

République Algérienne Démocratique 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

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

ELKHEDIM Kheira Et BENABED Fatima Zahra

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité: Protection des végétaux

**Etude de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque
des feuilles de *Salvia officinalis* vis-à-vis du *Verticillium
dahliae* agent de la verticilliose sur fève.**

Soutenue le 26/06/2023

DEVANT LE JURY

Président	Mme. BERGHEUL Saida	MCA	Université de. Mostaganem
Examineur	Mme. BADAOUI Mahdjouba Ikram	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	Mme. SAIAH Farida	MCB	Université de Mostaganem
Co-Encadreur	Mme. FLITI Kheira	Doctorante	Université de Mostaganem

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Je tiens à remercier avant tout le dieu qui m'a donné la patience pour réaliser ce travail

Mes sincères remerciements sont exprimés à notre encadreur Mme SAIAH FARIDA, pour avoir accepté de nous encadré et d'avoir été patiente et compréhensive.

Nous tenons également à remercier Melle FLITI kheira pour sa présence, son aide fructueuse et ses encouragements tout au long de ce travail.

Je tiens à remercier Mme badaoui ikram, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury. Et Mme berghoul saida, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous sommes très reconnaissantes envers tous les ingénieurs de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Mostaganem.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à réaliser ce travail

Merci

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

Je ne trouverai jamais de mots pour exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour qu'ils m'accordent.

Mes sœurs : Souria, Ilham et Amira

Mon frère : Mohammed

Mon neveu : Djaid

Mon mari : BENKHATTEB Youcef

A toute ma famille

Mes collègues de promotion 2022/2023

Kheira

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents, mon beau-père et ma belle mère qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études. Je ne trouverai jamais de mots pour exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour qu'ils m'accordent.

Ma sœur : nour el houda

Mon frère : mohamed abderrahmane

Mon mari : KHALIFA sid ahmed

Mes belle sœur : hafssa, wassila et batoul

Mon fils : djawed mustapha

Mon neveu : haitham

Ma nièce : sirine

A toute ma famille

Mes collègues de promotion 2022/2023

Fatima Zohra

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale: 1

Donnée bibliographique

Chapitre I : Généralité sur la fève

I. Généralité sur la fève (*Vicia faba*) 3

I.1. Origine et répartition géographique 3

I.2. Taxonomie: 3

I.3. Description botanique de *Vicia faba*: 3

I.4. Cycle végétatif de la fève 5

I.5. Valeur nutritionnelle de *Vicia faba* : 6

I.6. Principales variété de la fève cultivée (*Vicia faba*) en Algérie: 6

1. Variété Séville: 7

2. Variété Muchaniel: 7

3. L' Aguadulce 7

4. Sidi Moussa: 7

5. La Féverole: 7

I.7. Exigences de la fève : 7

I.7.1. Exigences pédologiques : 8

I.7.2. Exigences climatiques : 8

I.7.3. Exigences agronomiques : 8

I.8. L'importance de la culture de la fève en Algérie 8

I.9. Contraintes de la culture de la fève 8

I.9.1. Contraintes abiotiques 9

I.9.2. Contraintes biotiques : 9

I.9.2.1. Les insectes: 9

I.9.2.3. Les maladies fongiques : **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre II: La verticilliose de la fève

2.1. Introduction 11

2.3. Description microscopique de l'agent pathogène *V. dahliae* : 12

2.4. Description des symptômes de *V. dahliae* : 13

2.5. Cycle biologique de *V. dahliae* : 14

2.6. Les différentes méthodes de lutte : 16

2.6.1. Lutte culturale : 16

2.6.2. Lutte chimique : 16

2.6.3. Lutte biologique : 16

Chapitre III: Plante aromatique- La sauge

3.1 Introduction 18

3.2. Historique 18

3.3. Description morphologique 18

3.4. Classification taxonomique 19

3.5. Usage thérapeutique de la sauge 20

3.5.1. Usage interne : 20

3.5.2. Usage externe 20

3.5.3. Autres domaine d'utilisation de la sauge 20

3.6. Toxicologie 21

3.7. Composition chimiques de *Salvia officinalis* 21

Partie expérimentale

Chapitre I : matériels et méthodes

I. Matériel et méthodes	23
1.1. Objectif du travail	23
1.2. Matériel fongique.....	23
1.2.1. Repiquage de l'agent pathogène <i>Verticillium dahliae</i>	23
1.3. la plante aromatique.....	23
1.3.1. La préparation de la plante aromatique pour l'extraction	23
1.3.2. Le solvant d'extraction.....	24
1.3.3. Méthodes d'extraction	24
1.3.3.1. L'extraction par macération	24
1.3.3.2. Extraction par la méthode Soxhlet	25
1.3.4. Evaporation rotatif	27
1.3.5. Préparation des dilutions des composés phénoliques.....	28
1.4. Conduit de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique « in vitro » de l'extrait méthanoïque de <i>Salvia officinalis</i> vis-à-vis de <i>Verticillium dahliae</i>	28
1.5. Evaluation de la croissance mycélienne	29
1.6. Analyse statistique	29

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et Interprétation.....	30
2.1. Caractères morphologiques d'isolat de <i>Verticillium dahliae</i>	30
2.1.1- Etude de l'aspect macroscopique.....	30
2.1.2. Identification microscopique.....	30
2.2. Evaluation de l'activité antifongique des extraits méthanoïques des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> vis-à-vis <i>Verticilliumdahliae</i> de la fève	31
2.2.1. Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne de l'extrait méthanoïque par macération.....	31
2.2.2. Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne de l'extrait méthanoïque par Soxhlet	34
III. Discussion	38
Conclusion générale	39
Référence :	42

Liste des figures

Figure 01	Description de la fève <i>Vicia faba</i>	3
Figure 02	Cycle végétatif de la fève	4
Figure 03	Morphologie des conidiphores (a), phialides (b), et microconidies (c) de <i>Verticillium dahliae</i>	13
Figure 04	Détail au microscope photonique des microsclérotés formés par <i>Verticillium dahliae</i>	13
Figure 05	Cycle de développement de <i>Verticillium dahliae</i> Kleb	15
Figure 06	Aspect de <i>Salvia officinalis</i>	19
Figure 07	La poudre de la sauge	24
Figure 08	Filtration de l'extrait méthanoïque par macération de <i>S. officinalis</i>	25
Figure 09	Agitation de l'extrait méthanoïque par macération de <i>S. officinalis</i>	25
Figure 10	Montage Soxhlet	27
Figure 12	Les différentes doses de l'extrait méthanoïque	28
Figure 13	Caractères morphologique d'isolat de <i>Verticillium dahliae</i>	31
Figure 14	Identification microscopique de <i>Verticillium dahliae</i>	31
Figure 15	les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par macération	32
Figure 16	L'effet de l'extrait méthanoïque par macération sur la croissance mycélienne de <i>Verticillium dahliae</i>	33
Figure 17	Effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> sur la vitesse de croissance mycélienne de <i>Verticillium dahliae</i>	34
Figure 18	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Verticillium dahliae</i> , par les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (macération) des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	34
Figure 19	Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de <i>Verticillium dahliae</i> sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de la sauge (<i>Salvia officinalis</i>)	35
Figure 20	les différents concentrations de l'extrait méthanoïque par Soxhlet	36
Figure 21	L'effet de l'extrait méthanoïque (Soxhlet) sur la croissance mycélienne de <i>Verticillium dahliae</i>	36
Figure 22	Effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> sur la vitesse de croissance de <i>Verticillium dahliae</i>	37
Figure 23	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Verticillium dahliae</i> sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par Soxhlet) des feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	38
Figure 24	Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de <i>Verticillium</i> sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par Soxhlet des feuilles de la sauge (<i>Salvia officinalis</i>)	39

Liste des tableaux

Tableau 01:	Valeurs nutritionnelles pour 100 g de la fève	5
Tableau 02:	Principaux insectes ravageurs de la fève	8
Tableau 03:	Principales maladies cryptogamique de la fève	8
Tableau 04:	les valeurs nutritives de la Sauge (Pomerleau et <i>al.</i> 2006)	21

Liste des abréviations

PDA : Potato dextrose agar

USDA : Départements d l'Agriculture des Etats- Unis

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

cm : centimètre

D : diamètre de la colonie.

d : diamètre de l'explant.

Kg : kilogramme

g : gramme

Ha : hectare

L : croissance mycélienne.

M : Masse de la plante en gramme

m : mètre

M' : Masse de l'extrait en gramme

ml : millilitre

mm : millimètre

Ti% : taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Résumé

Les extraits naturels issus de végétaux pourraient contenir une variété de molécules biologiquement active. Dans ce contexte, nous avons tenté d'évaluer l'activité antifongique des extraits méthanoïques préparés à partir des feuilles de *Salvia officinalis*, par deux méthodes d'extraction ; Soxhlet et macération. Les résultats révèlent un grand pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne de champignons phytopathogènes par les deux extraits de la sauge avec une certaine préférence pour l'extrait Soxhlet. On a marqué une corrélation directe entre le dose et le taux d'inhibition.

Mot clés: *Vicia fabae*, *Verticillium dahliae*, extraits, *Salvia officinalis*, antifongique

Abstract

Natural extracts from plants could contain a variety of biologically active molecules. In this context, we attempted to evaluate the antifungal activity of methanoic extracts prepared from the leaves of *Salvia officinalis*, by two extraction methods; soxhlet and maceration. The results reveal a great inhibiting power of the mycelial growth of phytopathogenic fungi by the two extracts of sage with a certain preference for the extract of soxhlet. There was a direct correlation between dosage and inhibition rate.

Key words: *Vicia fabae*, *Verticillium dahliae*, extracts, *Salvia officinalis*, antifungal

❖ *Introduction générale*

Introduction générale

La fève constitue un aliment très important surtout pour les populations à faibles revenus, qui ne peuvent pas toujours s'approvisionner en protéine d'origine animale (Daoui, 2007). Elle peut être utilisée également dans l'alimentation animale pour combler le déficit azoté.

En Algérie, la culture de la fève «*Vicia faba*» est pratiquée surtout dans les plaines côtières et de l'intérieure. 50% de la superficie réservée à cette culture est répartie entre Tlemcen, Chlef, Skikda, Ain Témouchent et Biskra (Meradsi, 2009).

La maladie de flétrissement verticillien avait déjà été signalé sur *V. faba* en Espagne (Bergal et Armengol, 2009) et aux États-Unis dans le comté de Santa Clara, en Californie (Blomquist et al., 2017). Le développement de cette maladie plus ou moins rapide et insidieux, engendre des dégâts considérables sur la culture avec des conséquences désastreuses sur le rendement et la qualité de la récolte.

Contre ce genre de fléaux, la prévention ainsi que l'utilisation des produits chimiques représentent à l'heure actuelle la solution la plus efficace. Cependant, les inconvénients liés à l'utilisation répétée des produits de synthèse entraînent souvent la pollution de l'environnement, l'apparition de souches résistantes et augmentent la quantité des résidus sur les aliments.

C'est pourquoi les scientifiques sont à la recherche d'alternatives moins dangereuses. Ils se sont donc orientés vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antifongiques plus sécuritaires pour les humains et pour l'environnement. Parmi ces substances naturelles figurent les extraits de plantes aromatiques.

Il existe deux groupes de métabolites: les métabolites primaires qui sont les molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme des plantes et les métabolites secondaires qui sont des molécules ayant une répartition limitée dans la plante, ils jouent un rôle de défense contre les agressions extérieures (Merghani, 2019)

Le présent travail, a pour objectif de mettre en évidence l'activité antifongique de l'extrait méthanolique de la sauge sur les deux séquences biologiques (croissance mycélienne et sporulation) du *Verticillium dahliae*.

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres; le premier chapitre traite des généralités sur la fève, le second présente la maladie fongique, et le troisième chapitre est consacré à la plante aromatique en l'occurrence; la sauge

La deuxième partie est réservée à l'étude expérimentale. Elle est subdivisée, en deux chapitres; L'une présente la méthode et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, l'autre est consacré aux résultats et discussion.

❖ **CHAPITRE I :**
La plante hôte- la fève

I. Généralité sur la fève (*Vicia faba*)

I.1. Origine et répartition géographique

La fève (*Vicia faba*) est une plante potagère de la famille des Papilionacées cultivée depuis la plus haute antiquité (Zaidi et Mahiout, 2012). La fève est une culture très appréciée par les agriculteurs car elle constitue une source importante de protéines aussi bien pour l'alimentation humaine qu'animale et permet une économie de la fertilisation azotée (Dridi et al., 2011). Selon Peron (2006), la fève, le pois et la lentille sont les plus vieilles espèces légumières introduites en agriculture (10 000ans). A partir de son centre d'origine, la fève s'est propagée vers l'Europe, le long du Nil jusqu'en Ethiopie et la Mésopotamie vers l'Inde. L'Afghanistan et L'Ethiopie deviennent par la suite les centres secondaires de dispersion (Cubero, 1974). Au cours du XVIème siècle, la culture de la fève a été introduite en Amérique par les Espagnols et vers la fin du XXème siècle, elle a réussi à atteindre l'Australie (Cubero, 2011)

I.2. Taxonomie:

Selon Dajoz (2000), la fève est classée comme suit:

Règne	Végétale
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Dialypétale</i>
Ordre	<i>Rosale</i>
Famille	<i>Fabacées</i>
Sous-famille	<i>Papilionacées</i>
Genre	<i>Vicia</i>
Espèce	<i>Vicia faba</i>

I.3. Description botanique de *Vicia faba*:

La fève est une espèce diploïde ($2n=12$ chromosomes) partiellement allogame. C'est une plante annuelle herbacée à croissance indéterminée (Duc, 1997), avec un nombre variable (de 5 à 10) nœuds végétatifs à la base, puis un nombre également variable (de 7 à 25) nœuds reproducteurs (Brink et Blay, 2006; Gnanasambandam et al., 2012).

