire

L'huile essentielle de sauge en fumigation présente une activité sur le troisième, stade de *Spodoptera littoralis*. Cette activité pourrait être due aux monoterpènes présents dans l'huile, qui inhibent l'acétylcholinestérase, enzyme très importante dans le système nerveux central de ces insectes (Ben Kheder, 2017).

1-7-7-Fonctions cognitives

Dans un essai en double aveugle contre un placebo, l'extrait de *Salvia officinalis* permet une amélioration des fonctions cognitives avec une diminution de l'agitation chez des patients présentant une maladie d'Alzheimer d'intensité moyenne. L'étude a été réalisée avec 60 gouttes par jour d'extrait alcoolique sur une période de 4 mois (Akhondzadeh, 2003).

1-8-Toxicologie

Après une ingestion prolongée de fortes doses d'huile essentielle, des convulsions de type épileptique peuvent apparaître, précédées d'une hypersalivation et de vomissements entrecoupés d'épisodes d'obnubilation, d'hypo réflexe et d'hypotonie.

L'étude expérimentale chez le rat montre que l'activité convulsivante est d'origine centrale et que les manifestations convulsives apparaissent dès la dose de 0,5g/kg de poids corporel (I.P). Les enregistrements électrocorticographiques et électromyographiques montrent que l'action centrale apparaît pour des doses bien inférieures à celles qui provoquent les myoclonies. La toxicité est principalement liée aux cétones monoterpéniques: thuyones et camphre de la sauge de Dalmatie, camphre de *S. lavandulifolia* (qui, de ce fait, est moins toxique). La toxicité pourrait être liée à une inhibition du métabolisme oxydatif des neurones (Rombi et Robert, 2015).

Partie 01 : Etude bibliographique
Chapitre I : présentation de l'espèce *Salvia officinalis*

Les huiles essentielles

Chapitre II- les huiles essentielles

II-1-Généralité

Selon la pharmacopée Européenne 9^e édition, l'huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. On distinguera donc l'huile essentielle, qui n'est donc pas préformée dans la plante mais obtenue après extraction, de l'essence présente au sein de la plante. L'extraction permet en effet, l'apparition de nouvelles molécules et la concentration des molécules volatiles déjà présentes, expliquant les différences de propriétés d'une même plante utilisée en phytothérapie et en aromathérapie (Teruin, 2018).

Toutes les plantes ne sont pas à même d'être à l'origine de ces huiles essentielles. En effet, seules 10% des espèces végétales sur environ 800000 recensées peuvent en permettre l'obtention. On parle alors de plantes aromatiques. Les essences sont produites et concentrées dans 3 types de structures au sein de la plante : les poils glandulaires épidermiques, les poches et les canaux glandulaires (Teruin, 2018).

II-2-Historique

L'huile essentielle est très ancienne et assez universelle, son utilisation date de plus de 7000 ans (on trouve les premières traces chez les aborigènes d'Australie avec fumigation) preuve en est alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On retrouve des inscriptions datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits Egyptiens datant de 3500 ans. Les Egyptiens obtenaient les huiles essentielles en pressant les plantes (Yuerdon, 2004). De nos jours, l'aromathérapie retrouve ses lettres de noblesse grâce entre autre aux naturopathes, aux formations qui sont proposés aux médecins ainsi qu'aux recherches faites par les scientifiques (chimistes, agronomes...) (Yuerdon, 2004).

II-3-Origine des huiles essentielles

Les huiles essentielles font parties des résidus du métabolisme végétal. Les plantes vertes puisent l'eau et utilisent l'énergie solaire et gaz carbonique présent dans l'air pour synthétiser les glucides, ce processus est appelé photosynthèse, il se déroule au niveau des feuilles, plus

précisément au niveau des chloroplastes qui renferment la chlorophylle, les produits issus de la photosynthèse sont (glucides, NADPH, ATP) constituent une source d'énergie, ils contribuent à la génération de nouvelles cellules, ils interviennent indirectement dans la biosynthèse de divers composés secondaires tels que les lipides, les hétérosides et les essence (Narishetty et Panchagnula, 2004)..

Au niveau des plantes aromatiques, ils sont localisés dans toutes les parties, tous leurs organes végétaux, peuvent contenir de l'huile essentielle: Les fleurs, les feuilles, les organes souterrains, les fruits, les graines, le bois et les écorces. On les retrouve dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huiles essentielle, cellules à poils sécréteurs, canaux sécréteurs)

Les huiles essentielles ont vraisemblablement un rôle défensif en protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores (chèvre et les moutons). Seul l'homme et certains insectes sont attirés par l'odeur des plantes aromatiques (Brunton, 1999).

II-4-Répartition botanique

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs ; il y aurait, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles. Ex : *Myrtacées*, *Lauracées*, *Rutacées*, *Lamiacées*, *Astéracées*, *Apiacées*, *Cupressacées*, *Poacées*, *Zingibéracées*, *Pipéracées*, les huiles essentielles peuvent avoir une origine animale annonce Frant et Damelio et donnent l'exemple de celle rencontrée dans le foie de poisson (Frank et Amelio, 1990).

II-5-Les principes chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être classées en plusieurs familles biochimiques. L'activité thérapeutique d'une huile essentielle est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnels de ses composés principaux (alcools, phénols, composés terpéniques...) et à leurs actions synergiques (Florence, 2012).

Les principales familles biochimiques sont présentées ci-dessous pour expliciter les diverses propriétés des huiles essentielles (Florence, 2012).

II-5-1-Les composés aromatiques

II-5-1-1-Les phénols

Ce sont des composés chimiques aromatiques avec une fonction hydroxyle. (Florence, 2012). Les phénols sont les molécules aromatiques avec le plus grand coefficient antibactérien et le plus large spectre. (Florence, 2012). Des scientifiques ont étudié l'activité biologique de deux composants phénoliques (le carvacrol et l'eugénol) que l'on retrouve dans plusieurs huiles essentielles et leur efficacité biologique dans le traitement d'une candidose buccale induite de façon expérimentale chez des rats immunodéprimés (Florence, 2012). Leur activité contre *Candida albicans* a été comparée à celle de la nystatine. Le carvacrol et l'eugénol pourraient être considérés comme de puissants agents antifongiques. En effet, ces molécules ont réduit significativement le nombre de levures présentes dans la cavité buccale des rats traités pendant huit jours consécutifs (Florence, 2012).

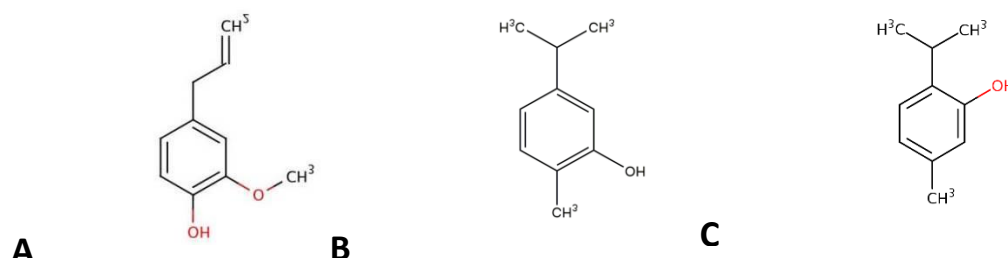


Figure n°02 : Principales molécules et huiles essentielles contenant des phénols

A: l'eugénol

B: le carvacrol

C: le thymol

Les phénols possèdent une action anti-infectieuse puissante à large spectre d'action avec en particulier une activité antibactérienne, antifongique, antivirale, et antiparasitaire (Florence, 2012). Ils sont également des stimulants immunitaires, et des antioxydants.

II-5-I-2-Les aldéhydes aromatiques

Il existe des aldéhydes aromatiques et des aldéhydes terpéniques. Ils comportent le groupe caractéristique -CHO. Les huiles essentielles à aldéhydes sont dermocaustique et irritantes pour les muqueuses, faut donc toujours les diluer dans une huile végétale (Florence, 2012).

