

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 و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENTELBA Amani et ELBEY BELMEHAL Hadjer

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Protection des cultures

Thème

Evaluation de l'activité antifongique des
extraits méthanoïques des feuilles de *Salvia
officinalis* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*
agent de la fusariose sur fève

Soutenue publiquement le 25/06/2023

DEVANT LE JURY

Président	BOUALEM Malika	MCA	Université de Mostaganem
Examineur	BERGHEUL Saida	MCA	Université de Mostaganem
Encadreur	SAIAH Farida	MCB	Université de Mostaganem
Co-Encadreur	FLITI Kheira	Doctorante	Université de Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire du Protection des végétaux

Année universitaire : 2022 -2023

Remerciement

Nous tenons tout d'abord remercier Allah de nous avoir données la force la patience, le courage et la persévérance d'aller jusqu'au bout pour terminer notre travail.

La réalisation de ce travail n'aurait pas abouti sans l'aide des personnes à qui nous adressons nos chaleureux mots de remerciements.

Nous tenons en premier lieu à exprimer nos sincères remerciements et gratitude à : Madame SAIAH Farida pour son encadrement, son soutien, et son aide précieuse dans la réalisation et la finition de ce mémoire, malgré ses lourdes et multiples responsabilités. Qu'elle soit aussi remerciée pour ses conseils avisés, sa bienveillance et pour le temps qu'elle nous 'a consacré. Elle a su nous guider vers les bonnes références,

Nos vifs remerciements vont au Co-encadrante Mademoiselle FLITI Kheira d'avoir accepté de nous diriger spécialement au niveau du laboratoire ainsi pour ses précieux conseils, ses orientations, pour tous son aide et surtout pour sa gentillesse.

Madame BOUALEM Malika qui nous a fait le grand honneur de présider le jury de ce mémoire .Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance,

Madame le Professeur BERGHEUL Saida pour avoir accepté d'apporter leurs compétences dans l'évaluation de ce travail.

Nous voudrions aussi remercier Monsieur BENYAMINA Adel et KERROUB Saleh, les techniciens de laboratoire de protection des végétaux pour leurs encouragements et leurs disponibilités.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à nos collègues du laboratoire : BENABED Fatima, KHEDIM Siham, CHELTIT Aissam eddine, OUAGHI Sidehmed, pour leur aide, amitié, gentillesse et leurs encouragements,

A tous nos amis de promotion, en particulier Safaa, Fatima, Djamila, Amel, merci pour votre bonne amitié et pour tout le moment que nous avons partagé ensemble

A tous les enseignants, les personnels et les étudiants de l'université Abdelhamid Ibn Badis, qu'ils trouvent ici l'expression de notre profond respect et grande considération.



Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier le tout Puissant Dieu pour la force et le courage qu'il m'a donnés pour la finalisation de mes études

Je dédie ce modeste travail :

Aux êtres les plus chers à mon cœur, ma mère Hafidha et mon père Tahar qui m'ont soutenue depuis toujours et n'ont ménagé aucun effort pour ma réussite.

À mes chers frères Younes, Youcef, Abdelrahman, Abdelwaheb, ainsi que leurs épouses et enfants.

À ma merveilleuse binôme Hadjer pour sa disponibilité et sa patience envers tout ce qu'on a enduré malgré les difficultés

À toutes mes proches amies en l'occurrence Kheira, Ikram, et Djezia.

Amani

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents ,l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie qui m'ont apportée leur appui durant toutes mes années d'étude, pour leur sacrifices et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, je vous dis merci !

*A mes sœurs **Nor El Houda, Hadil, Ariadj**, vous avez tant fait pour moi, vous croyez toujours en moi, votre support fait une grande différence dans ma vie.*

*A mon frère **Amine**, tu es l'épaule sur laquelle je peux toujours compter*

A ma Grand-Mère que j'estime beaucoup.

*A ma tante **Samia**,*

A toute ma grande famille sans exception, oncles, tantes, cousins et cousines ...etc.

*A ma belle-sœur **Ghoulane** et mes nièces **Razane et Ania**.*

*A mes amie **Ahlem et Kheira**, vous êtes toujours là pour moi, que cela soit dans les moments de joie ou de désespoir.*

*A ma chère binôme **Amani**, avec qui j'ai partagé des moments inoubliables, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.*

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance.

Hadjer

Résumé

Parmi les maladies inféodées à la fève (*Vicia faba*), la fusariose a présenté des dégâts très importants dans les cultures de cette année. L'isolement effectué sur des plants de fève malades présentant des pourritures nous a permis de mettre en cause un isolat de *Fusarium oxysporum*. Dans cette présente étude nous nous sommes proposés d'étudier l'activité antifongique de deux extraits méthanoïques de *Salvia officinalis* isolés par deux techniques différentes, macération et Soxhlet, sur le champignon isolé.

Nos résultats ont révélé que les méthodes d'extraction et la concentration de l'extrait avaient un effet significatif sur la croissance mycélienne et la sporulation du champignon avec une efficacité certaine de l'extrait méthanoïque par Soxhlet.

On a également testé l'effet de trois milieux de culture à savoir: PDA, Czapeck et FEA ; sur la croissance mycélienne et la sporulation de cet isolat. Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* est meilleure sur le milieu Czapeck alors que la sporulation est favorisée par le milieu PDA.

Mot clés: *Fusarium oxysporum*, *Vicia faba*, *Salvia officinalis*, activité antifongique, macération, soxhlet, milieu de culture.

Absract

Among the diseases associated with broad beans (*Vicia faba*), fusariosis is particularly damaging in this year's crop. Isolation carried out on diseased bean plants showing signs of rot enabled us to identify an isolate of *Fusarium oxysporum*. In the present study, we set out to investigate the antifungal activity of two methanoic extracts of *Salvia officinalis* isolated by two different techniques, maceration and Soxhlet, on the isolated fungus.

Our results revealed that extraction methods and extract concentration had a significant effect on mycelial growth and sporulation of the fungus, with a definite efficacy of the methanoic extract by Soxhlet.

The effect of three culture media was also tested: PDA, Czapeck and FEA; on mycelial growth and sporulation of this isolate. Results showed that *Fusarium oxysporum* mycelial growth was best on Czapeck medium, while sporulation was favored by PDA medium.

Key words: *Fusarium oxysporum*, *Vicia faba*, *Salvia officinalis*, antifungal activity, macération, Soxhlet, culture medium.

الملخص

من بين الأمراض المرتبطة بالفول (*Vicia faba*) ، الذبول الفيوزاريومي، الذي سبب أضرار جسيمة للمحاصيل هذا العام. إن العزل الذي تم إجراؤه على نباتات الفول المريضة والذي أظهر تعفنًا سمح لنا بالحصول على عزلة من *Fusarium oxysporum*. في هذه الدراسة الحالية ، اقترحنا دراسة النشاط المضاد للفطريات لمستخلصين من الميثانويك من *Salvia officinalis* تم الحصول عليهما بتقنيتين مختلفتين ، النقع و Soxhlet ، على الفطر المعزول.

أظهرت نتائجنا أن طرق الاستخلاص وتركيز المستخلص كان لهما تأثير كبير على نمو الفطريات وتكاثرها، مع وجود فعالية معينة لمستخلص الميثانويك بواسطة Soxhlet.

تم أيضًا اختبار تأثير ثلاثة وسائط حيوية، وهي: PDA و Czapeck و FEA. على النمو والتكاثر لهذه العزلة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن نمو *Fusarium oxysporum* أفضل على وسط Czapeck بينما يفضل الوسط PDA للتكاثر.

الكلمات المفتاحية : *Fusarium oxysporum*، الفول (*Vicia faba*)، *Salvia officinalis*، نشاط مضاد الفطريات ، النقع ، Soxhlet، الوسط الحيوي .

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I: Plante hôte, la fève (<i>Vicia faba</i>)	1
1. Généralité	1
2. Origine et répartition géographique de la fève	1
3. Caractères taxonomiques de fève	2
4. Les variétés de fèves décrites en Algérie:.....	3
4.1. Fève Aguadulce	3
4.2. Fève Séville	3
4.3. Fève Muchaniel	3
4.4. La Féverole.....	3
5. Production de la fève sèche	4
5.1. Production mondiale.....	4
5.2. Production nationale.....	5
6. Intérêt de la culture de la fève	6
6.1. Intérêt nutritionnelle	6
6.2. Intérêt agronomique de la fève.....	7
7. Caractères botanique de la fève	7
8. Cycle biologique ou stades phréologiques	8
9. Exigences de la culture de fève	9
9.1. Exigences édaphiques et climatiques	9
9.2. Exigences agronomiques	9
10. Problème phytosanitaire de la fève.....	10
10.1. Adventices.....	10
10.1.1. Plantes parasites " l'Orobanche "	10
10.2. Les ravageurs.....	11
10.3. Les maladies	12
10.3.1. Bactéries	12
10.3.2. Virus	12
10.3.3. Champignons.....	13
10.3.3.1. Anthracnose.....	13

10.3.3.2.	Mildiou	13
10.3.3.3.	Rouille	13
10.3.3.4.	Taches chocolat (<i>Botrytis fabae</i>)	14
Chapitre II : La fusariose de la fève		15
1.	Généralités sur le genre <i>Fusarium</i>	15
2.	Conditions environnementales	15
3.	<i>Fusarium oxysporum</i>	15
3.1.	Généralités	15
3.2.	Position taxonomique	16
3.3.	Les symptômes	16
3.4.	Cycle de vie de <i>F. oxysporum</i>	17
3.5.	Identification de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
3.5.1.	Aspect macroscopique	18
3.5.2.	Aspect microscopique	18
3.6.	Les moyens de lutte	19
3.6.1.	La lutte culturale	19
3.6.2.	La lutte génétique	19
3.6.3.	La lutte biologique	20
3.6.4.	La lutte physique	20
3.6.5.	La lutte chimique	20
3.6.6.	La lutte intégrée	20
Chapitre III: Les métabolites secondaires et <i>Salvia officinalis</i>		21
1.	Les métabolites secondaires	21
1.1.	Généralités	21
1.2.	Propriétés biologiques	21
1.3.	Composés phénoliques	22
1.3.1.	Généralités	22
1.3.2.	Classifications des composés phénoliques	22
1.3.2.1.	Les non flavonoïdes	23
1.3.2.2.	Les flavonoïdes	24
2.	La sauge :	25
2.1.	Généralité	25
2.2.	Classification botanique	26
2.3.	Répartition géographique	26
2.4.	Morphologie	27
2.5.	Propriétés biologique et utilisation de la sauge	28

2.6.	Toxicologie de la sauge	29
Partie expérimentale		
Chapitre I: Matériel et méthodes 31		
1.	Objectif du travail.....	31
2.	Matériel biologiques	31
2.1.	Matériel fongique	31
2.1.1.	Prélèvements des échantillons	31
2.1.2.	Isolement	32
2.1.3.	Purification de l'agent pathogène <i>Fusarium oxysporum</i> de la fève.....	33
2.1.3.1.	Repiquage.....	33
2.1.3.2.	Culture monospore	33
2.2.	La plante aromatique (<i>Salvia officinalis</i>).....	34
2.2.1.	La préparation de la plante aromatique pour l'extraction.....	34
2.2.2.	Détermination du taux d'humidité.....	34
2.2.3.	Le solvant d'extraction	35
2.2.4.	Préparation des extraits.....	35
2.2.4.1.	Extraction par Soxhlet	35
2.2.4.2.	Extraction par macération.....	36
2.2.4.3.	Rotavapeur.....	37
2.2.4.4.	Calcul du rendement de l'extraction.....	37
2.3.	Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de la sauge (<i>Salvia officinalis</i>) vis-à-vis du <i>Fusarium oxysporum</i> de la fève.	38
2.3.1.	Préparation des dilutions des composés phénoliques	38
2.3.2.	Conduite de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique «invitro» de l'extrait méthanoïque de <i>Salvia officinalis</i> vis-à-vis de <i>Fusarium oxysporum</i>	38
2.4.	Essai de l'effet de différents milieux de culture sur la croissance mycélienne et la sporulation de <i>Fusarium oxysporum</i>	40
2.4.1.	Choix des milieux de culture	40
2.4.2.	Méthode.....	41
2.5.	Analyse statistique.....	41
Chapitre II: Résultats et interprétation Erreur ! Signet non défini.		
1.	Isolement	Erreur ! Signet non défini.
2.	Résultats de culture monospore.....	Erreur ! Signet non défini.
3.	Etude morphologique du champignon retenu.....	Erreur ! Signet non défini.
3.1.	Etude macroscopique.....	Erreur ! Signet non défini.
3.2.	Etude microscopique du champignon retenu.....	Erreur ! Signet non défini.
4.	Conservation de l'agent pathogène <i>Fusarium oxysporum</i> de la fève ...	Erreur ! Signet non défini.