La fève est formée de plusieurs tiges simples, érigées, creuses et de section quadrangulaire de 60 à 80 cm de hauteur, sans ramification et se dressant sur plus de 1m de haut garnies de feuilles composées et de couleur grisâtre (Bouard et al., 1992; Peron, 2006). (Leguen et Duc, 1992) in (Bengouga Khalila, 2018)

Les feuilles de fèves sont de couleur vert clair, ovales, entières. Elles sont composées et possèdent 2 à 8 folioles (Dominique, 2010).

Les fleurs classiques de légumineuses sont portées aux aisselles des nœuds reproducteurs en grappes de 2 à 12 selon le type. Les fleurs sont grandes, 2 à 3 cm, blanches tachées de noir (Patrick et Delveaux, 2008). Les fleurs sont de type papilionacé, de deux à trois cm de long (DAC, 1997). Ces grandes fleurs papilionacées donnent de longues gousses vertes, épaisses, contenant de grosses graines ovales (Couplen et Marmy, 2009).

Les fruits sont des gousses charnues, volumineuses, vertes puis noires à maturité, de 15 à 30 cm contenant 4 à 8 graines (Chaux et Foury, 1994). Les gousses sont pourvues d'un bec et elles sont renflées au niveau des graines (Bouard et *al.*, 1992; Brink et Belay, 2006).

Les graines sont charnue, vertes et tendres à l'état immature, à complète maturité, elle développe un tégument épais et coriace de couleur brun-rouge, à blanc verdâtre et prend une forme aplatie à couleur presque circulaire (Mezani, 2011). Elles sont les plus volumineuses de toutes les espèces légumières (Chaux et Foury, 1994). Elles possèdent un hile clair ou de couleur noire parfois entouré de taches de couleur marron (DUC, 1997). Chaux et Foury (1994) rapportent que la faculté germinative de la graine peut se maintenir de 6 à 10 ans et même au-delà et que la graine est à germination hypogée c'est -à-dire que les cotylédons restent en terre et c'est l'épicotyle qui émerge du sol.

Les racines sont pivotantes mais parfois superficielles. Comme toutes les légumineuses, elle porte des nodosités renfermant des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique (*Rhizobiumleguminosarum*) (Leguen et Duc, 1992).

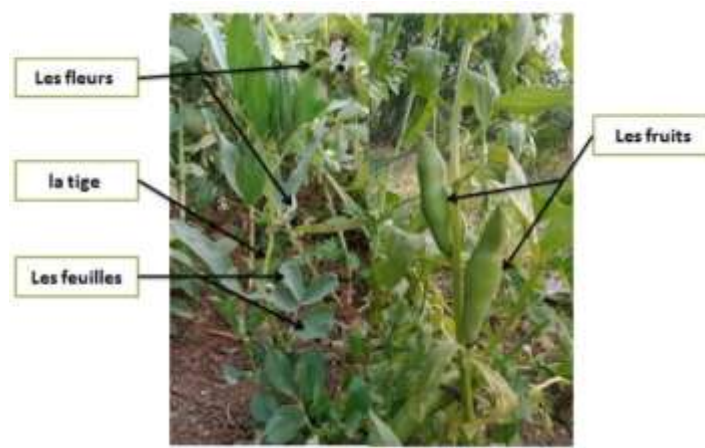


Figure N°01: Description de la fève *Vicia faba* (Amara et Bouarroudj, 2020)

I.4. Cycle végétatif de la fève

La fève est une plante annuelle accomplissant son cycle en 24 à 28 semaines (Laumonier, 1979). Son cycle complet de la graine à la graine est environ 5 mois (Chaux et FOURY, 1994). Selon Planquaert et Girard (1987), *V. faba* à une période végétative courte qui passe par 6 stades avant d'atteindre le stade maturation:

1. Stade de levée: correspond à la sortie de la première paire de feuilles.
2. Stade deux feuilles: apparition de deux paires de folioles.
3. Début de floraison: ce stade correspond à l'apparition des bouquets floraux.
4. Stade de pleine floraison: c'est le début de la formation des gousses.
5. Maturité: c'est le grossissement des gousses.
6. La récolte: c'est la récolte des gousses sèches.

Selon Saada et Osmani (2003), la floraison en Algérie s'étale sur une longue période, elle se termine lorsqu'on compte déjà à base des plantes plusieurs étages portant des gousses:

1. Le semis: Novembre
2. La levée: Décembre
3. Floraison: Février-Mars
4. Formation des gousses: Mars-Avril
5. Maturité: Mai
6. Récolte: Début Juin

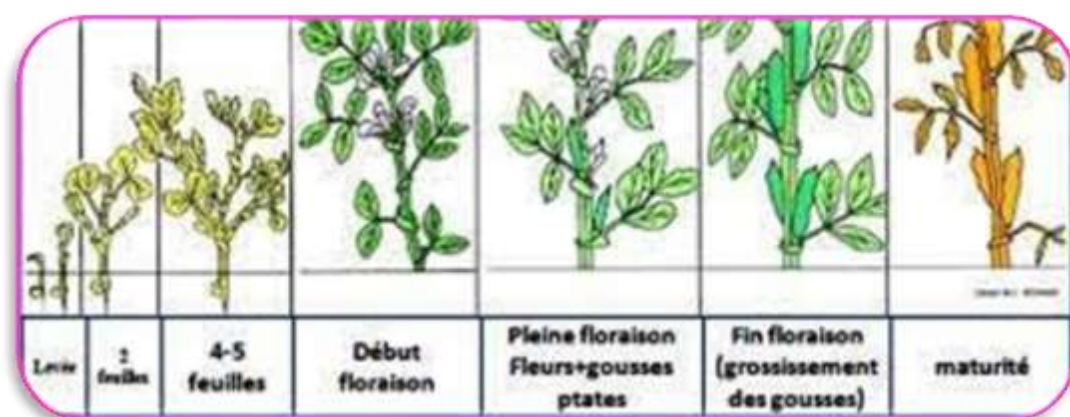


Figure N°02: Cycle végétatif de la fève (Simonneau et al, 2012)

I.5. Valeur nutritionnelle de *Vicia faba*:

Les valeurs nutritionnelles sont une indication sur la quantité de nutriments présents dans un produit ou une préparation alimentaire. On indique ainsi la quantité de Protéines, Lipides, Glucides et de Fibres, mais également de vitamines et minéraux. Le Tableau N°2, représente la valeur nutritionnelle de la fève (USDA). Ce dernier indique que la fève est très riche en oligoéléments notamment le potassium, le magnésium, le calcium. Elle renferme également la vitamine C, la vitamine B6 et le Fer.

Tableau N°01: Valeurs nutritionnelles pour 100 g de la fève

Nutriments	La valeur pour 100 gr
Calories	88
Lipides	0.7g
Acides gras saturés	0.1g
Cholestérol	0 mg
Sodium	25 mg
Potassium	332 mg
Glucides	18 g
Fibres alimentaires	8 g
Sucres	9 g
Protéines	8 g
Vitamine C	3.7 mg
Calcium	37 mg
Fer	1.6 mg
Vitamine D	0 UI
Vitamine B6	0.1 mg
Vitamine B 12	0 µg
Magnésium	33 mg

I.6. Principales variété de la fève cultivée (*Vicia faba*) en Algérie:

Il existe plusieurs sous espèces et variétés de *V. faba*, dont on reconnaît essentiellement trois groupes définis par la taille des graines, qui peuvent être petites (variété minor), moyennes (variété équina) ou grosse (variété major). Le terme major désigne les graines appelées communément «fève» dont la longueur est supérieure à 2 cm, alors que minor correspond au terme « féverole », ce sont des graines de 0,5 à 1,5 cm de long (Atik, 1999).

Il existe cinq variétés de fèves, et féverole en Algérie, qui sont:

1. Variété Séville:

Selon Laumonier (1979), la Séville est une variété précoce hâtive et de bonne vigueur présentant une tige de 0.7m de haut. Elle se distingue par la couleur de son feuillage d'un vert assez franc. Ses gousses présentent une largeur d'environ 3cm et une longueur de 25cm, renfermant 5 à 6 grains volumineux.

2. Variété Muchaniel:

D'après Chaux et Foury (1994), la Muchaniel est une variété relativement très précoce et productive, elle a des gousses de couleur vert claire de 20cm de longueur, renfermant 5 à 6 grains blancs

3. L'Aguadulce:

D'après Chaux et Foury (1994), c'est une variété demie précoce, très répandue en culture, caractérisée par une végétation haute de 1,10 à 1,20 m (Les gousses sont volumineuses de couleur vert franc, très longue pouvant atteindre 20 à 25cm renfermant 7 à 9 graines. C'est une variété très productive

4. Sidi Moussa:

C'est une variété sélectionnée à EL-Harrahe en 1965, convient dans tous les sols. Elle peut résister aux maladies cryptogamiques (*Botrytis*), aux insectes (*Aphis fabae*), aux plantes parasites (*Orobanche* sp) et aux nématodes (Zaghouane, 1991).

5. La Féverole:

La seule variété cultivée en Algérie est « Sidi Aich » (Zaghouane, 1991). Cette culture a été l'un des espèces les plus utilisées par l'homme dans les régions montagneuses de notre pays, particulièrement en Kabylie, pour l'alimentation humaine et animale (Anonyme, 2006). Elle possède un système racinaire très puissant et pivotant. Elle résiste à des températures de 5°C, elle n'est donc pas sensible aux faibles gelées printanières (THOMAS, 2008). Selon Lebreton et *al.* (2009), la féverole n'est pas sensible à *l'Aphanomyces* du pois, de plus les limaces sont très peu friandes de féverole, ce qui en fait une plante assez facile à cultiver et à réussir.

I.7. Exigences de la fève

I.7.1. Exigences pédologiques

D'après Peron (2006), cette culture est peu exigeante sur le plan édaphique, cependant, elle préfère les sols sablo-argileux. La fève est une plante très sensible à la sécheresse, elle a besoin de l'eau durant tout son cycle végétatif et en particulier à partir de la floraison (Chaux et Foury, 1994)

I.7.2. Exigences climatiques :

La température optimale pour sa croissance se situe entre 15-25°C (Matthews et Marcellos, 2003), mais elle résiste bien au froid (jusqu'à -3 et -4°C) (Chaux, 1971).

En matière d'ensoleillement, elle est considérée comme une plante de jour long; la tige s'allonge et les nœuds se forment rapidement en cas de forte intensité lumineuse.

Elle ne supporte pas les fortes chaleurs; qui lui sont néfastes (arrêt de croissance, chlorose) et peuvent même anéantir complètement sa végétation (Chaux et Foury, 1994, Bedjaoui, 2000).

I.7.3. Exigences agronomiques :

Afin d'assurer à la plante un bon développement, il est recommandé de bien travailler le sol en profondeur et de bien préparer le lit de semence (Chaux et Foury, 1994). Le semis peut être effectué en automne (fin août, début septembre) ou au printemps (Foury, 1990, Saouli, 2005), en lignes, espacées de 0,40 à 0,50 m, à raison de 5 à 10 graines au mètre linéaire (Chaux, 1971) et à une profondeur de 3 à 4 cm (Laumonier, 1979).

I.8. L'importance de la culture de la fève en Algérie

La fève occupe 43 000 hectares, soit 44,3 % de la superficie réservée aux légumineuses durant l'année 1994 (Maatougui, 1997). D'après cet auteur, la production durant cette année était de 15 500 tonnes en grains secs, soit un rendement de 0,3 tonne par hectare. Comparativement au rendement moyen international, qui est 3 à 4 tonnes par hectare (Chaux et Foury, 1994), il est remarqué que le rendement national est très faible.

La culture de la fève est pratiquée essentiellement à Tlemcen (15,51% de la superficie totale), Chlef (9,59 %), Skikda (8,80 %), Ain Temouchent (7,74 %). Dans le sud algérien, la wilaya de Biskra, occupe la première place, soit 7,40 % de la superficie totale réservée à cette culture en Algérie (Maatougui, 1995).

I.9. Contraintes de la culture de la fève

I.9.1. Contraintes abiotiques

D'après Zaghouane (1991), en Algérie la production de la fève est limitée par différents facteurs environnementaux et techniques. Selon Saxena (1991), les contraintes principales dans la région méditerranéenne sont:

- ✓ Le froid au début de la saison des récoltes
- ✓ La sécheresse à différents stades de croissance
- ✓ La chaleur lors de la croissance, de la production et les étapes de remplissage des gousses.
- ✓ La salinité est également une contrainte de production dans certaines zones côtières.

