

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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

**NOUGAR ASMA**

**DRISS HAKIMA**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master en biologie**

**Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes**

**THÈME**

**Evaluation de l'effet antifongique de l'huile essentielle  
de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum gloeosporioides*  
agent de l'antracnose de la 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**

## ***Remerciements***

Nous remercions Tout d'abord notre Grand Dieu tout puissant qui nous a comblé de ses bienfaits et nous a donné assez de force pour achever ce travail et de venir au bout de cette formation.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances à notre promotrice Mme Saiah Farida pour nous avoir guidés, conseillés et prêtés assistance tout au long de notre travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à Badaoui M.I., d'avoir accepté de présider le jury de ce modeste travail.

Nous présentons également toutes nos reconnaissances et gratitude à Mme Bergheul S. qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Nous profitons pour témoigner toute notre gratitude aux enseignants du département de biologie, tout particulièrement les enseignants de la spécialité biotechnologie et valorisation des plantes.

Nous n'oublierions surtout pas de remercier les membres du laboratoire d'agronomie et biochimie, pour tous leurs conseils durant la période de stage. Nos sincères remerciements s'adressent également à tous les collègues de notre promotion Biotechnologie et valorisation des plantes et du département de biologie.

Enfin, nous remercions également tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes mes études.

*À* tous mes très chers frères:

Ali, Houari, Abdenour et sa fille Ritaj Ilien

*À* ma très chère sœur:

Fadhila et son mari Djilali et son fils Zakaria

*À* tous mes très chères cousins:

Hakim radwane Fatima Souad Nadjma et Balmhael et sa femme assia  
et sa fille Soumia

*À* ma tante Khira et mon oncle sans oublier ma chère tante Fatima (ربي يرحمها)

*À* toute la famille:

Nougar et Bekhadouma

*À* tous mes amis :

Manel, Malika, Imane, Aziza, Hakim, Mansoura, Khadija, Ahlem et kaltoum

*À* tous mes enseignants de primaire jusqu'à l'université

*À* tous ceux que j'aime.

*Merci !*

*Asma*

## *Dédicace*

Grâce à toi mon Dieu, je m'incline devant ta puissance et ta miséricorde, pour te remercier de l'aide et du courage que tu m'as donné au cours de la réalisation de ce modeste travail, que je dédie :

*À* mon cher père, dont le courage et l'éducation ont fait de moi l'être  
que je suis.

*À* mon adorable mère, (ربي يرحمها).

*À* mes frères, A mes sœurs, à qui je souhaite tout Le bonheur.

*À* mes oncles et mes tantes.

*À* mes cousins et cousines.

*À* toute ma famille; Driss, Boudjnah, Bouhraoua, Daouadji.

*À* tous mes amis.

*À* mon binôme Asma.

*À* tous ceux que j'aime.

*Merci !*

*Fakima*

## Résumé

L'antracnose de la tomate causée par le champignon *Colletotrichum gloeosporioides* est l'une des principales contraintes majeures pour la production. La présente étude vise à étudier l'effet de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus* sur la croissance mycélienne « in vitro » et le développement « in vivo » sur feuilles de tomate.

Les résultats obtenus montrent que l'HE de *Rubus fruticosus* a démontré un effet inhibiteur moyen des doses de 1% et 0,5% donc pas d'inhibition totale de la croissance mycélien.

Les résultats du test « in vivo », met en évidence l'inefficacité de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus*, à la dose testée d'inhiber le développement de l'antracnose sur les plants de tomate testées.

**Mots clés:** Activité antifongique, huile essentielle, *Rubus fruticosus*, *Colletotrichum gloeosporioides*, tomate.

## ملخص

يعتبر L'antracnose الطماطم الناجم عن فطر *Colletotrichum gloeosporioides* أحد القيود الرئيسية على الإنتاج. تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة تأثير زيت *Rubus fruticosus* العطري على النمو "invitro" و التطور "in vivo" على أوراق الطماطم. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيت العطري لـ *Rubus fruticosus* أظهر تأثيراً مثبتاً متوسطاً بجرعات 1 % و 0.5 % ، لذلك لا يوجد تثبيط كامل لنمو الفطريات.

أظهرت نتائج اختبار "in vivo" عدم فعالية الزيت العطري لـ *Rubus fruticosus* بالجرعة المختبرة ، وهذا نظراً لمنع تطور L'antracnose على نباتات الطماطم المختبرة .

الكلمات المفتاحية : نشاط مضاد للفطريات ، زيت عطري ، *Rubus fruticosus* ، *Colletotrichum gloeosporioides* ، طماطم.

## Abstract

Tomato anthracnose caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* is one of the major constraints on production. The present study aims to investigate the effect of *Rubus fruticosus* essential oil on "in vitro" mycelial growth and "in vivo" development on tomato leaves. The results obtained show that *Rubus fruticosus* EO demonstrated an average inhibitory effect at doses of 1% and 0.5%, so no total inhibition of mycelial growth.

The results of the "in vivo" test, demonstrate the ineffectiveness of the essential oil of *Rubus fruticosus*, at the dose tested, to inhibit the development of anthracnose on the tomato plants tested.

**Key words:** Antifungal activity, essential oil, *Rubus fruticosus*, *Colletotrichum gloeosporioides*, tomato.

# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Résumé**

**Liste des Abréviations** ..... i

**Liste des figures** ..... ii

**Liste des tableaux** ..... iv

**Introduction** ..... 1

## Partie bibliographique

### Chapitre 01: la ronce « *Rubus fruticosus.L* »

I. Historique ..... 2

II. Définition..... 3

III. Classification botanique ..... 4

IV. Description..... 5

IV.1 La Tige ..... 5

IV.2 Les racines..... 5

IV.3 Les feuilles ..... 5

IV.4 Les fleurs ..... 5

IV.5 Les fruits ..... 5

IV.6 Les graines ..... 6

V. Développement et croissance de la ronce ..... 6

VI. La composition chimique de la ronce ..... 7

VII. Les utilisations de la ronce ..... 8

VIII. les avantages du ronce en perm culture ..... 10

### Chapitre 02 : Les huiles essentielles

I. Historique ..... 11

II. Définition d'huile essentielle ..... 11

III. Composition chimique ..... 12

IV. Propriétés physico-chimiques des HES ..... 12

IV.1 Propriétés chimiques ..... 12



IV.2 Propriétés Physiques .....	12
V. Les procédés d'extraction des huiles essentielles .....	13
V.1 Distillation .....	13
V.1.1 Extraction par hydro-distillation (ou par entrainement à la vapeur d'eau) .....	13
V.1.2 Expression à froid .....	15
V.1.3 Extraction par le CO2 supercritique .....	15
V.2 Autres méthodes .....	16
VI. Principes actifs et mécanisme d'action antifongique des HEs .....	16
VII. Les avantages des huiles essentielles .....	17
VIII. Les inconvénients des huiles essentielles.....	17
IX. La conservation des huiles essentielles .....	18

### **Chapitre 03 : Agent pathogène de *Colletotrichum gloeosporioides*.**

I. Définition .....	19
II. Description taxonomique .....	19
III. Conditions d'environnement pour la croissance du pathogène .....	20
IV. Morphologie .....	20
V. Symptômes de <i>Colletotrichum sp.</i> .....	21
VI. Epidémiologie .....	22
VII. Moyens de lutte .....	22

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre 01 : Matériel et Méthodes**

I. Matériels et méthodes .....	24
I.1 Objectif du travail .....	24
I.2 Matériel végétal .....	24
I.3 Matériel fongique .....	24
I.4 Méthode extraction des huiles essentielles .....	24
II. Détermination du rendement d'extraction .....	25
III. Evaluation de l'activité antifongique « in vitro » des huiles essentielles de plante médicinal sur le champignon <i>Colletotrichum sp.</i> .....	26
III.1 Préparation des milieux de cultures .....	26

III.2 Technique de repiquage .....	26
IV.1 Evaluation de la croissance mycélienne .....	28
IV.2 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne .....	28
IV.3 Taux d'inhibition de croissance mycélienne .....	28
V. Evaluation de l'activité antifongique « in vivo » des huiles essentielles de plante médicinal sur la plante de tomate .....	29

## **Chapitre 02 : Résultats et Discussion**

I. Résultats .....	31
I.1 Détermination du rendement .....	31
I.2 Evaluation de l'activité antifongique « in vitro » des huiles essentielles de plante médicinal sur le champignon <i>Colletotrichum sp.</i> .....	32
I.3 Evaluation de l'activité antifongique « in vivo » des huiles essentielles de plante médicinal sur la plante de tomate.....	37
I.3.1 Etude de la sévérité de la maladie.....	37
I.4 Description des symptômes .....	38
I.5 Estimation de la sévérité de la maladie sur la feuille .....	39
II. Discussion .....	40
<b>Conclusion</b> .....	<b>41</b>
<b>Référence bibliographique</b> .....	<b>42</b>

## Liste des abréviations

**PDA:** *Potato Dextrose Agar*

**HE:** Huile Essentiel

**VR :** volume résiduel

**CR :** Capacité respiratoire

**CO2 :** dioxyde de carbone

**AFNOR :** association française de normalisation

**R :** rendement

**L :** la croissance mycélienne

**VCM :** vitesse de croissance mycélienne

**TI :** taux d'inhibition

**Te :** temps d'incubation

**MI :** millilitre

**cm :** centimètre

**m :** mètre

**mm :** millimètre

**g :** gramme

**h :** heure

**Min :** minute

**J :** jour

**Et *al* :** et collaborateurs

## Liste des figures

**Figure 01** : La répartition mondiale de la Ronce

**Figure 02** : Feuilles et fleurs de la ronce.

**Figure 03** : Planche botanique de la ronce commune

**Figure 04** : Aspect morphologique de *Rubus fruticosus* L.

**Figure05** : Cycle de développement de *Rubus fruticosus* .

**Figure 06** : Squelette de base des flavonoïdes.

**Figure07** : Structure des lignanes.

**Figure08** : Structure de tanins.

**Figure09** : Différentes l'huile essentielle.

**Figure10** : Schéma d'une hydro-distillation.

**Figure 11** : Processus de la décantation après hydro-distillation.

**Figure 12** : Extraction par CO<sub>2</sub>.

**Figure 13** : Mode d'action antifongique des huiles essentielles.

**Figure 14** : Aspect de *colletotrichum* sp.

**Figure 15** : Caractères microscopiques de *Colletotrichum* sp.

**Figure16** : Feuilles sèches de la ronce.

**Figure 17** : Dispositif d'extraction des HEs «entraînement à la vapeur».

**Figure 18** : Dispositif expérimental de la technique de repiquage utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Rubus fruticosus*.

**Figure 19** : Protocole expérimentale des bio-essais de l'activité antifongique des HEs de *Rubus fruticosus*. vis-à-vis *Colletotrichum* sp.

**Figure 20** : Plants de tomate.

**Figure 21**: Désinfection et traitement et inoculation des feuilles de tomate.

**Figure 22** : Rendement de deux extractions d'huile essentiel de la ronce.

**Figure 23** : Effet des différentes concentrations de l'HE de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum* sp. Après 01 jour d'incubation.

**Figure 24** : Effet des différentes concentrations de l'HE de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum sp.* Après 03 jours d'incubation.

**Figure 25** : Effet des différentes concentrations de l'HE de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum sp.* Après 07 jours d'incubation.

**Figure 26** : Effet des différentes concentrations de l'HE de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum sp.* Après 09 jours d'incubation.

**Figure 27** : croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* sous l'effet des différentes doses de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus*.

**Figure 28** : vitesses de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* sous l'effet de différentes doses de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus*.

**Figure 29** : Taux d'inhibition de la croissance de *Colletotrichum gloeosporioides* par les différentes doses de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus*.