5. Taux d'humidité de la sauge..... **Erreur ! Signet non défini.**
6. Rendement des extraits méthanoïques de la sauge **Erreur ! Signet non défini.**
7. Evaluation de l'activité antifongique des extraits méthanoïques des feuilles de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* de la fève **Erreur ! Signet non défini.**
 - 7.1. Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque par macération sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*..... **Erreur ! Signet non défini.**
 - 7.2. Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque par Soxhlet sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* **Erreur ! Signet non défini.**
8. Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque des feuilles de la sauge sur la sporulation de *oxysporum*..... **Erreur ! Signet non défini.**
 - 8.1. Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque par macération des feuilles de sauge sur la sporulation de *Fusarium oxysporum* **Erreur ! Signet non défini.**
 - 8.2. Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque par Soxhlet des feuilles de sauge sur la sporulation de *Fusarium oxysporum* **Erreur ! Signet non défini.**
9. Comparaison entre les activités inhibitrices de l'extrait méthanoïque par macération et l'extrait méthanoïque par Soxhlet sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* ... **Erreur ! Signet non défini.**
10. Influence des milieux de culture sur le comportement in vitro de *Fusarium oxysporum*.... **Erreur ! Signet non défini.**
 - 10.1. Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* **Erreur ! Signet non défini.**
 - 10.2. Influence des milieux de culture sur la sporulation de *Fusarium oxysporum* **Erreur ! Signet non défini.**

Discussion

Conclusion

Références bibliographique

Annexes

Liste des figures

Figure 1: Air de répartition de <i>Vicia faba</i> (origine en orange, surface agricole en vert (BERAUD, 2007)).....	1
Figure 2: Les différents types et cultivars de la fève (RABIA, 2019).....	2
Figure 3: Variété de la fève (<i>Vicia faba</i>) (BESSAOUD et MAALAOUI, 2021).....	3
Figure 4: Variétés de la fève (<i>V. faba major L.</i>) et la féverole (<i>V. faba minor</i>) présentent en Algérie (MEZANI, 2011).....	4
Figure 5: Composition chimique de la fève (LARRALDE et MARTINEZ, 1991 in LOUDARENE et BOUZEBOUDJA, 2022).....	7
Figure 6: Différentes parties de la fève (MARDY, 2017).....	8
Figure 7: Espèces d'oranbanche(KHAIRI et TEMANI, 2009).....	10
Figure 8: Symptômes de quelques maladies virales sur fève (a, b, c) (TIFFRENT, 2009 et d ; THORBEN, 2007 in BOURKAIB, 2015).....	12
Figure 9: Symptômes de l'antracnose ((BOUTTET et al., 2009).....	13
Figure 10: Mildiou infestant les feuilles de fève (INRA, 2015).....	13
Figure 11: Tâches brunes rougeâtre de la rouille sur une feuille de fève (ABRAS et al.,2016)	14
Figure 12: Des tâches rouges brunes sur les feuilles causées par <i>Botrytis</i> sp. (ABRAS et al., 2016) ..	14
Figure 13: Pourriture fusarienne des racines et lésions de la tige (PEGG et MANNERS, 2014).....	17
Figure 14: Cycle infectieux de <i>F. oxysporum</i> (PEREZ-NADALES et al.,2014 in PLANCHON, 2018).....	18
Figure 15: Caractéristiques microscopiques de <i>Fusarium oxysporum</i> (BOTTON et al., 1990 in LAKHEL et ZEGHLOUL, 2013).....	19
Figure 16: Les principales classe d'acides phénolique (FLEURIET et al., 2005)	24
Figure 17: Structure des tanins (KIHელი et al., 2016).....	24
Figure 18: Structure générale des flavonoïdes (DE RIJKE et al., 2006).....	25
Figure 19: Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde (WALKER et al.,2004)	27
Figure 20: Principaux constituants de <i>Salvia officinalis</i> (BENCHACHOUA et SIMOUD, 2021).....	28
Figure 21: la carte géographique de Bouguirat (Mostaganem) (ORIGINALE, 2023).....	31
Figure 22: Echantillon de fève infecté par <i>Fusarium oxysporum</i> (Originale, 2023).....	32
Figure 23: Les étapes de l'isolement de <i>Fusarium oxysporum</i> (Originale, 2023).....	32
Figure 24: Schéma démonstratif des étapes de la culture monospore (BRAHIM et al., 2021)	33
Figure 25: Feuilles séchées et poudre de la sauge (ORIGINALE, 2023).....	34
Figure 26: Montage Soxhlet (ORIGINALE, 2023).....	36
Figure 27: La filtration de l'extrait méthanoïque obtenu par macération	37
Figure 28 : Passage de l'extrait au Rotavapeur (ORIGINALE, 2023).....	37
Figure 29: Les différentes dilutions du composé phénolique des extraits (ORIGINALE, 2023)	38
Figure 30: Essai de l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de la sauge vis-à-vis le <i>Fusarium oxysporum</i> (ORIGINALE, 2023).....	39
Figure 31: Essai des différents milieux de culture (Originale, 2023).....	41
Figure 32: L'aspect macroscopique des quatre isolats obtenus (ORIGINALE, 2023) .. Erreur ! Signet non défini.	
Figure 33: Aspect macroscopique de l'isolat de <i>F. oxysporum</i> après la culture monospore (ORIGINALE,2023)..... Erreur ! Signet non défini.	
Figure 34: Aspect macroscopique de <i>Fusarium oxysporum</i> sur PDA (ORIGINALE, 2023) Erreur ! Signet non défini.	
Figure 35: Identification microscopique de <i>Fusarium oxysporum</i> sur PDA (Originale, 2023) .. Erreur ! Signet non défini.	

Figure 36: conservation de *Fusarium oxysporum* dans des les tubes (ORIGINALE ,2023) **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 37: L'effet «in vitro» des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par macération de *S. officinalis* sur *Fusarium oxysporum* de la fève (ORIGINALE, 2023) **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 38: Effet de l'extrait méthanoïque par macération sur la croissance mycélienne de *Fusariumoxysporum* de la fève (ORIGINALE, 2023). **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 39: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par macération) des feuilles de *S. officinalis* (ORIGINALE, 2023)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 40: Effet de l'extrait par macération des feuilles de *Salvia officinalis* sur la vitesse de croissance de *Fusarium oxysporum* (ORIGINALE, 2023). **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 41:l'effet « in vitro » des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par Soxhlet de *S. officinalis* sur *Fusarium oxysporum* de la fève (ORIGINALE, 2023). **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 42: Effet de l'extrait par Soxhlet sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* de la fève (ORIGINALE, 2023). **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 43: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par Soxhlet) des feuilles de *Salvia officinalis* (ORIGINALE, 2023)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 44: Effet de l'extrait méthanoïque par Soxhlet des feuilles de *Salvia officinalis* sur la vitesse de croissance de *Fusarium oxysporum* (ORIGINALE,2023) **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 45: Taux d'inhibition de la sporulation de *F.oxysporum* sous l'effet desdifférentes concentrations de l'extrait méthanoïque (macération) des feuilles de *Salvia officinalis* (Originale, 2023)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 46: Taux d'inhibition de la sporulation de *F.oxysporum* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par Soxhlet) des feuilles de *Salvia officinalis* (Originale, 2023)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 47: Comparaison entre les taux d'inhibitions des deux extraits méthanoïques (Soxhlet et macération). **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 48: l'effet des trois milieux de culture sur *Fusarium oxysporum* de la fève (ORIGINALE, 2023)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 49: effet de différents milieux de cultures sur la croissance mycélienne de l'isolat de *Fusarium oxysporum* (ORIGINALE, 2023) **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 50: Vitesse de croissance de *Fusarium oxysporum* cultivés sur différents milieux (ORIGINALE, 2023)..... **Erreur ! Signet non défini.**

Figure 51: Effet des milieux de culture sur la sporulation de *F. oxysporum* (ORIGINALE, 2023) **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des tableaux

Tableau 1: Production, importation et exportation de fève/féverole (g 2020 in DHULL et <i>al.</i> , 2022) ...	5
Tableau 2: Évaluation de la superficie et production de la fève en Algérie (FAO, 2016 in BESSAOUD et MAALAOUI 2021)	6
Tableau 3: Les stades phénologiques de la fève (LOUDARENE et BOUZEBOUDJA, 2022).....	9
Tableau 4: Les principaux ravageurs de la fève.	11
Tableau 5: Principales classes des composés phénoliques (REZAIRE, 2012).	23

Tableau 6: Rendements des extraits méthanoïques de sauge (ORIGINALE, 2023).. **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

cm : centimètre

D : diamètre de la colonie.

d: diamètre de l'explant.

F.O : *Fusarium oxysporum*

FAO : food agriculture organisation

Fig : Figure

g : gramme

h : Heure

ha : hectare

J : Jour

qx : quintaux

R%: Rendement d'extrait en pourcentage

S : *Salvia*

Tab : Tableau

MS : Métabolite secondaire

INRA : Institut national de la recherche agronomique

f. sp. : Forma specialis

Introduction

Les légumineuses, source durable d'aliments riches en protéines, sont largement cultivées dans le monde entier. Le développement de la culture des légumineuses est essentiel pour diversifier les sources de protéines dans l'alimentation humaine afin de permettre un apport en macroéléments, pour les populations n'ayant pas ou peu accès à l'alimentation carnée (DESSAUX, 2020). Parmi les légumineuses, la fève (*Vicia faba L.*) est considérée comme une culture importante du point de vue écologique, nutritionnel et économique (MINGUEZ et RUBIALES, 2021 ; XIAO et *al.*, 2021), c'est une alternative agronomique viable aux céréales (SINGH et *al.*, 2013). Il s'agit d'une culture à usages multiples qui fournit divers services écosystémiques, c'est-à-dire qu'elle est cultivée principalement comme source alimentaire pour la population humaine résidant en Asie et en Afrique, comme alimentation animale (ensilage) dans la région européenne et comme fixateur de l'azote atmosphérique dans les sols agricoles, ce qui réduit considérablement l'application d'engrais synthétiques (ZHOU et *al.*, 2018 in DHULL et *al.*, 2022).

La fève peut être affectée par un large éventail de stress biotiques, comme des virus, des mauvaises herbes parasites, des nématodes, des insectes ravageurs, des maladies fongiques foliaires et des agents pathogènes transmis par le sol, (MINGUEZ et RUBIALES, 2021), y compris *Fusarium oxysporum* (Mahmoud et Abd El-Fatah, 2020)

Les espèces de *Fusarium*, l'un des agents pathogènes les plus critiques transmis par le sol, limitent la croissance et le rendement des cultures, et engendrent des pertes financières agricoles massives dans le monde entier (ZHENG et *al.*, 2022).

Le *Fusarium oxysporum* est l'espèce de *Fusarium* la plus importante sur le plan économique et la plus couramment rencontrée. Il est également classé le cinquième sur une liste des 10 principaux champignons pathogènes fongiques en fonction de leur importance scientifique et économique (DEAN et *al.*, 2012; GEISER et *al.*, 2013 in LOMBARD, 2019). La lutte chimique contre ces champignons engendrent un grand problème environnemental tel que l'érosion, la pollution des sols ou encore la sélection de maladies et de ravageurs résistants aux traitements phytosanitaires. Face à ce constat, de nouvelles préoccupations liées à la protection de l'environnement, ont vu le jour, ce qui a lancé un débat passionné sur la nécessité de mettre en œuvre de nouvelles solutions alternatives (WAHBI, 2016).

Dans cet optique, l'utilisation de végétaux ou de matières végétales comme biopesticides revêt une grande importance et mérite une plus grande attention; Parmi les

plantes riches en substance actives, on retrouve celles appartenant à la famille des Lamiacées. Cette dernière regroupe environ 233 genres et 6000 espèces (MERGHANI, 2019).

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'une de ces espèces: la sauge (*Salvia officinalis* L.). C'est une plante aromatique et médicinale d'origine méditerranéenne bien connue pour ses propriétés antioxydants, principalement dues à sa composition en composés phénoliques (LIMA et al., 2007). Ce travail a pour objectif, de pouvoir récupérer les principaux constituants de cette plante par deux méthodes d'extractions (la macération et le Soxhlet), afin de déterminer leurs activités antifongiques. Pour cela nous avons réparti cette étude en deux parties:

- Une première partie relative à l'étude bibliographique de: La fève *Vicia faba*, l'agent pathogène *Fusarium oxysporum*, et la plante aromatique *Salvia officinalis*.

- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale où nous avons présenté:

- Les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Les différents résultats obtenus et leur discussion.
- Une conclusion générale qui résume l'ensemble de ces résultats.

Partie bibliographique

Chapitre I: Plante hôte, la fève (*Vicia faba*)

1. Généralité

Les Légumineuses alimentaires sont considérées comme les plantes à graines les plus cultivées par l'homme, et occupent depuis longtemps une place importante, dans l'alimentation humaine. Elles jouent un rôle important dans le développement de l'économie nationale, des pays du Maghreb (KHALDI et *al.*, 2002). Vu leurs adaptation faciles aux différents milieux, nous pouvons les rencontrer dans la plupart des régions du monde (MEZANI, 2011)

La Fève ou féverole (*Vicia faba L.*) est l'une des légumineuses les plus anciennement domestiquées (MANICKAVASAGAN et THIRUNATHAN, 2020 in BOULEHLIB et *al.*, 2020) et l'une des cultures les plus importantes dans le monde (Khursheed et *al.*, 2018). Elle est la quatrième culture légumière pratiquée dans le monde après les petits pois, les pois chiches et les lentilles (YAHIA et *al.*, 2012).

2. Origine et répartition géographique de la fève

Selon (CUBERO, 2011 in MAGHBOUNE et NEKAA, 2020), le centre d'origine de *Vicia faba*. Serait le Proche-Orient, cette plante aurait été disséminée d'abord vers l'Europe centrale et la Russie puis vers l'est de la méditerranée et à partir de l'Egypte et les cotes arabes vers l'Abyssinie puis de la Mésopotamie vers l'Inde et la Chine. Au cours du 16ième siècle, la culture de la fève a été introduite en Amérique par les Espagnoles et vers la fin du 20ième siècle, elle réussit à atteindre l'Australie.

En Algérie, elle est principalement cultivée dans les plaines côtières et dans les zones sublittorales. C'est l'une des espèces les plus cultivées dans les régions montagneuses, particulièrement en Kabylie, pour l'alimentation humaine et animale (CHOUAKI et *al.*, 2006 in BOULEHLIB et *al.*, 2020)

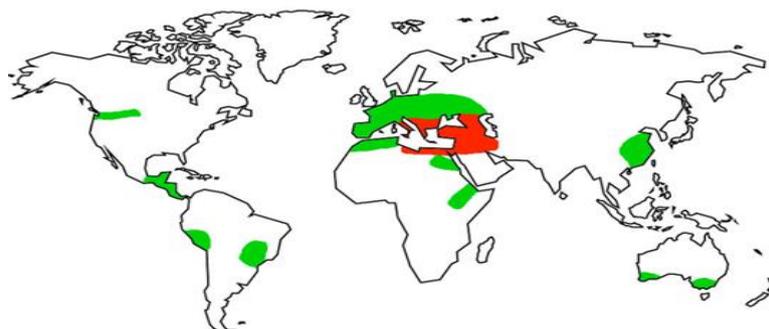


Figure 1: Air de répartition de *Vicia faba* (origine en orange, surface agricole en vert (BERAUD, 2007)

3. Caractères taxonomiques de fève

WOJCIECHOWSKI et al. (2004) et SAADI(2014) in HABALLAH *et al.*, (2018) ont décrit la classification de la fève comme suit :

Règne:	Plantae
Sous-règne:	Tracheobionta
Division:	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida
Sous-classe:	Rosidae
Ordre:	Fabales
Famille:	Fabaceae
Genre:	<i>Vicia</i>
Espèce:	<i>Vicia faba L.</i>

Sa classification se base sur la taille des graines et des gousses; les formes à petites, moyennes et grosses graines en constituent les catégories classiques (SMALL *et al.*,1998in BESSAOUD et MAALAOUI 2021).