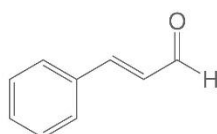


Figure n°03 : l'aldéhyde cinnamique

La principale molécule des huiles essentielles contenant des aldéhydes aromatiques est l'aldéhyde cinnamique contenu dans l'huile essentielle de Cannelle de Chine ou dans celle de Cannelle de Ceylan (Florence, 2012).

II-5-I-3-Les cétones

Les cétones doivent être utilisées avec beaucoup de précaution à faible dose et pendant une courte période car leur action calmante à faible dose peut se transformer en action neurotoxique à dose élevée (Florence, 2012). Par exemple, les cétones présentes dans la sauge sclarée, peuvent provoquer des convulsions (Florence, 2012).

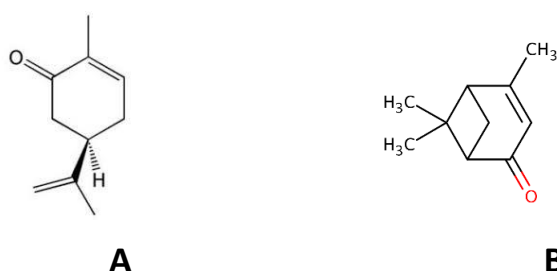


Figure 04: Principales molécules et huiles essentielles contenant des cétones

A: la carvone

B:le verbénone

Parmi les cétones, on peut citer la carvone contenue dans l'huile essentielle de Carvi (*Carum carvi*), ou la verbénone dans l'huile essentielle de Romarin CT verbénone (Florence, 2012).

II-5-I-4-Les esters

Les esters n'ont pas de toxicité aux doses physiologiques. Ils sont généralement bien tolérés. L'acétate linalyle est la principale molécule des huiles essentielles contenant des esters. Ces derniers sont surtout antispasmodiques, anti-inflammatoires et neurotoniques.

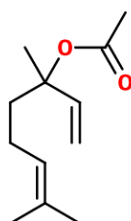


Figure n°05 : l'acétate linalyle

II-5-I-4-Les coumarines

Les coumarines sont présentes en très faible quantité dans les huiles essentielles mais restent toutefois très efficaces. Les coumarines restent présentes longtemps dans l'organisme, voire plusieurs jours en cas d'admission de fortes doses. Les furanocoumarines sont photosensibilisantes (Florence, 2012). Le bergaptène est la principale molécule des huiles essentielles contenant des coumarines

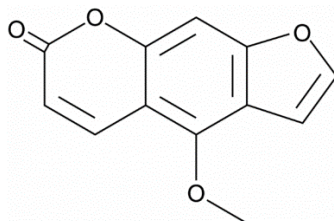


Figure n°06 : le bergaptène

II-6- Les terpènes et ses dérivés

II-6-1-Les terpènes

Les monoterpènes sont les terpènes les plus communs (Florence, 2012). Les terpènes ne doivent jamais être utilisés sur la peau car ils peuvent provoquer des irritations (Florence, 2012).

L'alpha-pinène est une molécule couramment rencontrée les huiles essentielles de Pin sylvestre ou de Genévrier commun. Cette molécule est reconnue comme allergène.

Les terpènes sont surtout reconnus pour leurs actions lymphatiques, stimulantes, et anti-infectieuses (Florence, 2012).

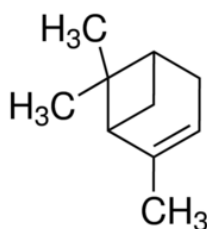


Figure n°07 : α -pinène

II-6-2-Les alcools terpéniques

Les alcools terpéniques ou monoterpénols sont utilisés dans de nombreuses pathologies infectieuses. De plus, contrairement aux phénols qui sont utilisés souvent dans les mêmes indications, ils ne brûlent pas la peau et n'ont pas d'élimination hépatique (Florence, 2012).

Parmi les principales molécules contenant des alcools, on retrouve le menthol et le linalol.



Figure n°08 : Principales molécules contenant des alcools

Le menthol contenu dans l'huile essentielle de Menthe poivrée apporte un effet vasoconstricteur et anesthésiant (Florence, 2012). Alors que le linalol présent dans l'huile essentielle de thym possède une action stimulante immunitaire (Florence, 2012).

II-6-3-Les aldéhydes terpéniques

Les aldéhydes terpéniques comportent le groupe caractéristique $-CHO$, le géraniol et le néral sont les principales molécules des huiles essentielles contenant des aldéhydes.

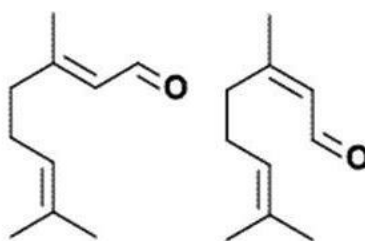


Figure n°09 : Principales molécules contenant des aldéhydes le géraniol et le néral

Les citrals, qui sont des aldéhydes terpéniques, se retrouvent dans l'huile essentielle de citronnelle (Florence, 2012). Les aldéhydes terpéniques comme les citrals confèrent des propriétés anti-inflammatoire et relaxante (Florence, 2012).

II-7-Mode d'obtention des huiles essentielles

Selon la norme ISO 9235, seules trois méthodes sont validées pour la production des HE, en effet l'HE est un « produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques: soit par entrainement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par « distillation sèche ». Ces méthodes sont en accord avec celles de la pharmacopée européenne citée ci-dessus.

II-8-Les distillations

II-8-1-L'hydrodistillation

La matière première végétale est plongée dans de l'eau portée à ébullition, à pression atmosphérique. Les composés vont diffuser à travers la paroi végétale et être entraînés par la vapeur d'eau. Puis un système réfrigérant permet au mélange de se condenser dans un vase florentin. On obtient alors deux phases: une phase aqueuse (l'eau aromatique ou hydrolat) et une phase organique (l'huile essentielle) que l'on sépare par décantation. On note que la durée de distillation a une influence sur la composition ainsi que le rendement de l'huile essentielle obtenue (Lucchesi, 2005).

II-8-2-La distillation à la vapeur d'eau

Lorsque les HE sont riches en esters, le contact direct avec l'eau entraîne une hydrolyse des composés. Afin d'éviter cette réaction chimique, on sépare la matière première de l'eau via une grille ou via un récipient différent. Seule la vapeur d'eau sera en contact avec la matière première et entraînera la volatilisation de l'huile. La vapeur d'eau peut suivre un flux ascendant (entraînement à la vapeur d'eau) ou un flux descendant (hydrodiffusion ou percolation) (Chabert, 2013).

II-8-3-La distillation sèche

Cette méthode est préconisée pour les huiles essentielles issues des bois, écorces, racines, ou encore des végétaux délicats comme les pétales de rose. Cette distillation s'effectue sans addition d'eau, de vapeur d'eau ou encore de solvant. La température étant inférieure à 100°C, elle permet de préserver les composés thermosensibles. Les rendements de cette méthode sont généralement faibles (Lucchesi, 2005).

II-8-4-L'expression à froid

C'est par ce procédé que sont obtenues, les essences des fruits d'agrumes (*Citrus sp*). L'essence de ces fruits est retenue en grande majorité dans des poches sécrétrices schyzolysigènes (se dit des poches sécrétrices qui proviennent de l'écartement et de la lyse de cellules sécrétrices), les sacs oléifères, qui se situent dans le péricarpe du fruit. L'expression à froid s'effectue à température ambiante par des procédés mécaniques: le péricarpe du fruit est dilacéré, un courant d'eau abrasif va alors permettre de récupérer les essences contenues dans les poches. Enfin, l'eau et l'essence sont séparées par centrifugation. Ces essences étant composées en grande partie d'aldéhydes, elles sont davantage sensibles au chauffage et l'oxydation. Cette méthode permet ainsi de préserver leur qualité. Leur production est surtout réalisée dans le domaine industriel, par des procédés permettant d'extraire quasi simultanément l'essence et le jus de fruit. Ce dernier est le principal produit commercialisé, son essence n'est qu'un produit secondaire à son élaboration (Samate, 2002).