**Figure 30** : Symptômes d'anthracnose et degré d'attaque sur feuilles de tomate ( témoin et huile essentiel) inoculée chacune par un isolat de *Colletotrichum sp.* après 24 H incubation.

**Figure 31** : Symptômes d'anthracnose et degré d'attaque sur feuilles de tomate ( témoin et huile essentiel) inoculée chacune par un isolat de *Colletotrichum sp.* après 48 H incubation .

**Figure 32** : Symptômes d'anthracnose et degré d'attaque sur feuilles de tomate ( témoin et huile essentiel) inoculée chacune par un isolat de *Colletotrichum sp.* après plus de 72 H incubation.

## Liste des tableaux

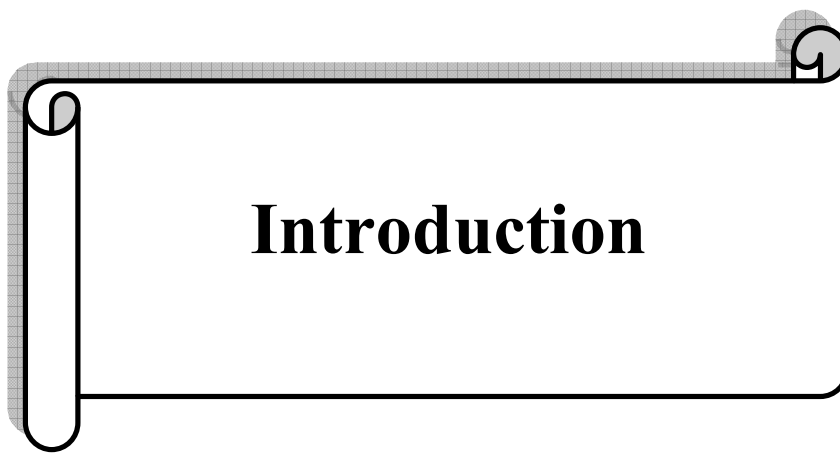
**Tableau 01 :** Les propriétés thérapeutique de la ronce.

**Tableau 02:** Echelle de la notation de la sévérité sur feuilles.

**Tableau 3 :** Parties des plantes présentant des symptômes sévères d'antracnose.

**Tableau 04 :** Echelle de la notation de la sévérité sur feuilles Témoin + 0 Plant mort.

**Tableau 05 :** Echelle de la notation de la sévérité sur feuilles huile essentiel + 3 plant mort.



# **Introduction**

**Introduction:**

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner (Chouitah, 2012). Dans le monde, un grand nombre de plantes aromatiques possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Cependant, l'homme a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il reste difficile de définir les molécules responsables bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal ont été attribués à des composés tels que les alcaloïdes et leurs dérivés, des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques (Bahorun, 1997; Mohammedi, 2006). Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antifongiques, insecticides les rendant intéressants comme nouveaux produits qui peuvent remplacer les molécules synthétiques douées des mêmes propriétés (Tabti et Sali, 2016).

La recherche continue de nouveaux produits antifongiques issus des plantes reste donc une nécessité à laquelle il faut répondre. Pour cela on s'est intéressé dans ce travail à la ronce, *Rubus fruticosus* L., une plante spontanée qui appartient à la famille des Rosacées elle est originaire de l'Asie et d'Europe. On peut la rencontrer dans les terrains incultes, le long des haies, clairières des bois, bords des chemins, et lisière de forêt (Rameau et al, 2003).

L'objectif de ce présent travail, est de mettre en évidence l'activité antifongique "*in vitro*" et "*in vivo*" de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus* sur l'agent pathogène de l'antracnose sur tomate.

Ce travail est réparti en deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres; le premier traite des généralités sur la ronce, le second présente quelques données sur les huiles essentielles alors que le troisième est consacré au champignon phytopathogène *Colletotrichum gloeosporioides* agent de l'antracnose sur tomate.

La deuxième partie est divisée en deux parties, le matériel et méthodes et les résultats et discussion.



# Partie bibliographique

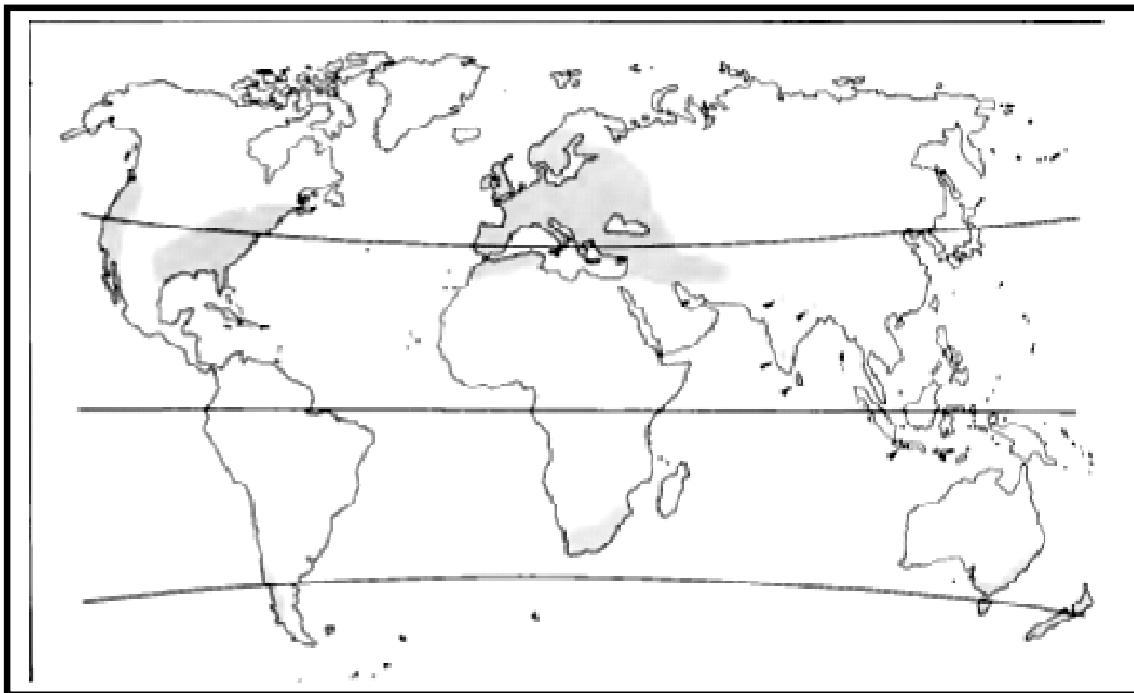


**Chapitre 1: La ronce**  
*(Rubus fruticosus L.)*

## I. Historique

La ronce est une plante commune connue sous de nombreux noms tels que "mûrier sauvage", "la ronce des haies", "mûrier de renard", "la ronce arbrisseau", "Aronc", "cutimuron", "mûron", "mûr". Elle a été étudiée par Linné (1737), où il décrit quatre espèces de rubus. En France l'abbé boulay (1877), cite plusieurs centaines. Bonnier (1934), a énoncé que 150 espèces de ce genre sont décrites pour les contrées tempérées, tropicales et subtropicales du globe. Heslop-Harrison (1968) rapporte que plus de 2000 espèces auraient été décrites y compris l'espèce qui nous intéresse « *Rubus fruticosus* ».

On retrouve *Rubus fruticosus* entre 30° et 65° parallèle de l'hémisphère Nord et entre le 28° et 40° parallèle de l'hémisphère Sud. Son aire de répartition s'étend sur l'Europe, l'Afrique du Nord (Atlas) (Wehrle, 1985) l'Afrique australe, le Sud-Est de l'Australie, la Nouvelle-Zélande, les États-Unis et le Chili. La ronce est également présente plus près de l'équateur, mais à des altitudes plus élevées.



**Figure 01** : La répartition mondiale de la Ronce (Wehrle, 1985).

## II. Définition

*Rubus fruticosus L.* c'est une plante qui appartient à la famille des Rosacées. Son nom vernaculaire, la ronce vient du latin "rumex", "rumicis" qui signifie « dard » allusion à la présence d'aiguillon et d'épines, sur les rameaux. *Rubus fruticosus* peut être rattaché au latin « rube » qui veut dire, rouge pour la couleur des fruits et fruticosus signifiant « arbrisseau, buissonnant ». Et le nom vernaculaire en Algérie c'est (تیتزروب، توت زروب، ورد زروب) (Titzroup, tout zroup, ward zroup).

Cette plante a une particularité appelée « apomixie » c'est-à-dire qu'elle est capable de former des embryons sans fécondation, c'est ce qui conduit à la formation d'arbuste épineux de la famille des rosacées. Cette plante est très courante dans les régions tempérées et pousse en septembre. La ronce commune, contient de la vitamine C. Elle est également antibactérienne et tonique.

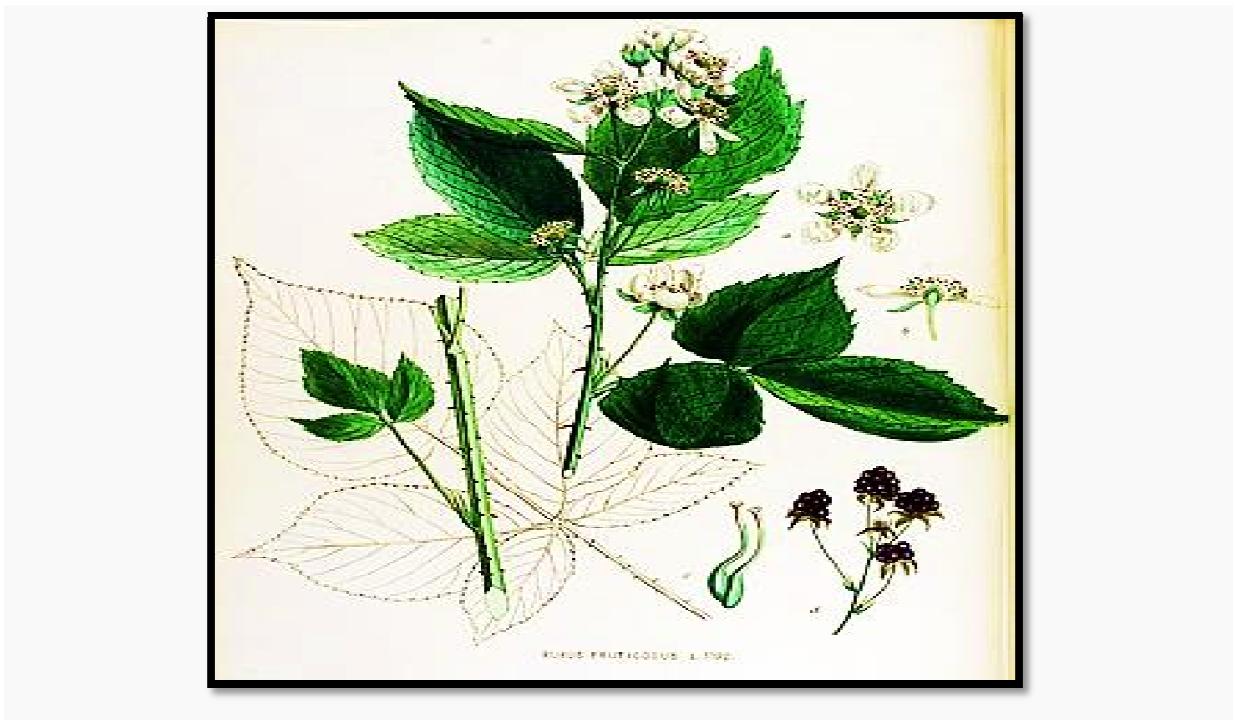


**Figure 02:** Feuilles et fleurs de la ronce (<http://lemaximun .Com>)

### III. Classification botanique

La ronce c'est une plantes de famille de Rosaceae et du genre de *Rubus*. Sa classification selon Linnaeus (Linnaeus, 1753), est la suivante :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Rosales
<b>Famille</b>	Rosaceae
<b>Genre</b>	<i>Rubus</i>
<b>Espèce</b>	<i>R. fruticosus</i> (Linnaeus, 1753)



**Figure 03:** Planche botanique de la ronce commune (<http://www.wikiphyto.Org/wiki/Ronce>).

#### IV. Description

Cette espèce se multiplie par apomixie et polyploïdie, sous forme d'arbuste frutescent ou sous- arbrisseau sarmenteux très variable, à rameaux épineux souvent couchés, polymorphes et à pousses retombantes (turions), couvertes d'aiguillons très durs.