- La variété "*minor*" correspond aux types à petits grains.
- la variété botanique "*équina*" aux types à grains moyens.
- la variété "*major*" représente les cultivars à gros grains.

Dans le langage courant *V. faba major* correspond à la fève potagère, *V. faba Minor* et *V. faba equina* représentent la fêverole au sens large (LEGUEN et DUC, 1992).

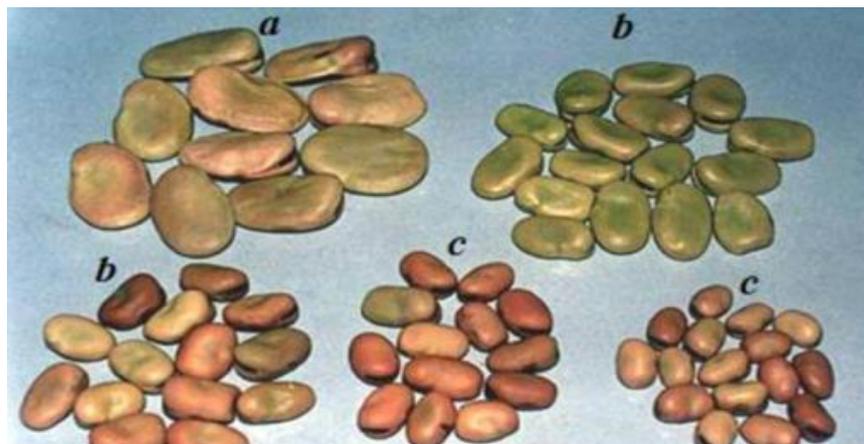


Figure 2: Les différents types et cultivars de la fève (RABIA, 2019)

- (a) : Graines de *vicia faba major* ;
(b) : Graines de *vicia faba equina* ;
(c) : Graines de *vicia faba minor*

4. Les variétés de fèves décrites en Algérie:

Les différentes variétés de la fève qui se trouvent en Algérie sont:

4.1.Fève Aguadulce

D'après CHAUX et FOURY (1994), c'est une variété demie précoce, très répandue en culture. Les gousses sont volumineuses de couleur vert franc, très longue pouvant atteindre 20 à 25 cm renfermant 7 à 9 graines. C'est une variété très productive.

4.2.Fève Séville

Selon LAUMONIER (1979), la variété Séville est très proche de la variété Aguadulce mais légèrement plus courte sur pied et plus petite en gousse (5 graines contre 6), elle est aussi légèrement plus précoce, elle reste une variété standard de rendement moyen.

4.3.Fève Muchaniel

D'après CHAUX et FOURY (1994), la fève de variété Muchaniel est une variété relativement très précoce et productive, elle a des gousses de couleur vert clair de 20 cm de longueur, renfermant de 5 à 6 graines blancs.

4.4.La Féverole

Elle possède un système racinaire très repoussant et structurant, et de surcroît l'une des plus performantes, en matière de fixation de l'azote (THOMAS, 2008).

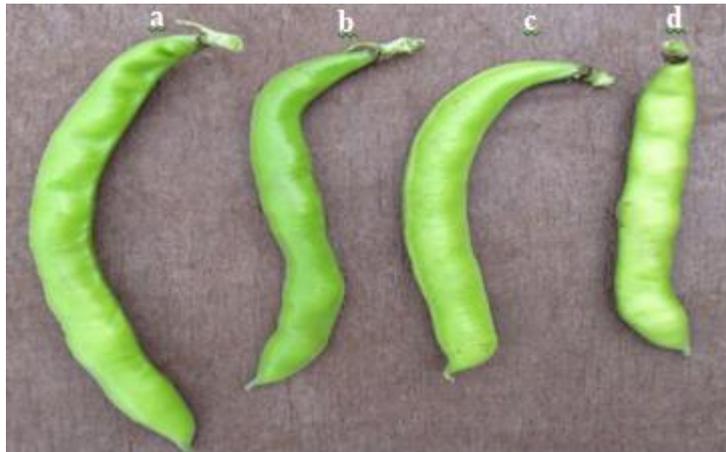


Figure 3: Variété de la fève (*Vicia faba*) (BESSAOUD et MAALAOU, 2021)

a : Aguadulce, **b :** Séville, **c :** Muchaniel, **d :**Extra précoce



Figure 4: Variétés de la fève (*V. faba major L.*) et la féverole (*V. faba minor*) présentes en Algérie (MEZANI, 2011).

a: Séville, b :Aguadulce, c :Muchaniel, d :Féverole

5. Production de la fève sèche

5.1. Production mondiale

La production mondiale de féveroles s'est élevée à 5,43 millions de tonnes métriques en 2019. Au niveau régional, l'Asie est en tête avec 33,55 % de la production totale de féveroles, suivie par l'Europe (UE) et l'Afrique, (FAO, 2020 in DHULL et al., 2022). Les pays producteurs, exportateurs et importateurs de féveroles sont présentés dans le tableau 1.

La Chine, l'Éthiopie représentaient environ 50 % de la production mondiale totale, tandis que dans l'UE, le Royaume-Uni et la France figuraient parmi les cinq premiers producteurs. En 2019, l'Australie était le premier exportateur de fève avec 265 543 tonnes métriques, soit près de 30 % des exportations totales, suivie par le Royaume-Uni, la Lituanie, l'Égypte et la Lettonie (FAO, 2020 in DHULL et al., 2022). L'Égypte est en tête des importateurs avec 309 355 tonnes métriques, soit 40,48 % des importations mondiales totales, suivie par la Norvège, l'Allemagne, l'Arabie saoudite et la France (FAO, 2020 in DHULL et al., 2022).

Tableau 1: Production, importation et exportation de fève/féverole (FAO 2020 in DHULL *et al.*, 2022)

	Leading countries	Quantity (metric tons)
Producers	China	1,740,945
	Ethiopia	1,006,752
	UK	547,800
	Australia	327,000
	France	177,380
Exporters	Australia	265,543
	UK	119,071
	Lithuania	92,445
	Egypt	71,022
	Latvia	66,860
Importers	Egypt	309,355
	Norway	56,437
	Germany	46,707
	Saudi Arabia	43,397
	France	30,396

5.2. Production nationale

En Algérie, la fève est retenue notamment pour la consommation humaine sous forme de gousses fraîches, ou en grains secs. La fève est cultivée sur l'ensemble des zones agro-écologiques d'Algérie. En effet, elle se trouve dans la zone littorale jusqu'aux hauts plateaux et dans la zone sublittoral. À l'ouest elle est cultivée dans les wilayas de Tlemcen, Mascara, Chlef; à l'Est-elle est cultivée à Skikda, Bejaia, Guelma; dans la région de Biskra la fève est également très cultivée (FELIACHI, 2002)

Tableau 2: Évaluation de la superficie et production de la fève en Algérie (FAO, 2016 in BESSAOUD et MAALAOUI 2021)

Compagne agricole	Superficie (ha)	Production (qx)	Rendement (qx/ha)
2006 - 2007	31284	279735	8,9
2007 - 2008	30688	235210	7,7
2008 - 2009	32278	364949	11,3
2009 - 2010	34210	366250	10,7
2010 - 2011	37090	379820	10,2
2011 - 2012	36835	405070	11
2012 - 2013	37668	423860	11,2
2013 - 2014	37499	413889	11
2014 - 2015	39977	448070	11,2
2015 - 2016	35147	375980	10,7
moyenne	35267,6	369283,3	10,39

D'après le tableau 2, la superficie moyenne réservée pour la culture de la fève en Algérie est de 35267,6 ha. Elle présente des variations d'une année à une autre, ce qui influe sur la production qui varie aussi, sur une moyenne de 10 années.

Nous constatons également des fluctuations de rendement, qui présente une moyenne de 10,39qx/ha. Le rendement maximal a été noté durant la compagne agricole 2008- 2009 avec 11,3qx/ha, par contre le rendement minimal est enregistré durant l'année 2007 /2008 avec 7,7qx/ha. Ces variations de rendement peuvent être expliquées, par la mauvaise conduite des cultures, ainsi que les conditions climatiques défavorables (BESSAOUD et MAALAOUI, 2021)

6. Intérêt de la culture de la fève

6.1. Intérêt nutritionnelle

La fève (*V. faba*) est l'une des légumineuses à grains les plus communes, utilisée pour la consommation humaine et animale (GOYOAGA et *al.*, 2011). Elle constitue un aliment nutritif très important surtout pour les populations à faible revenus, qui ne peuvent pas toujours s'approvisionner en protéine d'origine animale (DAOUI, 2007).

La valeur nutritive de la fève a été traditionnellement attribuée à un contenu à haute valeur protéique, qui varie de 25 à 35% malgré le déséquilibre en acides aminés soufrés. La plupart de ces protéines sont les globulines, les albumines, la glutiline et les prolamines. C'est aussi une bonne source de glucides, minéraux

notamment calcium et fer; vitamines; fibres. Aussi, l'analyse chimique de cette légumineuse relève sa richesse en acide gras linoléique (LARRALDE et MARTINEZ, 1991).

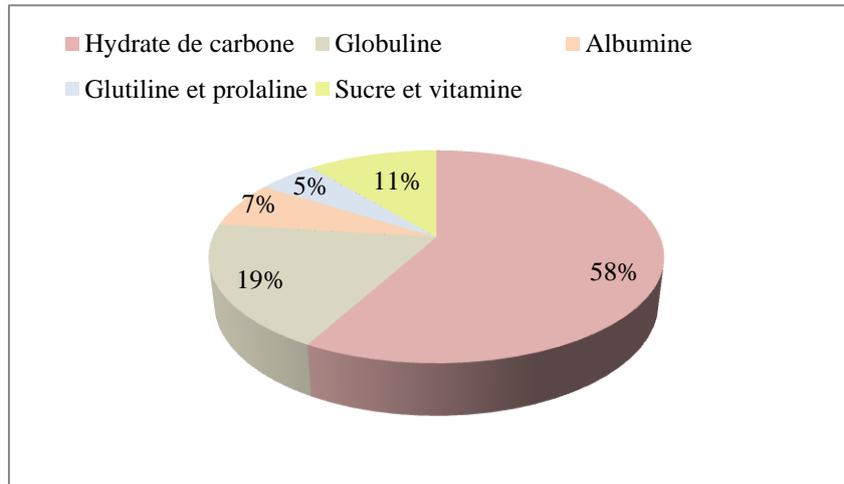


Figure 5: Composition chimique de la fève (LARRALDE et MARTINEZ, 1991 in LOUDARENE et BOUZEBODJA, 2022)

6.2. Intérêt agronomique de la fève

Jensen *et al.* (2010) rapportent que la fève améliore la teneur du sol en azote, Selon HAMADACHE (2003), elle améliore aussi sa structure par son système racinaire puissant et dense. Les résidus des récoltes enrichissent le sol en matière organique.

7. Caractères botanique de la fève

La fève est une plante annuelle, herbacée érigée et vigoureuse; diploïde ($2n=12$ chromosomes) et partiellement allogame (WANG *et al.*, 2012). Elle est formée d'un appareil végétal et d'un appareil reproducteur (LOUDARENE et BOUZEBODJA 2022).

Les tiges sont simples, creuses, carrées et dressées, tandis que les feuilles sont composées, ovales, charnues, terminées par une pointe, de couleur vert pâle à grise. Les folioles sont larges, de couleur verte plus terne, sans vrille. L'inflorescence est en racème de deux à cinq fleurs (parfois les fleurs sont solitaires), à corolle blanche ou rosée, avec des taches noires sur les ailes insérées aux nœuds. Il n'y a pas d'inflorescence terminale ce qui fait que la floraison est en principe indéfinie. Le fruit est une gousse dressée de 15 à 25 cm de long contenant 5 à 10 graines de forme ovale et aplatie avec une peau épaisse : les fèves. Elles sont protégées par une couche duveteuse blanchâtre. Les racines sont pivotantes avec de très nombreuses radicules portant des nodosités (BERAUD, 2007)

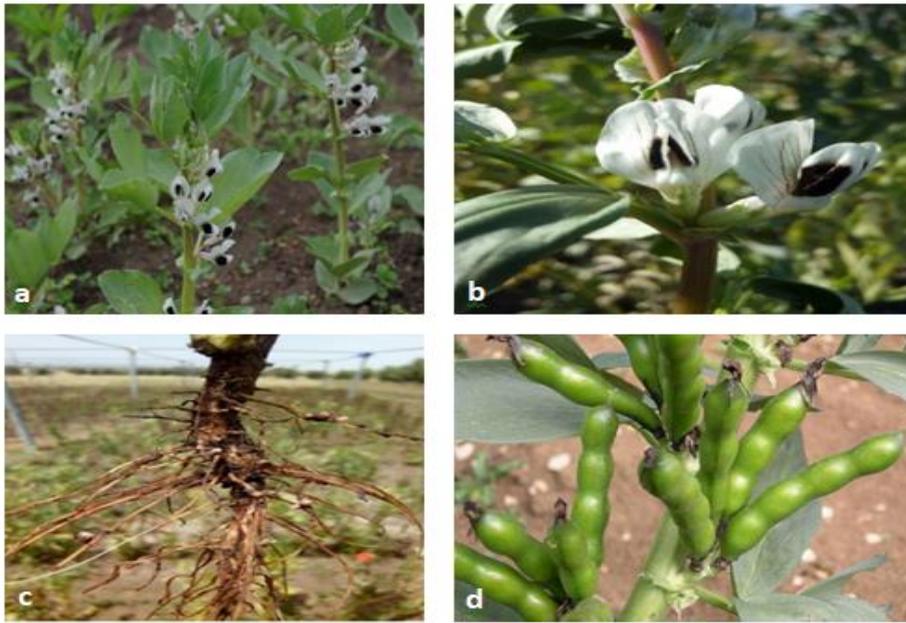


Figure 6: Différentes parties de la fève (MARDY, 2017)

a : pieds de la plante, **b :** fleur, **c :** racine, **d :** gousses

8. Cycle biologique ou stades phénologiques

La fève est une plante annuelle, son cycle complet, de la graine à la graine est d'environ 5 mois (CHAUX et FOURY, 1994). D'après BRINK et BELAY (2006) in LOUDARENE et BOUZEBODJA (2022), le développement de la fève est caractérisé par cinq stades principaux (Tab3): germination et levée, développement végétatif, sénescence de la gousse et sénescence de la tige.