On retrouve deux dénominations pour les produits issus de cette méthode: huile essentielle, comme retrouvé dans la pharmacopée, et essence, du fait d'une non modification de la composition par le procédé d'extraction (ANSM, 1991)

II-8-5-Autres moyens

D'autres méthodes peuvent être utilisées pour récupérer les molécules volatiles et odorantes d'une plante, mais elles ne sont pas validées par la pharmacopée Européenne, donc pour un usage thérapeutique. On les retrouve plutôt dans le domaine de l'industrie agro-alimentaire, de la cosmétique et de la parfumerie.

II-8-5-1-L'enfleurage

L'enfleurage consiste à extraire le produit par contact d'une fleur avec une matière grasse, permettant l'obtention d'une pommade. Elle est ensuite rincée à l'alcool (que l'on fait évaporer), ce qui permet non pas l'obtention d'HE mais d'une absolue (Deshepper, 2017).

II-8-5-2-L'extraction micro-onde sans solvant

Le végétal est placé directement dans un four micro-onde, sans ajout de solvant ou d'eau. Lors du chauffage, c'est l'eau contenue dans le végétal qui permet l'entraînement à la vapeur de l'huile. Un système réfrigérant extérieur au four permet la récupération de l'huile essentielle. Cette méthode est en moyenne 9 fois plus rapide que les méthodes conventionnelles (Fillatre, 2011).

II-8-5-3-La turbo distillation

Lors de la distillation, la matière première dont on veut extraire l'huile essentielle va être dilacérée tout en étant agitée, ce qui permet d'augmenter les surfaces d'échanges. Cette technique est utilisée notamment pour les écorces, les graines et les racines dont l'extraction est longue et difficile (Lagunez, 2006).

II-8-5-4-L'extraction par solvant volatils

Les solvants les plus utilisés sont l'éthanol, l'hexane et le cyclohexane, le dichlorométhane et l'acétone. En fonction des solvants et de la technique utilisée, on obtiendra des produits différents: alcoolats (macération des végétaux dans de l'alcool), hydrolats (obtenu après hydrodistillation, il s'agit de l'eau florale séparée de l'huile essentielle), résinoïdes et concrètes (obtenus par extraction par solvant volatil, éthanol en général, d'une matière première aromatique) ... cette technique est surtout utilisée dans l'industrie agro-alimentaire. Parmi ses inconvénients, on peut mentionner une sélectivité variable, avec entrainement de substances non souhaitée comme les huiles grasses par exemple, ou encore la présence de résidus de solvant, pouvant parfois être toxique par lui-même (Lagunez, 2006).

II-8-5-5-L'extraction par CO₂ supercritique

Le CO₂ (dioxyde de carbone) est porté à une température et une pression particulière qui lui permettent d'atteindre un état supercritique, c'est-à-dire un état qui se trouve entre le liquide et le solide. Cet état est obtenu à une pression de plus de 74 bars et à basse température (à partir de 31°C), ce qui lui permet un haut pouvoir de diffusion dans les solides et la capacité de ne pas dénaturer les composés thermosensibles. Les autres avantages de cette technique sont qu'elle est automatisable (l'extraction et le fractionnement pouvant être réalisés de manière concomitante) et que le CO₂ est un gaz facilement disponible, peu onéreux et non toxique. En revanche, l'appareillage présente l'inconvénient d'avoir un cout important et l'affinité du CO₂ pour d'autres composés tels que les cires, les acides gras et les résines peut conduire à une contamination de l'huile essentielle (Mazelier, 2013).

II-8-9-Les activités biologiques et pharmacologiques

Les effets bénéfiques des composés volatils des huiles essentielles sont utilisés depuis fort longtemps par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, après avoir été délaissées un temps soit peu par la médecine, le potentiel thérapeutique des huiles essentielles et de leurs constituants volatils est reconsidéré et les études qui sont consacrées abondent dans la littérature scientifique.

II-8-10-Activités biologiques

Les plantes aromatiques et épices sont utilisées depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont autant de plantes aromatiques fréquemment utilisés comme ingrédients alimentaires.

Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune: elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations.

Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries (Pauli, 2001; Fabian et *al.*, 2006). D'autres familles de composés présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes: certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques, des phénylpropanes et des monoterpènes. Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il agit d'aromatisants naturels. De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (Burt, 2004). La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques, le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons (Kalemba et *al.*, 2003).

Activités pharmacologiques

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydants, est en relation avec l'apparition de maladies telles que l'Alzheimer (Buterfield, 2002), l'artériosclérose et le cancer (Gardner, 1997).

Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher dans l'alimentation, un apport supplémentaire de composés antioxydant (vitamine C, α -tocophérol, BHT, etc.) (Béliveau, 2005).

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Maruyama et *al.*, 2005). Plusieurs études ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire. Les composés actifs agissent

en empêchant la libération d’histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l’inflammation, par exemple: l’huile essentielle de géranium (Maryama et *al.*, 2005), ainsi que le linalol et son acétate ont montré une activité anti-inflammatoire sur des œdèmes de pattes de souris induit par le carraghénane. Les huiles essentielles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires (Paeana et *al.*, 2002)

Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l’attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l’objet d’études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007).

La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : « ce n’est pas parce que c’est naturel que c’est sans danger pour l’organisme ». Cet aspect des huiles essentielles est d’autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l’émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l’aromathérapie.

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu’elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde). (Smith et *al.*, 2000) ou photo toxique (huiles de *Citrus* contenant des furocoumarines (Naganuma et *al.*, 1985). D’autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (Franchomme et *al.*, 1990). Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d’induire la formation de cancers (Homburger et *al.*, 1968).

Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hépatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs (Wiseman et *al.*, 1987). Le safrole et l'estragole, par exemple, sont métabolisés par les microsomes au niveau du foie des rats et des souris en dérivés hydroxylés puis en esters sulfuriques électrophiles qui eux sont capables d'interagir avec les acides nucléiques et les protéines (Kim et *al.*, 1999). Toutefois, ces résultats sont controversés car il existe des différences chez l'homme dans le processus de métabolisation de ces composés. Le safrole, par exemple, est métabolisé chez l'humain en dihydroxysafrole et trihydroxysafrole non cancérogènes (Franchomme et *al.*, 1990). De plus, tout dépend de la dose administrée lors des expériences et bien souvent la dose absorbée par l'animal est loin de correspondre à celle qu'un homme est susceptible d'ingérer par jour (Guba, 2001).

Colletotrichum sp et plante hôte

Chapitre 3 : *Colletotrichum* sp. et plante hôte

3-1-Plante hôte: Tomate

3-1-1-Historique de culture de tomate

La tomate du genre *Lycopersicon* est une plante cultivée dans le monde entier pour son fruit. Elle est originaire des régions Andines côtières du Nord-Ouest de l'Amérique du Sud, dans une zone qui s'étend du sud de la Colombie au Nord du Chili, et de la côte Pacifique aux contreforts des Andes (Equateur, Pérou). C'est dans ces régions, que des plantes spontanées de diverses espèces, de l'ancien genre *Lycopersicon*, notamment *Solanum lycopersicum* ceraciforme (la tomate cerise) ont été découvertes. Cette dernière actuellement répandue dans toutes les régions tropicales du globe, il s'agit d'une introduction récente (Kolev, 1976).

C'est au XVIème siècle au Mexique que la tomate à gros fruits a été découverte et domestiquée, son nom vient des indigènes qui l'appelaient « Tomati »; ce nom provient d'un nom Aztèque «Zitomate» (Chougar, 2011).

Le genre *Lycopersicon* comprend neuf espèces, dont l'espèce *Lycopersicon esculentum* qui sous sa forme sauvage ceraciforme pourrait être à l'origine de nos variétés, et qui a émigré vers le Sud de l'Amérique du Nord (Chaux et Foury, 1994).

La tomate fut introduite en Europe au XVIème siècle par les Espagnols avant même la pomme de terre et le tabac, et les gens pensaient qu'elle avait un pouvoir aphrodisiaque et l'appelèrent «pomme d'Amour» (Chougar, 2011).

Les Européens l'ont exploitée au début pour un usage purement ornemental et ont évité sa consommation, à cause des liens de parenté botanique très étroits avec certaines espèces végétales connues comme plantes vénéneuses, exemple: *Hyocinusniger*, *Lycopetsicum atropa* (Kolev, 1976).