##### IV.1 La Tige

Ce sont des souches ligneuse d'une longueur moyen de 03 mètres appelées turions où sarments à section anguleuse, ces rejets sont biannuels et sont munis d'aiguillons droit ou crochus plus ou moins nombreux, les turions se recourbent, touchent la terre à leur extrémités et s'enracinent. Les pétioles, glabres ou légèrement pileux peuvent être munis d'aiguillons. Les feuilles sont alternes et caduques, mais elles peuvent persister sur les turions. Elles présentent 3 à 5 folioles à bordure dentelée disposées en éventail. Les feuilles des tiges florifères de seconde années peuvent n'avoir qu'un limbe divisé en 3ou 2 folioles, voire une seule (Wehrle, 1985).

##### IV.2 Les racines

Elles sont robustes, ramifiées, rampantes sous terre, poussant verticalement jusqu'à une profondeur maximale de 1,5 m selon le type de sol, à partir d'une couronne ligneuse jusqu'à 20 cm de diamètre. Les racines secondaires poussent horizontalement à partir de la couronne sur 30 à 60 cm, puis poussent verticalement (viagallica.com).

##### IV.3 Les feuilles

La surface supérieure de feuille est verte et glabre ou légèrement pileuse. Les feuilles sont composées palmées à 3-5 (7) folioles ovale denticulée et acuminées, les latérales étant plus ou moins pétiolées, elles sont épineuses sur le pétiole et nervures principales, les stipules linéaires font moins de 1mm large (Rameau et al,1993).

**IV.4 Les Fleurs** contiennent 20 à 30 fleurs hermaphrodites actinomorphes, blanches ou blanc rosé, de deux à trois centimètres (2-3cm) (viagallica.com).

**IV.5 Les fruits** sont rouges de 0,5 à 3 cm de diamètre deviennent noirs bleuâtres à maturité, vers septembre. Ce sont des fruits composés formés de l'agrégation des carpelles modifiés et transformés en petites drupes (drupéoles de 2 à 4 mm de diamètre) qui restent adhérentes au réceptacle floral conique, en emportant une partie quand on les cueille, ce qui les distingue du framboisier(Rameau et al,1993).

IV.6 Les graines sont profondément et irrégulièrement dénoyautées, ovales, colorées de brun clair à brun foncé et de 2,6 à 3,7 mm de longueur et 1,6 à 2,5 mm de largeur (viagallica.com).

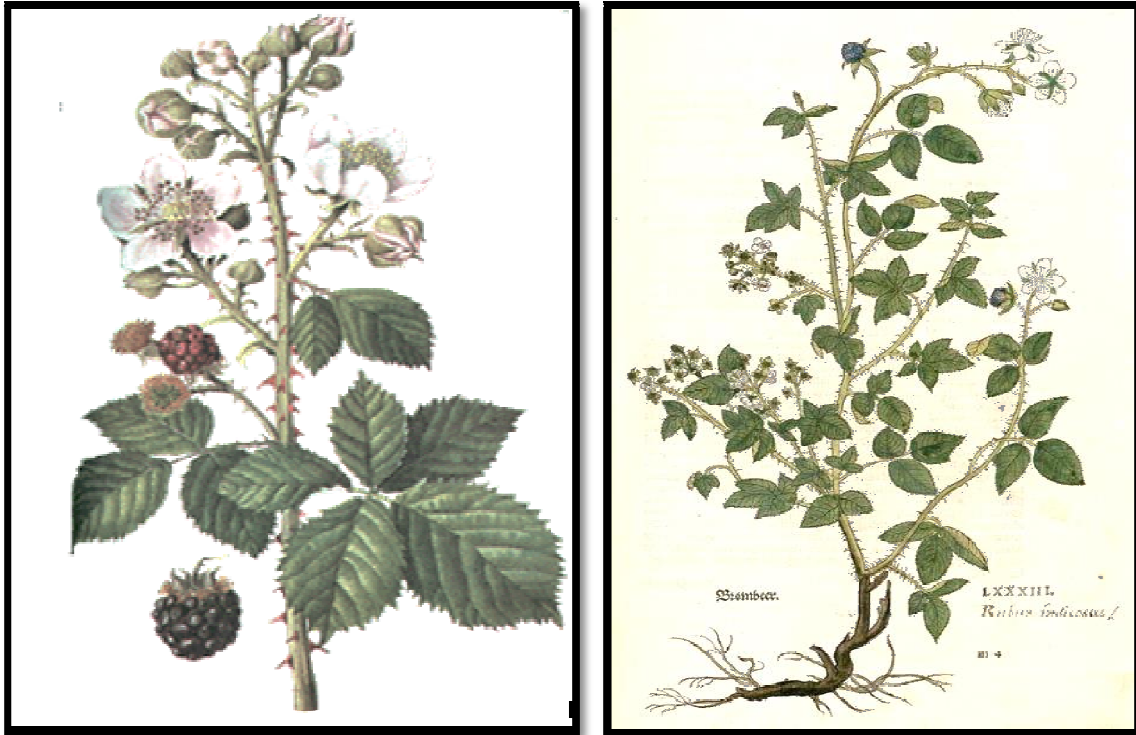


Figure 04: Aspect morphologique de *Rubus fruticosus* L. (<http://blog-domi.over-blog.fr>)

#### V. Développement et croissance de la ronce :

Les ronces sont des arbustes arqués avec des bourgeons bisannuels et se régénèrent à la base de leurs pousses ou par la souche initiale (la tige primaire).

Les pousses sont végétatives pendant la première année et fleurissent pendant la deuxième année. Le renouvellement des sarments s'effectue par des pousses basales. Certains, arqués, proviennent de pousses inférieures serrées à la base des sarments en place, et d'autres, plus puissantes, proviennent directement de bourgeons fixés sur la souche. Le rameau arqué qui les portait meurt et à son tour disparaît presque complètement. Il ne conserve vivant que la base d'où étaient parties les ramifications de l'année, porteuses des boutons floraux pour l'année suivante, et ainsi de suite. Les sarments arqués de deux ans qui portent les inflorescences peuvent se marcotter en entrant en contact avec le sol. L'accumulation de ces pousses peut former un tapis régulier d'une hauteur variant de 0,20 m à 1,50 m de haut, mais elles peuvent également former des fourrés impénétrables de plusieurs mètres de haut (Montegut, 1982).

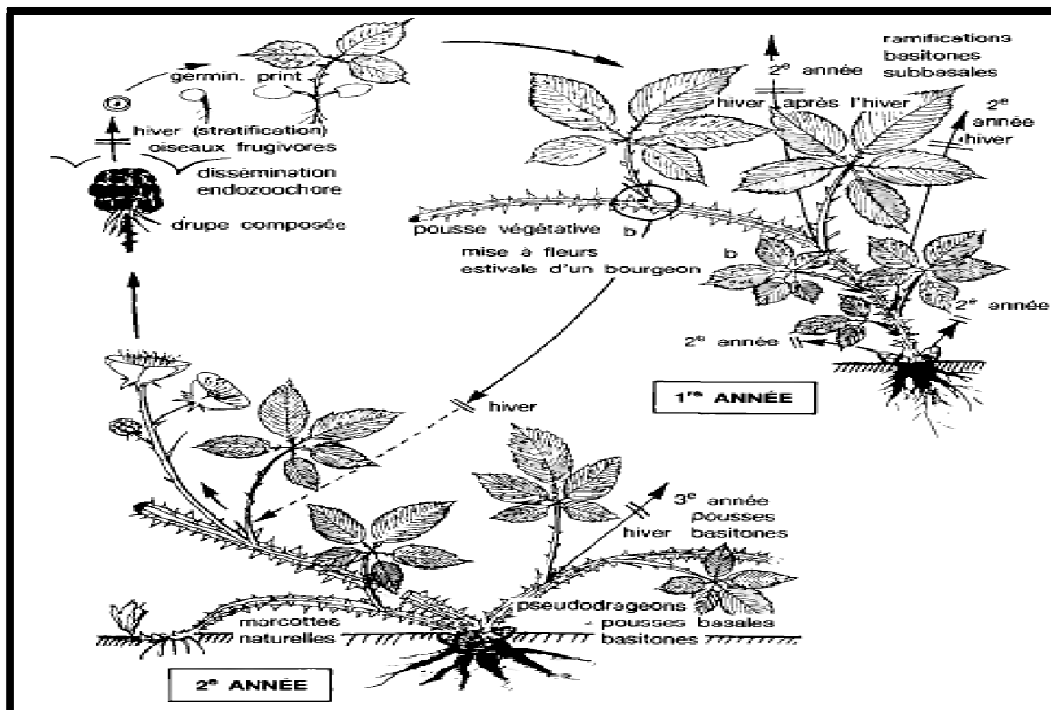


Figure 05: Cycle de développement de *Rubus fruticosus* (Wehrlen, 1985)

## VI. La composition chimique de la ronce:

Toutes les parties de la ronce possèdent une saveur astringente assez prononcée, due au tannin. Leur infusion précipite en noir les solutions de persels de fer. Elles sont très-riches en albumine. Les fruits renferment du sucre, de la pectine, de l'acide pectique, de l'acide malique.

Dans les pays où ils sont abondants, on peut, en les écrasant et les laissant fermenter, obtenir une boisson assez agréable, qui, par distillation, donne de l'eau-de-vie, susceptible de servir à préparer des vinaigres. Le suc des fruits imparfaitement murs renferme une grande quantité d'acide citrique, qui permet de l'employer comme antiscorbutique (Jean Louis de Lanessan, 1870).

Les Feuilles renferment des :

- Tanins hydrolysables (= gallo tanins et ellagitanins, 8 à 14 %)
- Flavonoïdes et acides triterpéniques pentacycliques
- Acides organiques (acide citrique, acide isocitrique)

Les Fruits sont riches en anthocyanes, lignanes, pectine, vitamine C, acides de fruits

Les jeunes pousses renferment des catéchines des acides phénoliques, et des acides organiques (<https://booksofdante.wordpress.com>).



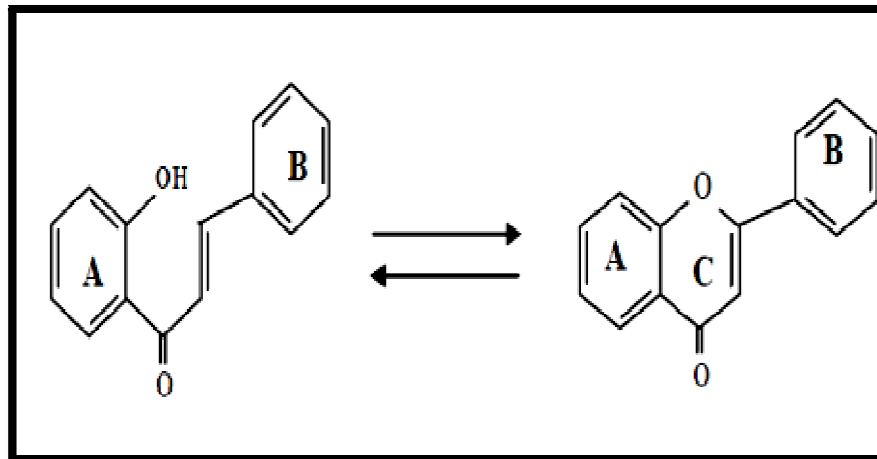


Figure 06 : Squelette de base des flavonoïdes (Hertog et *al*, 1993).