Tableau 3: Les stades phénologiques de la fève (LOUDARENE et BOUZEBODJA, 2022)

Stades de développement	Définitions	Périodes
Stade de levée	correspond à la sortie de la première paire de feuilles.	Novembre
Stade deux feuilles	apparition de deux paires de folioles.	Décembre
Début de floraison	ce stade correspond à l'apparition des bouquets floraux	Février-Mars
Stade de pleine floraison	c'est le début de la formation des gousses	Mars-Avri
Maturité	c'est le grossissement des gousses	Mai
La récolte	c'est la récolte des gousses sèches.	Début Juin

9. Exigences de la culture de fève

9.1.Exigences édaphiques et climatiques

Culture peu épuisante, elle préfère les terrains argilo-limoneux aux sols calcaires. Elle préfère les sols profonds, bien drainés et presque neutres (pH de 6,5 à 7,5) avec une alimentation hydrique régulière (Sibennacheur, 2007 in DEBBAKH, 2021). Une température quotidienne moyenne aux alentours de 13 °C est optimale pour sa croissance La résistance au froid est très variable pour la fève (*Vicia faba L.*) Suivant les types variétaux (de printemps ou d'hiver). *Vicia faba L.* est tolérante aux excès d'eau .En revanche. Elle est sensible à la sécheresse et aux fortes chaleurs au moment de la floraison (DEBBAKH, 2021)

9.2.Exigences agronomiques

Afin d'assurer à la plante une bonne autonomie vis-à-vis de ses besoins en eau, et en raison de son enracinement pivotant, une bonne préparation du sol avec un labour profond est conseillé (CHAUX et FOURY, 1994). Selon ANONYME (1977) in AMARA et BOUARROUDJ (2020), un labour d'été de 30 à 35cm de profondeur suivit d'un désherbage est recommandé. Il est déconseillé de faire revenir la fève avant 4 ou 5 ans sur la même parcelle de même, les autres légumineuses (pois chiche, lentille, haricot.....) sont également

déconseillées en raison du risque de développement des maladies, des ravageurs et autres parasites (orobanches, nématodes...) (MAOUI *et al.* 1990).

Selon LAUMONIER (1979), d'après les régions et les variétés, le semis de la fève peut s'effectuer à partir du mois d'octobre jusqu'à la fin du mois de février et début du mois de mars; dans certains cas nous pouvons aller jusqu'au début du mois de mai; en Algérie, le semis est réalisé au mois de novembre afin d'éviter la sécheresse printanière et le développement de l'orobanche.

10. Problème phytosanitaire de la fève

10.1. Adventices

La fève est une culture sensible à la compétition des adventices. Des pertes de rendement en grain de 18% ont été obtenues quand les adventices n'ont pas été contrôlés durant les 40 premiers jours après le semis de la culture (Zemrag, 1998 in TANJI , 2001). D'ailleurs, les pertes dues aux adventices dépendent de plusieurs facteurs, en particulier la variété, le peuplement, l'espèce adventice et sa densité (TANJI, 2001).

10.1.1. Plantes parasites " l'Orobanche "

La fève peut être parasitée par 3 espèces d'orobanche : *Orobanche crenata* (Figure 7 b), *Orobanche foetida* (Figure 7 a) et *Phelipanche aegyptiaca* (PEREZ-DE-LUQUE *et al.*, 2010).

C'est une plante holoparasite sans chlorophylle, qui dépend entièrement de son hôte, pour réaliser son cycle biologique (KHARRAT, 2002). Elle occasionne des pertes considérables, pouvant entraîner la destruction totale de la fève (ABBES *et al.*, 2010). D'après HAMADACHE (2003), l'espèce la plus connue en Algérie est l'Orobanche spécifique (*Orobanche crenata* Forsk)

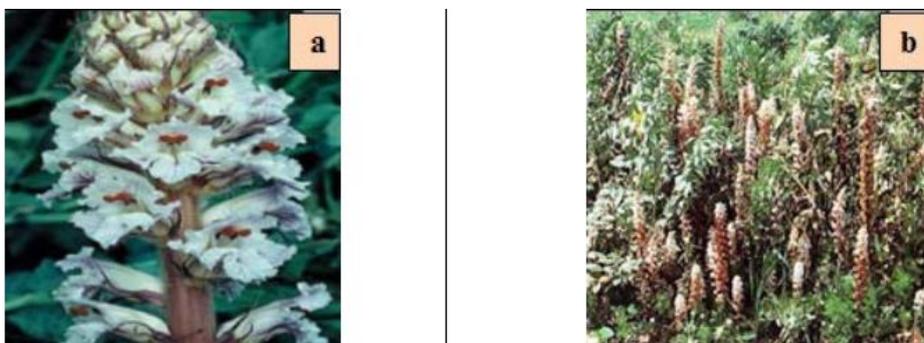


Figure 7: Espèces d'orobanche (KHAIRI et TEMANI, 2009)

Orobanche crenata (a), *Orobanche foetida* (b)

10.2. Les ravageurs

La fève est attaquée par plusieurs ravageurs, le tableau 4, regroupe les principaux insectes et ravageurs de cette espèce.

Tableau 4: Les principaux ravageurs de la fève.

Ravageur	Dégâts	Références
<p>Sitone du pois (<i>Sitona lineatus</i>)</p> 	<p>Les adultes mordent les feuilles, mais ce sont les larves qui occasionnent le plus de dégâts en détruisant les nodosités.</p> 	<p>(DOSDALL <i>et al.</i>, 2009). (BOUTTET <i>et al.</i>, 2009)</p>
<p>Nématodes des tiges (<i>Ditylenchus dipsaci</i>)</p>	<p>Sur les plantes, <i>D. dipsaci</i> provoque des gonflements et des lésions qui virent au marron rougeâtre puis noir. Les plantes infestées sont chétives, tordues et épaissies.</p> 	<p>(BOIZET et VANNETZEL 2013).</p>
<p>Le bruche de la fève (<i>Bruchus rufimanus</i>)</p> 	<p>L'adulte pond sur les gousses ; la larve y pénètre puis dans les graines où elle termine son développement, en dépréciant la qualité des graines</p> 	<p>BOUGHADAD, 1994) (BOUTTET <i>et al.</i>, 2009)</p>
<p>Pucerons de la fève (<i>Aphis fabae</i>)</p> 	<p>Il provoque le dessèchement, les dégâts se manifeste par : Une moindre croissance, Mauvaise fructification, l'enroulement et chute précoce des feuilles, installation du fumagine et transmission des virus.</p> 	<p>(GODIN et BOIVIN, 2002). (DEDRYVER, 2010 in ARAB et FEDDI, 2018)</p>

10.3. Les maladies

La fève peut être aussi attaquée par diverses maladies bactériennes, virales et fongiques.

10.3.1. Bactéries

La fève est susceptible d'être attaquée par des bactéries, telles que *Bacterium phaseoli*, *Bacterium vicia*, *Pseudomonas viciae* (MUEHLBAUER *et al.*, 1997).

10.3.2. Virus

Les virus sont pour la plupart disséminés par des vecteurs (puçerons, nématodes, coléoptères) et certains d'entre eux sont transmis par semence. Les travaux menés en Algérie ont permis de mettre en évidence l'existence de huit virus dont les plus importants sont : *Bean yellowmosaic virus* (BYMV) (Figure 8 a), *Broad Bean Mottle Virus* (BBMV) (Figure 8 b), *Bean LeafRoll Virus* (BLRV) (Figure 8 c), *Pea EnationMosaic Virus* (PEMV) (Figure 8d) et *Afalfamosaic virus* (AMV) (OUFFROUKH et AGGAD, 1996). Le *Faba Bean Necrotic Yellow Virus* (FBNYV) est l'un des premiers virus identifié dans l'Est de l'Algérie. Il provoque une mosaïque, une jaunisse et des nécroses sur les feuilles (ALLALA *et al.*, 2001 in BOURKAIB, 2015).

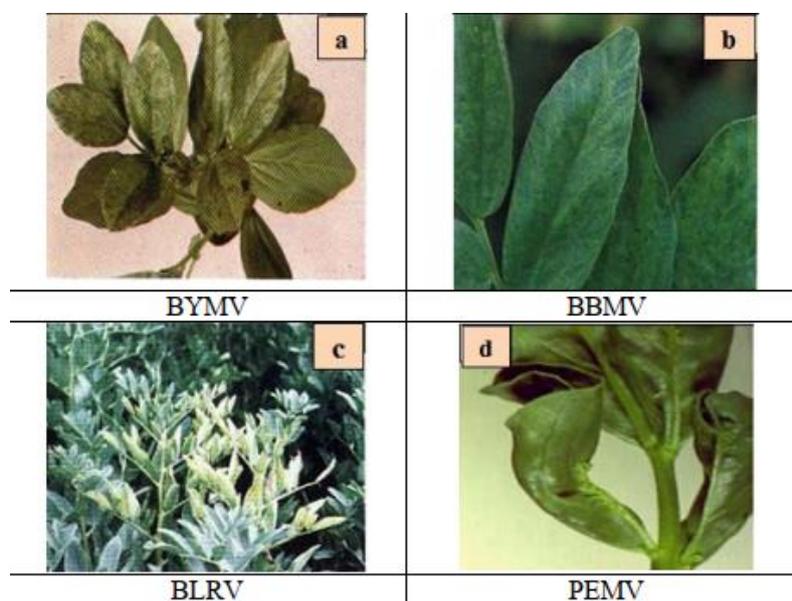


Figure 8: Symptômes de quelques maladies virales sur fève (a, b, c) (TIFFRENT, 2009 et d ; THORBEN, 2007 in BOURKAIB, 2015).

10.3.3. Champignons

Parmi les maladies fongiques qui peuvent attaquer la fève nous pouvons citer :

10.3.3.1. Anthracnose

L'anthracnose causée par *Ascochyta fabae*, se manifeste par des petites taches claires, qui évoluent en grosses taches sur les feuilles (Figure 9 a). Cette maladie entraîne des dégâts dès la levée de la végétation et provoque l'éclatement des tiges et des gousses (Figure 9 b) (PLANQUAERT, 1987 et GIRARD, 2014 in BOURKAIB, 2015).



Figure 9: Symptômes de l'anthracnose ((BOUTTET et al., 2009)

a: sur feuille

b: sur grains

10.3.3.2. Mildiou

Le Mildiou (*Peronospora viciae*) se manifeste par un jaunissement des plantes, déformation des tiges et des pétioles, apparition d'un feutrage blanchâtre sur la face inférieure de la feuille (TIVOLI et al., 1986 in DJERIBIAI, L 2016).



Figure 10: Mildiou infestant les feuilles de fève (INRA, 2015)

10.3.3.3. Rouille

Causée par *Uromyces viciae-fabae*, la rouille est une maladie grave de la fève (Fig.11). Au Moyen-Orient et Afrique Orientale, elle cause des attaques sévères qui atteignent

jusqu'à 70% des cultures. Selon MESSIAEN et *al.* (1991), la rouille conduit à l'affaiblissement des plantes, la diminution du nombre et du remplissage des gousses, et à des dessèchements prématurés dans les cas les plus graves (LOUDARENE et BOUZEBODJA, 2022)



Figure 11: Tâches brunes rougeâtre de la rouille sur une feuille de fève (ABRAS et *al.*, 2016)

10.3.3.4. Taches chocolat (*Botrytis fabae*)

Les études menées durant ces dernière années en Algérie ont montré que *Botrytis fabae* et *botrytis cinerea* causent des symptômes similaires sur leur plante hôte, la fève (BOUZNAD et *al.* 2011).

Ce sont des champignons nécrotrophes connus, comme la principale cause de la maladie dite « taches chocolat » de la fève dans le champ, où le champignon forme des lésions bruns foncés (COLE et *al.*, 1998).



Figure 12: Des taches rouges brunes sur les feuilles causées par *Botrytis* sp. (ABRAS et *al.*, 2016)

Chapitre II : La fusariose de la fève

1. Généralités sur le genre *Fusarium*

L'origine de l'appellation *Fusarium* est liée au mot latin *fuscus*, du fait que les spores des champignons de ce genre sont en forme de fuseau. (BOOTH, 1984).

Les espèces de *Fusarium* sont des champignons filamenteux cosmopolites, comprenant des pathogènes opportunistes infectant les plantes du monde entier, mais pouvant également se développer en tant que saprophytes dans diverses zones climatiques (STEPIEN et al., 2019). On distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature, et dans les sols cultivés, et sont actives dans la décomposition de matières végétales celluloseuses. Elles sont généralement associées aux céréales et aux légumineuses, qu'elles envahissent généralement avant la récolte comme *F. solani* et *F. oxysporum* (PITT et al., 2009; STEPIEN et al., 2019 in BOUTABA et CHAUCHE, 2019). Elles sont responsables de nombreuses maladies connues sous le terme de fusarioses, telles que le flétrissement vasculaire ou la pourriture racinaire et du collet (LEPOIVRE, 2003 in LALIBI, 2022)

2. Conditions environnementales

Les champignons du genre *Fusarium* sont surtout présents dans les régions subtropicales du monde (MCGOVERN et al., 2001 in AJILOGBA et al., 2013). La température optimale pour l'infection se situe entre 27 et 31°C, mais la maladie peut se développer à une température plus basse.

Les niveaux d'humidité du sol favorable au développement du *Fusarium* sont compris entre 28 et 75 %, avec un pH compris entre 6 et 8 (GLEN et al., 2003)

Le flétrissement fusarien peut rester viable dans le sol jusqu'à 30 ans (THANGAVELU et al., 2003). Il est destructeur pour les plantes et progresse rapidement. (AJILOGBA et al., 2013).