I.9.2. Contraintes biotiques :

Parmi les facteurs biotiques qui affectent la fève nous pouvons citer: l'orobanche (Kharrat et *al.*, 2002; Abbas et *al.*, 2010), les insectes (Tableau N°02), les nématodes (Bouhraoua et Achour, 1995), les maladies virales et maladies fongique (Tableau N°3).

I.9.2.1. Les insectes:

Quelques insectes attaquent les cultures de la fève et peuvent occasionner des dégâts considérables, les plus répandus sont regroupés sur le Tableau N°02

I.9.2.3. Les maladies fongiques :

Les principaux agents fongiques pouvant provoqués des dégâts sont représenté sur le Tableau N°03.

Tableau N°02: Principaux insectes ravageurs de la fève

Sitone du pois (<i>sitona lineatus</i>)	charançon brun grisâtre, dont les adultes découpent des encoches en U sur le bord des feuilles de la fève et leur larves vivent sous terre et se nourrissent des nodosités fixatrices d'azote, sur les racines de la fève.	(Aversennq et al., 2008)
puceron vert du pois (<i>Acrythosiphon pisium</i>)	pompe la sève et cause des pertes de rendement non négligeables. Peu transmettre des virus.	(Bouhachem, 2002).
lixe poudreux des fèves (<i>lixux algerus</i>)	charançon curculionidé provoque l'affaiblissement de la plante, réduction du poids moyen des graines ainsi que le dessèchement précoce et diminution du rendement	(Maoui et al., 1990).
La bruche de la fève (<i>Bruchus rufinanus</i>)	La femelle pond ses œufs sur les gousses; et les larves de ce coléoptère se développent aux dépens des graines, qui perdent leur pouvoir germinatif	(Boughdad, 1994).
Le puceron noir de la fève (<i>Aphis fabae</i>)	l'un des ravageurs les plus importants de plusieurs cultures à travers le monde provoque l'enroulement, le dessèchement et la chute des feuilles Peut transmettre plus de 30 virus pathogènes	(Volkl et Stechmann, 1998) (Hamadache, 2003). (Blackman et Eastop, 2007).

Tableau N°03: Principales maladies cryptogamique de la fève :

Maladies	Agent pathogènes	Symptômes
Taches chocolat	<i>Botrytis fabae</i> <i>Botrytis cinerea</i>	Taches de couleur chocolat sur feuilles, tiges et rarement sur semences. (Touahria, 1994).
Anthraxose	<i>Ascochyta fabae</i>	Lésions circulaires sur feuilles, tiges, gousses et graines (Touahria, 1994).
Rouille	<i>Uromyces fabae</i>	En cas de forte attaque, le plant de la fève devient chétif. Les fleurs et les gousses avortent.
Mildiou	<i>Peronospora viciae</i>	Jaunissement des plantes. Déformations des tiges et des pétioles. Apparition d'un feutrage blanchâtre sur la face inférieure de la feuille. (Tivoli et al., 1986).
Verticilliose	<i>Verticillium dahliae</i>	Flétrissements sur toutes les parties de la plantes.

❖ *Chapitre II :*

*L'agent pathogène - Verticillium
dahliae*

2.1. Introduction

Parmi les maladies qui affectent la fève, la verticilliose ou flétrissement verticillien est responsable de flétrissements et pourriture racinaires potentiellement graves. Cette maladie cryptogamique, causée par *Verticillium dahliae* est l'une des maladies vasculaires les plus importantes.

Le dahlia fut la première plante hôte attaquée par *Verticillium dahliae* (Isaac, 1967). Originaire des hauts plateaux du Mexique, les Aztèques le cultivent aussi comme une plante ornementale. Ce parasite est extrêmement polyphage puisqu'il peut attaquer plus de 400 espèces de plantes appartenant à 45 familles botaniques (Harrington, 2000); dont beaucoup ont un intérêt agricole et économique comme des arbres fruitiers (l'olivier, l'amandier, l'abricotier (Heale, 2000), des plantes herbacées aussi bien maraichères (pommes de terres, poivron, tomates, aubergines) qu'ornementales (Chrysanthèmes, rosier et lychnis) (Fradin et Thomma, 2006; Blancard, 2013), des légumes chou-fleur, artichaut (Heale, 2000).

Cette espèce cause d'importantes pertes économiques (McCain et Wilhelm, 1981) et est distribuée dans le monde entier (Pegg, 1984; Pegg, 2002).

Longtemps considérée comme une maladie d'importance secondaire la verticilliose est devenue une maladie économiquement importante (Pegg, 2002).

Son agent pathogène *V. dahliae*, vivant majoritairement dans le sol, se propage par les racines lors de la montée de sève. C'est un parasite facultatif, saprophyte des biotopes des plantes. Son développement « in vivo » nécessite un sol humide. Son développement « in vitro » a un taux de croissance relativement lent. Il se développe différemment sur les milieux communs aussi bien organiques (PDA, MEA) que synthétiques (Richards, Gzapeck) (Malik et Milyon, 1980). Sa croissance « in vitro » est optimale aux températures de l'ordre 21 à 27°C (Bejarano et al., 1999); avec un pH compris entre 6 et 9 (Pegg, 2002). La croissance est inhibée par des températures extrêmes telles que 5 ou 35 °C (Malik et Milyon, 1980) et des pH en dessous de 5 (Pegg, 2002).

2.2. Taxonomie de *Verticillium dahliae* :

L'agent infectieux *Verticillium dahliae* a été décrit pour la première fois comme une espèce distincte par Klebhan (1913). Selon Hawker et al. (1994), La classification de ce champignon établie par Agrios (1988); puis Botton (1990) est la suivante:

Division:	<i>Amastigomycota</i>
Group:	<i>Deutéromycètes</i>
Classe:	<i>Hyphomycètes</i>
Ordre :	<i>Hyphales ou Moniliales</i>
Famille:	<i>Moniliaceae</i>
Genre:	<i>Verticillium</i>
Espèce	<i>V. dahliae</i> (Kleb)

2.3. Description microscopique de l'agent pathogène *V. dahliae* :

Le genre *Verticillium* a été classé en fonction de ses caractéristiques morphologiques distinctives et ses conidiophores verticillées.

Morphologiquement, *V. dahliae* présente un mycélium végétatif hyalin, cloisonné et multinucléé. Le champignon porte des conidiophores (figure n°03) disposés en verticilles autour de l'axe principal de l'hyphe. Une phialide (figure n°03) se trouve à l'extrémité de chacune de ces branches et les conidies sont formées une par une à l'extrémité de la phialide. Les conidies peuvent s'agglomérer à l'extrémité des phialides. Les conidies sont hyalines (Figure n°03), ovoïdes ou ellipsoïdes, et habituellement unicellulaires. Elles mesurent 3-6 x 1.5-2 µm Elles peuvent être trouvées individuellement ou en groupe (Fradin et Thomma, 2006).

Par ailleurs, *V. dahliae* produit sous certaines conditions des microsclérotos. Cette particularité permet de le distinguer de *Verticillium albo-altrum*, un autre pathogène causant des symptômes similaires sur les plantes (Pegg, 2002).

Les microsclérotos (Figure n°04) sont des structures de survie formées par l'agglomération d'hyphes contigus dont les parois sont épaissies et mélanisées. Les agglomérats formés ont l'aspect de petites boules noires (entre 20 et 200 picomètre de diamètre) pouvant être séparées des hyphes. Leur germination peut être induite artificiellement sur certains milieux sélectifs. Leur persistance dans le sol varie de 4 à 15 ans (Hawker et al., 1994; Pegg, 2002).

Le genre *Verticillium* est un champignon haploïde et dimorphe. Il appartient au groupe des champignons imparfaits (Bejarano et al., 1999; Pegg, 2002). Et possède deux types d'organes reproducteurs:

- ✓ Les microconidies, unicellulaires, ovales ($4-6\mu\text{m}\times 2-3\mu\text{m}$) contenues dans une gouttelette muqueuse, portées à l'extrémité des phialides (la sphérule)
- ✓ Les microsclérotos, de forme et de tailles variables, reconnaissables par leur couleur noire, due à un pigment : la mélanine. Ils se forment par augmentation de taille, épaissement et mélanisation de la paroi des hyphes (Wood, 1967; Sinha, 1988).

Les champignons du genre *Verticillium* sont connus par leur grande facilité de variations. Ces variations touchent aussi bien la morphologie des thalles que le pouvoir pathogène (Lahlou et Boisson, 1981).

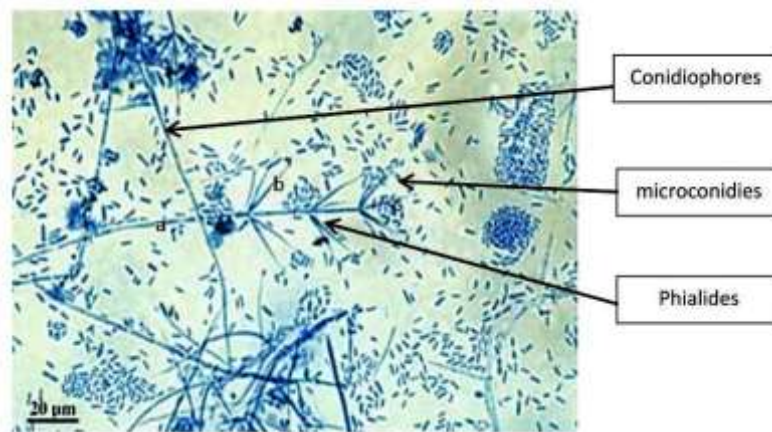


Figure N°03: Morphologie des conidiophores (a), phialides (b), et microconidies (c) de *Verticillium dahliae*.



Figure N°04: Détail au microscope photonique des microsclérotos formés par *Verticillium dahliae*

2.4. Description des symptômes de *V. dahliae* :

Le *V. dahliae* affecte en premier temps les racines de jeunes plantes, colonise les cellules du xylème et du phloème, puis les tiges ainsi que les feuilles par le flux de la sève. Cela

provoque des lésions vasculaires avec des perturbations circulatoires qui se traduisent par deux types de symptômes (Jabnoun-Khiareddine et *al.*, 2007): Le dépérissement rapide, aigu «apoplexie» et le dépérissement lent, chronique:

➤ **Le dépérissement rapide ou « apoplexie »**

Ce syndrome se caractérise par un dessèchement rapide des feuilles, impliquant un flétrissement sévère des branches principales et secondaires, qui se produit principalement de la fin de l'hiver au début du printemps. Les premières feuilles deviennent chlorotiques, puis tournent au brun clair, et subissent dans certains cas des enrroulements vers l'intérieur, tout en restant attachées aux branches (Bellahcene, 2004).

➤ **Le dépérissement lent :** Il se caractérise par une nécrose des inflorescences. Les fleurs se momifient et restent attachées à l'arbre. Les feuilles sur les pousses affectées prennent la couleur vert terne et tombent avant le flétrissement, sauf pour celles qui se trouvent à l'extrémité distale des pousses. Habituellement, les symptômes des inflorescences se développent avant que les symptômes foliaires apparaissent. Enfin il s'en suivra la nécrose des pousses. L'écorce des pousses affectées, devient brun rougeâtre, et les tissus vasculaires intérieurs montrent une coloration brun foncé. Les symptômes apparaissent au printemps et progressent lentement jusqu'au début de l'été (Jabnoun-Khiareddine et *al.*, 2007; Colella et *al.*, 2008).

Les branches affectées, montrent souvent une teinte pourpre avec des lésions nécrotiques assez importantes situées dans l'axe présenter un seul ou plusieurs symptômes cités et cela en fonction de la durée de la période propice de la maladie (Vallad et Subbarao, 2008). Plusieurs auteurs ont observé des vaisseaux obturés de thyllles, et de gommages au niveau des zones infectées. Ces substances sont sécrétées par les cellules de l'hôte en réaction à l'effet de divers enzymes de *V. dahliae*. Dans sa globalité, une plante malade peut être atteinte de nanisme, de jaunissement puis de dépérissement (Boukenadel, 2002).

La guérison (rétablissement naturel), particulièrement observé chez l'olivier (Mercado-Blanco et *al.* 2001; Markakis et *al.* 2009), est un phénomène naturel communément associée à des mécanismes qui permettent aux arbres de surmonter les blessures, et peut être activée après les infections causées par des pathogènes vasculaires tel que *V. dahliae*. (Jabnoun Khiareddine et *al.*, 2007; Colella et *al.*, 2008).

2.5. Cycle biologique de *V.dahliae* :

Le cycle biologique du *V. dahliae* se déroule en deux phases, une phase saprophytique comprenant une période d'activité, et une phase parasitaire qui se déroule dans la plante hôte.

Pendant la phase saprophytique, le champignon pérennise sous sa forme de microsclérotés plus de 14 ans dans le sol aux dépens des débris végétaux et matériaux organiques (Whihem, 1955, Triki et *al.*, 2006). C'est ainsi qu'il se dissémine par le mouvement des sols infectés, des débris végétaux infectés, de l'eau d'irrigation, l'équipement agricole, le vent, les insectes telluriques, prédateurs, pollinisateurs (Bejarano et *al.*, 1999). Il résiste bien au froid qu'à la chaleur et supporte des écarts thermiques allant de 30°C à 55°C (Schnathorst et Mathre, 1966). Le saprophyte s'active et redevient agressif au rétablissement de bonnes conditions de température et d'humidité du sol.