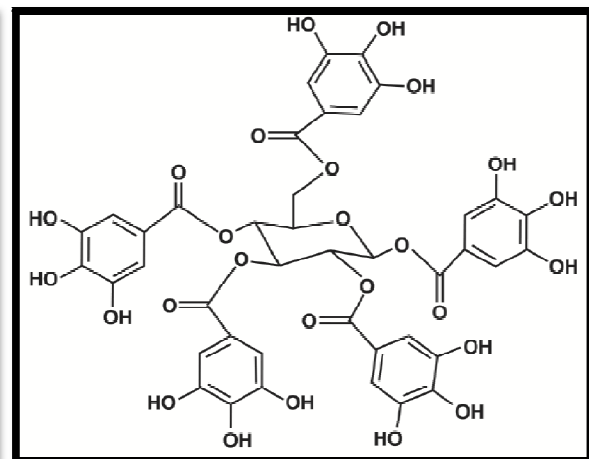
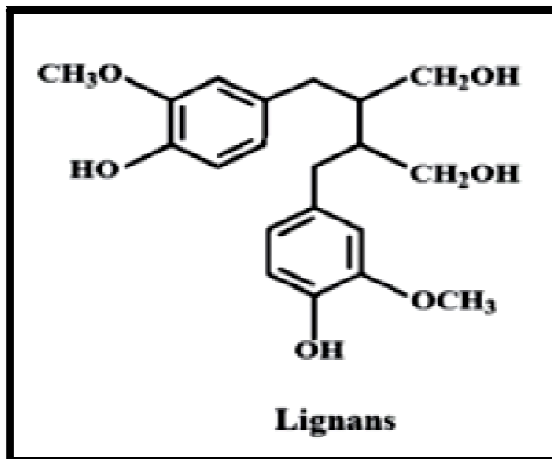


Figure07:Structure des lignanes

Figure 08: Structure des tanins hydrolysables

(<http://www.wikiphyto.org>).

## VII. Les utilisation et bienfaits de la ronce

Dans la ronce, on peut tout utiliser: les fruits « les mûres », bien sûr mais aussi les feuilles, les boutons, les racines.

Le fruit très riches en différents formes de vitamine B (sauf B12) et vitamine C sont consommés crus, seuls ou dans salades de fruits, où cuit en tarte, sirop, sorbets, gelées et confitures ou crème de mûre et vinaigre. On peut les utiliser en hygiène, en soins du corps et du visage (wehrlen, 1985).

La ronce commune est connue pour ses nombreuses vertus médicales. Avant, la ronce commune était très utilisée en gargarisme pour traiter les maux de gorge, les aphtes et les inflammations de la bouche. Aujourd'hui, la ronce au sens large permet de traiter d'autres maladies. Cette plante prévient les maladies cardiovasculaires. Car, elle aide à renforcer la paroi des vaisseaux capillaires. En infusion, la ronce traite les diarrhées, les règles abondantes et les saignements anodins.

Par ailleurs, la ronce commune a été très utilisée contre le goitre. Elle est un bon antioxydant, car elle contient de la vitamine C. la ronce commune est également antibactérienne et tonique, elle agit efficacement sur les muqueuses et réduit les saignements et les sécrétions. Les mûres ne sont pas caloriques, elles contiennent très peu de lipides et de protides. Donc, elles peuvent être consommées par les diabétiques sans aucune crainte (<http://azititou.wordpress.com>).

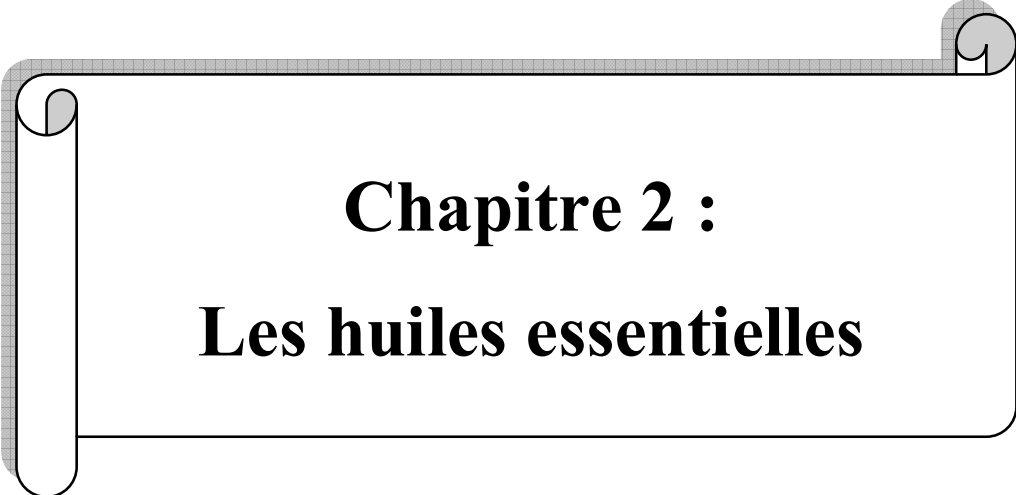
Aussi, les animaux utilisent la ronce, comme les montons et les chèvres qui consomment occasionnellement ses feuilles. Les lapins et les lièvres trouvent sous les ronciers des terriers et des gîtes parfaitement protégés contre leurs prédateurs (wehrlen, 1985). Les abeilles et les insectes trouvent dans les fleurs de ronce, une source de pollen et de nectar dont ils profitent trois mois, chaque année (wehrlen, 1985).

**Tableau 01 :** Les propriétés thérapeutiques de la ronce (wehrlen, 1985)

<b>Feuille</b>	<b>Fruits</b>	<b>Bourgeon</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Astringent,</li> <li>- Antidiarrhéique,</li> <li>- Antibactérien,</li> <li>- Protecteur capillaire,</li> <li>- Vasoconstricteur,</li> <li>- Cicatrisant,</li> <li>- Hypoglycémiant,</li> <li>- Anti-carcinogène,</li> <li>- anti-inflammatoire,</li> <li>- anti-diarrhéique,</li> <li>- antimicrobiens,</li> <li>- antivirales,</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- antioxydant,</li> <li>- relaxant des muscles lisses,</li> <li>- antihelminthique</li> <li>- propriétés phyto-estrogéniques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Activité antioxydant et anti-inflammatoire</li> <li>- antitussif</li> <li>- émollient,</li> <li>- antiseptique,</li> <li>- contre les affections pulmonaires et pharyngo-laryngées</li> </ul>

### **VIII. Les avantages des ronces en permaculture**

- Les ronces sont d'excellentes plantes bio-indicatrices des zones fraîches et humides.
- Elles créent des buissons protecteurs naturels et gratuits pour les arbres fruitiers de la germination jusqu'au développement des tiges.
- Elles protègent le sol et les arbres contre les UV, le vent, les écarts de températures, la sécheresse, le froid, le gel, les parasites et les abrouissements des troupeaux de mammifères.
- Elles abritent et nourrissent la faune toute l'année, notamment les insectes, les oiseaux, les petits mammifères et les chevreuils.
- Elles préparent, nourrissent, hydratent et structurent le sol en créant une litière et des conditions d'humidité propices à l'implantation d'une végétation arborescente, en gagnant du terrain sur les graminées, aux allées, aux bordures, aux zones champêtres et aux clairières.
- Elles structurent l'espace et la circulation.



**Chapitre 2 :**  
**Les huiles essentielles**

### I. Historique :

Les essences végétales livrent progressivement leurs secrets depuis l'avènement de la chimie organique à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle (Remmit et Hezil, 2018) Mais ce n'est qu'au début du XX<sup>ème</sup> siècle que les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles (HEs) ont fait l'objet de recherches scientifiques. Le terme «huile essentielle», a été inventé par le médecin suisse Parascelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (Remmit et Hezil, 2018) Les HE et les extraits aromatiques ont été utilisés pour leurs propriétés antiseptiques. Dans les vieux ouvrages de médecine, les résines aromatiques ou les HEs étaient les principaux composés actifs qui peuvent se retrouver dans les différentes drogues végétales, ayant des propriétés antiseptiques significatives. Dans les manuscrits les plus récents, l'utilisation des HEs dans l'aromathérapie laisse entrevoir une perspective d'alternative aux médicaments de synthèse (Remmit et Hezil, 2018).

### II. Définition d'huile essentielle :

Les huiles essentielles sont des substances volatiles qui diffèrent par leurs propriétés physicochimique des huiles fixes. Ces substances se trouvent généralement liées à d'autres composés comme les gommes et les résines et ont même la tendance de se transformer en résine quand elles sont exposées à l'air libre (Chaouche, 2015).

Les huiles essentielles peuvent être obtenues à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur ou par distillation sèche, soit par des procédés mécaniques sans chauffage. Les HE doivent leur nom à ce qu'elles sont très réfringentes, hydrophobe et lipophiles. Elles ne sont que très peu ou pas du tout solubles dans l'eau (Abbes, 2014)



**Figure09: Différentes huiles essentielles**

### III. Compositions chimique

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe (Azevedo et *al*, 2001). On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques: les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques en(C5) et comprennent les monoterpènes en (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes en (C30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. En général, une huile essentielle est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygènes dérivés de ces hydrocarbures.

Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'éther-oxydes.

A l'intérieure d'une mêmes espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (Boukhatem, 2017), et parmi les nombreux constituants d'une huiles essentielles, l'un domine généralement; on l'appelle composé majoritaire.

La composition chimique des huiles essentielles varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée en cours de l'extraction ou durant la conservation (Boukhatem, 2017).

### IV. Propriétés physico-chimiques des HEs:

#### IV. 1. Propriétés chimiques

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et remarquablement variables de constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpenoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés de phenyl propane, beaucoup moins fréquents d'autre part (Remmit et Hezil, 2018).

#### IV.2. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante. Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et sont très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (sauf les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle qui constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et entraînables à la vapeur

d'eau. Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels, mais très peu solubles dans l'eau. Sensibles à l'altération, elles ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux (Remmit et Hezil, 2018).

## V. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction d'une huile essentielle est une opération capitale qui ne doit pas altérer sa qualité. Deux procédés sont principalement utilisés pour l'extraction des huiles essentielles: La distillation et l'expression à la vapeur.

### V.1 Distillation

Le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation. Il existe deux types de distillation (Remmit et Hezil, 2018).

#### V.1.1 Extraction par hydro-distillation (ou par entraînement à la vapeur d'eau)

L'hydro-distillation consiste à distiller un composé par entraînement à la vapeur d'eau. C'est une méthode très utilisée pour l'extraction des huiles essentielles (**Fig 10**). Elle montre ses limites lorsque les molécules à extraire sont fragiles et ne résisteront pas au chauffage.

La vapeur d'eau produite va entraîner avec elle un composé donné selon un phénomène physique particulier: la création d'un azéotrope (mélange de deux liquides qui bout à température fixe et ne se distille pas en bouillant). Il s'agit en fait d'un mélange de composés, non miscibles, (l'eau et une molécule odorante). La vapeur d'eau chargée en molécules organiques est condensée puis récupérée. Le liquide obtenu est appelé distillat. Il y a donc séparation de deux phases: l'une aqueuse et l'autre organique, cette dernière contenant le composé à extraire. Pour récupérer l'huile essentielle, il faut procéder à une extraction liquide-liquide (Benabdallah, 2016).