3. *Fusarium oxysporum*

3.1. Généralités

Fusarium oxysporum est un micromycète cosmopolite, pathogène, responsable des dommages causés à plus de 100 cultures à travers le monde économiquement importantes (LALIBI, 2022). *F. oxysporum* est une espèce anamorphe qui comprend des souches pathogènes et non pathogènes. Les formes pathogènes des plantes provoquent une maladie de

flétrissement et sont regroupées en formae speciales en fonction de leur gamme d'hôtes (GORDON, 1997).

3.2. Position taxonomique

Fusarium oxysporum a plus de 120 formes spéciales. La position systématique de *Fusarium oxysporum* est comme suit (SOLTANE, 2022):

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

3.3. Les symptômes

Chez la féverole, le flétrissement fusarien est l'une des principales maladies dévastatrices qui menacent les cultures à haut rendement et à grande surface, et qui est principalement causée par un champignon pathogène *F. oxysporum f. sp. fabae (FOF)* transmis par le sol (GUO et al., 2021 in ZHANG et al., 2022)

Les symptômes du flétrissement fusarien de la fève causé par *F. oxysporum* comprennent le jaunissement et le flétrissement des feuilles, qui finissent par noircir et mourir. Le système de faisceaux vasculaires du système racinaire et des tiges devient brun à noir, avec une décoloration et une décomposition à la base du système racinaire et des tiges (ZHANG et al., 2022)



Figure 13: Pourriture fusarienne des racines et lésions de la tige (PEGG et MANNERS, 2014)

3.4. Cycle de vie de *F. oxysporum*

Les exsudats racinaires sécrétés par la plante dans la rhizosphère provoquent la germination des spores de *F. oxysporum*. Le mycélium du champignon se développe dans le sol jusqu'à atteindre la racine de la plante hôte. Le champignon sécrète alors des enzymes de dégradation de la paroi (CWDEs, Cell Wall-Degrading Enzymes) (LIONETTI et al., 2012). Le champignon se développe jusqu'au cylindre central puis commence à envahir les vaisseaux du xylème en produisant des spores. Afin de limiter le développement du champignon, la plante développe des bouchons vasculaires », comme les tyloses qui résultent d'une expansion des cellules du xylème (GONZALEZ et al., 2001 in PLANCHON, 2018).

L'ensemble de spores, mycélium et bouchons développés par la plante va provoquer une obstruction des vaisseaux du xylème, empêchant l'apport d'eau. C'est alors que se développent les premiers symptômes de la fusariose qui se traduisent par un dessèchement acropète de la plante et un recourbement en crosse de l'apex. En fin de cycle, le champignon développe des spores à la surface des feuilles et graines infectées qui, au moment du rouissage, retourneront au sol pour effectuer un nouveau cycle infectieux (PLANCHON, 2018)

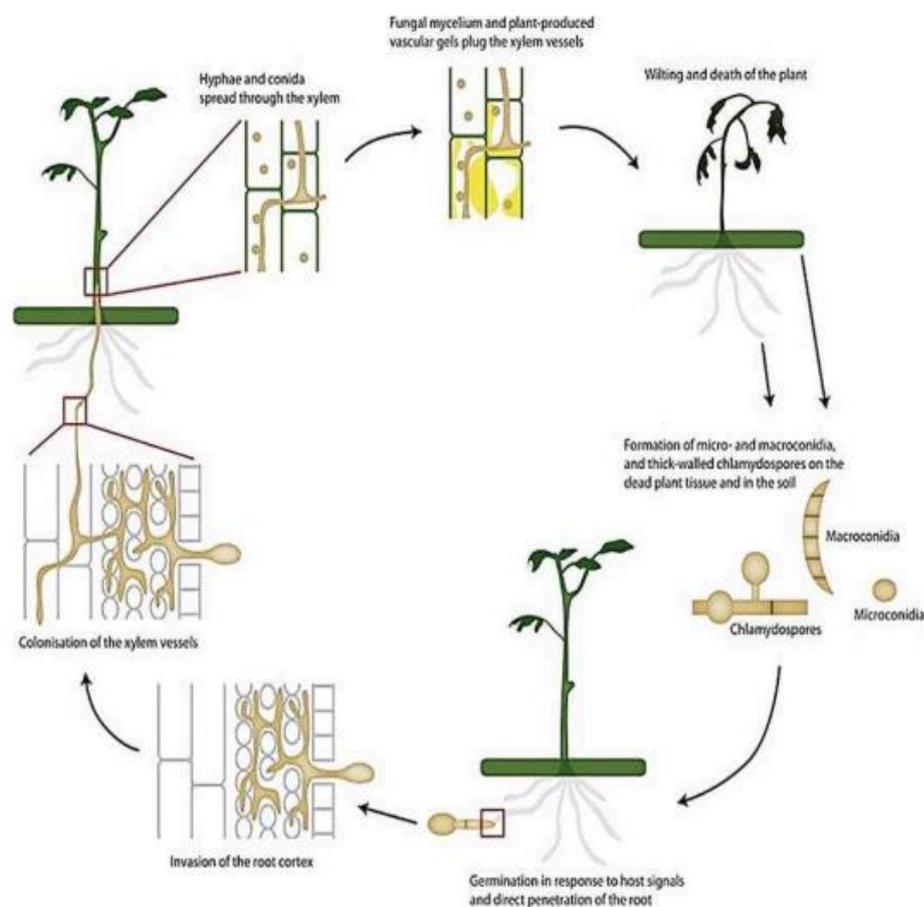


Figure 14: Cycle infectieux de *F. oxysporum* (PEREZ-NADALES et al., 2014 in PLANCHON, 2018)

3.5. Identification de *Fusarium oxysporum*

3.5.1. Aspect macroscopique

En culture, les colonies des isolats de *Fusarium* présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes souvent avec une teinte pourpre, et sont clairsemés à abondants. Leur mycélium est septé et incolore (BOOTH, 1984).

3.5.2. Aspect microscopique

L'espèce est caractérisée par la présence de Macroconidies abondantes, incurvées, avec une cellule basale bien marquée; elles contiennent 3 à 5 septa (23 à 54 μm de long sur 3 à 4.5 μm de large). Ainsi que des microconidies abondantes, fusiformes ou en forme de reins, produites dans de fausses têtes à partir de monophialides courtes, robustes et solitaires (8 à 20 μm de long sur 3 à 5 μm de large). Et de nombreuses chlamydospores produites isolées ou par paire (CHABASSE et al., 2002; PITT et HOCHING, 2009 in BOUTABA et CHAUCHE, 2019)

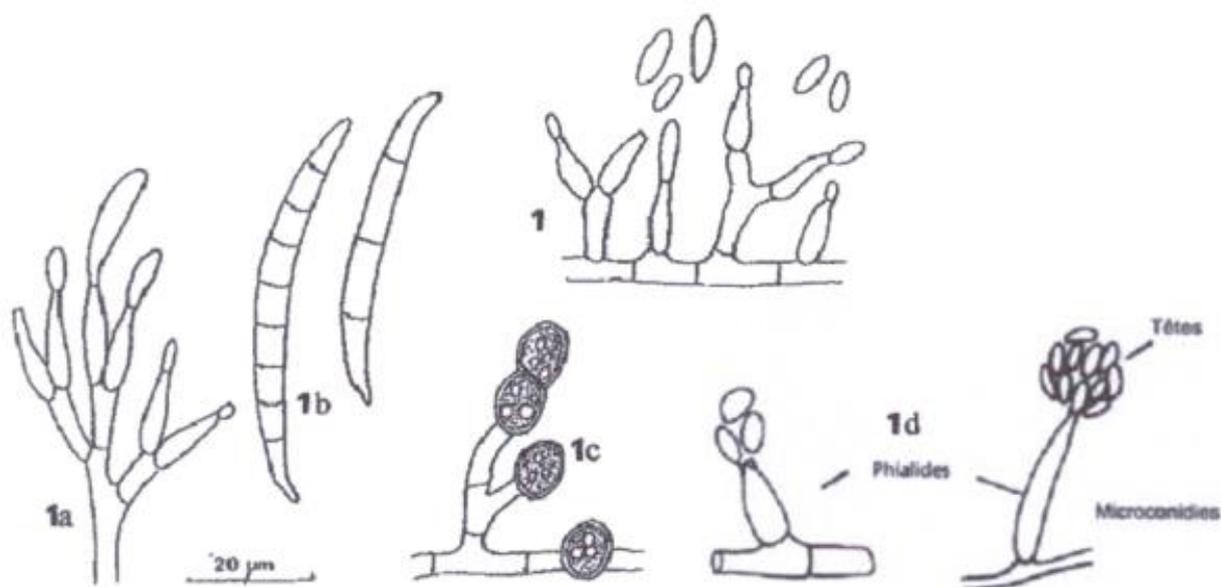


Figure 15: Caractéristiques microscopiques de *Fusarium oxysporum* (BOTTON *et al.*, 1990 in LAKHEL et ZEGHLOUL, 2013)

1a- macrophialides ;

1b -macroconidies ;

1c-chlamydospores ;

1d- microphialides et microconidies

3.6. Les moyens de lutte

Le contrôle des fusarioses est difficile à cause de leur pouvoir saprophyte, leur aptitude à coloniser les plantes non hôtes et de survivre à des conditions défavorables, ainsi que leur capacité de persister de longues périodes dans le sol en l'absence de la plante. (BENHAMOU *et al.*, 1997 in BELHOUAN et BOUSSAHA, 2017).

3.6.1. La lutte culturale

Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent la maladie, comme la destruction des débris de récolte des plantes fusariées. La jachère de longue durée, la rotation culturale avec des cultures non- hôtes, peuvent agir sur la densité de l'inoculum présent dans le sol (EDEL *et al.*, 1995; SCOTT *et al.*, 2012 in BELHOUAN et BOUSSAHA, 2017).

3.6.2. La lutte génétique

Elle consiste à introduire des gènes de résistance au niveau des plantes appelées plantes trans-génétiques. Ces gènes sont responsables de la synthèse de protéines capables

d'éliminer le parasite. Cependant, cette technique fut inefficace car elle a été à l'origine de l'apparition de races plus virulentes (HENNI, 1998)

3.6.3. La lutte biologique

Le control biologique se base sur l'exploitation des potentialités microbiennes antagonistes ont fait l'objet de plusieurs études. Parmi les microorganismes expérimentés avec succès, à l'égard des maladies d'origine tellurique, les *Pseudomonas* spp. fluorescents et les *Fusarium* non pathogènes occupent une place de choix (ARMSTRONG et ARMSTRONG, 1981) .

De même, il a été démontré que des souches de *F. oxysporum* non-pathogènes pour une espèce végétale peuvent entrer en compétition pour les nutriments ou la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes (ALABOUVETTE *et al.*, 1998 in HOADJLI,2022). Ainsi, l'activité infectieuse des formes spéciales de *F. oxysporum* peut être limitée par cette compétition.

3.6.4. La lutte physique

Elle consiste à stériliser le sol par la chaleur avant toute transplantation par la solarisation ou le traitement des racines avec de l'eau chaude entre 48 et 49°C pendant 30 secondes (ANCHISI *et al.* , 1985 in BELHOUAN et BOUSSAHA,2017).

Mais généralement, ni le traitement à l'eau chaude ni la solarisation ne sont des solutions efficaces à long terme (CORBAZ, 1990 in BELHOUAN et BOUSSAHA,2017).

3.6.5. La lutte chimique

Elle est efficace mais présente beaucoup d'effets néfastes, elle se fait par une désinfection du sol à l'aide de fongicides. Les fongicides les plus usités reste le triazole et ces dérivés qui sont des composés très actifs grâce à leur noyau qui possède une activité pharmacologique, antibactérienne, antifongique (HAMOIR *et al.*, 2001 in HOADJLI, 2022).

3.6.6. La lutte intégrée

C'est la combinaison de toutes les techniques précédentes afin de lutter contre les phytopathogènes pour une longue durée. Ces méthodes ne sont efficaces que si l'on a une meilleure connaissance des mécanismes qui sont à l'origine des interactions entre la plante et l'agent pathogène (CORBAZ, 1990 in HOADJLI, 2022) .

Chapitre III: Les métabolites secondaires et *Salvia officinalis*

1. Les métabolites secondaires

1.1. Généralités

Les plantes produisent des métabolites primaires (les sucres, les acides gras, les acides aminés et nucléiques) utilisés pour leur croissance et leur développement. Les produits dérivés des métabolites primaires, non directement impliqués dans la croissance et le développement, sont considérés comme des métabolites secondaires (MS).

En général, les MS sont synthétisés à partir de modification de la biosynthèse, notamment la méthylation, glycosylation et l'hydroxylation (FIGUEREDO *et al.*, 2008; EHRLICH *et al.*, 1971 in TWAIJ et HASAN, 2022).

Les MS ayant une répartition spécifiques dans les organes, souvent une faible concentration. Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, particulièrement dans la défense, la compétition, la symbiose ou la pollinisation (HARTMANN, 2007; LATTANZIO, 2013; OKSMAN-CALDENTEY et INZE, 2004 in MKONGWA, 2022).

Il existe trois groupes chimiquement distincts des MS: les terpènes et stéroïdes, les composés phénoliques, les composés contenant du N (azote) et du S (soufre) (CROZIER *et al.*, 2006).

1.2. Propriétés biologiques

Les métabolites secondaires ont pour rôle principale d'assurer des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.) (BOURGAUD *et al.*, 2001 in IDER *et al.*, 2017).

Ils sont généralement connus pour leurs activités antioxydantes, anti-cancérogènes, anti-inflammatoire et antimicrobiennes. Ils sont également utilisés depuis bien longtemps, comme arôme, parfums, colorants, produits pharmaceutiques et pesticides (OKSMAN-CALDENTEY et INZE, 2004; PAGARE *et al.*, 2015 in TWAIJ et HASAN, 2022).