Son introduction en Algérie fut par les cultivateurs du Sud de l'Espagne (Tomateros), étant donné les conditions climatiques qui lui sont propices. Sa consommation a commencé dans la région d'Oran en 1905 puis, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral Algérois (Latigui, 1984).

3-1-2-Classification botanique de la tomate

Tout d'abord le nom scientifique *Solanum lycopersicum* L. a été proposé pour remplacer *Lycopersicum esculentum* Mil. Utilisée depuis de nombreuses décennies. En effet, les éléments historiques montrent que *Solanum lycopersicum* a été proposé par Linné en 1753, un an avant la proposition de Miller d'associer la tomate au genre *Lycopersicum*. Des études phylogénétiques appuient l'idée que la tomate et ces cousins les *Lycopersicum* sauvages doivent

être placées dans le genre *Solanum*. Les deux noms continuent à être utilisés dans la littérature (Blancard, 2009).

Selon Benton (2008) *Lycopersicum esculentum* est classé comme suit:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionia
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Solanales
Famille	Solanacées
Genre	<i>Lycopersicum</i>
Espèce	<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.

3-1-3-Caractères botanique

La tomate est une plante herbacée annuelle à port rampant, aux tiges ramifiées. Il existe trois ports: retombant, semi retombant et horizontal. De nos jours, il est difficile de déterminer la taille de la tomate puisqu'on utilise exclusivement des hybrides à croissance indéterminée. Il est nécessaire de les palisser car la tige est très peu ligneuse et a une section creuse. Pour palisser, on entoure un lien autour de la tige, lien que l'on accroche à un support ou à une bobine reliée à la charpente de la serre

3-1-3-1-Le système racinaire

Il est très développé et pivotant avec de nombreuses racines, la plupart des racines se situent à une profondeur de 30 à 40 cm, dans le cas où le semis est effectué directement en place, la racine centrale se développe relativement vite, elle peut atteindre une profondeur de 100 à 150 cm (Kolev, 1976).

3-1-3-2-La tige

Elle est pleine et anguleuse, pousse jusqu'à une longueur de 2 mètres (Shankara, 2005). Le port de croissance varie entre érigé et prostré.

3-1-3-3-Le feuillage

Les feuilles sont simples, composées, alternées, sans stipule, mesurant entre 15 et 50 cm de long et 10 et 30 cm de large, le pétiole mesure de 3 à 6 cm (Shankara, 2005).

3-1-3-4-Les fleurs

Les fleurs sont bisexuées, régulières de 1,5 et 2 cm de diamètre. Elles poussent opposées aux feuilles ou entre elles, le tube du calice est court et velu, les sépales, sont parfois persistantes.

Partie 01 : Etude bibliographique
Chapitre 2 : *Colletotrichum* sp. et plante hôte

La corolle est constituée en général de six pétales peuvent atteindre une longueur de 1 cm. Elles sont jaunes et courbées lorsqu'elles sont mures.

L'androcée est formé de quatre étamines, les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le stylet.

3-1-3-5- La graine

Dans chaque fruit, les graines sont petites, nombreuses (environ 300 à 350 graines/gr). Elles sont de 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large, 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (Shankara et *al.*, 2005). Selon Rey (1965), les semences peuvent garder leur faculté germinative pendant 4 à 5 ans dans les conditions normales.

3-1-4-Les exigences climatiques

3-1-4-1-La température et la lumière

La tomate demande un climat relativement frais et sec pour fournir une récolte abondante et de qualité. Cependant, la plante s'est adaptée à une grande diversité de conditions climatiques, allant du climat tempéré vers le climat tropical chaud et humide. La température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24°C. Les plantes peuvent surmonter un certain intervalle de températures, mais au-dessous de 10°C et au-dessus de 38°C les tissus des plantes seront endommagés. (Shankara, 2005)

La tomate réagit aux variations de température qui ont lieu pendant le cycle de croissance, cela affecte la germination des graines, la croissance de semis, la floraison, la mise à fruits ainsi que la qualité des fruits. Lorsque des périodes de froid ou de chaleur perdurent pendant la floraison, la production de pollen sera réduite. Ceci affectera la formation des fruits. Mises dans des pots ou des caissettes ; l'intensité de la lumière affecte la couleur des feuilles, le fruit et sa couleur. (Shankara, 2005)

3-1-4-2-L'eau et l'humidité

Une simple astuce permet de déterminer si les réserves en eau disponibles sont suffisantes pour cultiver la tomate. Si des plantes herbacées (des plantes avec de nombreuses feuilles fines) poussent dans le milieu naturel, il sera possible d'y faire pousser des tomates. Il faut pouvoir compter sur au moins trois mois de pluie. Le stress causé par une carence en eau et les longues périodes arides fait tomber les bourgeons et les fleurs et provoque le fendillement des fruits.

Par contre, lorsque les averses sont très intenses et l'humidité est très élevée, la croissance des moisissures et la pourriture des fruits seront plus importantes. (Shankara, 2005)

Les temps nuageux ralentissent le murissage des tomates. Cependant, des cultivars adaptés sont disponibles. Les sociétés semencières ont des variétés de tomates spécialement adaptées aux climats chauds et humides. (Shankara, 2005)

3-1-4-3-Le sol

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention de l'eau, une bonne aération et qui sont libres de sels. Elle préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées. La couche superficielle du terrain doit être perméable.

Une profondeur de sol de 15 à 20cm est favorable à la bonne croissance d'une culture saine. Dans les sols d'argile lourde, un labour profond permet une meilleure pénétration des racines. La tomate tolère modérément un large intervalle de valeurs du PH (niveau d'acidité), mais pousse le mieux dans des sols où la valeur du PH varie entre 5,5 et 6,8 et où l'approvisionnement en éléments nutritifs est adéquat et suffisant. En général, ajouter de la matière organique stimule une bonne croissance. Les sols qui contiennent beaucoup de matière organique, comme les sols tourbeux, sont moins appropriés dû à leurs fortes capacités de rétention d'eau et à une insuffisance au niveau des éléments nutritifs. (Ghizlain, 2016).

3-1-5-Cycle biologique de tomate

Le cycle de la tomate, de la graine à la graine, varie de 3 mois et demi à quatre mois selon la variété et les conditions du milieu. Du semis de la graine à la floraison il s'écoule six à huit semaines, et environ deux mois de la floraison à la maturation du fruit avec formation des graines (Blancard, 2009).

3-1-5-1-La culture

La tomate est une plante de climat tempéré chaud. Sa température idéale de croissance se situe entre 15°C (la nuit) et 25°C (le jour). Elle craint le gel et ne supporte pas les températures inférieures à 2°C, elle demande une hygrométrie moyenne. Sa période de végétation est assez longue : il faut compter jusqu'à cinq à six mois entre le semis et la première récolte. La multiplication se fait par semis, opération qu'il faut faire assez tôt, vers février-mars, et donc sous abri en climat tempéré (en serre ou sous châssis vitré). Les jeunes plants obtenus sont à repiquer entre le 15 avril et le 15 mai, sitôt que la période des gelées est passée. Il est nécessaire de les tuteurer, sauf pour les variétés à croissance déterminée pour lesquelles on prévoit seulement un paillage. C'est une culture très exigeante, qui demande un sol profond et bien fumé, et la possibilité d'irrigation (Itcmi, 1994).

3-1-5-2-Serriculture

La serre est une enceinte destinée à la culture ou à la protection des plantes en exploitant le rayonnement solaire, cette enceinte, constituée principalement par un matériel de couverture transparent ou translucide, isole plus ou moins les cultures de l'environnement extérieur. Elle constitue un abri efficace contre les intempéries (vent, pluie, neige...) et réduit l'introduction des divers agents nuisibles. Elle crée à l'intérieur un microclimat particulier qui peut être facilement amélioré à l'aide de divers équipements (Wacquand, 2000).