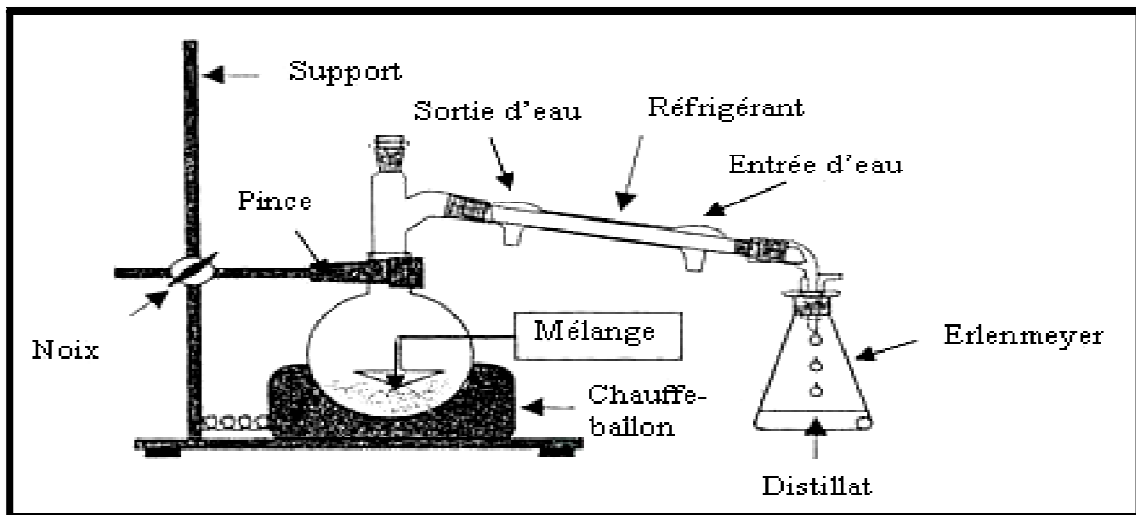
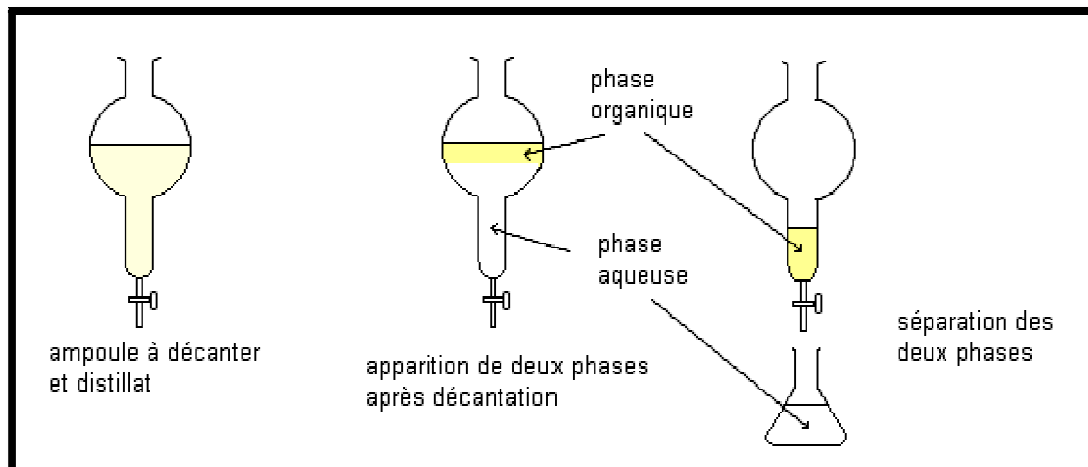


Figure 10 : Schéma d'une hydro-distillation (Benabdallah, 2016).

L'hydro-distillation fait intervenir les étapes suivantes:

- ✓ L'entraînement à la vapeur qui consiste à bouillir un mélange d'eau et de substance naturelle contenant le composé à extraire (huile essentielle). La vapeur entraîne les huiles essentielles contenues dans le produit brut. Par la suite, ces vapeurs sont condensées à l'aide d'un réfrigérant.
- ✓ Le relargage qui consiste à rendre les huiles essentielles, qui sont des composés organiques en partie solubles dans l'eau, moins solubles par l'ajout du chlorure de sodium. De cette manière, il sera plus facile de récupérer ces huiles essentielles.
- ✓ La décantation: Est réalisée dans une ampoule à décanter, dans laquelle le mélange se sépare en deux phases non miscibles. Une phase aqueuse, plus dense, se situe dans la partie inférieure et une phase organique, de densité plus faible et contenant les huiles essentielles se situe au-dessus (Fig 11).
- ✓ Le séchage et la filtration: Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, il est important de faire agir un déshydratant (C'est le séchage). Pour ne recueillir que la phase organique exempte d'eau il faut réaliser une filtration (BenabdLallah, 2016).





**Figure 11:** Processus de la décantation après hydro-distillation (Benadallah, 2016).

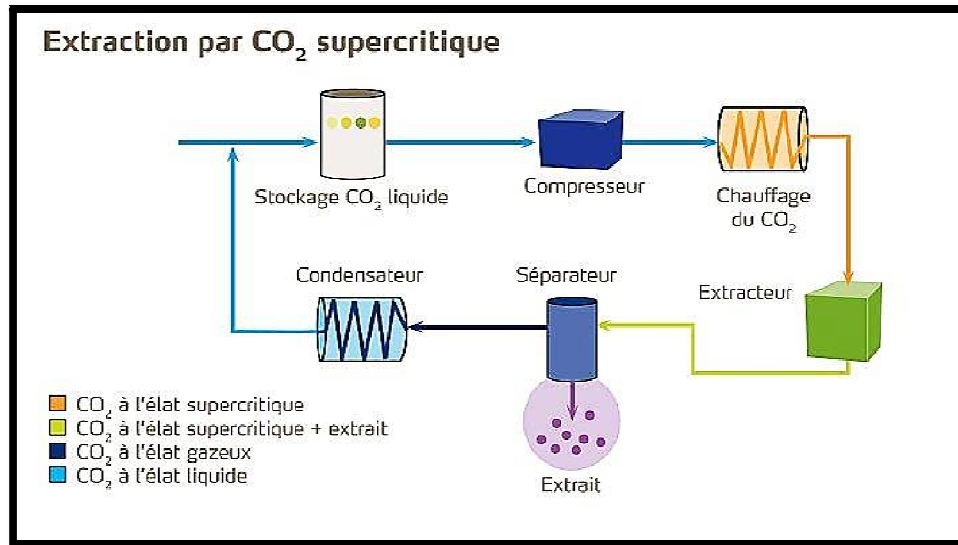
### V.1.2. Expression à froid

Le principe de l'extraction consiste à rompre les poches à essence par un moyen mécanique, pression, incision ou abrasion à froid. L'huile essentielle mélangée à l'eau cellulaire est séparé par décantation ou centrifugation.

Le procédé classique consiste à exercer sous un contact d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit, après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite des dégradations liées de l'eau (Remmit et Hezil, 2018).

### V.1.3. Extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique

Le principe général de la méthode, est que le CO<sub>2</sub>, porté aux conditions de température et de pression souhaitées, chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques. Le mélange passe ensuite dans un séparateur, où le CO<sub>2</sub> est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé. L'extrait se condense et est récupéré (Medjaheri et Medjaheri, 2020).



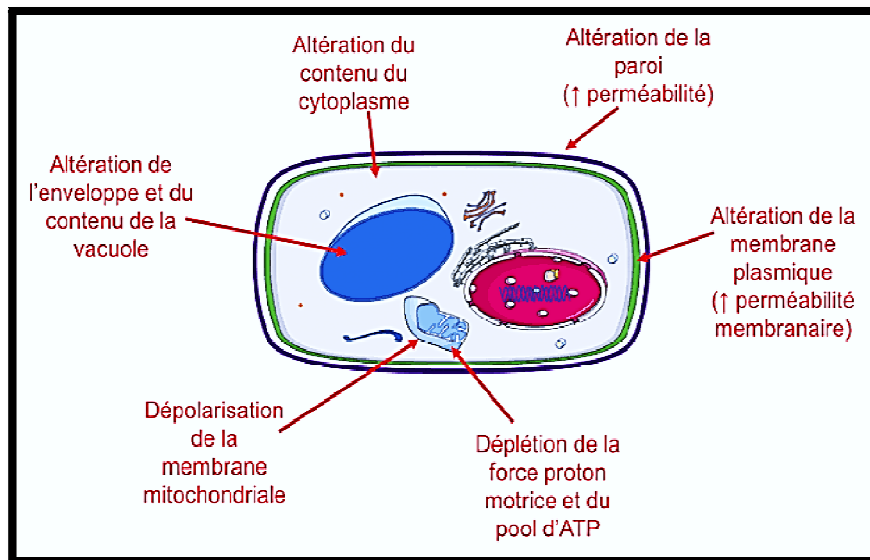
**Figure 12 :** Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique  
(<http://tpe-huiles-essentielles-2014-2015.e-monsite.com>).

## V.2 Autres méthodes

- Hydrodistillation par micro-ondes sous vide
- Hydrodiffusion
- L'enfleurage
- Extraction par solvant (Medjaheri et Medjaheri, 2020).

## VI. Principes actifs et mécanisme d'action antifongique des huiles essentielles

L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (Bouras et Hachemi, 2019). L'action antifongique des huiles essentielles (**fig 13**) est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la cellule. En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des cellules. D'autre part, (Bouras et Hachemi 2019) ont décrit l'effet fongitoxique du thymol et du carvacrol sur *Cryptococcus neoformans*, champignon opportuniste rencontré au cours du SIDA.



**Figure 13:** Mode d'action antifongique des huiles essentielles (<https://laboratoireumani.fr>)

## VII. Les avantages des huiles essentielles

Très facilement accessibles, les huiles essentielles possèdent pas mal d'avantages, En effet, elles (<http://lesecureuilsmalins.com>)

- Aident à soulager le stress
- Soulagent les allergies
- Aident à trouver le sommeil
- Permettent aux produits faits maison de sentir bon
- Peuvent être utilisées en cuisine
- Diffusent une odeur agréable dans toutes les pièces de la maison
- Et bien plus encore !

## VIII. Les inconvénients des huiles essentielles

Cependant, les HE possèdent de nombreux inconvénients qu'il est important de prendre en compte avant toute utilisation. Tout d'abord, il faut savoir que même si elles sont naturelles, les huiles essentielles ne sont pas sans danger. Elles peuvent en effet provoquer des irritations, des nausées, des vomissements, voire même des convulsions si elles sont utilisées à hautes doses.

Les HEs sont également contre-indiquées chez les enfants de moins de 3 ans car elles présentent des risques neurotoxiques. Elles sont également nocives pour les chiens et les chats (<http://lesecureuilsmalins.com>).

**IX. La conservation des huiles essentielles**

A cause de leurs évaporations rapide, leurs sensibilités à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984; Salle et Pelletier, 1991).



**Chapitre 3 :**  
*Colletotrichum gloeosporioides*

## I. Définition

*Colletotrichum* est un genre asexué, classé parmi les champignons imparfaits. Il appartient aux Coelomycetes, produisant ses conidies dans les acervules (Yssaad et Medaouar, 2018). Malgré son importance, la taxonomie et la nomenclature de ce genre prêtent à confusion. Sur la base de critères d'interprétation taxinomique, Von Arx (1957) pense que le nombre d'espèces peut varier de 29 à plus de 700. D'autres ont également indiqué qu'il y a 802 enregistrements dans la mycobank, mais seulement 66 espèces ont été répertoriées comme étant actuellement utilisées (Yssaad et Medaouar, 2018).