1.3. Composés phénoliques

1.3.1. Généralités

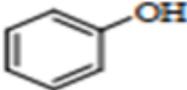
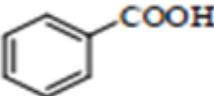
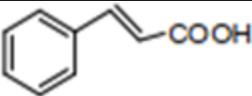
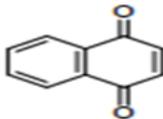
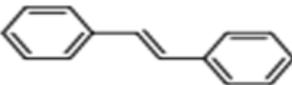
Parmi les métabolites secondaires, les composés phénolique constitue le groupe le plus important avec plus de 8000 structures phénoliques connues, les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (BETA et *al.*, 2005 in KABRAN et *al.*, 2014).Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Ce nom provient du composé parent le plus simple: le phénol. (FLEURIET et *al.*, 2005 in KABRAN et *al.*, 2014).

Ces composés ont une application thérapeutique contre les microorganismes pathogènes (les bactéries, les champignons et les virus), les radicaux libres et l'inflammation (OKIGBO et OMODAMIRO, 2006 in IDER et *al.*, 2017).

1.3.2. Classifications des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être classés sur la base; de leur structure chimique (la nature de leur squelette carboné, le nombre, l'arrangement des atomes de carbone et la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique); de Composition (contenant de l'azote, de sucres ou non); de solubilité dans divers solvants; et de la voie par laquelle ils sont synthétisés. Mais ils sont généralement classés en fonction de cette dernière (TIWARI et RANA, 2015). Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base. (MUANDA, 2010).

Tableau 5: Principales classes des composés phénoliques (REZAIRE, 2012).

Squelette carboné	Classe	Structure de base
C6	Phénols simples	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	
C6-C3	Acides hydroxycinnamique coumarines	
C6-C4	Naphtoquinones	
C6-C2-C6	Stilbènes	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
(C6-C3)2	Lignanes	
(C6-C3)n	Lignines	
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés	

1.3.2.1. Les non flavonoïdes

Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones..(MUANDA, 2010).

➤ **Les acides phénoliques**

On distingue deux principales classes d'acide phénolique; les dérivés de l'acide benzoïque(a) et les dérivés de l'acide cinnamique (b) (FLEURIET *et al.*, 2005).

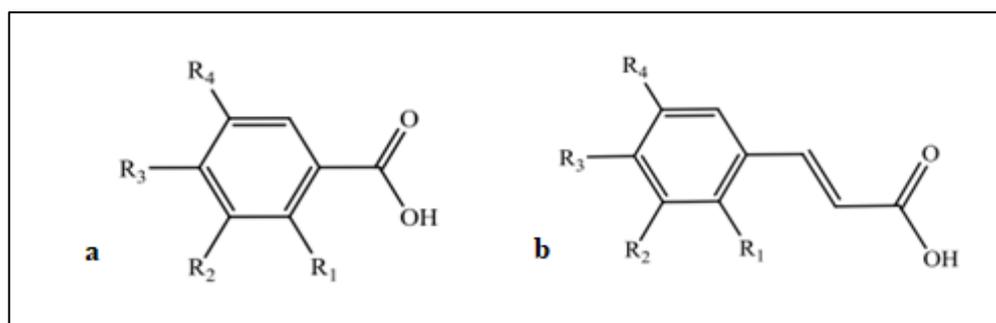


Figure 16: Les principales classes d'acides phénoliques (FLEURIET *et al.*, 2005)

a : Dérivés de l'acide benzoïque ; b : Dérivés de l'acide cinnamique

➤ Les tanins

Les tanins sont isolés dans les vacuoles (RAVENET *al.*, 2014 in MERABET et BAOUALI, 2020).

Selon BRUNETON (1999), on distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique. On note les tanins hydrolysables et les tanins condensés (MERABET et BAOUALI, 2020).

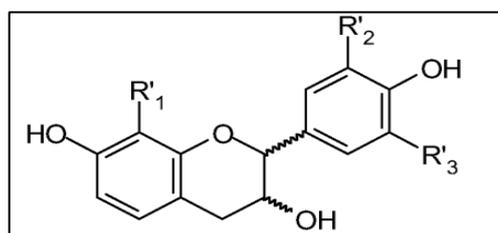


Figure 17: Structure des tanins (KIHელი *et al.*, 2016).

1.3.2.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (STÖCKIGT *et al.*, 2002) et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6), les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné. Les flavonoïdes ont été classés en 6 familles qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols.

(DE RIJKE *et al.*, 2006)

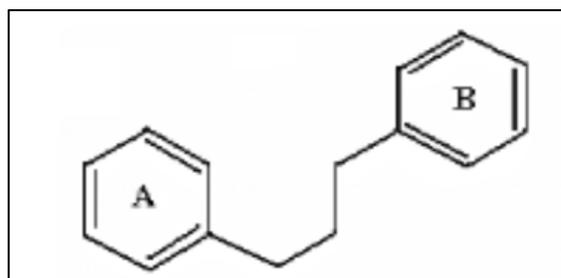


Figure 18: Structure générale des flavonoïdes
(DE RIJKE et al., 2006)

2. La sauge :

2.1.Généralité

La sauge officinale, ou *Salvia officinalis* du nom latin *Salvia* « salvare », qui signifie sauver, guérir; *officinalis* signifie médicinal (GHEZELBASH et al., 2015) est une plante médicinale (JEDIDI et al., 2021) et aromatique (STANOJEVIC et al., 2010 in ACHIR et SMAINE, 2020). Ce nom a été corrompu populairement Sauja et Sauge (la forme française), en vieil anglais 'Sawge' qui est devenu le nom actuel de Sage (GRIEVE, 1984 in ACHIR et SMAINE, 2020).

La sauge est une plante annuelle et bisannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (DJERROUMI et NACEF, 2004 in KHIREDDINE, 2014), qui regroupe environ 900 espèces identifiées autour du monde (MAKSIMOVIC et al., 2007; LONGARAY DELMARE et al., 2007 in KHIREDDINE, 2014).

Dans la langue arabe, la sauge a plusieurs noms. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment "essalma" alors que les botanistes espagnols l'appelle « salbia ». El djazairi indique l'expression "souek ennebi" comme synonyme de Saleme (KHIREDDINE, 2014). Elle est appelée aussi « Merremia » (KIHელი et MAKHLOUFI, 2016).

La sauge a une longue histoire d'utilisation en médecine et en cuisine, d'ailleurs un dicton médiéval affirme « pour quelle raison un homme devrait-il mourir alors que la sauge pousse dans son jardin ? » (CALLERY, 1998; ISERIN, 2001 in ABED, 2021). Dans les temps modernes elle est une plante indispensable dans un jardin ornemental (MIRAJ et KIANI, 2016).

2.2. Classification botanique

Selon BRIESKORN et *al.*, (2019) in ABED(2021), la sauge appartient à:

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnolipsida
Sous-classe : Asteridae
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : *Salvia*
Espèce : *Salvia officinalis L.*

2.3. Répartition géographique

Cette plante vivace est originaire de la Méditerranée orientale. Elle préfère les terrains chauds et calcaires (ROMBI et ROBERT, 2015 in ABED, 2021). Il existe environ 1000 espèces de sauge à travers le monde. Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (WALKER et *al.*, 2004).

En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont de l'ordre d'une trentaine (MAKSIMOVIC et *al.*, 2007 in BELABBAS et RIAD, 2019).

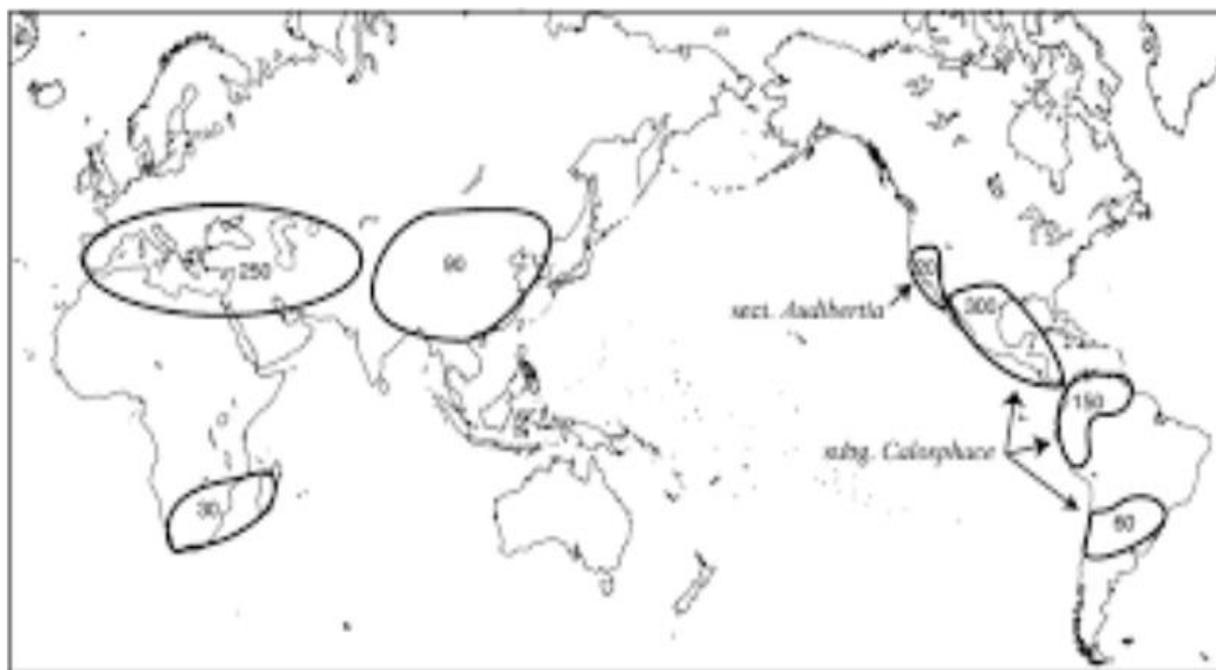


Figure 19: Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (WALKER et al.,2004)

2.4.Morphologie

Cette plante vivace possède une tige ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 80cm avec des rameaux vert-blanchâtre.

Les feuilles sont assez grandes, épaisses et opposées, d'une couleur gris-vert.

Les fleurs sont bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6, en verticilles espacés. Le calice est campanulé à 5 dents longues. la corolle avec la lèvre supérieure bilabée en casque et la lèvre inférieure trilobée (HANS, 2007in ACHIR et SMAINE, 2020) .

Le fruit est un tetrakène de couleur brun foncé à noir (BRUNTON,1993), la graine est exalbaminée (BOTINREAU, 2010 in ANNANE et BOUALILI, 2014). Selon BELOUED (2001), la floraison s'étend entre Mars et Mai. La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse (MAATOUG, 1990in BELABBAS et Riad, 2019).



Figure 20: Principaux constituants de *Salvia officinalis*(BENCHACHOUA et SIMOUD, 2021)

a : fleurs ;b :Tige ;c : feuille ; d : graines

2.5. Propriétés biologique et utilisation de la sauge

La sauge renferme des huiles essentielles, des composés phénoliques dont l'acide rosmancinique, destanins et des flavonoïdes. Aussi, la plante est riche en œstrogènes (hormones féminines) et en *Salvène* (TEUSCHER et *al.*, 2005 in MERABET et BAOUALI, 2020). Ils possèdent un certain nombre d'activités biologiques telles qu'antiseptique, anti-inflammatoire, antiviral, antitumoral cytotoxique, anticonvulsivant (BACHIRRAHO et *al.*, 2016), antimicrobien et antioxydant (FU et *al.*, 2013) , cardioprotecteur (KHIYA et *al.*, 2019 in MEKNI et RAHMOUNI 2021), antifongique (CUTILLAS et *al.*, 2017), antidiabétique (BEN KHEDHER et *al.*, 2017 in MEKNI et RAHMOUNI 2021), contrôle de la maladie d'Alzheimer (JEDIDI et *al.*, 2021);,etc

Cette a été utilisée pour réduire la transpiration, comme gargarisme pour les maux de gorge, pour améliorer la régularité du cycle menstruel et réduire les bouffées de chaleur à la ménopause, pour combattre la gastro-entérite et d'autres infections, pour améliorer le statut

lipidique et la fonction hépatique en général, pour améliorer l'appétit et la digestion, et pour améliorer la capacité mentale (Jakovljević *et al.*, 2019).

Elle est exploitée comme épices et agents aromatiques dans le domaine de la parfumerie et des cosmétiques (SENATORE *et al.*, 2006 in FU *et al.*, 2013).

2.6. Toxicologie de la sauge

L'huile essentielle de la sauge, renferme trois composants assez toxiques (α , β -thujone et camphre) qui sont à l'origine d'accidents survenus lors d'ingestion de trop fortes doses de ce produit. Il est donc nécessaire de consommer avec modération cette plante. Pour cette raison la réglementation dans certains pays limite les possibilités d'utilisation de la sauge officinale (CATIONE *et al.*, 1986; BEIER, 1990; STARY *et al.*, 1977 in FELLAH, ROMDHANE et ABDERRABA, 2006).

Partie expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

1. Objectif du travail

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de protection des végétaux, département d'agronomie, de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à l'Université de Mostaganem.

Le but de notre travail expérimental est l'évaluation de l'effet antifongique des extraits de *Salvia officinalis* sur *Fusarium oxysporum* agent de la fusariose sur la fève. Les expériences rapportées dans ce mémoire sont réalisées comme suit:

- Isolement et identification des isolats fongiques.
- Préparation des extraits de la plante médicinale *Salvia officinalis*
- Evaluation de l'activité antifongique des extraits de la sauge sur *Fusarium oxysporum*

2. Matériel biologiques

2.1. Matériel fongique

2.1.1. Prélèvements des échantillons

La collecte des échantillons de la fève pour l'isolement du champignon responsable de fusariose, s'est faite dans une ferme située à Bouguirat en mois de février, 2023.

L'échantillonnage est réalisé selon la procédure classique du choix aléatoire des racines attaquées présentant des symptômes de la maladie.