Les serres présentent des avantages non négligeables par rapport aux cultures de plein champ. Elles permettent en premier lieu de pallier les difficultés liées aux fluctuations de température, de lumière et des conditions d'humidité de plein champ, ce qui a pour avantage d'étendre considérablement la période de production (près de 11 mois de cycle) (Plikington et *al.*, 2009 in Ferrero, 2009).

3-1-6-La composition biochimique de la tomate

On entend par la composition biochimique d'un aliment, la concentration en éléments essentiels qui sont répartis en cinq catégories: protides, lipides, glucides, vitamines et minéraux (Roux, 1995). La composition biochimique des fruits de tomate fraîche dépend de plusieurs facteurs, à savoir: la variété, l'état de maturation, la lumière, la température, la saison, le sol, l'irrigation et les pratiques culturales (Davies et Hobson, 1981).

3-1-7-La production nationale et mondiale de la tomate

3-1-7-1-La production mondiale

Selon la FAO stat (2010), la chine se trouve au premier rang avec une production qui dépasse les 34 millions de tonnes en 2009 avec une superficie d'environ 1 5 millions d'hectares soit l'équivalent d'un rendement de 22,67 t/ha.

3-1-7-2-La production nationale

En Algérie, la superficie cultivée en tomate en 1999 était de 55210 ha et la production de 954804 tonnes soit un rendement de 17,29 t/ha. En 2009, près de 33000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraichère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qi/ha (Madr, 2009).

3-1-8-Les contraintes de la production de tomate

En Algérie, comme dans la plupart des pays méditerranéen, la culture de la tomate est soumise à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Ces contraintes sont liées à des changements de l'environnement, notamment les mauvaises conditions de température, l'humidité de l'air ou

du sol, les déséquilibres de la nutrition, la carence ou l'excès de substances minérales, l'acidité ou l'alcalinité du sol, un mauvais drainage et au développement des maladies.

Comme toutes les plantes, la tomate est soumise à l'attaque de nombreux ravageurs et agents pathogènes qui sont responsables de diverses maladies. Elle peut ainsi être attaquée par des virus (CMV, TMV, TSWV...), des mycoplasmes (transmis par des insectes vecteurs comme la cicadelle), des bactéries (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas* sp, *Calvibactermichiganensis*...), des champignons (*Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*...).

En effet, la tomate est sujette à de nombreuses maladies cryptogamiques conduisant non seulement à une diminution du rendement, mais aussi à d'importantes altérations de la qualité du fruit. Parmi les principales maladies cryptogamiques de la tomate, L'antracnose est une infection d'importance économique qui sévit au champ et pendant la conservation de la récolte.

3-2-Maladie de l'antracnose

3-2-1-Généralité sur la maladie

Les antracnoses sont communes sur cultures maraichères et fruitières, sur cultures ornementales, sur cultures pérennes industrielles ou traditionnelles telles que: le palmier à huile, l'hévéa, le caféier, le cacaoyer, ainsi que sur de nombreuses cultures vivrières: igname, manioc, patate douce, ...etc (Boisson et Renard 1967, Chevaugeon 1956, Resplandy et al, 1954).

D'une manière générale, les antracnoses sont considérées comme des maladies de faiblesse dont le développement est favorisé sur les plantes présentant un déséquilibre physiologique. Le champignon attaque préférentiellement des organes jeunes ou vulnérables tels que jeunes feuilles et fleurs ou peut envahir rapidement les tissus blessés par suite de piqûres d'insectes par exemple. (Maurice, 1982).

3-2-2-Les symptômes

Le champignon se manifeste surtout sur les jeunes feuilles. Dès que les conditions sont favorables, on observe des taches punctiformes, brunes, plus claires au centre et soulignée d'un liseré foncé. Les tissus atteints se dessèchent. La présence de taches nécrotiques à la base du limbe ou de nombreuses taches confluentes provoque le dessèchement de la feuille entière. Un grand nombre de feuilles peut ainsi être attaqué.

Le cœur entier du géranium apparaît d'ailleurs, bien souvent, nécrosé. Ces pertes d'organes aériens finissent par affaiblir le plant (Bouriquet, 1946).

3-2-3-L'agent pathogène: *Colletotrichum* sp.

Les champignons du genre *Colletotrichum* sont des Deutéromycètes appartenant à l'ordre des Mélanconiales (Roger, 1953; Lepoivre, 2003). Ce sont des champignons très ubiquistes qui

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre 2 : *Colletotrichum* sp. et plante hôte

occasionnent des maladies nécrotiques ou anthracoses sur la plupart des espèces végétales cultivées à travers le monde. Plusieurs espèces sont considérées comme des champignons imparfaits lorsque leur mode de reproduction sexuée n'est pas connue.

Toutefois, la forme sexuée, généralement rattachée aux champignons du genre *Glomerella*, a été décrite pour un certain nombre de ces champignons (Sutton, 1992). C'est ainsi que *Glomerella cingulata* Stonen et *Glomerella musarum* Petch sont la forme téléomorphe des anamorphes *C. gloeosporioides* et *C. musae*. Les *Colletotrichum* présentent des structures de fructification ou acervules qui sont constituées de conidiophores accolés les uns aux autres (Cox et Irwin, 1988). Ces structures sont entourées d'une couche mucilagineuse hydrosoluble orangée, essentiellement composée de glycoprotéines, de polysaccharides et de diverses autres enzymes (Bailey et al., 1992). Le mucilage des acervules assure la viabilité des conidies dans les conditions défavorables du milieu (Nicholson, 1992). Les conidies sont issues du bourgeonnement apical des conidiophores. Elles sont unicellulaires et hyalines; mais leurs dimensions varient suivant les espèces. Les caractéristiques des acervules et celles de conidies ont constitué les critères de base pour la première description de *Colletotrichum* sp. par Corda en 1831 (Jeffries et al., 1990). Plus tard, la discrimination entre les espèces a été effectuée sur la base des faciès culturels in-vitro (Simmonds, 1965; Baxter et al., 1983; Sutton, 1992). C'est ainsi qu'il a été proposé que certaines espèces ayant jadis appartenu au genre *Colletotrichum* soient regroupées au sein d'un nouveau genre dénommé *Vermicularia* (Baxter et al., 1985). Au cours de ces dernières années, l'usage des outils de la biologie moléculaire dans les travaux de taxonomie ont permis d'établir une discrimination fine entre diverses espèces de *Colletotrichum* (Freeman et al., 1993; Sreenivasaprasad et al., 1993).

3-2-4-Historique

Colletotrichum a été décrit à l'origine sous le nom de *Vermicularia* par Tode (1770), mais plus tard il a été révisé comme *Colletotrichum* par Corda (1837). *Colletotrichum* a été classé dans « Melanconiales » sous « Coelomycetes » (Hawksworth, 1983). Les épithètes *Colletotrichum* et *Vermicularia* ont été utilisées indistinctement au cours du 19^{ème} et début du 20^{ème} siècle pour une gamme d'espèces, qui sont maintenant classées dans *Colletotrichum* (Sutton, 1992). *Colletotrichum* se distingue de *Vermicularia* par la présence de soies marginales par rapport aux soies dispersées dans les *Conidiomata* de *Vermicularia* (Clements et Shear, 1931). Cependant, Duke (1928) avait précédemment démontré que la structure de la forme conidiomatique, la présence/absence de soies et leur disposition à l'intérieur de l'acervule sont extrêmement variables et n'ont aucune signification taxonomique au niveau du genre. Cela a entraîné le transfert d'un grand nombre d'espèces de *Vermicularia* à *Colletotrichum* (Duke,

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre 2 : *Colletotrichum* sp. et plante hôte

1928; Cannon et al., 2012). *Gloeosporium* ne produisait pas de soies, certains pouvaient générer des soies sur certains substrats (Baker et al., 1940). Dernièrement, *G. Hori* a été transféré à *C. Hori* (Weir et Johnston, 2010) et *G. pedemontanum* a été synonyme de *C. gloeosporioides* (Weir et al., 2012; Sharma et al., 2016).