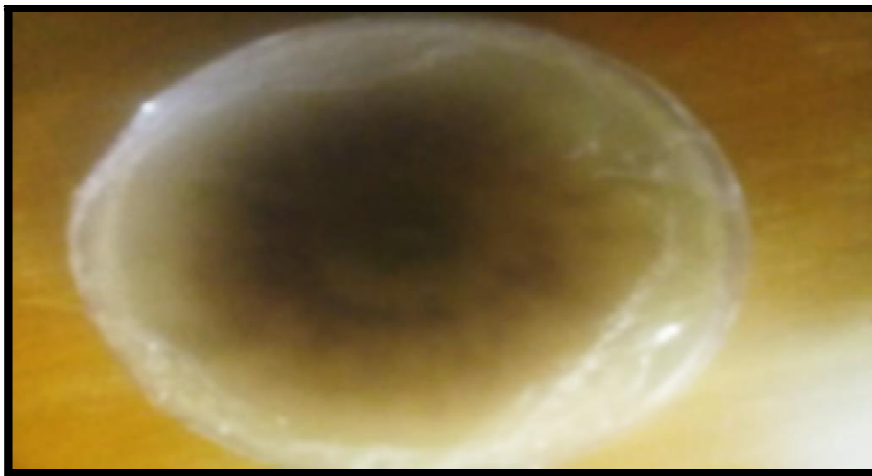


Figure 14 : Aspect de *Colletotrichum gloeosporioides* (Originale, 2021).

## II. Description taxonomique

Ajay (2014) in Yssaad et Medaouar (2018) propose la classification suivante :

<b>Règne</b>	Mycota
<b>Division:</b>	<i>Ascomycota</i>
<b>Classe</b>	Sordariomycètes
<b>Ordre:</b>	Phyllachorales
<b>Famille:</b>	<i>Phyllachoraceae</i>
<b>Genre:</b>	<i>Colletotrichum</i>
<b>Espèce :</b>	<i>C. gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. & Sacc
<b>Télomorphe:</b>	<i>Glomerellacingulata</i> (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk

### III. Conditions favorisant le développement du pathogène

#### ✓ La température

La température optimale pour la croissance de *Colletotrichum gloeosporioides* est de 25 à 28 °C alors que les températures allant de 20 à 30 °C favorisent l'infection (Nait Messaoud et Ouabba 2018)

#### ✓ PH

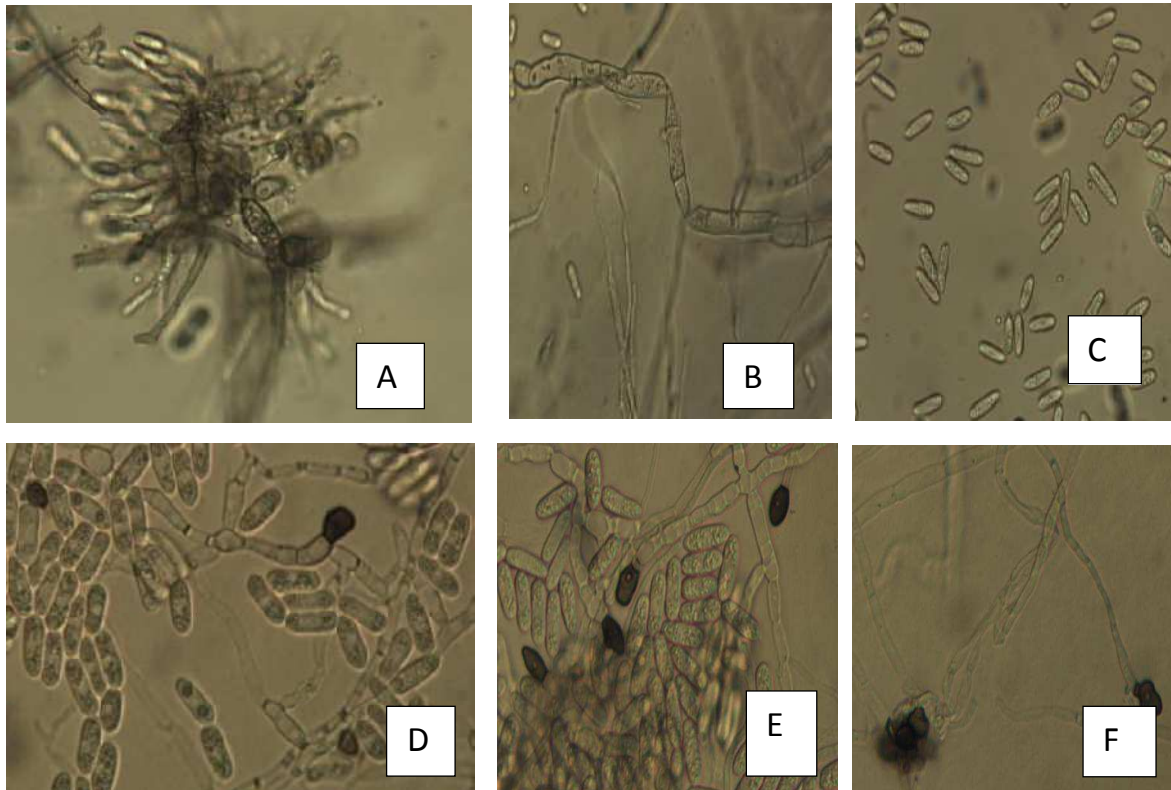
Pour la croissance et la sporulation de *Colletotrichum gloeosporioides*, un pH de 6 est préférable alors que la germination est meilleure sur un milieu plus acide (Nait Messaoud et Ouabba 2018)

#### ✓ L'humidité

La germination des conidies et la formation d'appressorium de *C. gloeosporioides* exige une humidité relative supérieure à 95% (Nait Messaoud et Ouabba, 2018), à l'opposé une faible humidité inactive rapidement les spores (Ponte, 1996). En effet, en saison sèche le champignon devient inactif puis passe à des stades actifs lorsque les conditions environnementales sont favorables (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

### IV. Morphologie

Généralement, le champignon produit des colonies circulaires, laineuses ou cotonneuses sur les milieux de culture. Elles ont une couleur caractéristique, c'est-à-dire brun pâle ou blanc grisâtre (Hiremath et al, 1993 in Nait Messaoud et Ouabba, 2018); (Vidyalakshni, et al, 2013 in Nait Messaoud et Ouabba, 2018). Le mycélium est hyalin. En culture, le champignon produit des sclérotés brun foncé, occasionnellement soyeux. Les soies sont longues, brunes et septées. Les conidies sont droites, cylindriques, ovales et portées par des conidiophores. La taille des conidies est de 11-16 x 4-6 µm et 13,8 x 4,8 µm (Bose et al., 1973 in Nait Messaoud et Ouabba, 2018). (Sattar et Malik, 1939 in Nait Messaoud et Ouabba, 2018). Les acervules sont très variables en taille, en forme et exsudent un liquide visqueux dans lequel baignent des conidies (Yssaad et Medaouar 2018; Nait Messaoud et Ouabba, 2018).



**Figure 15:** Caractères microscopiques de *Colletotrichum* sp. (Observation au microscope optique, grossissement: 10x40) (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

**A:** conidies au sommet des conidiophores ; **B :** Mycélium avec quelques conidies; **C :** conidies;  
**D, E, F:** Appressoria (**D:** appressorium renflé ; **E:** appressorium ellipsoïde ; **F:** appressorium )

## V. Symptômes

L'origine étymologique du terme anthracnose vient du grec « anthrax », qui signifie altération nécrotique des parties aériennes de la plante (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

❖ **Sur feuille** les symptômes communs sont une zone plus ou moins circulaire, plate, de couleur beige clair avec une marge pourpre proéminente, qui, à une phase ultérieure de l'infection, montrera les fructifications du champignon (minuscules taches noires dispersées). Les tissus endommagés par divers facteurs environnementaux sont plus sensibles à la colonisation par l'anthracnose.

❖ **Sur fruits**, L'anthracnose ne se produit habituellement que sur les fruits qui ont été endommagés par des coups de soleil, des brûlures chimiques ou des dommages causés par les ravageurs. Les lésions sont des taches brunes à noires de 1,5 mm ou plus, de diamètre.



La pourriture est habituellement ferme et sèche, mais si elle est assez profonde, elle peut ramollir le fruit. Si elles sont conservées dans des conditions humides, les masses de spores sont roses à saumon, mais si elles sont gardées au sec, les spores apparaissent de brun à noir. Sur les fruits déverdis, une grande partie de la croûte est affectée. Les lésions deviendront éventuellement brunes à gris noir et entraîneront une pourriture molle. (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

## **VI. Epidémiologie**

La transmission la plus naturelle est probablement réalisée par des conidies, bien que des Appressoria, des fragments d'hyphes et des cellules à paroi épaisse de type appressorium puissent également jouer un rôle. La dispersion locale semble être principalement due aux éclaboussures d'eau avec des propagules qui hivernent parfois dans le sol pour affecter les cultures plantées les années suivantes (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

## **VII. Moyens de lutte**

### **❖ Lutte préventive**

Choisir des variétés de plantes résistantes si possible et utilisez des graines qui n'ont pas été exposées à la maladie. Il faut utiliser des graines indemnes de contaminations. Eviter la propagation de la maladie en désinfectant tous les outils après utilisation. Eviter le compostage pas les feuilles, les fruits ou les tiges infectés et nettoyez soigneusement les zones de culture après la récolte, afin de réduire les sites d'hivernage des spores fongiques (<https://www.planetnatural.com/pest-problem-solver/plant-disease/anthracnose/>).

### **❖ Lutte chimique**

La méthode chimique consiste à pulvériser des fongicides dans les vergers, la pulvérisation d'un fongicide n'étant pas recommandée pendant la saison des pluies. Plusieurs types de fongicides sont utilisés, notamment: après la récolte et avant la récolte. Les Fongicide après récolte généralement utilisé en pulvérisation sur les cultures déjà infectées par *C. gloeosporioides*. Cette méthode est employée pour les fruits qui sont expédiés vers le marché (Dickman, 1993). Il existe divers fongicides qui sont utilisés comme fongicides de pré-récolte, par exemple l'hydroxyde de cuivre, le mancozèbe et les produits de sulfate de cuivre (ceux-ci sont couramment utilisés de la floraison à la récolte). Le fongicide Prochloraz est utilisé lorsque les conditions météorologiques favorisent l'infection de *C. gloeosporioides* (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

❖ **Lutte biologique**

Les méthodes de lutte biologique contre les maladies à *Colletotrichum* font maintenant l'objet d'une attention croissante, bien que le potentiel du contrôle biologique par l'effet des antagonistes de la phyllosphère se soit plus réalisé depuis un certain temps (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

# Partie expérimentale



**Chapitre 01 :**  
**Matériel et méthodes**

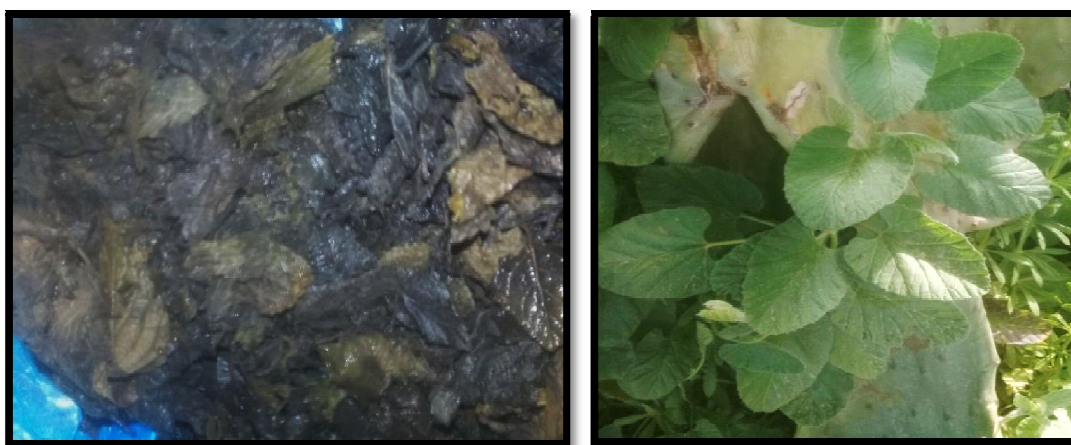
## I- Matériels et méthodes

### I.1- Objectif du travail

Notre étude traite l'évaluation « in vitro » et « in vivo » de l'effet de l'huile essentielle de la ronce sur *Colletotrichum gloeosporioides*.