Figure 21: la carte géographique de Bouguirat (Mostaganem) (ORIGINALE, 2023)



Figure 22: Echantillon de fève infecté par *Fusarium oxysporum* (Originale, 2023)

2.1.2. Isolement

L'isolement du champignon responsable de la fusariose sur fève, nécessite un lavage de l'échantillon portant les symptômes de la maladie à l'eau de robinet pour éliminer les poussières du terrain qui s'y déposent. Des fragments des racines malades sont alors découpés et déposés pendant 30 à 60 secondes dans une solution d'hypochlorite de sodium (titré à 1 %) afin d'éliminer les saprophytes. Ils sont rincés à l'eau distillée stérile (3fois) séchés pendant 5 minutes sur du papier wattman stérilisé, puis placés dans les boîtes de Petri contenant le milieu de culture PDA (Annexe), à raison de quatre par boîte. Après 7 jours d'incubation à la température de 25 °C, les colonies intéressantes sont repiquées. (MAHIOUT, 2017).



Figure 23: Les étapes de l'isolement de *Fusarium oxysporum* (Originale, 2023).

2.1.3. Purification de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* de la fève

2.1.3.1.Repiquage

A l'aide d'une Anse de platine stérile, un disque fongique a été placé au centre de nouvelles boîtes de Pétri contenant 15 ml du milieu de culture PDA. Les boîtes ont été par la suite incubées 7 jours à une température de 25°C.

2.1.3.2.Culture monospore

Le but de cette technique est d'obtenir un matériel fongique génétiquement homogène. La purification a été réalisée par culture monospore selon la méthode de HENNI *et al.* (1994). Cette technique repose sur la préparation de dilutions décimales. Les cultures monospores ont été obtenues dans des conditions stériles. Un fragment de mycélium a été introduit dans 9 ml d'eau distillée stérilisée, que nous avons agité vigoureusement manuellement. Des dilutions décimales ont été réalisées par la suite de 10⁻¹ à 10⁻⁴, seules les dilutions, 10⁻⁴, ont été retenues et un volume de 0,1ml de cette suspension a été déposé et étalé en surface sur le milieu PDA coulé dans boit Pétri, l'incubation a été réalisée à une température de 25°C pendant 72h. Après ce temps d'incubation, on a réalisé un autre repiquage à partir des souches de clture monospore, puis un microscope optique a été utilisé pour observer les colonies.

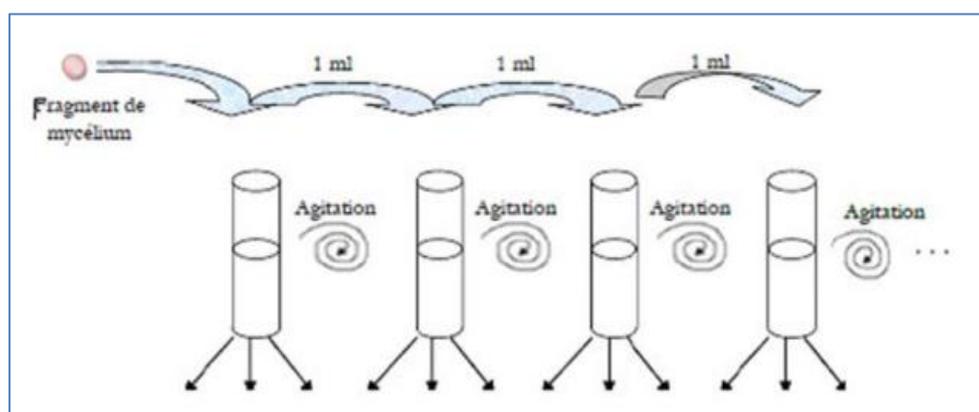


Figure 24: Schéma démonstratif des étapes de la culture monospore (BRAHIM *et al.*, 2021)

2.2. La plante aromatique (*Salvia officinalis*)

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

La partie aérienne de *Salvia officinalis* (feuilles), a été collectée en janvier 2023 dans la région de Mostaganem (site 3 de l'université de Mostaganem), qui est située à 104m de la mer.

La matière végétale a été débarrassé des éventuels contaminants (terre, débris végétaux...etc), et séchée à l'air libre, à l'ombre jusqu'à la stabilisation de son poids (15 jours).

Les feuilles de la sauge séchées sont réduits en poudre par broyage manuel, à fin de favoriser l'extraction des composés.



Figure 25: Feuilles séchées et poudre de la sauge (ORIGINALE, 2023)

2.2.2. Détermination du taux d'humidité

Le poids des feuilles séchées, a été mesuré à l'aide d'une balance de précision, la mesure de l'humidité relative permet de connaître l'extrait sec du produit selon la formule suivante (MAKHLOUFI, 2010) :

$$TH\% = (P\alpha - P\beta) / P\alpha$$

TH% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

P α : Poids végétale de matière fraîche.

P β : Poids végétale de matière sèche.

2.2.3. 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 in KHDIM et MERROUCHE, 2022). Plusieurs résultats confirment la fiabilité du méthanol ainsi que sa disponibilité, c'est ce qui nous a poussés à le choisir comme un solvant extracteur dans cette expérimentation (KHDIM et MERROUCHE, 2022)

2.2.4. Préparation des extraits

2.2.4.1.Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Dans le Montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant (MERABET et BAOUALI, 2020).

Les composées phénoliques sont extraites par la méthode d'extraction directe au Soxhlet avec le méthanol comme solvant. 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 ballon .

L'extraction se fait pendant 2h30 min (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total) (LALIBI, 2022)

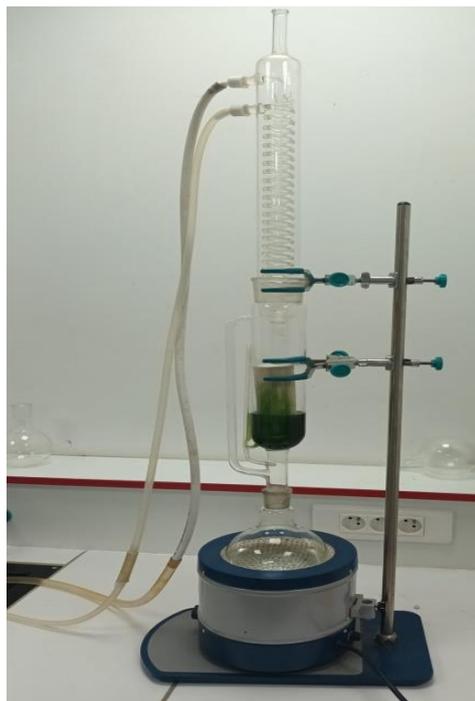


Figure 26: Montage Soxhlet (ORIGINALE, 2023)

2.2.4.2.Extraction par macération

L'extraction des polyphénols par macération a été inspirée par la méthode utilisée par MOUSSAOUI et *al.* (2019).L'extraction a été réalisée selon les étapes suivantes:

Pour 40g de feuilles sèches et broyées, on ajoute 1000 ml de solvant en raison de 20/80 ; (20% eau distillée et 80% de méthanol) et 200ml de l'eau distillée 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 on récupère le filtrat et on lui ajoute le même volume de solvant ajouté la première fois et on laisse sous agitation à froid pendant 24 heures. On filtre le mélange pour obtenir le deuxième filtrat.

On répète l'opération pour une troisième fois, à la fin de cette opération on obtient trois (03) litre d'extract. Les trois solutions sont mélangées pour être passé au Rotavapeur à 40°C afin de séparer les polyphénols du solvant.

La filtration a été effectuée sous vide. En principe c'est un tamisage où la différence de pression force le liquide à passer à travers le filtre pendant que les particules solides sont

retenues à la surface. Les produits peuvent être retenus bien que leurs dimensions permettent leur passage à travers les pores du filtre.



Figure 27: La filtration de l'extrait méthanoïque obtenu par macération

2.2.4.3. Rotavapeur

Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, tel que les alcools.



Figure 28 : Passage de l'extrait au Rotavapeur (ORIGINALE, 2023).

2.2.4.4. Calcul du rendement de l'extraction

Les rendements des extractions sont calculés suivant la formule ci-dessous (MOHAMMEDI, 2006) :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{P_s}{P_p} * 100$$

Sachant que:

P_s : poids de l'extrait sec en gramme (g).

P_p : poids de la poudre en gramme (g)..

2.3. Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de la sauge (*Salvia officinalis*) vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* de la fève.

2.3.1. Préparation des dilutions des composés phénoliques

L'extrait de Soxhlet est solubilisé dans des volumes variables d'eau distillée stérile en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100% , un témoin et un témoin + tween . La même technique est utilisée pour la préparation des dilutions de l'extrait de macération.

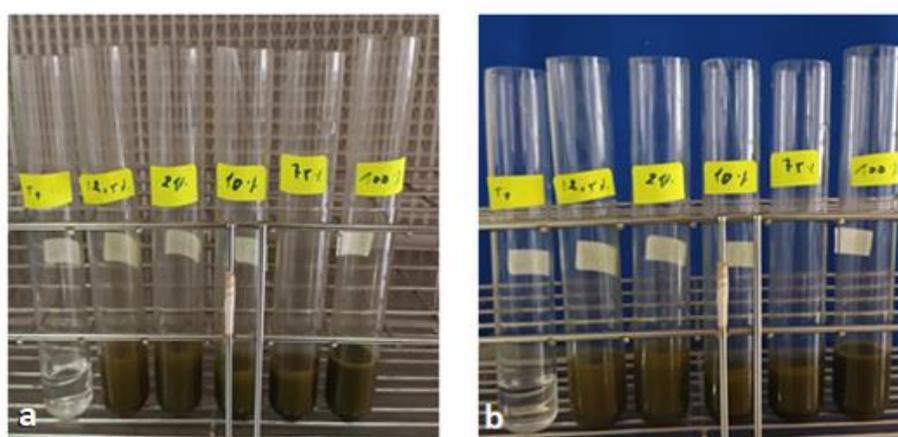


Figure 29: Les différentes dilutions du composé phénolique des extraits (ORIGINALE, 2023)

a : par soxhelt

b : par macération

2.3.2. Conduite de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique «invitro» de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*

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.

La même technique est utilisée pour la préparation des dilutions de l'extrait de macération).

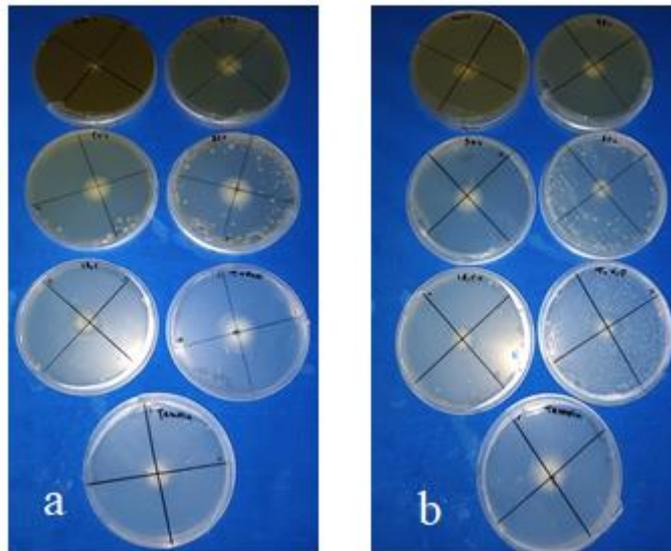


Figure 30: Essai de l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de la sauge vis-à-vis le *Fusarium oxysporum* (ORIGINALE, 2023)

a : extrait de Soxhlet

b : extrait de macération

➤ 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 (RAPILLY, 1968):

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

L = croissance mycélienne

D = diamètre de la colonie

d = diamètre de l'explant

➤ Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Elle est obtenue à partir de la formule de DOUMBOUYA et *al.*, (2012).

$$Ti\% = [(DT-D) / DT] * 100$$

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

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

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

➤ **La vitesse de croissance (mm /j)**

Elle est calculée en appliquant la formule suivante, qui a été citée par (BETTOUATI, 2011).

$$V = \frac{(L_2 - L_1) + (L_3 - L_2) + (L_4 - L_3) + \dots + (L_{n-1} - L_n)}{n-1}$$

V = Vitesse de croissance (mm/j).

L = Croissance mycélienne (mm).

L1 = Croissance mycélienne au 1^{er} jour.

Ln = Croissance mycélienne du dernier jour.

n = Nombre de jours durant le test

➤ **La sporulation**

Elle 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:

$$Pis\% = [(N_0 - NC) / N_0] * 100$$

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

2.4. Essai de l'effet de différents milieux de culture sur la croissance mycélienne et la sporulation de *Fusarium oxysporum*

2.4.1. Choix des milieux de culture

Le choix des milieux de culture pour tout parasite dépend de ses exigences nutritionnelles (RAPILLY, 1968). Nous avons testé l'isolat de *Fusarium oxysporum* sur différents milieux, afin de déterminer le milieu nutritif le plus favorable à la croissance

mycélienne et à la sporulation. Trois milieux sont retenus: P.D.A, F.E.A, et Czapeck. Les compositions respectives de ces milieux sont présentées en annexe.

2.4.2. Méthode

Après stérilisation et répartition des milieux de cultures dans des boîtes de Pétri à raison de 15ml par boîte, l'ensemencement se réalise avec des explants de 5 mm 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. Trois répétitions sont retenues pour chaque isolat et chaque milieu. Les 24 boîtes sont déposées à l'obscurité dans l'incubateur à 25°C.

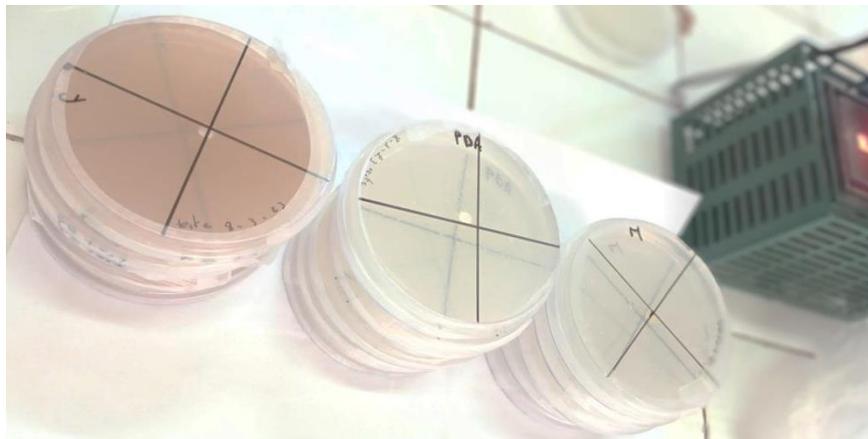


Figure 31: Essai des différents milieux de culture (Originale, 2023)

L'expérience s'achève lorsque l'une des boîtes est complètement recouverte. Des observations sur les caractères culturaux sont effectuées parallèlement aux mensurations (MOHAMED BEN KOIBICH et OMARI, 2017). Les méthodes de calcul de la croissance mycélienne, de la vitesse de croissance et du pourcentage de sporulation sont citées précédemment.