3-2-5-Taxonomie

Le genre *Colletotrichum* est l'un des groupes les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces phytopathogènes (Dean et al., 2012). Selon la communauté scientifique, les champignons appartenant au genre *Colletotrichum* font partie des 10 champignons phytopathogènes les plus nuisibles (Dean et al., 2012). Ces champignons se caractérisent ainsi par une distribution mondiale (Peres et al., 2005). Ce genre regroupe actuellement 190 espèces la plus représentative du groupe : *C. caudatum*, *C. graminicola*, *C. spaethianum*, *C. destructivum*, *C. acutatum*, *C. dematium*, *C. gigasporum*, *C. gloeosporioides*, *C. truncatum*, *C. boninense*, *C. oribicular*, et 23 espèces seules ne faisant pas parties d'un complexe (Jayawardena et al., 2016). Chez *Colletotrichum* sp., le terme de complexe d'espèces est très largement utilisé pour regrouper le nombre considérable et croissant d'espèces décrites en groupe monophylétiques (Baroncelli et al., 2017). (Tableau n°02 et n°03)

Selon Baroncelli et al., (2017), l'ancienne classification essentiellement basée sur les critères morphologiques est comme suit :

Règne	Fungi
Division	Ascomycètes
Sous Division	Pezizomycotina
Classe	Sordariomycètes
Sous-classe	Sordariomycetidae
Ordre	Phyllachorales
Famille	Glomerellaceae
Genre	<i>Colletotrichum</i> sp.

Selon le même auteur la classification phylogénétique actuelle est la suivante :

Règne	Eumycètes
--------------	-----------

Partie 01 : Etude bibliographique

Chapitre 2 : *Colletotrichum* sp. et plante hôte

Division	Ascomycètes
Sous division	Pezizomycotina
Classe	Sordariomycètes
Sous-classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Glomerellales
Famille	Glomerellaceae
Genre	<i>Colletotrichum</i> sp

3-2-6-Biologie de *Colletotrichum* sp

Le cycle de base de *Colletotrichum* sp, débute par la germination des conidies à la suite de leur contact avec les tissus des plantes hôtes. Il s'en suit une élongation des tubes germinatifs dont la partie apicale se différencie plus tard, en une structure spécialisée appelée *appressorium* (Bailey et al., 1992; Swinburne, 1983; Jeffries et al., 1990). Les hyphes d'infection se développent à partir des appressoria pour coloniser l'organe attaqué, entraînant la nécrose des tissus sur lesquels se forment de nouvelles acervules (Bouriquet, 1946 ; Sere, 1975; Aubert, 2006).

3-2-7-Moyen de protection

Pour bien lutter contre l'antracnose, il faut une combinaison de stratégies dont:

- S'assurer d'avoir des plants sains
- Détruire les champs infectés.
- Mettre un couvre-sol dans les entre rangs (paille)
- Éviter le passage lorsque le feuillage est humide
- Récolter les champs atteints d'antracnose en dernier
- Sortir les fruits infectés du champ; ne pas les mettre dans l'entre rangs
- Utiliser des fongicides en prévention, s'il y a un historique d'antracnose ou lorsqu'on annonce des épisodes de pluie avec des températures chaudes et une période de mouillure de plus de 12 heures Éviter les apports excessifs d'azote.

Etude expérimentale

Chapitre1: Matériel et méthodes

I-1-1-L'objectif

Parmi les ressources naturelles, les plantes médicinales et aromatiques jouent un rôle non négligeable dans l'économie. Dans le cadre d'une contribution à la valorisation de *Salvia officinalis*. Notre étude traite deux parties; l'étude concerne l'effet « in vitro » de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides*, la seconde s'intéresse à l'évaluation de l'effet de l'extrait aqueux par la méthode de l'eau surchauffée des feuilles de *Salvia officinalis*, sur le développement « in vivo » du même pathogène.

1-1-2-Matériel fongique

L'isolat monospore de *Colletotrichum gloeosporioides* utilisé pour les deux test a été préalablement obtenu par isolement à partir de feuilles présentant des symptômes caractéristiques de la maladie, identifié et conservé au niveau du laboratoire de protection des végétaux de l'université de Mostaganem. Ce champignon a été choisi pour les dégâts considérables qu'il cause aux fruits de tomate.

I-1-3-Matériel végétale

La plante *Salvia officinalis* a été récoltée du jardin du site 3 (ex : ITA) de l'Université de Mostaganem. La plante a été utilisée fraîche. L'extraction des substances naturelles à partir des feuilles de la plante est effectuée en utilisant deux méthodes, l'hydro-distillation et extraction par l'utilisation de l'eau surchauffée.

I-1-4-Evaluation de l'activité antifongique "in vitro" de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. sur *Colletotrichum gloeosporioides*.

I-1-4-1-Méthode d'hydrodistillation

L'hydrodistillation ou entrainement à la vapeur, est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (Bruneton, 1999).

Partie 02 : partie expérimentale
Chapitre1 : Matériels et méthodes

Trié et nettoyé, 795g de matériel végétal sec ont été placé sur une grille métallique et introduite dans une cocote minute contenant 850ml d'eau. Cet ensemble est porté à ébullition pendant deux heures (Kouamé, 2012) et les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau. Après condensation et liquéfaction, l'huile surmontant l'eau (non miscible) est séparée de l'eau. Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre bien bouché. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologiques.

I-1-4-2-Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R^{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage selon la formule suivante

$$R^{HE} (\%) = (M'/M) \times 100$$

I-1-4-3-Conduite de l'essai

L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle a été effectuée sur le milieu PDA (potato dextrose agar) (Dedi, 2007).

L'huile essentielle à tester est incorporée à des concentrations variables dans le milieu de culture (PDA). Après solidification, le milieu estensemencé par *Colletotrichum gloeosporioides* et mis à incuber (Dedi, 2007). Une mise en émulsion de ces huiles a été réalisée par le tween 20 (0,5%) afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène de l'huile essentielle.

L'huile essentielle de sauge aux concentrations de 0 5%, 0 25%, 0 12%, 0 06% et 0 03%. Avec du tween 20, sont incorporés dans le milieu de culture PDA stérilisé à 120°C pendant 30 min. les concentrations ainsi obtenues sont répartis dans des boites de pétri. Nous avons retenu deux témoins, négatif constitué de milieu PDA seul et un positif contenant du milieu PDA et du tween à 0 5%.

I-1-4-3-Estimation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque concentration. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils sont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions.

La technique consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante : (Bendali et *al.*, 2019).

$$L = \frac{D - d}{2}$$

L : croissance mycélienne

D : diamètre de la colonie

d : diamètre de l'explant

I-1-4-4-Détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats obtenus à partir de l'estimation de la croissance mycélienne sont aussi exprimés en pourcentage (%) par rapport à la croissance mycélienne du témoin selon la formule décrit par Leroux et Credet :

$$T(\%) = \frac{L - I}{L} \times 100$$

T : taux d'inhibition

L : croissance mycélienne du témoin

I : croissance mycélienne des champignons subissant le traitement

I-1-5-Effet « in vivo » de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* sur le développement de l'antracnose sur les feuilles de tomate.

I-1-5-1-Matériel végétale

Le matériel végétal ayant servi à l'extraction est constitué de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis*. Il est laissé à l'ombre dans un endroit sec et aéré en attendant leur utilisation pour l'extraction de son extrait aqueux par l'eau surchauffée.

D'autre les part les plants desquels on a détaché les feuilles de tomate ayant servi à l'inoculation par *Colletotrichum gloeosporioides* ont été acheté d'une pépinière située dans la wilaya de Mostaganem.



Figure n°10 : les feuilles de tomate.

I-1-5-2-Extraction surchauffage

C'est une technique simple consiste à chauffer la solution qui contient le matériel végétal et l'eau distillée (10g de sauge + 100ml d'eau distillée) pour obtenir l'extrait de plante.

Pour cette méthode l'eau est utilisée avec un rapport de 1/10 (P/V). Le flacon est placé dans l'autoclave pendant 35 min à une température dépassant 134°C et une pression de deux bars. Le flacon contenant l'extrait est couvert par un papier aluminium et conservés à 4°C (Debbab, 2017). Les extraits obtenus sont dilués par de l'eau distillée stérile en vue d'obtenir un mélange homogène à des concentrations de 20% et 40%.