### I.2 Matériel végétal

Ce travail a porté sur l'étude de la ronce (*Rubus fruticosus L.*), plante médicinale, achetée du marché local de la ville de Mostaganem. La biomasse utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle est constituée de feuilles à l'état sec (**Fig 16**).



**Figure16:** Feuilles de la ronce (*Rubus fruticosus L*) (Originale, 2021).

### I.3 Matériel fongique

La souche utilisée dans ce travail est le champignon *Colletotrichum gloeosporioides*, qui a été isolé à partir de la tomate et conservé au niveau du laboratoire de recherche « Protection des végétaux à l'université de Mostaganem.

### I.4 Méthode Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au laboratoire de Biochimie 2, à l'Université de Mostaganem à l'aide d'un dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau.

Une quantité de 689 g de matériel végétal a été triée et nettoyé puis placé sur une grille métallique et introduit dans le dispositif d'extraction contenant de l'eau. Cet ensemble est porté à ébullition pendant deux heures et les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau (**Fig16**).

Après condensation et liquéfaction, l'huile surmontant l'eau (non miscible) est séparée de l'eau et récupéré dans un tube gradué dans lequel la décantation a été effectuée.

Après extraction, le volume de l'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon hermétique (couvert avec de papier aluminium) dans un réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologiques.



**Figure 17:** Dispositif d'extraction des HEs par entrainement à la vapeur (Originale, 2020).

- |                       |                        |
|-----------------------|------------------------|
| 1: Plaque chauffante; | 5: Entrée de l'eau ;   |
| 2: Cocote minute;     | 6: Réfrigérant;        |
| 3: Condensateur;      | 7: Tube graduée        |
| 4: Sortie de l'eau;   | 8: Ampoule à décompter |

## II. Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement est exprimé en pourcentage par la formule suivante:

$$R = (Ph / PP) \times 100$$

**R** : Rendement en HE exprimé en pourcentage (%).

**Ph**: Poids de l'HE en gramme.

**PP**: Poids de la masse végétative en gramme.

### III. Evaluation de l'activité antifongique "in vitro" de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus L.* sur *Colletotrichum gloeosporioides*

#### III.1. Préparation des milieux de cultures

Le milieu utilisé pour le repiquage du champignon est le PDA (*Potato Dextrose Agar*). Compte tenu de la non miscibilité des huiles à l'eau et par conséquent au milieu de culture, une mise en émulsion de cette huile a été réalisée par le tween 20 afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des composés (Medjaheri et Medjaheri, 2020).

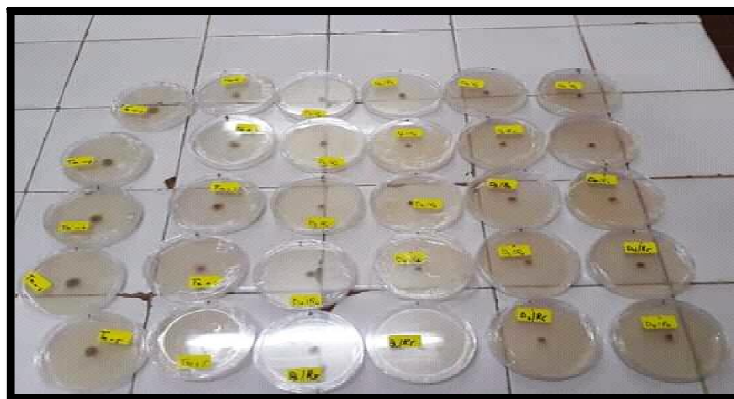
Différentes concentrations de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus L.*, additionnés de tween 20 sont incorporées dans 100 ml de PDA pour obtenir quatre doses différentes (1%, 0,5 %, 0,25%, 0.125%). Il s'agit de la méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique (Medjaheri H et Medjaheri F 2020).e mélange du milieu a différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de ronce, est coulé dans des boites de Pétri étiqueté.

#### III.2. Technique de repiquage

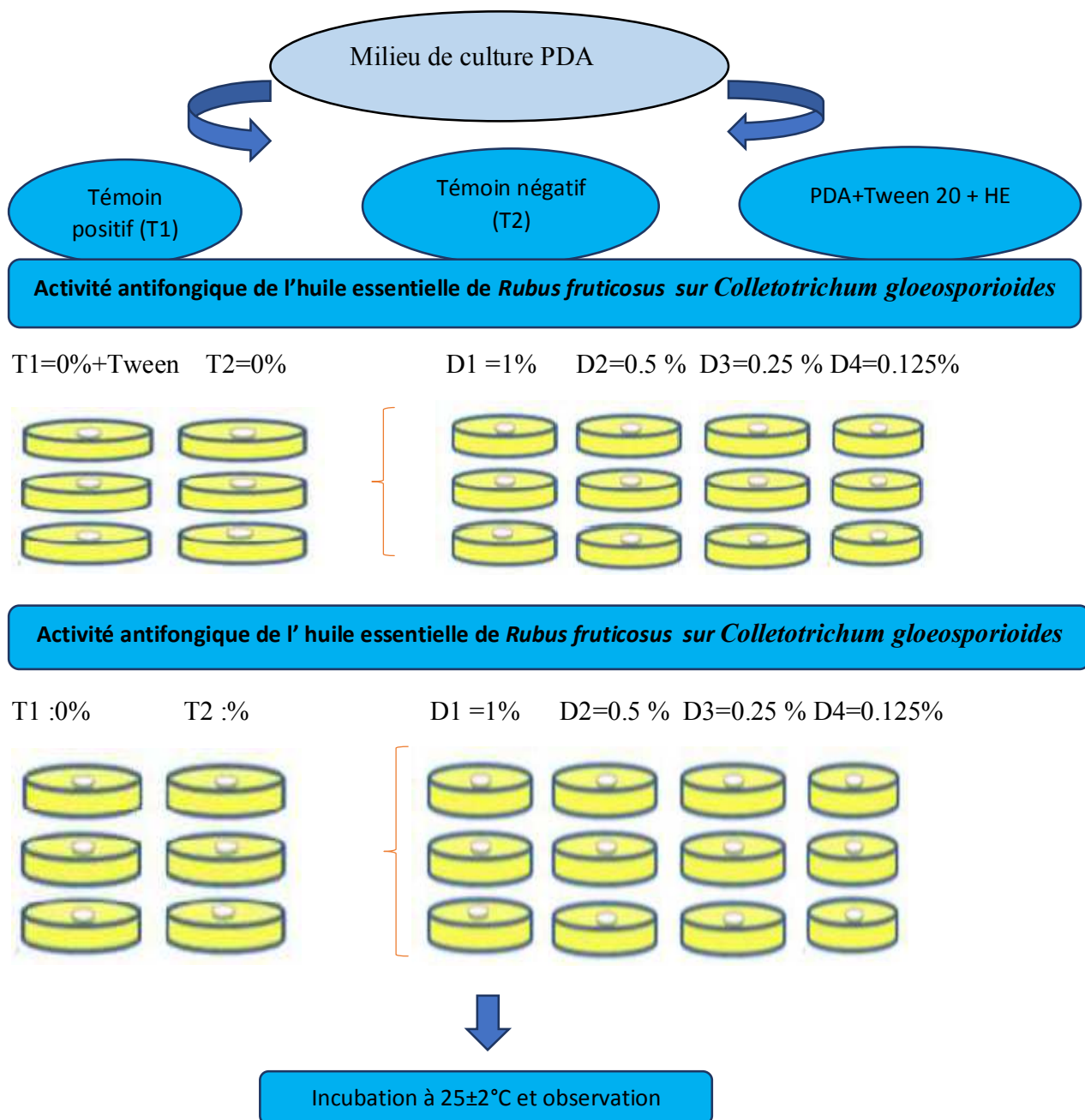
A l'aide d'une pipette pasteur stérile, un fragment de culture fongique de 5mm de diamètre a été découpé à partir d'une culture âgé de 15 jours, puis a été déposé au centre de la boite de Pétri. Pour chaque concentration, trois répétitions sont préparées de la même façon.

Deux témoins avec trois répétitions ont été retenus. Un témoin positif sans huile et contenant du tween et un témoin négatif sans huile et sans tween. Les boites de Pétri sont ensuite fermées hermétiquement et incubées à 25°C.

Des mesures quotidiennes du diamètre des colonies ont été effectuées jusqu'à ce que l'une des boites soit complètement rempli.



**Figure 18:** Dispositif expérimental pour l'évaluation « in vitro » de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus* (Originale, 2021).



**Figure 19:** Protocole expérimentale des bio-essais de l'activité antifongique de l'huile essentielle des feuilles de *Rubus fruticosus* vis-à-vis *Colletotrichum gloeosporioides*.



#### IV.1 Evaluation de la croissance mycélienne

La technique employée pour le calcul de la croissance mycélienne est celle décrit par Brewer (1960), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en les appliquant à la formule suivante:

$$L = (D-d)/2$$

**L** : croissance mycélienne.

**D** : diamètre de la colonie.

**d** : diamètre de l'explant.

#### IV.2 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM)

Selon Cahagnier et Molard (1998), la vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule suivante: (Medjaheri H et Medjaheri F 2020).

$$VCM = [D1/Te1] + [(D2-D1)/Te2] + [(D3-D2)/Te3] + \dots + [(Dn - Dn-1)/Ten]$$

**Di**: diamètre de la zone de croissance chaque jour (cm).

**Te**: temps d'incubation.

#### IV.3 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TI%)

Les résultats obtenus à partir de l'estimation de la croissance mycélienne sont aussi exprimés en taux d'inhibition par rapport à la croissance mycélienne du témoin. La technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation.

$$TI (\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

**TI(%)**= Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

**dC** = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

**dE** = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

## V. Evaluation de l'activité antifongique "*in vivo*" de l'huile essentielle des feuilles de la ronce sur le *Colletotrichum gloeosporioides*

L'étude de la sévérité de la maladie a été évaluée sur des plants de tomate. Comme première étape, les feuilles sont rincées à l'eau courante. Elles sont par la suite désinfectées superficiellement à l'éthanol à 70°. Après séchage, elles sont trempées dans une solution diluée d'eau de javel à 1% pendant 45 secondes, puis rincés trois fois à l'eau distillée stérile (2 min, 3 min, 5 min) puis séchés entre 2 feuilles de papier filtre stérile.

Les plants dont les feuilles sont ainsi préparées sont divisées en deux lots, l'un comporte les plants dont les feuilles sont inoculé par le pathogène. Le deuxième lot comporte le lot dont les feuilles sont traitées à l'huile essentielle de la ronce diluée à 0,125% additionnée à une goutte de tween puis inoculé par le pathogène. Enfin, les feuilles sont recouvertes d'un sac en plastique transparent et aspergées d'eau distillée afin de favoriser l'infection. Les plants sont ensuite placés devant la lumière du jour. Après 48h on enlève le sac plastique et on suit l'évolution de la maladie.