La phase parasitaire du champignon se débute par la germination de microsclérotés en réponse aux exsudats racinaires de la plante hôte. Il en résulte une émission des hyphes qui colonisent le cortex des racines s'y introduit par l'extrémité ou par les cellules épidermiques et puis gagne via la sève les vaisseaux du xylème; c'est l'infection primaire (Fradin et Thomma, 2006 ; Vallad et Subbarao, 2008). Le parasite se reproduit asexuellement dans les vaisseaux à l'intérieur desquels il progresse, grâce au transport de conidies par le flux de la sève ascendante aux pièces aériennes de la plante (Vallad et Subbarao, 2008) où elles constituent des foyers secondaires d'infection. La poursuite ainsi de l'infection du système vasculaire et les toxines émises par le parasite font que la plante produise des dépôts gommeux qui obstruent les vaisseaux conducteurs y entravant ainsi le transport d'eau (Bejarano et *al.*, 1999) et donc des symptômes de flétrissement se déclenchent sur les parties aériennes atteintes.

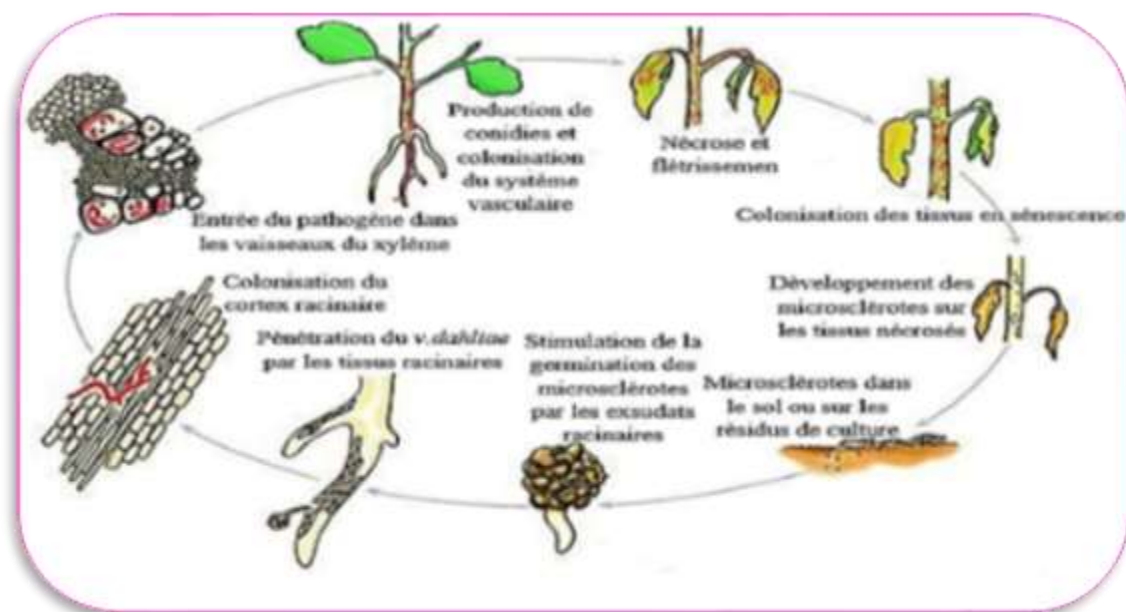


Figure N°05: Cycle de développement de *Verticillium dahliae* Kleb (Berlanger et Powelson, 2000)

2.6. Les différentes méthodes de lutte:

2.6.1. Lutte culturale :

Pour éviter l'installation de la maladie, il faut suivre quelques méthodes prophylactiques:

- Cultiver des espèces et des variétés résistantes à la maladie, ou des plants greffés, lorsqu'il en existe;
- Nettoyer le sol des mauvaises herbes potentiellement porteuses du champignon;
- Pratiquer une bonne rotation des cultures (4 à 5 ans, en cultivant dans ce laps de temps des cultures résistantes);
- Limiter les apports de fertilisants: la maladie est considérée comme une "maladie de vigueur"
- Renforcez les tissus et le système de défense propre aux plantes par des pulvérisations foliaires de purin d'ortie et de décoctions de prêle.
- En cas d'attaque, supprimez les parties contaminées, nettoyez soigneusement le matériel qui a pu entrer en contact avec la maladie par un rinçage à l'eau javellisée (sécauteur...), et sortez du jardin les résidus de plantes atteintes (de préférence, brûlez-les).

2.6.2. Lutte chimique :

En pratique la lutte chimique constitue et de loin le type de méthode le plus utilisé pour la gestion de la verticilliose (Yanguai et *al.*, 2010). Elle se fait par stérilisation du sol à l'aide de fumigants chimiques (le bromure méthylique) (Fravel et *al.*, 1986), ou l'utilisation des fongicides systémiques (méthyl thiophanate, thiabendazole, bénomyl et carbendazime) (Henni et *al.*, 1982), (Boukenadel, 2001); (Kumer et *al.*, 2012). Ce recours aux produits chimiques, toujours valables dans certaines situations, engendrent cependant des coûts élevés et des impacts sur l'environnement (Nannipieri et *al.*, 1990). Actuellement aucun traitement curatif n'a prouvé son efficacité (Arslan et Dervis, 2010). In vivo, le compost utilisé comme amendement du sol réduit le rabougrissement et l'altération foliaire des plants de la fève inoculés par *V. dahliae*. La correction du sol avec le compost a permis l'inhibition de la pénétration et de la colonisation des tissus vasculaires des plants de la fève par *V. dahliae* (Arslan et Dervis, 2010).

2.6.3. Lutte biologique :

La lutte biologique peut offrir de nombreuses méthodes de luttés alternative aux traitements chimiques .Ce moyen de lutte met en œuvre différents organismes vivants appelés auxiliaires ou leur produits pour prévenir ou réduire les dégâts. Il s'agit d'utiliser surtout les microorganismes tels que *Pseudomonas* sp et *Bacillus* sp, *Streptomyces plicatus*, *Frankia* sp. (Bonjar et Aghighi, 2005), *Serratia plymuthica*. Ce moyen de lutte a malheureusement dévoilé un succès limité contre la verticilliose (Muller et *al.*, 2007).

❖ ***Chapitre III :***
Plante aromatique –la sauge

3.1 Introduction

La sauge est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne (Djerroumi et Nacef, 2004). La sauge est un aromate réputé et une des principales plantes médicinales. Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de cette plante en phytothérapie; la sauge vient de *salvare* qui en latin, signifie « guérir » selon un dicton « qui a la sauge dans son jardin n'a pas besoin de médecin » (Beloued, 2009).

Salvia officinalis L. est économiquement une des espèces les plus importantes du genre *Salvia*, comprend près de 1000 espèces à travers le monde, et représente l'un des plus grands genres dans la famille des Lamiacées (Lakusic et al., 2013).

En Algérie, c'est une plante commune, elle est cependant rare à l'état sauvage. Les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine (Khiredine, 2013).

3.2. Historique

Elle était probablement déjà employée en Egypte, environ 6000 ans avant J-C. Elle a vraisemblablement été cultivée pour la première fois en Grèce puis introduite en Europe centrale à partir du VIII^e siècle ou elle était cultivée dans les monastères et les jardins. Dès le Moyen Age, elle devient une véritable panacée. Elle fait partie des plantes dont la culture était recommandée par Charlemagne dans l'ordonnancement rural «Capitulaire de villis» (Brieskorn, et al., 1991; Laux et al., 1993; Ruegg et al. 1997).

3.3. Description morphologique

C'est une plante vivace à tige ligneuse formant un buisson dépassant parfois 80 cm.

Les feuilles de couleur vert-blanchâtre sont assez grandes, elliptiques, opposées, rugueuses, épaisses, molles, et à bord dentelé persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protègent.

Les fleurs, sont grandes, bleu violacé claire, visibles de mai à Aout, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée; fruits en forme de tétrakènes (Hans, 2007). La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse.



Figure N°06 : la plante de *Salvia officinalis* (Originale, 2023).

3.4. Classification taxonomique

La sauge possède différentes dénominations:

- Noms communs Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage (Fabre et *al.*, 1992).
- Nom vernaculaire arabe : Sâlniya; Marimiya
- Nom vernaculaire français: Saugue
- Nom anglais: Garden sage

Nom scientifique : *Salvia officinalis* (Ghourri et *al.*, 2013; Azzi, 2013).

Selon Ristic et *al.*, (1999), la sauge suit la classification suivante:

Règne:	<i>Plantae</i>
Division:	<i>Magnoliophyta</i>
Classe:	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre:	<i>Lamiales</i>
Famille :	<i>Lamiaceae</i>
Genre :	<i>Salvia</i>
Espèce:	<i>Salvia officinalis L.</i>

3.5. Usage thérapeutique de la sauge

3.5.1. Usage interne :

En usage interne, la sauge est utilisée pour traiter toutes les faiblesses organiques, l'asthénie, la neurasthénie, les dyspepsies par atonie gastro intestinale, les digestions lentes, l'inappétence, les affections nerveuses (tremblement, vertiges, paralysies), l'apoplexie, les bronchites chroniques et l'asthme. On s'en sert aussi pour soigner les sueurs nocturnes des tuberculeux et des convalescents, les sueurs profuses des mains et des aisselles, les adénites, le lymphatisme, les fièvres intermittentes, la diurèse insuffisante, la stérilité, les symptômes de la ménopause, les diarrhées des tuberculeux et des nourrissons. Enfin, on s'en sert pour faire tarir la lactation (Ahami, 2007). Elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les stressées et déprimées, et conseillée pour les étudiants en période d'examen (Djerrouni et Nacef, 2004). Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles digestifs (Radulescu et Eliza, 2004).

3.5.2. Usage externe

En usage externe, la sauge est utilisée pour soigner les leucorrhées, les aphtes, les stomatites, les angines, les laryngites, les névralgies dentaires, les plaies atones, les ulcères, les dermatoses, l'alopecie et les piqûres des guêpes et d'insectes. Enfin elle sert aussi à désinfecter les habitations (Beloued, 2009).

Elle est utilisée pour traiter les enfants affaiblis, les rachitiques, les scrofuleux et les rhumatisants, en ajoutant de l'infusion de la sauge à leur bain (Ahami, 2007).

3.5.3. Autres domaines d'utilisation de la sauge

La Sauge est un fixateur de parfum bien connu dans le domaine de la parfumerie, frottez une feuille de sauge sur votre peau avant d'appliquer votre parfum, il durera plus longtemps. Utilisée dans les soins capillaires, la sauge permet de lutter contre les pellicules et donne de la brillance au cheveu. Son huile essentielle entre dans la composition de masque pour les peaux grasses ou acnéiques (Anonyme, 2013).

En cuisine, les feuilles de sauge servent à parfumer les viandes surtout le gibier, quelques feuilles glissées dans les aliments gras tels que les farces et les ragouts leur donnent une saveur piquante très appréciée. Elle est rajoutée aussi dans les bouillons et dans les vinaigres aux fines herbes (Chaumeton, 1959).

Avec son odeur rude et son gout puissant, légèrement amer et camphré, elle est utile partout dans la maison pour parfumer les aliments, assainir les armoires. Elle sert en gros à protéger la ligne, préserver la beauté et soigner les maladies (Duling, 2007).

3.6. Toxicologie

D'après nos connaissances, aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de la sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour). Cependant, la thuyone provoque non seulement un effet local irritant, mais également des effets centraux psycho mimétiques, après sa résorption. Une consommation chronique de thuyone peut ainsi conduire à des troubles irréversibles du système nerveux central, perturbations des fonctions hépatiques, rénales et cardiaques (Rice et *al.*, 1976; Lewin et *al.*, 1992; Teuscher et *al.*, 1994).

Dans la mesure où la quantité de drogue, employée à des fins culinaires reste très faible, tout danger lié à la présence d'une forte teneur en thuyone semble exclu pour le consommateur. Cependant, des quantités importantes de drogue (dose supérieure à 15 g de drogue sèche) peuvent engendrer une sécheresse de la bouche, l'apparition de sueurs, de tachycardies et de vertiges. Un cas de toxicité aigüe après administration d'une forte dose d'huile essentielle (2g et plus) a été décrit, ainsi, la consommation régulière de sauge, même sous forme de tisane, ne paraît pas recommandée (Centini et *al.*, 1987; Saller et *al.*, 1996).

Le potentiel de sensibilisation est faible, des réactions allergiques restent jusqu'à présent ponctuelles et seraient liées à la présence d'acide carnosolique qui agirait comme allergène (Futrell et *al.*, 1993; Hjorth et *al.*, 1997; Hansel et *al.*, 1999).

3.7. Composition chimiques de *Salvia officinalis*

Les principaux composés organiques de la Sauge ainsi que sa valeur énergétique sont groupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau N°04: les valeurs nutritives de la Sauge (Pomerleau et *al.* 2006)

Poids/ volume	Sauge moulue, 2g /15ml
Calories	6.0g
Protéines	0.2g
Glucides	1.2g
Lipides	0.3g
Fibres alimentaires	0.8g

La sauge est une plante riche en métabolites secondaire. Elle contient 5% de tanins, un principe amer 5,5% de résine, 6% de gomme du mucilage, des acides phosphoriques, des acides oxaliques, des nitrates, 9% de pentosane, des traces d'aparagone et de 1,5% à 2,5% d'huiles essentielles dite huile de sauge, renfermant de la thuyone, du cinéole, du camphre, des terpènes..... (Ryberg, 1991).