I-1-5-3- Préparation de l'inoculum de *Colletotrichum gloeosporioides*

La méthode décrite par Rappily (1968) et Zerroug (1994), elle consiste à prélever un explant mycélien de 1 cm² à partir du centre d'une colonie de 13 jours cultivée sur PDA. Ce milieu favorise la sporulation de *Colletotrichum* sp. (Yang et al. 2015). Cet explant mycélien a été transporter dans un flacon contenant 200ml de milieu de culture de pois chiche gélosé liquide (Annexe) avec une température de 15°C et une agitation qui vas favoriser la sporulation pendant 48h avant d'être utilisé pour l'inoculation.

I-1-5-4- Conduite de l'essai

L'inoculation des feuilles de tomate est réalisée en laboratoire. Les feuilles sont désinfectées lavées à l'eau courante. A l'aide d'un coton imbibé à l'Ethanol, les feuilles sont essuyées superficiellement, puis celles-ci sont mises à tremper pendant 30 secondes dans une solution d'eau javellisée à 1%. Elles sont rincées trois fois dans l'eau distillée stérile puis séchés entre 2 feuilles de papier filtre stérile.

Les feuilles sont déposées dans des boites en verres transparentes sur du papier Wattman imbibé d'eau distillée stérile, à raison de 7 feuilles par boîte.

Partie 02 : partie expérimentale

Chapitre1 : Matériels et méthodes

Sur chaque feuille, deux blessures sont réalisées à l'aide d'une aiguille stérile, de part et d'autre de la nervure centrale (Raheim et Taylor, 2016). Une goutte de 6 µl de la suspension sporale est disposée à l'endroit de la blessure.

I-1-5-4- Notation de symptômes

La sévérité de la maladie est calculée selon la méthode décrite par Mayee et Datar, (1986)

$$PDI = \frac{\text{somme des notes} \times 100}{\text{nombre d'unités examinées} \times \text{notes maximale}} (\%)$$

D'autre part, l'indice de maladie est calculé, il permet d'évaluer l'intensité de la maladie et de quantifier l'agressivité et/ou la virulence des isolats de *Colletotrichum sp* vis-à-vis de la plante inoculée (feuilles de tomate), il est calculé selon la formule préconisée par Dolar (1994).

$$IM = \frac{aF1 + bF2 + cF5 \dots}{N} (mm)$$

IM : indice de la maladie.

F : nombre de folioles malades pour chaque degré dans l'échelle de notation.

N : nombre totale des folioles utilisées.

a, b, c, ... : indice de maladie dans l'échelle correspondante.

La sensibilité ou la résistance des plants est définie par cet indice :

Si $IM < 2$, le cultivar est résistant

Si $2 < IM < 4$, le cultivar est moyennement résistant

Si $IM > 4$, le cultivar est sensible

Chapitre II : Résultats et discussion

Chapitre 2: Résultats et interprétations

2-1-Evaluation de l'activité antifongique "in vitro" de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. sur *Colletotrichum gloeosporioides*.

L'étude de l'aspect macroscopique du lot témoin de *Colletotrichum gloeosporioides* dévoile qu'après quelque jours le champignon présente un mycélium blanc et dense plus ou moins cotonneux sur le milieu de culture PDA; l'isolat dévoile une pigmentation rose avec des punctuations rosâtre ce sont les acervules qui portent les conidies. Après plusieurs jours, le champignon produit des sclérotés de couleur vert olive.

Sur les lots traités à l'huile essentielle, nous avons noté deux types de morphotypes. Chez le premier, les colonies ont un mycélium aérien, dense plus ou moins cotonneux et de couleur banc-crème, le revers est vert au centre et orange à la périphérie. Chez le deuxième, les colonies sont blanches tirant légèrement au rose, le revers est roses-pale. Les acervules de quelques millimètres de diamètre sont dispersés sur les colonies ou condensés.

Alors que l'aspect microscopique de toutes les boîtes révèle un mycélium cloisonné et hyalin, portant des acervules. Ces dernières sont très variables de taille, en forme et exsudent un liquide visqueux dans lequel baignent des conidies. Les Conidiophores, sont hyalins à brun pale et les conidies sont unicellulaires, hyalines, droites, cylindriques, et ovales. Les appresoria observés sur milieu PDA sont bruns. Le mycélium est hyalin et condensé.

La (figure 11) démontre l'effet inhibiteur totale de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* aux concentrations de 0.5% et 0.25% sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* pendant les trois premiers jours. La croissance mycélienne a démarré ensuite mais reste très modérée. Ce qui met en exergue que ces deux doses ont réduit la croissance mycélienne d'une manière remarquable.

Par contre la croissance mycélienne sous l'effet des doses de 0.125 et 0.6% sont significativement inférieures à la croissance dans les lots témoins.

La figure (13) illustre les valeurs de la vitesse de croissance mycélienne de l'isolat de *Colletotrichum gloeosporioides* cultivée sur le milieu de culture PDA contenant différentes doses de l'huile essentielles de *Salvia officinalis*.

Les résultats obtenus indiquent que la vitesse de croissance mycélienne est réduite sur les boîtes ayant reçu les plus fortes doses de l'huile essentielles. La colonie la plus rapide est celle des deux témoins.

Partie 02 : partie expérimentale
Chapitre 2: Résultats et interprétations

L'analyse des résultats de la (figure 15) montre que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* présente une activité inhibitrice importante sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* pour toutes les doses. A partir des résultats enregistrés dans la (figure 15) on note que la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* n'a pas été atteinte.

2-2-Evaluation de l'activité antifongique "in vivo" de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. sur *Colletotrichum gloeosporioides*.

Afin de quantifier l'agressivité de *Colletotrichum gloeosporioides* sur les feuilles de tomate détachées pathogène nous avons calculé deux indices, il s'agit de, l'indice de maladie des feuilles traitées à l'extrait aqueux comparativement aux feuilles témoins et le PDI (Pourcentage Disease Indice).

Les résultats obtenus du calcul de l'indice de maladie démontrent l'importance des symptômes sur les feuilles du lot témoin comparativement aux feuilles de tomate détachées préalablement traitées à l'extrait aqueux des feuilles de *Salvia officinalis*. Ceci met en évidence, l'effet protecteur le l'extrait utilisée aux deux doses testées.

Les symptômes sur feuilles apparaissent d'abord sous forme de petites nécroses, de quelques millimètres de diamètre, de couleur brun foncé. Elles s'élargissent au fur et à mesure de la persistance des conditions idéales d'incubation, sur toute la surface des feuilles.

Les résultats obtenus révèle des différences significatives entre le diamètre des lésions des isolats pendant 24h entre les feuilles de la tomate (figure 20), la lésion la plus importante a été observé chez feuille10 dans le lot, en revanche la plus petite a été notée chez feuille 4.

D'une manière générale ont remarque que les lésions sont plus importantes sur les feuilles non traitées (témoins) suivit par celles traitées par la dose de 20% ensuite celles traitées par la dose de 40% ou l'on a enregistré des lésions beaucoup plus petites.

Chapitre 3: Discussion

L'étude de la croissance mycélienne d'isolat fongique testé : *Colletotrichum gloeosporioides* en présence de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis*, montre une diminution de la croissance mycélienne synchronisée avec l'augmentation de la concentration de l'huile.

Ces résultats montrent clairement que les trois paramètres étudiés (la croissance mycélienne, la vitesse de croissance et le taux d'inhibition) sont fortement influencés par l'ajout d'un extrait riche en substances actives dans le milieu de culture. Donc d'une manière générale, le degré d'activité antifongique est proportionnel à la concentration de l'huile. Ce qui démontre que l'huile essentielle de sauge a inhibé la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* testée. Les résultats obtenus confirment ceux présentés par Grainge et Ahmed (1988), qui ont montrés que les lamiacées possèdent une activité antibactérienne et antifongique grâce à la multitude de composés bioactives qu'ils contiennent.