**Tableau 02 :** Echelle de la notation de la sévérité de la maladie sur les feuilles

Symptôme	indice
<b>Pas de symptômes</b>	<b>0</b>
<b>5 % de la surface foliaire atteinte.</b>	<b>1</b>
<b>6-10 %</b>	<b>2</b>
<b>11-20 %</b>	<b>3</b>
<b>21-50 %</b>	<b>4</b>
<b>Plus 50%</b>	<b>5</b>



**Chapitre 02:**  
**Résultats et Discussion**

## **I. Résultats**

### **I.1 Détermination du rendement**

Le rendement moyen de l'huile essentielle, des feuilles et tiges de *Rubus fruticosus L.* extraites par entraînement à la vapeur. *Rubus fruticosus L.* ont été calculé en fonction de la masse du matériel végétal traité. Les résultats obtenus sont illustrées dans la figure 22.

### **I.2 Evaluation de l'activité antifongique "in vitro" de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus L.* sur *Colletotrichum gloeosporioides***

Les figures 24, 25 et 26 montrent l'effet des différentes concentrations (1%, 0.5%, 0.25%, 0,125%) des huiles essentielles de *Rubus fruticosus* sur l'isolat de *Colletotrichum gloeosporioides*. Une différence de la croissance des colonies a été observée entre les différents lots. La croissance mycélienne dans les boites contenant de l'HE de La ronce (*Rubus fruticosus*).

### **I.3 Evaluation de l'activité antifongique "in vivo" de l'huile essentielle des feuilles de la ronce sur le *Colletotrichum gloeosporioides***

#### **I.3.1 Etude de la sévérité de la maladie**

#### **I.4 Description des symptômes**

Nous avons remarqué une évolution des symptômes dans le temps. Les feuilles de tomate atteintes d'antracnose présente des feuilles et tiges desséchés portant de petites ponctuations noires qui sont des appareils sporifères du champignon; appelés acervules.

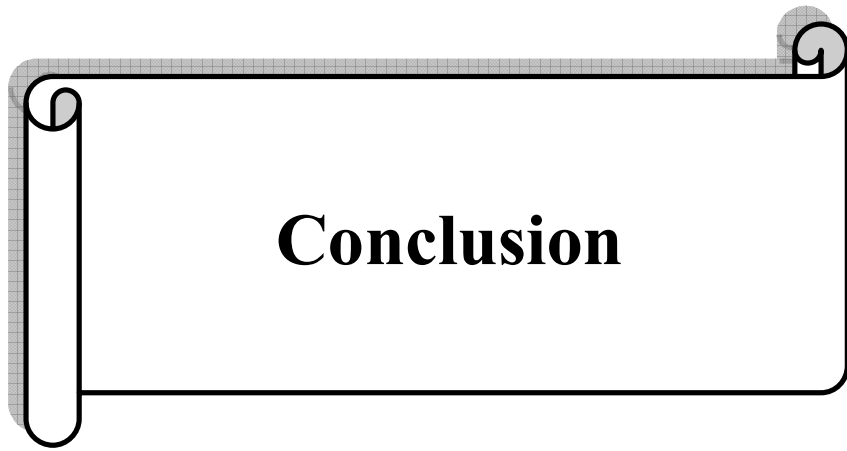
Les feuilles montrent des lésions nécrotiques de coloration brune, de formes plus ou moins arrondies. Selon leur répartition à la surface de la feuille malade.

#### **I.5 Estimation de la sévérité de la maladie sur la feuille**

Nous avons remarqué de nombreuses lésions plus particulièrement des nécroses au niveau des feuilles et tige suite à l'inoculation des plants de tomate par *Colletotrichum gloeosporioides*. Les indices d'attaque obtenus à partir de notations effectuées pendant trois jours nous permettent de distinguer 2 indices de maladies presque similaires.

Ces résultats démontrent l'inefficacité des de l'huile essentielle à la dose de 0,1 à inhiber la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* « in vivo ».

Nous avons par ailleurs nous avons observé une phytotoxicité remarquable de cette huile essentielle sur les feuilles de tomate.



**Conclusion**

## Conclusion

Cette étude se voulait une contribution à l'étude de l'efficacité de l'huile essentielle des feuilles et tiges de la plante médicinale de la ronce (*Rubus fruticosus*) vis-à-vis de *Colletotrichum gloeosporioides* agent de l'antracnose de la tomate.

L'extraction de l'huile essentielle est réalisée par hydrodistillation et les résultats enregistrés montrent que les huiles essentielles de *Rubus fruticosus* ; on remarque que les rendements de l'extraction restent faibles.

Concernant leur activité antifongique « in vitro » de cette huile essentielle sur la croissance mycélienne, les résultats obtenus montrent des différences selon la dose de l'HE de *Rubus fruticosus* employée. Nous avons d'une manière générale enregistrée une inhibition de la croissance mycélienne pour les doses les plus fortes utilisées.

Pour ce qui est de l'étude de l'activité antifongique « in vivo » de l'huile essentielle de *Rubus fruticosus* sur *Colletotrichum gloeosporioides*, les résultats obtenus ne démontrent aucun effet protecteur de cet extrait contre l'antracnose de la tomate.

Il serait intéressant de tester des doses plus importantes afin d'évaluer la CMI et de déterminer avec précision les conditions d'avoir un effet protecteur des feuilles de tomate par l'utilisation de cet huile essentielle vis-à-vis de cet agent pathogène d'importance économique certaine et enfin de poursuivre ce travail en évaluant d'autres isolats issus de régions différentes et d'espèces de plantes différentes.



**Les références  
bibliographiques**



## Références bibliographiques

- Abbes A., 2014.** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles *d'Ammodendron verticillata* «noukha» de la région de Tlemcen p 10. Mémoire de fin d'étude. Université Abou berk belkaid- Tlemcen, 30p.
- AFIF CHAOUCHE T., 2015.** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Thèse de doctorant. UNIVERSITE Abou berk belkaid – Tlemcen. 189 p .
- Arauz L.F., 2000.** Mngo Anthracnose: Economie Impact and Current Options for Integrated Management. Plant Disease, 84:600-611.
- Azevedo N.R.,** Campos I.F.P., Ferreira H.D., Portes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C. Paula J.R. and Ferri.
- Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research. Conseil Mauritus, Amas
- Chaouche A., 2015.** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Thèse de doctorant. Université Abou berk belkaid Tlemcen. 145p .
- Arauz L .F . , 2000.** Mngo Anthracnose: Economie Impact and Current Options for Integrated Management. Plant Disease, 84: pp.: 600-611.
- Azevedo N.R.,** Campos I.F.P., Ferreira H.D., Portes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C. Paula J.R. and Ferri
- Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research. Conseil Mauritus, Amas.
- BenabdLallah H., 2016 .**Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Polycopié du Cours. Université Ferhat Abbas - Sétif 83p
- Boukhatem F., 2017 .** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux épices : *Syzygium Aromaticum* et *Illicium Verumc*. Mémoire de fin d'étude. Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem. 79p.

- Bouras N., Hachemi A., 2019.** Etude préliminaire des activités biologiques (insecticide et antifongique) des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus* sp. Et *Organum* sp. Mémoire de fin d'étude. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 58
- Cannon P. F., Damn U., Johnston P. R., and Weir B. S. 2012.** *Colletotrichum* Current status and future directions. Stud. Mycol, 73:181-213.
- Chaouche A., 2015.** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydant de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Thèse de doctorant. Université Abou berk belkaid Tlemcen. 145p .
- Chouitah O., 2012.** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat. Université d'Oran 143p.
- Freeman S., Shabi E. 1996.** Cross-infection of subtropical and temperate fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. Physiological and Molecular Plant Pathology, 49: 395–404.
- Hertog, G. L. M., Hollman, C. H. P., Putte, V. B. (1993).** Content of potentially anticarcinogenic Flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. J. Agric. Food Chem., Page 1242–1246.
- Jean louis de lanessan(1870),** flore médicale usuelle et industrielle du XIXe siècle, Paris, 230 p
- Medjaheri H. MEHADJRI F., 2020.** Etude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de quatre plantes aromatiques (*Lavandula* sp. *Organum* sp., *Salvia officinalis* et *Thymus* sp.) vis-à-vis du champignon *Fusarium* sp. Mémoire de fin d'étude. Université Abdelhamid Ibn-Badai- Mostaganem. 65p.
- Meziti A., 2018.** Régulation de l'inflammation par les extraits de *Rubus Fruticosus* et *Zizphus vulgaris*. Thèse de doctorat .Université Ferhat Abbas- sétif .112p
- Mohammedi Z., 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. Université de Tlemcen.
- Montegut J.1982** Pérennes et vivaces. Manuel, Aubervilliers. 414 p.
- Nait Messaoud T., Ouabba Z., 2018** Effet de la température sur la croissance et la sporulation de *Colletotrichum* sp. Agent de l'antracnose des agrumes et spécialisation parasitaire de

l'agent pathogène dans la région de Mostaganem. Mémoire de fin d'étude. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.80p.

**Rameau JK, Mansion D, Dumé G, Gauberville C, Bardat J, Bruno E, Keller R (1993),** Description de la flore forestière française: guide écologique illustré. Montagnes. Paris. Institut pour le développement forestier. p:703-704.

**Remmit K., Hezil R., 2018.** Activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Lavandula stoechas* L., *Myrtus communis* L., *Pistacia lentiscus* L.en vue d'une valorisation phytopharmaceutique .Mémoire de fin d'étude. Université Mohammed-Seddiki Benyahia – Jijel. 87p.

**Salle J.L. et Pelletier J., 1991** - Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45

**Tabti M., Sali F.Z, 2016.** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Erica multiflora* d'Algérie. En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Biologie, Université de Mostaganem, 71p.

**Valnet J. ,1984 . Aromathérapie.** Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544

**Wehrlen ., 1985 .** la ronce (*Rubus Fruticosus* L.agg.) en forêt. Biologie de la ronce ; Définition 288-289 pp.

**Yssaad H ., Medaouar Z ., 2018 .**Caractérisation morphologique de *colletotrichum gloeosporioides* et *colletotrichum* sp. , responsables de l'antracnose des agrumes à Mostaganem et spécialisation parasitaire du pathogène. Mémoire de fin d'étude. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.85p.

**Zrira S ., Benjilali B., 1991.** Essential oils of twenty seven eucalyptus species grown in Morocco. J.ess. oilres. 4: 259-264.

<http://www.wikiPHYTO.org/wiki/Ronce> consulté le 04/02/2021 à [11 :23] et 07/02/2021 à [15 : 30]

<http://lesecureuilsmalins.com> consulté le 03/02/2021 à [13 : 30]

(<https://www.planetnatural.com/pest-problem-solver/plant-disease/antracnose/>).

<http://azititou.wordpress.com> consulté le 03/02/2021 à [10 : 30] et le 04/02/2021 à [11 :23]

<http://blog-domi.over-blog.fr/2018/05/la-ronce-commune-et-son-fruit-la-mure-botanique-article.html> consulté le 04/02/2021

## **Références bibliographiques**

---

<https://booksofdante.wordpress.com/nL'ESPRIT LIBRE EN TOUTE CHOSE> consulté le 03/02/2021 à 16 :33

[viagallica.com](http://viagallica.com) › [ronce\\_des\\_bois](#) La ronce des bois (Rubus fruticosus) - Via Gallica consulté le 30/01/2021 à 15 :57

<http://tpe-huiles-essentielles-2014-2015.e-monsite.com/pages/procede-d-extraction/l-extraction-au-co2-supercritique.html> consulté le 1/06/2021

<https://laboratoiredumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/> consulté le 1/06/2021