Plusieurs travaux récents ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* dans différentes régions de part et d'autre du bassin méditerranéen tel que, la Yougoslavie (Perry et al., 1996, Putievsky et al., 1992), la Bulgarie (Tsankova et al., 1994), l'Italie (Place et al., 1995 ; Piccaglia et al., 1993), l'Egypte (Karawya et al., 1981) et le Maroc (Belkamel et al., 1990)etc.

❖ *Chapitre I:*

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1.1. Objectif du travail

L'objectif principal de ce travail consiste à étudier l'effet de deux extraits méthanoïques de *Salvia officinalis* «in vitro» sur la croissance mycélienne et la sporulation de *Verticillium dahliae*. Les extraits sont préparés par macération et par extraction au Soxhlet.

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de protection des végétaux de la faculté SNV, université Abd El Hamid Ibn Badis de Mostaganem.

1.2. Matériel fongique

L'isolat de *Verticillium dahliae* utilisée dans cette étude a été isolé en 2023 au niveau du laboratoire de protection des végétaux à partir de plants de fèves présentant des pourritures racinaire.

1.2.1. Repiquage de l'agent pathogène *Verticillium dahliae*

Juste après l'isolement et l'identification, une culture monospore a été réalisée pour obtenir une colonie homogène. Et Afin d'obtenir suffisamment de matériel fongique pour les tests ultérieurs nous avons réalisé des repiquages de l'isolat.

Le repiquage correspond au prélèvement d'une petite partie d'une culture de champignon pour la transplanter sur un milieu neuf où elle continuera sa croissance. Nous avons fait un repiquage du champignon sur le milieu PDA stérile, réparti dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte. L'ensemencement s'est réalisé avec des explants de 5mm de diamètre, prélevés de la périphérie d'une culture âgée de 7 jours, à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Ces explants sont déposés au centre de la boîte de Pétri dans des conditions de travail rigoureuses tel que la stérilisation du matériel et du manipulateur pour éviter toute contamination de la souche. Les boîtes sont incubées à 25°C.

1.3. La plante aromatique

1.3.1. La préparation de la plante aromatique pour l'extraction

Le matériel végétal est constitué de feuilles de sauge (*Salvia officinalis* L.), prélevées à partir d'un arbuste se trouvant dans l'enceinte du site 3 (ex: ITA) de l'Université de Mostaganem durant le mois février 2023. Les feuilles fraîchement récoltées, sont lavées puis laisser sécher dans un endroit sec et aéré, puis nous les avons broyé jusqu'à ce qu'on obtient une poudre.



Figure N°07:La poudre de la sauge (Originale, 2023)

1.3.2. Le solvant d'extraction

L'extraction par solvant reste la méthode la plus pratique. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont le méthanol, l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol et l'acétone. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits contiennent un nombre important de composés non volatiles tels que des cires, des pigments des acides gras mais également des composés volatiles et bien d'autre substances (El haib, 2011).

Plusieurs résultats confirment la fiabilité du méthanol, ainsi que sa disponibilité, ce qui nous a poussés à le choisir comme un solvant extracteur dans cette expérimentation.

1.3.3. Méthodes d'extraction

1.3.3.1. L'extraction par macération

La macération est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un corps solide par dissolution dans un liquide froid (eau, huile, alcool, saumure...). La macération peut aussi être employée pour que le corps solide absorbe le liquide et en soit parfumé.

L'extraction des polyphénols par macération a été inspirée selon le protocole de Moussaoui et *al.* (2019). Pour 40g de feuilles sèches broyées, on ajoute 1000 ml de solvant en raison de (20/80); 20% eau distillée stérile et 80% de méthanol, avec ce protocole le solvant va contenir 800 ml de méthanol et 200 ml d'eau distillé stérile. On couvre le mélange avec du papier aluminium pour éviter la dégradation des polyphénols par la lumière et on le place sous agitation à froid pendant 24 heures. On filtre le mélange pour obtenir le premier filtrat.

Après filtration on récupère le reste et on lui ajoute le même volume de solvant que la première fois et on laisse sous agitation à froid pendant 24 heures. On filtre le mélange pour obtenir le deuxième filtrat.

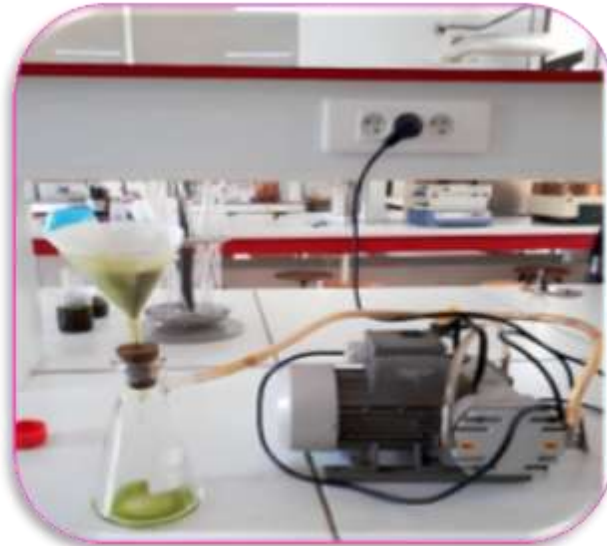


Figure N°08: Filtration de l'extrait méthanoïque par macération de *S. officinalis* (Originale, 2023).



Figure N°09: Agitation de l'extrait méthanoïque par macération de *S. officinalis* (Originale, 2023).

1.3.3.2. Extraction par la méthode Soxhlet

L'extracteur Soxhlet est un dispositif en verre permettant l'extraction d'une substance. Il est principalement utilisé dans la préparation d'échantillons avant analyse, dans la détermination de matières grasses dans les eaux, de détergents...

Le Soxhlet permet:

- Le lavage d'un composé solide par un solvant dans lequel il est totalement insoluble.
- Les impuretés sont extraites vers le ballon et le solide pur est récupéré dans la cartouche.
- La recristallisation d'un composé par un solvant dans lequel il est modérément soluble.
- Les impuretés insolubles restent dans la cartouche tandis que le composé cristallise dans le ballon récepteur par refroidissement lorsque la solution est assez concentrée.

La méthode d'extraction directe au Soxhlet avec le méthanol comme solvant est comme suit: Une petite quantité du broyat précédent est prise puis broyée finement à l'aide d'un broyeur jusqu'à obtention d'une fine poudre. On pèse une cartouche vide puis on y introduit 40 g de la fine poudre. La cartouche est installée dans le Soxhlet et l'ensemble est adapté à un ballon préalablement séché et pesé. 600 ml de méthanol (80%) avec 162,06 d'eau sont introduits dans le ballon. La circulation d'eau dans la colonne réfrigérante est mise en marche, ce qui permet le retour du méthanol évaporé dans le Soxhle, L'extraction se fait pendant 2:30 min (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total).



Figure10 : Montage soxhlet (originale, 2023)

1.3.4. Evaporation rotatif

L'évaporateur rotatif appelé souvent «rotavapor» utilise une technique rapide et efficace de séparation: elle permet l'extraction d'un solvant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite (Hireche, 2013).

Son principe comme il a été décrit par Ould Amar (2013), est de mélanger le solvant et le soluté puis les placer dans le ballon de droite(Figure N°11). Celui-ci est plongé dans un bain-marie. Il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroître la surface d'évaporation du solvant. La pression à l'intérieur du montage, est abaissée au moyen d'une trompe à eau ce qui augmente la vitesse d'évaporation. Après condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le ballon de gauche (Figure 11).



Figure N°11: Montage du rotavapor (Originale, 2023)

1.3.5. Préparation des dilutions des composés phénoliques

L'extrait est solubilisé dans des volumes variables d'eau distillée stérile en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% et un témoin contenant de l'eau distillée stérile.

1.4. Conduit de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique « in vitro » de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Verticillium dahliae*.

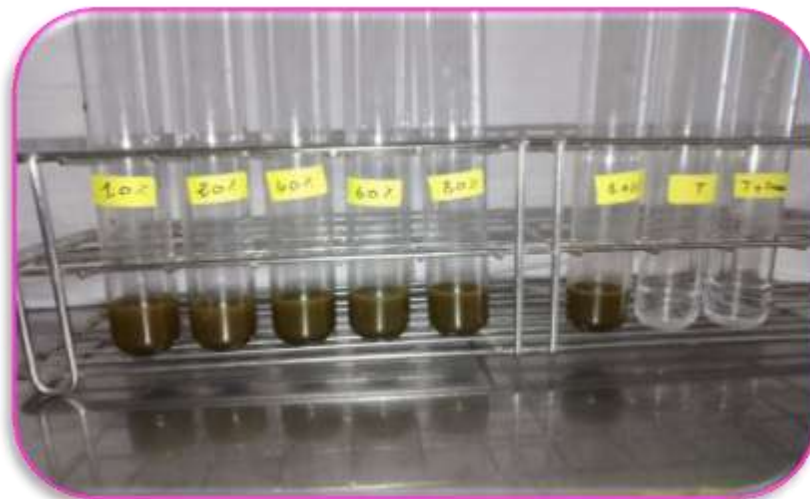


Figure 12 : les différents doses de l'extrait méthanoïque

1,5 ml de chaque dilution de l'extrait méthanoïque sont ajoutés aseptiquement à 13,5 ml de milieu de culture PDA. Après solidification, chaque boîte est inoculée à l'aide d'un disque mycélien de 5mm de diamètre provenant du front de croissance des cultures âgés d'une semaine. Les boîtes sont incubées à 25°C; trois répétitions pour chaque concentration.

I.5. Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne est estimée en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur les deux axes perpendiculaires, en utilisant la formule suivante:

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

Ti% : taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

DT : diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon (en cm) dans la boîte Pétri sans extrait (témoin)

D : diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon (en cm) dans la boîte Pétri qui contient la dilution préparée.

La sporulation est estimée selon la méthode décrite par Kaiser (1972) in Saiah (1994), qui consiste à broyer et à macérer dans 10 ml d'eau distillée stérile, une culture, le dernier jour du test de l'évaluation de la croissance mycélienne. Après agitation et filtration sur mousseline fine stérile, afin de retenir les fragments mycéliens, la numération des spores se fait à l'aide d'une cellule de Mallassez.

Le pourcentage d'inhibition de la sporulation (Pis%) par rapport au témoin, est calculé comme suit :

$$PIs\% = [(N0 - NC) / N0] * 100$$

PIs: pourcentage d'inhibition de la sporulation (%)

N0 : nombre de spores estimées chez le témoin

NC : nombre de spores estimées en présence de l'extrait

I.6. Analyse statistique

Le traitement de toutes les données a été réalisé à l'aide de Microsoft Office Excel pour le classement des données brutes et pour l'élaboration des graphes. L'analyse de variance et la comparaison des moyennes (test de Newman-Keuls) ont été effectuées par l'utilisation du logiciel Stat box version 6.4.

❖ *Chapitre II: Résultats et
discussion*

II. Résultats et Interprétation

2.1. Caractères morphologiques d'isolat de *Verticillium dahliae*

2.1.1- Etude de l'aspect macroscopique

L'étude macroscopique de la souche purifiée après 7 jours de développement sur milieu PDA a permis de déterminer un seul morphotype à savoir le morphotype duveteuses ou cotonneuse avec une couleur blanchâtre initialement ,après il devenu vert foncé

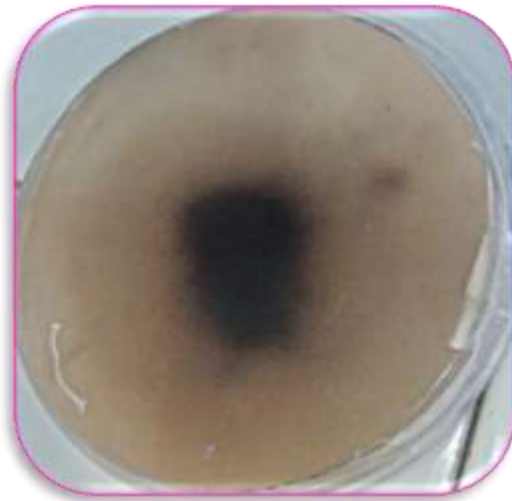


Figure N° 13: Caractères morphologique d'isolat de *Verticillium dahliae* (Originale, 2023)

2.1.2. Identification microscopique

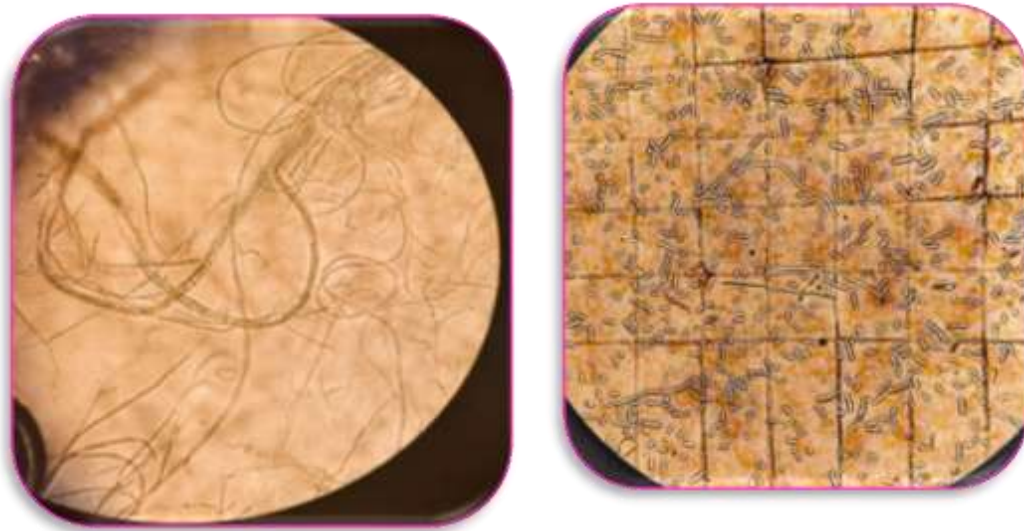


Figure N°14 : Identification microscopique de *Verticillium dahliae* (Originale, 2023).