Avec la concentration 0,5% nous n'avons pas enregistré une inhibition totale de la croissance mycélienne, ce qui montre qu'aux doses utilisés cette huile n'a pas permis d'atteindre la CMI de la croissance mycélienne, donc il va falloir augmenter les doses pour l'atteindre. Néanmoins, aux doses utilisées, cette huile s'est montrée très efficace à réduire la croissance mycélienne de *Colletotrichum sp* testée.

Les résultats obtenus confirment ceux présentés par Filipowicz et al., 2003 qui ont montrés que le 1,8-cénéome est un monoterpène oxygéné fortement concentré dans l'huile essentielle de sauge (5,79%) s'est montré très actif contre des souches de dermatophytes, de candidoses et d'aspergillose. Benkherara et al., (2011) ont relié la sensibilité des différents espèces fongiques étudiées à la fraction des terpènes oxygénés. Certains autres auteurs, tel que Bouaziz et al., (2009) et Juven (1994) suggèrent que les différents composés de l'huile essentielle ne peuvent pas agir séparément, mais l'activité biologique est, en fait, la résultante d'une synergie probable entre les différents composants. Les phénols terpéniques peuvent aussi agir sur les champignons en se fixant sur le groupe amine et hydroxylamine des protéines membranaires provoquant ainsi une altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaire (Ultee et al., 1999 ; Knowles et al., 2005 ; Lopez-Malo et al., 2005 ; Celimene et al., 1999).

Les inoculations réalisées sur les feuilles détachées de tomate (test « *in vivo* ») ont induit des symptômes typiques de la maladie. En effet, de nombreuses études ont montré que *Colletotrichum sp* cause l'antracnose sur les plantes cultivées (Freeman, 1998 ; Arauz, 2000 ; Cannon et al., 2012).

L'apparition des symptômes dès après 24h d'inoculation des feuilles de tomate sont confirmés par les résultats trouvés par (Svetlana et al., 2010) qui dit que les symptômes de la maladie sur

les feuilles de la tomate commencent par des petites lésions foncées qui ont un aspect imbibé d'eau qui augmente le diamètre. Les ré isolements effectués à partir des explants des feuilles de tomate infectés expérimentalement ont permis de réisoler les souches d'origines, vérifiant ainsi les postulats de Koch.

Les isolats ont produit des nécroses sur toute la surface des feuilles de tomate du lot témoin, alors que les lésions sur les feuilles préalablement traitées par l'extrait aqueux de la sauge sont beaucoup plus petites.

Conclusion

Conclusion

Produites comme métabolites secondaires par les plantes médicinales, les huiles essentielles et les composés actifs sont toujours utilisées comme agent antifongique en médecine alternative, en industrie agroalimentaire, en cosmétiques...etc.

Eu égard de l'importance de l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*) dans ces divers domaines d'intérêt, il nous a semblé nécessaire de lui consacrer cette étude pour vérifier ses activités antifongiques vis-à-vis du champignon phytopathogène : *Colletotrichum gloeosporioides*.

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation à partir des feuilles fraîches de *Salvia officinalis*. À travers cette étude et d'après les résultats obtenus, on constate que cette dernière, présente une forte activité antifongique vis-à-vis de ce pathogène.

Le test de l'activité antifongique « in vitro » de l'huile essentielle a fait ressortir que le champignon *Colletotrichum sp* a présenté une sensibilité très importante. Toutes les concentrations de l'huile essentielle ont inhibé remarquablement la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides*. Ce grand pouvoir bioactif observé chez cette plante est attribué principalement à sa teneur élevée en phénols.

D'après ces résultats, on peut penser que l'huile essentielle de cette espèce mérite une étude plus approfondie pour exploiter des propriétés antifongiques dans le domaine de phytosanitaire à l'échelle industrielle.

Les inoculations réalisées sur les feuilles détachées de tomate (test « in vivo ») ont induit des symptômes typiques de la maladie.

Les isolats ont produit des lésions sur toute la surface des feuilles de tomate du lot témoin, alors que les lésions sur les feuilles préalablement traitées par l'extrait aqueux de la sauge sont moins importantes. Les indices de maladies calculés ont démontré que l'extrait aqueux des feuilles de sauge a un effet inhibiteur remarquable sur le développement de la maladie.

Ce travail aux résultats prometteurs doit être reconduit sur d'autres souches et d'autres espèces de *Colletotrichum sp*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Anonyme, 2018 : Réseau d'avertissement phytosanitaire Petits fruits Bulletin N 13- juin https://www.agrireseau.net/documents/Document_92625.pdf.
- Asseh, E., Yao, K. and Aké-Assi, E., 2019. Diversité et Connaissance Ethnobotanique des Espèces de la Famille des Acanthaceae de la Réserve Naturelle Partielle de Dahliafleur, Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal ESJ*, 15(9).
- Aubert, J., 2006. Dynamique spatio-temporelle de l'antracnose des baies du caféier arabica due à *Colletotrichum kahawae* (Waller & Bridge), au Cameroun : analyse des principaux facteurs déterminants de la maladie. L'école nationale supérieure agronomique de Montpellier, pp.12-16.
- Callery, E., 1998. *Le grand livre des herbes*. Cologne : Könemann.
- Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N. and Idrissi Hassani, L., 2004. Etude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Acta Botanica Malacitana*, 29, pp.233-239.
- Dubrulle, G., 2019. Processus infectieux et diversité intraspécifique de *Colletotrichum lupini*, agent responsable de l'antracnose du lupin. Université de Bretagne occidentale - Brest, p.45.
- Florence, M., 2012. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Université de lorraine, pp.10-16.
- Iserin, p. ed., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. 2nd ed. La faculté de médecine de Bobigny : Larousse, p.131.
- Limonier, A., 2018. *La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie*. Marseille, p.7.
- Lourd, M., 1982. Les colletotrichum agent d'antracnose de côte d'ivoire. Recherche sur la structure de l'espèce *Colletotrichum gloeosporioides* penz. Comparée à *Colletotrichum graminicola* (ces.) wilson. Paris, pp.5-7.
- Ouis, N., 2015. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. oran, pp.7-19.
- Poichon, M., 2008. Etude des huiles essentielles d'espèce végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activité pharmacologique et hémi-synthèse. Université du Québec a Chicoutimi, pp.5-19.
- Rombi, M., Robert, D., Guedon, D., Rosier-Sala, C. and Renzacci, E., 2015. Le dictionnaire des plantes médicinales. Monaco : Éd. Alpen.

- Salé Charles, E., Jules Patrice, N., Alain, H., Pegalepo Angèle, N., Zemko Patrice, N., Godwill, C. and Zachee, A., 2020. Évaluation des activités antifongiques des extraits de graines de *Thevetia peruviana* contre *Phytophthora colocasiae* (Oomycètes) agent causal du mildiou du taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) au Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 151, pp.15584-15597.
- Teruin, M., 2018. Qualité des huiles essentielles en fonction des réseaux de distribution : focus sur la menthe poivrée et la lavande fine. Université de Nantes, pp.12-44.
- Yacouba, S., 1975. Etude des champignons responsables des anthracoses. Laboratoire de Phytopathologie, pp.1-3.

Annexes

Annexes

Préparation de milieu PDA qsp 11

- 200g de pomme de terre
- 20g de glucose
- 20g agar-agar
- 1000 ml l'eau distillé.

Le protocole de préparation du milieu en condition d'asepsie totale est le suivant : les pommes de terre épluchées sont découpées et mis à ébullition dans un récipient contenant 500ml d'eau distillée pendant 30 mn ; puis, les pommes de terre sont retirées et le bouillon est transvasé dans un ballon contenant 20g de glucose et 15g d'Agar-agar ; ensuite, la solution est complétée à 1 avec de d'eau distillée. Ce milieu est autoclavé à 121°C pendant 30 mn sous une pression d'un bar.

Préparation de milieu de pois chiche Qsp 11

- 200g de pois chiche
- 20g de glucose
- 1000 ml l'eau distillé

Prendre les graines de pois chiche, pesé et rincer dans l'eau courante, puis laisser ces graines dans l'eau distillée pendant 12h et faire bouillir pendant une heure. On filtre le jus sur mousseline, ajouter le glucose au filtrat, et compléter avec l'eau distillée. Ajuster le PH à 5,8.