2.2. Evaluation de l'activité antifongique des extraits méthanoïques des feuilles de *Salvia officinalis* vis-à-vis *Verticillium dahliae* de la fève

2.2.1. Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne de l'extrait méthanoïque par macération

La Figure N°15, démontre l'aspect des colonies de *Verticillium dahliae* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait obtenue par macération. Elle démontre clairement une différence dans le diamètre de la croissance mycélienne du champignon, qui augmente proportionnellement avec la dose de l'extrait.

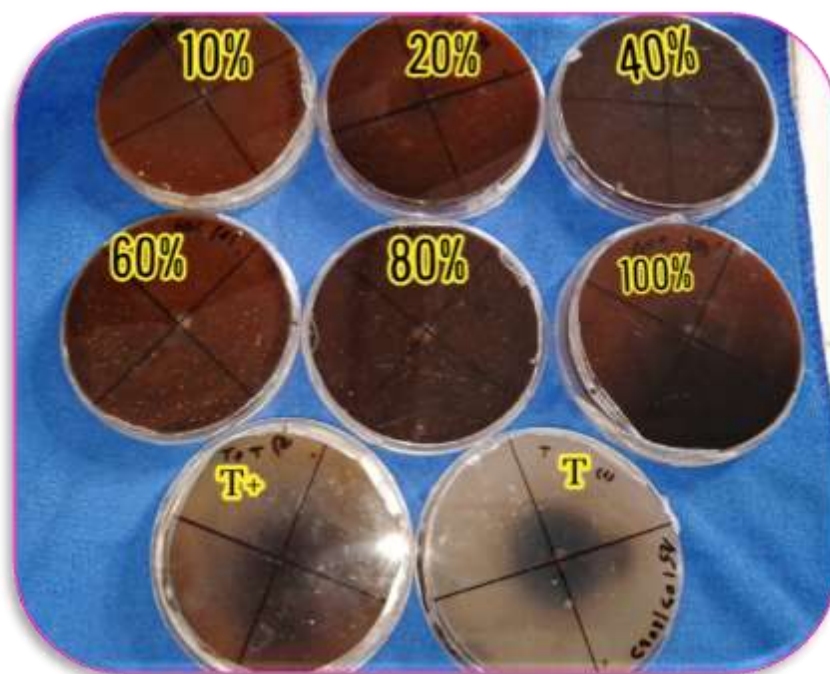


Figure N°15: les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par macération

(Originale, 2023)

L'analyse de variance des différents traitements, montre l'effet significatif des doses sur la croissance mycélienne de cet isolat. En effet, on remarque une efficacité des six concentrations, 100mg/ml, 80mg/ml, 60mg/ml, 40mg/ml, 20mg/ml et 10mg/ml à inhiber sa croissance mycélienne, par contre la concentration du témoin négatif, démontre une croissance mycélienne significativement supérieure aux différents traitements.

La Figure N°16, représente l'effet des différentes concentrations de l'extrait hydro méthanoïque par macération des feuilles de *Salvia officinalis* sur l'isolat de *Verticillium*

dahliae. L'analyse de variance des différents traitements, montre l'effet significatif des doses sur la croissance mycélienne de cet isolat. En effet, on remarque une efficacité des 7 concentrations 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10% à inhiber sa croissance mycélienne; par contre la concentration des témoins, démontre une croissance mycélienne significativement supérieure aux différents traitements.

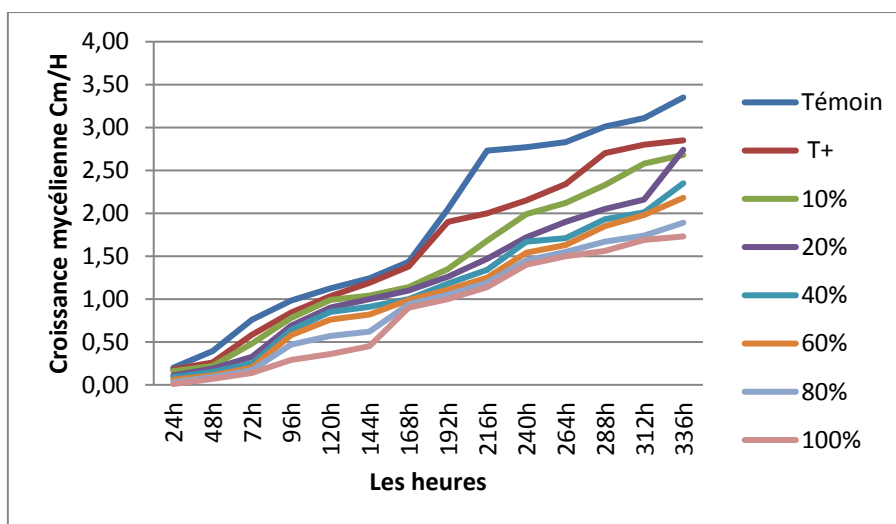


Figure N°16: L'effet de l'extrait méthanoïque par macération sur la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* (Originale, 2023).

La Figure N°17, illustre l'effet inhibiteur des doses sur la vitesse de croissance mycélienne du champignon. On remarque, la capacité de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* à ralentir la vitesse de croissance. Cet effet est inversement proportionnel aux différentes concentrations de l'extrait.

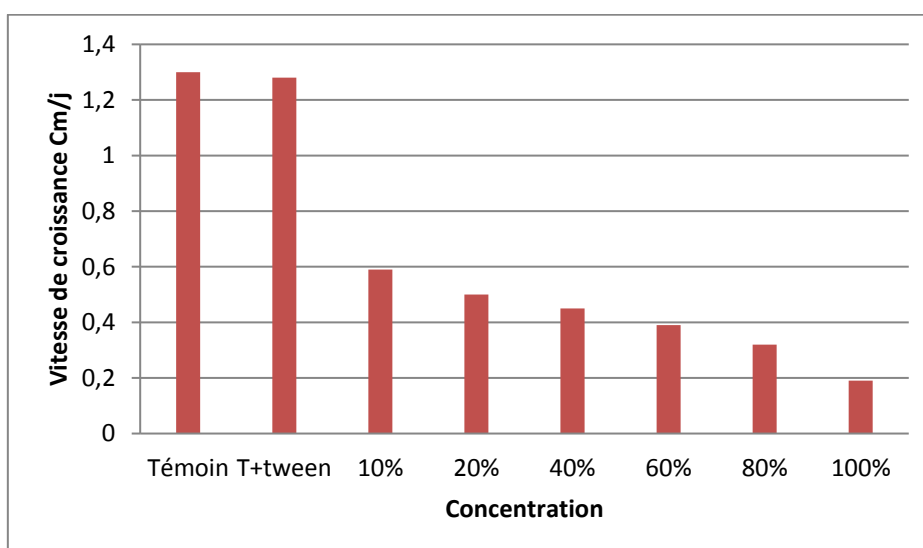


Figure N°17: Effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis* sur la vitesse de croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* (Originale, 2023).

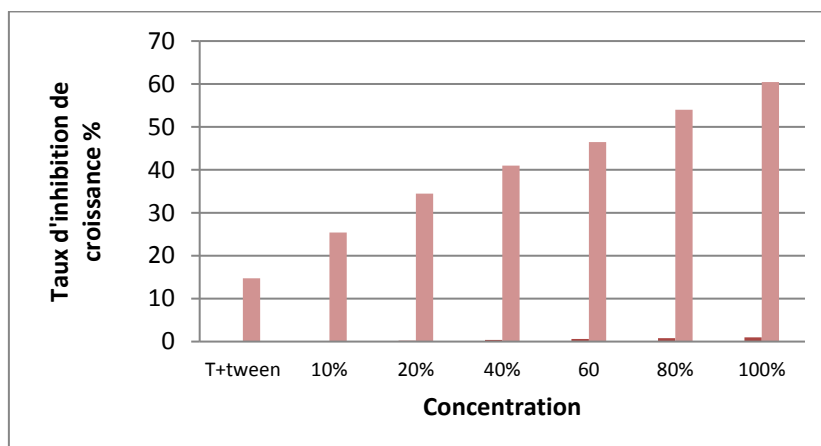


Figure N°18: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*, par les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (macération) des feuilles de *Salvia officinalis* (Original, 2023).

La Figure N°18, ci-dessus représente les taux d'inhibitions de la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*, sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait hydro méthanoïque (par macération) des feuilles de *Salvia officinalis*. On enregistre une efficacité de l'extrait à contrôler la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*, l'efficacité à inhiber la croissance mycélienne devient plus importante lorsque l'extrait est plus concentré. Le taux d'inhibition maximum est 60.5%. Il a été enregistré dans les boîtes contenant l'extrait à 100%, alors que les autres doses ont engendré des taux moins importants, en effet, la dose 10% a donné 25.4% d'inhibition.

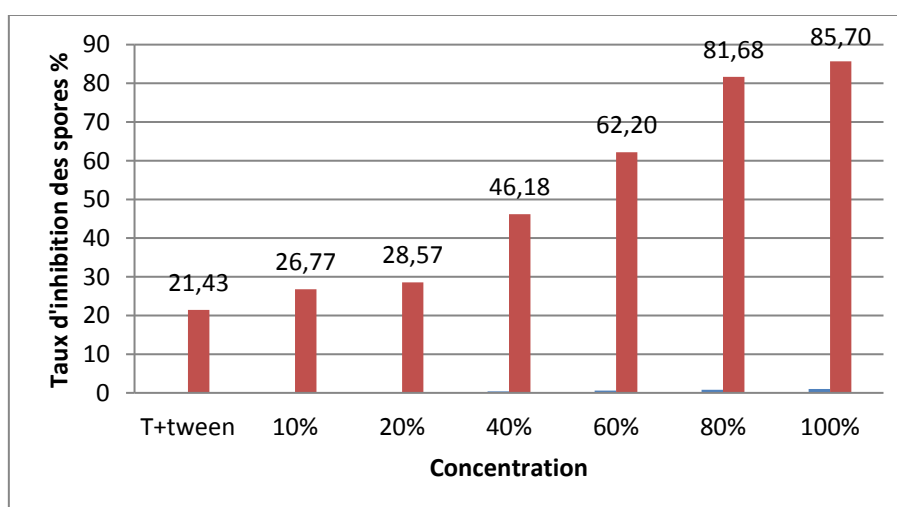


Figure N°19: Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Verticillium dahliae* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*)

Le taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat testé par l'extrait méthanoïque (macération), représenté sur la Figure N° 19 démontre clairement l'effet inhibiteur important de ce dernier sur la sporulation, on remarque que ce taux a atteint 85,70% pour la plus grande dose (100%). La dose de 60% a réussi d'inhiber la sporulation de 62,20%. Ces résultats montrent que cet extrait montre une efficacité à inhiber la sporulation plus que, la croissance mycélienne.

2.2.2. Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne de l'extrait méthanoïque par Soxhlet

La Figure 20, montre l'effet des différentes concentrations (10%, 20%, 40%, 60, 80,100, T+ et T) des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sur l'isolat de *Verticillium dahliae*. Une différence de la croissance des colonies a été observée entre les différents traitements. La croissance mycélienne dans les boîtes contenant de l'extrait de la sauge est significativement inférieure aux témoins surtout pour les trois fortes doses ou nous avons enregistré un développement nettement inférieur aux deux témoins (positif et négatif).

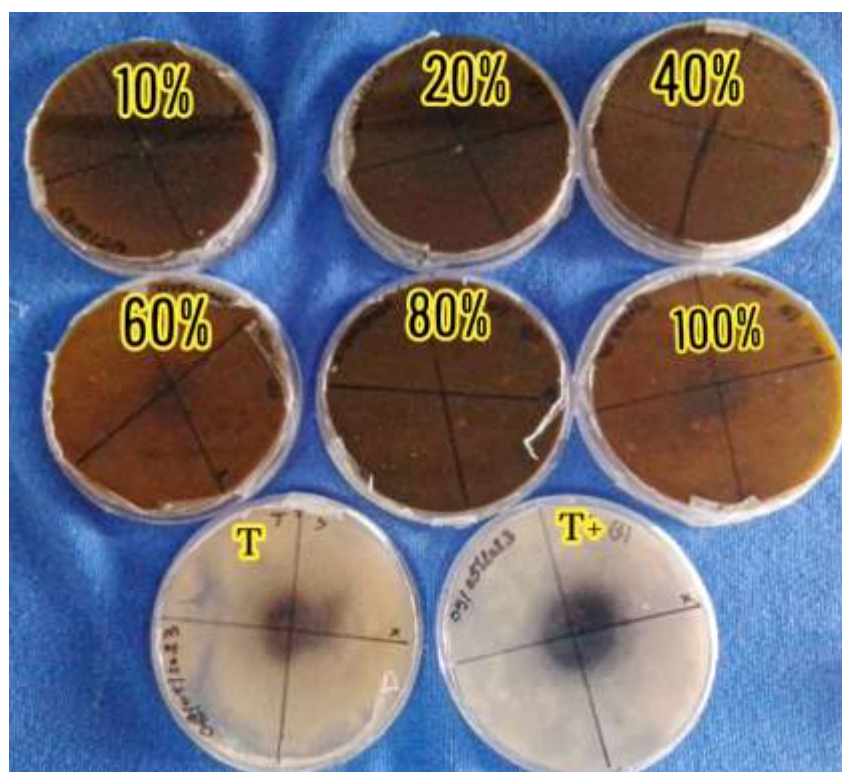


Figure N°20: les différents concentrations de l'extrait méthanoïque par Soxhlet (Originale, 2023)

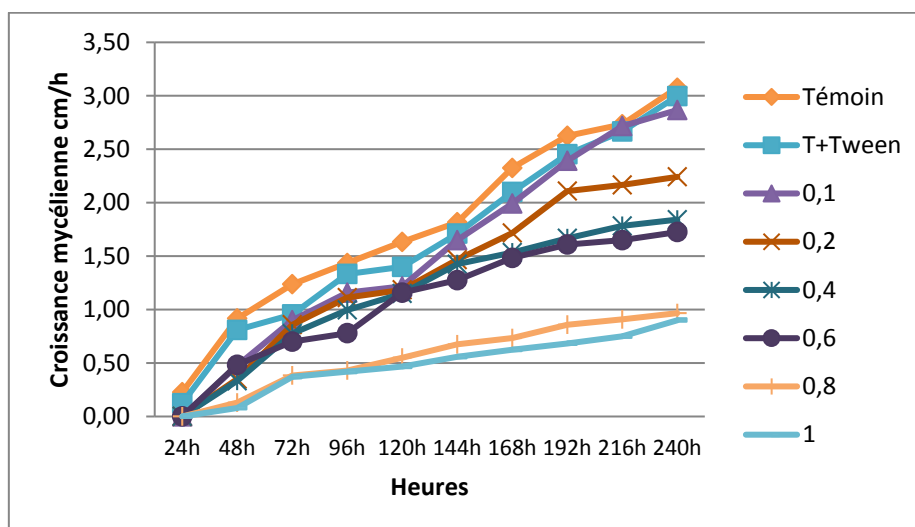


Figure N°21 : L'effet de l'extrait méthanoïque (Soxhlet) sur la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* (Originale, 2023).

Les résultats obtenus sur la Figure N°21, montre une faible croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* pour les plus fortes concentrations 100 mg/ml, 80 mg/ml. D'autre part, on enregistre, un développement presque égal aux témoins pour la dose de 10 mg/ml, pour les concentrations 40mg/ml et 60mg/ml, la croissance était presque la même. L'analyse de variance montre l'effet significatif des doses sur le développement de *Verticillium dahliae*.

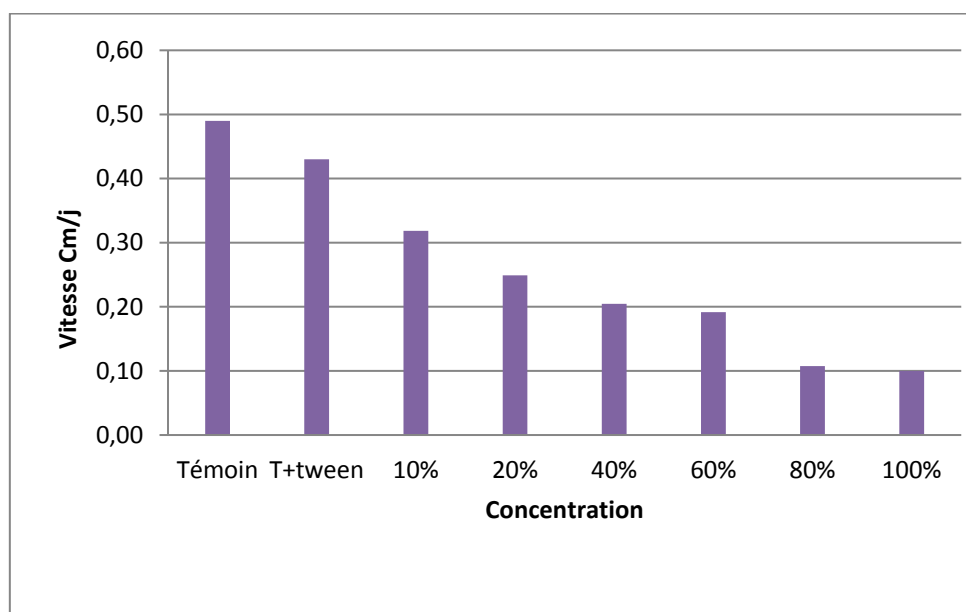


Figure N°22: Effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis* sur la vitesse de croissance de *Verticillium dahliae* (Originale, 2023).

La figure N°22, représente la vitesse de la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis*. Les résultats obtenus démontrent une décélération importante de la vitesse de croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*, traité par la dose de 100%; par rapport aux autres concentrations. L'analyse de variance des résultats a démontré l'effet significatif des doses et du temps sur la vitesse de croissance mycélienne du champignon.

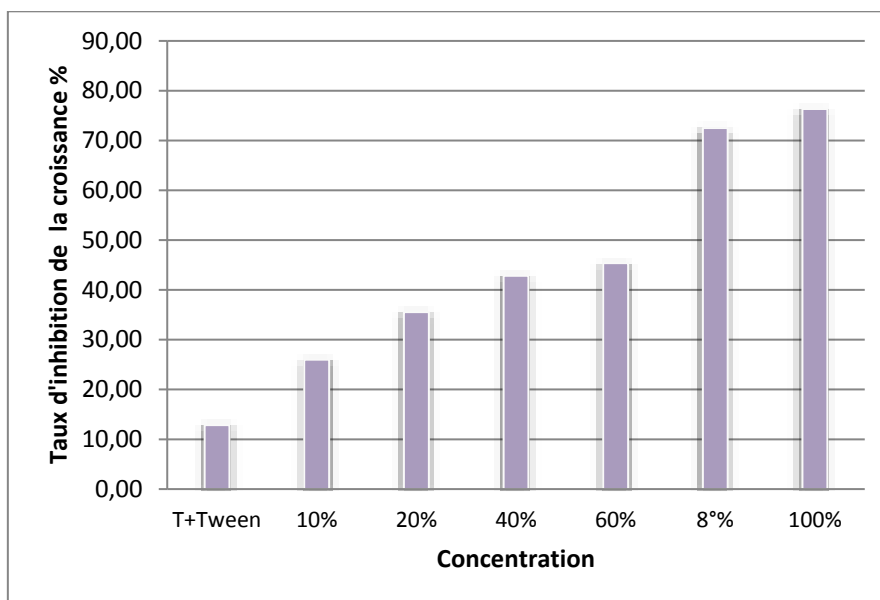


Figure N°23: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par Soxhlet) des feuilles de *Salvia officinalis* (Originale, 2023).

La Figure N°23, représente les taux d'inhibitions de la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*, sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par Soxhlet) des feuilles de *Salvia officinalis*. On remarque que le taux d'inhibition maximum soit 76.32% a été enregistré dans les boîtes contenant 100mg/ml de l'extrait, alors que les autres doses ont engendré des taux moins importants. La concentration 10mg/ml a donné 26% d'inhibition.

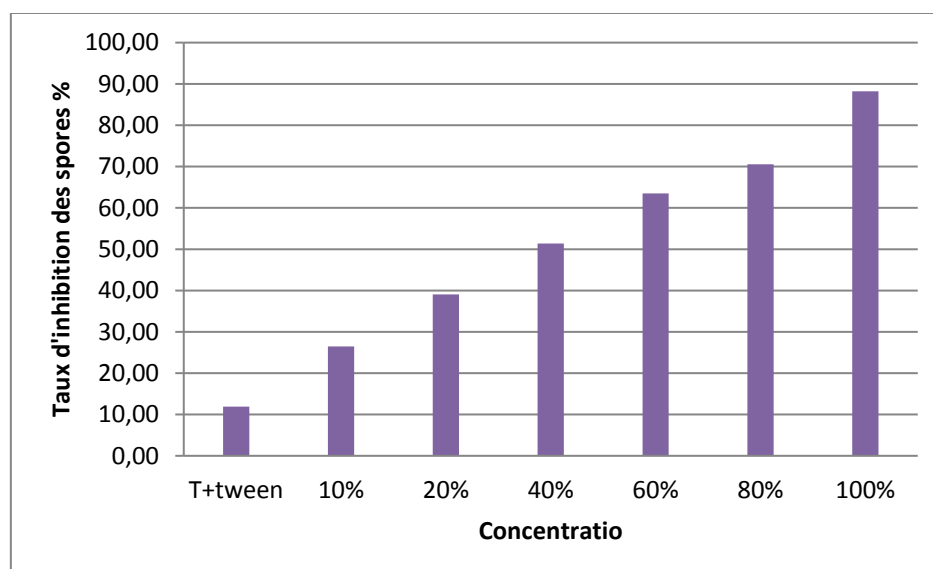


Figure N°24: Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Verticillium* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par Soxhlet des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*) (Original 2023)

La Figure 24, représente la capacité des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de sauge à inhiber la sporulation de *Verticillium dahliae*. En effet on remarque que la dose de 100% a réussi à inhiber la sporulation de 88,23%. Un taux supérieur à celui enregistré pour la croissance mycélienne (Figure 23).

A la lumière des résultats précédents, on peut affirmer que malgré l'efficacité des deux extraits testés à inhiber la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae*, ces derniers n'ont pas réussi à inhiber complètement la croissance mycélienne, nous avons également noté l'efficacité inhibitrice de l'extrait méthanoïque par Soxhlet par rapport à l'extrait méthanoïque par macération.

III. Discussion

La maladie de flétrissement verticillien avait déjà été signalée sur *V. faba* en Espagne (Berbegal et Armengol, 2009) et aux États-Unis dans le comté de Santa Clara, en Californie (Blomquist et al, 2017). Face aux problèmes de la résistance antimicrobienne aux produits chimique synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur l'efficacité des produits naturels tels que les extraits de certaines plantes. Karapinar (1985), Nanir et Kadu (1987) ont signalé que certains extraits de plantes présentaient des propriétés antifongiques (Merghani, 2019).

Il existe deux groupes de métabolites: les métabolites primaires qui sont les molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme des plantes et les métabolites secondaires qui sont des molécules ayant une répartition limitée dans la plante, ils jouent un rôle de défense contre les agressions extérieure (Merghani, 2019).

Dans ce travail on a testé l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* sur le champignon *Verticilium dahliae* isolé à partir de la fève (*Vicia faba*). Les résultats montrent que le développement mycélien de *Verticilium dahliae*, en présence de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* montre une diminution de la croissance mycélienne relative avec l'augmentation du dosage de l'extrait. De plus on remarque que plus la concentration augmente, l'effet inhibiteur de croissance et de sporulation est plus élevé, ces résultats sont similaires à ce qui a été enregistré par Kasmi et al., (2017) qui ont marqué un effet des extraits hydrométhanoïque des différentes plantes sur la croissance mycélienne et la sporulation du champignon *Botrytis cinerae*. Alors que Rus et al, (2015) ont trouvé que l'extrait de *Salvia officinalis* provoque un effet fongistatique contre le champignon du genre *Verticilium*.

Dans le but de contribuer à trouver des solutions vertes pour la protection de la culture de la fève vis-à-vis de la verticilliose, nous avons testé deux méthodes d'extractions de la sauge, d'après les résultats on constate que l'extrait issu de la macération est moins efficace par rapport à l'extrait de Soxhlet avec des taux d'inhibition maximal de 60.5%, 76.32%. Respectivement ces résultats correspondent à ceux obtenus par Aberkan et Bourenane, 2019. Ces résultats mettent en évidence le potentiel des feuilles de sauge en tant que source d'agents antifongiques naturels. Cependant, il est important de mener des recherches complémentaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action des composés présents dans la sauge et pour évaluer leur efficacité in vivo. Ces informations pourraient ouvrir la voie au développement de nouvelles thérapies antifongiques ou de produits naturels pour lutter contre les infections fongiques, tant dans le domaine médical que dans l'agriculture

❖ *Conclusion générale*

Conclusion générale

Cette étude se voulait une contribution à l'étude de l'efficacité des extraits polyphénoliques des feuilles de la plante médicinale *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Verticilliumdahliae* agent de la verticilliose sur fève.

L'extraction des polyphénols est réalisée par le méthanol selon deux techniques différentes: macération et Soxhlet.

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il apparaît que les deux extraits des feuilles de la sauge *Salvia officinalis* ont exercés une activité antifongique sur l'agent pathogène étudié. En effet nous avons enregistré une importante activité inhibitrice de la sporulation et de la croissance mycélienne vis-à-vis de *Verticilium dahliae*

Nous avons également remarqué que la méthode du Soxhlet est la meilleure technique conventionnelle pour l'extraction des polyphénols totaux. Cependant, cette étude ne constitue qu'une première ébauche dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives de la plante vis à vis du *Verticillium* sp.

D'autres recherches sont donc nécessaires pour compléter les informations déjà acquises. Les études doivent être orientées surtout:

Evaluer l'activité antifongique de chaque composés actifs des deux plantes étudiées (composés phénolique, huiles essentielles, les Alcaloïdes... etc) vis-à-vis du *Verticilium*.

Evaluer l'activité antifongique d'autre plante vis-à-vis de ce phytopathogène

Poursuivre notre étude par d'autres études chimiques pour identifier les composants actifs (chromatographiques).

❖ *Références*

Référence bibliographiques

Aberkane, K., & Bourenane, R. (2019). Etude de l'effet de la méthode d'extraction sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (4):279-289 27.

Aberkane, K., & Bourenane, R. (2019). Etude de l'effet de la méthode d'extraction sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes

Agrios N.G., 1988. Plant Disease Epidemiology. In Plant Pathology, Academic Press, Inc. 3th Edition, 156-179.

Ahami F., Belghyti D., Elqaj M., 2007-la phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antis parasitaires journée scientifique ressources naturelles et antibiotiques, Maroc, pp89-154.

Amara Lydia et Bouarroudj Dihia, 2020. Effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Myrte commun (*Myrtus communis*) sur les adultes de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* BOH (Coleoptera: Chrysomelidae) 04p.

Bejarano-Alcazar, A.J. Termorshuizen And R.M. Jimenez-D'Iaz , (1999), Single-Site Root Inoculations On Eggplant With *Microsclerotia* Of *Verticillium Dahliae*., *Phytoparasitica*

Belkamel. S., Drouet, M., Rouzet, (1990), *Rev. Mar. Pharmacol.* 4, 7.

BelouedA, 2009 : Plantes médicinales d'Algérie. Office de la publication universitaire, 5ème édition, pp62-56.

Berbegal, M., & Armengol, J. (2009). First report of *Verticillium* wilt of faba bean caused by *Verticillium dahliae* in Spain. *Plant Disease*, 93(4), 432-432.

Berbegal, M., & Armengol, J. (2009). First report of *Verticillium* wilt of faba bean caused by *Verticillium dahliae* in Spain. *Plant Disease*, 93(4), 432-432.

Berlanger, I. And Powelson, M.L.,2000.*Verticillium* Wilt

Blancard Dominique, 2013 *Verticillium Dahlia* Kleb, (1913) *Verticillium albo-trum* Reinke È Brethold Inra , Edition Quae, France.

Blomquist, C. L., Rooney-Latham, S., & Barrera, N. (2017). First report of *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahliae* on fava bean in the United States. *Plant Disease*, 101(2), 384-384.

Blomquist, C. L., Rooney-Latham, S., & Barrera, N. (2017). First report of *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahliae* on fava bean in the United States. *Plant Disease*, 101(2), 384-384.

Botton B., Breton A., Févre M. Gauthier S., Guy Ph., Larpent J-P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y. And Veau R. (1990). Moisissures Utiles Et Nuisibles : Importance Industrielle. Édition Masson, Paris.

BOUHACHEM S., 2002. Les pucerons de la féverole en Tunisie. Proceedings du 2ème séminaire du réseau REMAFEVE/REMALA, « Le devenir des Légumineuses Alimentaires dans le Maghreb », Hammamet, Tunisie, 100p.

Caractérisation morphologique, culturale et pathogénique de *Verticillium dahliae* Kleb., agent causal de la verticilliose de l'olivier (*Olea europea* L.).

Centini F. et al., 1987; *Zacchia* (Rom) 60 :263-274.

Chaumeton H., 1959. Les plants aromatiques, comment les reconnaître. Paris. Solar. 355- 358p.

Dachler M., H. Pelzmann, *Arznei-und Gewürzpflanzen, Anbau, Ernte, Aufbereitung*, osterreichischer Agrarverlag, Klosterneuburg, . 1999.

Djerroumi S ; Nacef A., 100 plantes d'Algérie, édition Masson, Paris, 2004 ; p159

Duling E.N ; Oven J.C ; John B.G ; Rosmary F.W ; Kevin.A.M ; Yeap L.F ; Nigel B.P ; Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol mixture. *Food chemistry*, 2007, 110 :927-931.

Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques & Moget Elisabeth., (1992): *Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples, Pour Résoudre Les Problèmes Simples*, p93.

Fradin, E.F. And Thomma, B.P.H.J. (2006). *Physiology And Molecular Aspects Of Verticillium Wilt* Fradin, E.F. And Thomma, B.P.H.J. *Diseases Caused By V. Dahliae And V. Albo-Atrum. Mol. Plant Pathol.* 7: 71–86.

Fravel, D.R., Davis, J.R. And Sorensen, L.H. (1986) *Effect Of Talaromyces Flavus And Metham On Verticillium Wilt Incidence And Potato Yield 1984– 1985. Biological culture Tests* 1, 17.

Futrell J.M., R.L. Rietschel, *Cutis*, 1993 2(5) :288-290.

Ghourri Mohamed., Zidane Lahcen & Douira Allal., 2013: usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17 :1, 2388-2411.

Hamadache A., 2003. La féverole. *Inst. Techn. Gr. Cult (T.T.G.C)*, 13 p.

Hans W.K. 2007. 100 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.

Harrington M. A. And Dobinson K. F. (2000). *Influences Of Cropping Practices On Verticillium Dahliae Populations In Commercial Processing Tomato Fields In Ontario. Phytopathol.*, 90, 1011-1017.

Hawke, M. A., And Lazarovits, G. 1994 : Production And Manipulation Of Individual Microsclerotia Of Verticillium Dahliae for Use In Studies Of Survival, Phytopathology 84 :883-890.

Heale, J. B. 2000. Diversification And Speciation In Verticillium – An Overview. Pages 1-14 In: Advances In Verticillium: Research And Disease Management. E. C. Tjamos, R. C. Rowe, J. B. Heale, And R. D. Fravel, Eds. American Phytopathological Society, St. Paul, Mn.

<https://www.gerbeaud.com/jardin/fiches/verticilliose,1688.html>.

Huber,D.M. Et Watson,R.D.,1974.Nitrogen Form And Plant Disease. Annu.Rev. Phytopathol.1 2:139-165.

Isaac, I. (1967). Speciation In Verticillium. Annu. Rev. Phytopathol. 5 Isaac, I. 5: 201– 222.

Karawya, S., El Hawary, (1981). J. Pharm. Sci. 19, 301.

Kasmi, M., Aourach, M., El Boukari, M., Barrijal, S., & Essalmani, H. (2017). Efficacité des extraits aqueux des plantes aromatiques et médicinales contre la pourriture grise de la tomate au Maroc. Comptes Rendus Biologies, 340.

Kasmi, M., Aourach, M., El Boukari, M., Barrijal, S., & Essalmani, H. (2017). Efficacité des extraits aqueux des plantes aromatiques et médicinales contre la pourriture grise de la tomate au Maroc.Comptes Rendus Biologies, 340.

Khireddine Hamida. (2013) : comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelque plantes médicinales d'Algérie, Memoir de Magister,option : Technologie Alimentaire , université Bougara-Boumerdes.

Kroschel, J. & Sauerborn, J.1996. Underrated methods of weed control and their use in the agriculture of developing countries. In: the second International Weed Control Congress Copenhagen, pp: 611-621.

Lahlou H. & Boisson C., 1981. Pathogenecity Variation In One Tomato Isolate of Verticillium Alboatrum (Microsclerotia Form) C.R. Du 3ème Symposium International Sur Les Verticillium Bar.

Lakušić Branislava S., Ristić Mihailo S., Slavkovska Violeta N., Stojanović Danilo Lj&Dmitar V. Lakušić., 2013: Variations in essential oil yields and compositions of Salvia officinalis (Lamiaceae) at different developmental stages, Original Scientific Paper, 37 (2): 127-139.

Les références bibliographiques

Malik, N.K. And Milton, J.M. (1980) Survival Of Verticillium In Monocotyledonous Plants. Transactions Of The British Mycological Society 75, 496–498.

Maoui R., Say B., El Hadj B., Frikh A., Girard C., 1990. La culture de la fève en Tunisie. Ed. I.N.R.A.T, O.N.H., AGROPOL. et I.T.C.F., 16p

Mccain A. H., Raabe R. D., And Wilhelm S. (1981). Plants Resistant Or Susceptible Toverticillium Wilt. Cooperative Extension, U.S. Department Of Agriculture, University Of California, Berkeley, 12 P.

Meraghni.M (2019). Etude de l'effet biopesticide de quelques extraits naturels d'une plante appartenant à la famille des Lamiacées (Doctoral dissertation, Université de Annaba).

Meraghni.M (2019). Etude de l'effet biopesticide de quelques extraits naturels d'une plante appartenant à la famille des Lamiacées (Doctoral dissertation, Université de Annaba).

OUGHADAD A., 1994. Statut de nuisibilité et écologie des populations de *Bruchus rufimanus* (Boh.) sur *Vicia faba* L. au Maroc : Thèse d'Etat en Sciences, N° 3628 Université de Paris-Sud Orsay, 182 p.

Pegg G. F. (1984). The Impact Of Verticillium Diseases In Agriculture, *Phytopathol. Mediterr.*,23, 176-192.

Pegg G.F.,Brady B.L.2002.Verticilium Wilts(Editeur: Cab International).Cabi Publishing,Wallingford,Uk.552p.

Perry, A J., Baxter, N J., Brennan, J W., Van Klin J., (1996). *Flavour Frag.* 11, 213.

Piccaglia, M., Marotti J., (1993). *Flavour Frag* 8, 115.

Pomerleau M.,Anunton R.,2006.Plantes thérapeutique. Ed. Lavoisier 99p.

Putievsky, U., Ravid, D., Sanderovich, J., Essent (1992). *Oil Res.* 4, 291.

Radulescu V. ;Silvia C. ;Eliza O.J ; Capillary gas chromatography, mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis* *Journal of chromatography* a 2004 ;121-126.

Rayaud J., 2006. Prescription et conseils en aromathérapie. Ed. Lavoisier, Paris, 400 p.

Rice K.C.,Wilson R.S,*J.Med.chem.*19 :1054 (1976).

Ristic D., Brikic N.T &Zalfija. (1999):*salvia officinalis* l ,Bric D (ed) institue for medicinal plants JosifPanacic. Belgrade and Art GrafikBelgrad , p 151-167.

Rus, C. F., Pop, G., Alexa, E., Şumălan, R. M., & Copolovici, D. M. (2015). Antifungal activity and chemical composition of *Salvia officinalis* L. essential oil. *Research Journal of Agricultural Science*,47(2).

Rus, C. F., POP, G., Alexa, E., Şumălan, R. M., & Copolovici, D. M., 2015. Antifungal activity and chemical composition of *Salvia officinalis* L. essential oil. *Research Journal of Agricultural Science*, 47(2).

Ryberg M., Moller C., Erriscon T., Salvia composition and carie development in asthmatic patients treated with B2 adrenoceptor, agonist, a four-years flow. Up Study. 1991; 99:212-8.

Schnathorst W.C. And Mathre D.E., 1966. Host Range And Differentiation Of Severe Form of *Verticillium albo-atrum* In Cotton. *Phytopathology*, 56: 1156- 1161.

Simonneau, D., Crosson, PH., Taupin, P., Bouttet, D, Chaillet, I., 2012. Bulletin Vigicultures : mode opératoire observations féveroles parcelles fixes. N°5, 14p.

Sinha, A.K. And Wood, R.K.S. (1967a) An Analysis Of Responses Of Resistant And Susceptible Tomato Plants To *Verticillium* Infection. *Annals of Applied Biology* 59, 143–154.

Tivoli B, Maurin N. et Oneroy C, 1986: "les maladies fongique de la féverole ", Bulletin fnams semence 98, INRA, France.

Touahria R., 1994: " Essai de lutte intégrée contre l'orobanche en culture de fève dans la zone sub-humide", mémoire d'ING, I.N.F.S.A, Mostaganem, 75p.

Tsankova, A N., Konkchiev, E M., Genova, J., (1994). *Essent. Oil. Res*, 6, 375

Vallad, G.E. and Subbarao, K.V. (2008). Colonization Of Resistant And Susceptible Lettuce Cultivars By Vallad, G.E. And Subbarao, K.V. A Green Fluorescent Protein-Tagged Isolate Of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 98: 871– 885.

Versenq P., Goutier J., Gueguen M., 2008. Le truffaut. Anti-maladies et parasites. Larousse. Ed. Octavo. 224p.

Wilhelm S. 1955. Longevity Of The *Verticillium* Wilt Fungus In Laboratory And Field. *Phytopathology*, 45:180–181. 40 Triki M.A., Hassaïri A., Mahjoub M. 2006. Premières Observations De *Verticillium dahliae* sur Olivier En Tunisie. *Bull Eppo Bull.*, 36 (1): 69–71.

Yarou, B. B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., & Francis, F. (2017). Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(4).

Yarou, B. B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., & Francis, F., 2017. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(4).