2.5. 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.

Discussion

Nous avons entamé notre étude par l'isolement de *Fusarium oxysporum* partir de plants de fève présentant des plants de pourritures racinaires. L'étude microscopique de l'isolat a montré que le mycélium est cloisonné avec la présence de microconidies unicellulaires ellipsoïdales, des macroconidies falciformes, des chlamydospores globuleuses à sub-globuleuses, des fausses têtes et des monophialide. Ces caractéristiques microscopique fournissent des indices sur l'identité du pathogène comme étant *Fusarium oxysporum*. Ces résultats s'accordent avec ceux signalés dans la littérature par (KLECZEWSKI et EGEL, 2011; LOMBARD, 2019 et ZHENG et al., 2022). Ces résultats rejoignent les travaux de HADDOUDI et al., (2021) qui ont confirmé que 67% de la collection des champignons isolés de la fève représente les différentes espèces de *Fusarium sp.* De plus Mahmoud et Abd El-Fatah (2020) ont pu isoler le *F. oxysporum* à partir de plants de la fève naturellement malades, Alors que LAMARI et BERNIER (1985) indiquent que le *Fusarium sp.* était associés à la pourriture des racines des fèves. D'autre part KHALEIL et al., (2021) ont pu isoler *Fusarium solani* a partir des racines des fèves.

Nous avons étudié par la suite, l'effet in vitro des extraits méthanoïques de *Salvia officinalis* L. (par macération et Soxhlet) sur le comportement in vitro du *Fusarium oxysporum* isolé à partir de la fève. Nous avons établi que certaines des concentrations testées peuvent affecter positivement la croissance mycélienne, la sporulation de ce champignon. Ces résultats sont similaires aux travaux de (YILAR et KADIOGLU (2016) et BOUDERBA et al., 2022) qui ont montré quel 'extrait végétal de *Salvia officinalis* se révèle significativement efficace sur le développement mycéliende *F. oxysporum*, où une augmentation de l'effet d'inhibition de *F. oxysporum* a été observée en fonction de l'accroissement du dosage mais aussi de l'extrait utilisé.

D'autre part, nous avons remarqué que l'extrait Soxhlet a été plus efficace vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*, que celui extrait par macération. Ce résultat a été noté précédemment par IKEGBUNAM et al., (2016) et NEGGAZ et al., (2018) qui ont indiqué que l'extraction Soxhlet s'est avérée être une technique plus efficace que la macération.

Nous avons terminé notre travail par testé trois différent milieux de culture à savoir: (PDA), Czapeck et FEA, les résultats obtenus montrent que *F. oxysporum* se développe mieux sur PDA. Cependant, la sporulation est plus importante sur le milieu Czapeck ce qui confirme les travaux de MECHTA et al, (2015); BANI, (2011) qui indiquent que la diversification des éléments nutritifs influe sur la croissance mycélienne et la sporulation des différents isolats testés.

Conclusion

Pour remédier aux problèmes résultant de l'utilisation des pesticides de synthèse considérés comme polluants et impactant la santé, les métabolites secondaires des plantes aromatiques se présentent comme une alternative prometteuse.

La présente étude s'intéresse à tester l'effet antifongique de deux extraits méthanoïques des feuilles de *S. officinalis* vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* que nous avons isolé à partir de plants de fève présentant des pourritures racinaires.

Les résultats obtenus ont démontré l'effet significatif des extraits testés sur la multiplication de *F. oxysporum*. De ce fait, ces derniers semblent riches en substances actives. En effet, le choix du dosage et des techniques d'extraction doit être soigneusement étudié car ils influencent la bioactivité et la toxicité des extraits obtenus.

Une étude comparative entre les deux procédés d'extraction a été réalisée. La technique d'extraction par la méthode Soxhlet s'est avérée plus efficace par rapport à l'extraction par macération vis-à-vis:

- du rendement obtenu.
- du temps d'extraction qui est plus court pour l'extraction par Soxhlet.
- du taux d'inhibition.

Bien que les taux d'inhibition soient considérables, nous n'avons pas pu atteindre la CMI (concentration minimale inhibitrice), effet fongicide provoquant l'arrêt presque complet de la croissance de la population fongique.

La composition du milieu de culture est un facteur important pour la croissance mycélienne et la sporulation de *Fusarium oxysporum*. Le milieu PDA s'avère plus favorable à la sporulation, alors que le milieu Czapeck s'avère favorable à la croissance mycélienne. Ces résultats indiquent également que la croissance mycélienne et la sporulation, n'ont pas les mêmes exigences nutritionnelles.

En perspectives, D'autres études approfondies sont nécessaires pour:

- Optimiser les conditions d'extraction des métabolites secondaires par d'autres techniques d'extraction.
- déterminer spécifiquement quels composés présents dans les extraits de *S. officinalis* peuvent réellement contribuer à l'activité antifongique.
- Évaluation d'un essai au champ «in planta».
- poursuivre cette étude par d'autres recherches sur l'activité antifongique des extraits de cette plante (sauge) sur d'autres agents phytopathogènes

Références bibliographique

- **ABBES, Z., KHARRAT, M., SHAABAN, K. et BAYAA, B., 2010.** Comportement de différentes accessions améliorées de féverole (*Vicia faba L.*) vis-à-vis d'*Orobanche crenata* Forsk. et *Orobanche foetida* Poir. Cah. Agric, 19 n°3: 194-199.
- **ABED, B., 2021.** Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Colletotrichum gloeosporioides* agent de l'anthracnose sur tomate.
- **ABRAS, M., CARTRYSSE, C., FROIDMONT, E., JAMAR, D., RONDIA, P. et WAVREILLE, J., 2016.** La féverole: une légumineuse à graines riches en protéine et énergie.
- **ACHIR, M. et SMAINE, K., 2020.** Identification et caractéristique de la sauge officinale au niveau de la wilaya de Tlemcen.
- **AJIOGBA, C. F., BABALOLA, O. O., 2013.** Integrated management strategies for tomato Fusarium wilt. Biocontrol science, 18(3), 117-127.
- **AMARA, L., BOUARROUDJ, D., 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). Thesis, Université Mouloud Mammeri.
- **ANNANE, ASSIA. et BOUALILI, M., 2014.** Evaluation in vitro de l'Action Antibactérienne d'Huile Essentielle de Saugue Officinale. L. (*Salvia officinalis*) de la région Nord-ouest de Tizi-Ouzou. Université Mouloud Mammeri.
- **ARAB, H. et FEDDI, I., 2018.** Etude de l'effet biocide de quatre extraits végétaux: l'origan (*Origanum vulgare*), le thym (*Thymus numidicus*), le romarin (*Rosmarinus officinalis*) et la lavande (*lavandula stoechas*) à l'égard du puceron noir de la fève *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Homoptera: Aphididae) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **ARMSTRONG, G.N. et ARMSTRONG, J.K., 1981.** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases, p. 391-399. In P.E. Nelson, T.A. Toussoun, and R.J. Cook (ed.), *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park
- **BACHIRRAHO, G., BENATTOUCHE, Z., BEVILACQUA, A., CORBO, M. R., SINIGAGLIA M, PIGNATIELLO S., 2016.** Antimicrobial Activity Of Extracts From *Salvia Officinalis L.* On Some Bacteria And Yeast. Journal of Biotechnology Research. 2(5) 31-35.
- **BANI, M., 2011.** Prospection, isolement et caractérisation phénotypique d'isolats de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl f. sp. *albedinis* (Killian & Maire) (Doctoral dissertation).
- **BELABBAS, H. et RIAD, F., 2019.** Etude de l'effet antimicrobien des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sur les bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) [Mémoire Master: Biotechnologie et valorisation des plantes] .
- **BELHOUAN, W. et BOUSSAHA A., 2017.** Activité antifongique de trois huiles essentielles sur deux champignons pathogènes de la tomate; *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum*.
- **BELOUED A.E.K., 2001.** Plantes médicinales d'Algérie. O.P.U. Alger, 277p
- **BENCHACHOUA, R. et SIMOUD, A., 2021** ,Etude théorique sur l'activité antibactérienne et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis*.

- **BERAUD E., 2007:** Étude des effets genotoxiques et de l'induction des phytochélatines chez *Vicia faba* (Fabaceae) exposée au cadmium : application du test *Vicia* micronoyaux à des matrices complexes. Ecotoxicologie. Université Paul Verlaine – Metz.
- **BESSAOU, S. et MAALAOUI, S., 2021.** Action de l'huile essentielle de l'Eucalyptus (*Eucalyptus kalatus*) sur la longévité des adultes mâles et femelles de la bruche de la fève (*Bruchus rufimanus*) durant la période de diapause (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **BETTOUATI, A., 2011.** Contribution à l'étude de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) causée par *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr : Etude morphologique, culturale et physiologique de *A.rabiei*, Essai *in vitro* de lutte chimique), Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- **BOIZET, F. et VANNETZEL, E., 2013.** féverole de printemps ; utiliser des semences indemnes delarves de nématodes. arvalis – institut du végétal. 59- 60p
- **BOOTH, C., 1984.** The Fusarium problem : Historical, economic and taxonomic aspects. In the applied Mycology of Fusarium, Moss, M.O. and Smith, J. E. ED. Cambridge university .
- **BOUDERBA, N. N., KHALID, K. M., et KADI, H., 2022.**In Vitro Inhibitory Effect of Some Secondary Metabolites Extract from *Ocimum basilicum* and *Salvia officinalis* Against *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* of *Phoenix dactylifera*. *L. Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(12), 5655-5665.
- **BOUGHDAD, A., 1994.** Statut de nuisibilité et ecologie des populations de *Bruchus rufimanus*Boheman, 1833 sur *Vicia faba* au Maroc (Doctoral dissertation, Paris 11).
- **BOULEHLIB, A., BOULETIOUR, D., LATLI, H., DJABAL, S. E., 2020.** Composition nutritionnelle de la fève sèche (*Vicia faba* L): Effet du traitement thermique (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- **BOURKAIB, M., 2015.**Comportement de quelques populations de fève (*Vicia faba*) d'origine espagnole vis-à-vis des deux maladies tâche chocolat et rouille. Thesis.
- **BOUTABA, A. et CHAOUICHE, K., 2019.** Identification des espèces phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium*.
- **BOUTTET, D., CHAILLET I (ARVALIS-INSTITUT DU VEGETAL), BIARNES V., CARROUEE, B (UNIP), FONTAINE L (ITAB) 2009.** La culture de la féverole en Agriculture Biologique. Fiche technique. Arvalis-Institut du Végétal. 1-8p.
- **BOUZNAD Z., LOUANCHI M., ALLALA L. ET MERABTI N., 2001.** Données sur les maladies de la fève en Algérie : cas de la maladie de tache chocolat causée par *Botrytis spp.*
- **BRAHIM, H., MEBARKI, N. et SARIR, S., 2021.** Isolement et caractérisation des nouvelles isolats de champignons rézosphérique pour la production des bio-engrais (Doctoral dissertation, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie).
- **BRUNETON, J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-494.

- **CHAUX, CL. et FOURY, CL., 1994.** Productions légumières secs. Légumineuses potagères légumes et fruits. Tome 3. Technique et documentation Lavoisier. 7-13P
- **COLE L., DEWEY F.M. et HAWES C.R. 1998.** Immunocytochemical studies of the infection mechanisms of *Botrytis fabae*: II. Host cell wall breakdown. *New Phytologist* 139: 597-609 .
- **CROZIER, A., CLIFFORD, M. N., ASHIHARA, H., 2006.** Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Blackwell Publishing
- **CUTILLAS, A B., CARRASCO, A., MARTINEZ-GUTIERREZ, R., TOMAS, V., TUDELA, J., 2017.** *Salvia Officinalis L.* Essential Oils From Spain: Determination Of Composition, Antioxidant Capacity, Antienzymatic, And Antimicrobial Bioactivities. *Chemistry & Biodiversity*. 14(8), E1700102.
- **DAOUI K., 2007.** Recherche de stratégies d'amélioration de l'efficience d'utilisation du phosphore chez la fève (*Vicia faba L.*) dans les conditions d'agriculture pluviale au Maroc. Thèse de doctorat. Science agronomiques et ingénierie biologique. Louvain. 227p.
- **DE RIJKE E., OUT P., NIESEN W M A., ARIESE F., GOOIJER C., BRINKMAN U A T., 2006.** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A* 1112: 31 - 63.
- **DEBBAKH, W., 2021** Impact de la gestion de la culture de fève sur la diversité des insectes pollinisateurs dans la région de Nezla. Touggourt (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA).
- **DESSAUX, Y., 2020.** Interaction pois-Pseudomonas: conséquences sur la nutrition en fer, la croissance et (Doctoral dissertation, Université Lyon 1).
- **DHULL, S. B., KIDWAI, M. K., NOOR, R., CHAWLA, P., ROSE, P. K., 2022.** A review of nutritional profile and processing of faba bean (*Vicia faba L.*). *Legume Science*, 4(3), e129.
- **DJERIBIAI, L., 2016.** Analyse de la chaîne de valeur Fève-*Vicia raba*. L-au Ziban Etude de cas de la région d'El-Haouch.
- **DOSDALL, L. M., VANKOSKY, M., CARCAMO, H. A., 2009.** Distribution, biology and integrated management of the pea leaf weevil, *Sitona lineatus L.* (Coleoptera: Curculionidae), with an analysis of research needs. *CABI Reviews*, (2009), 1-18.
- **DOUMBOUYA, M., ABO KOUABENAN.L., NICAISE, ,A., CAMARA, B., KANKO, K., AIDARA, D., AND KONE, D., 2012.** Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huiles essentielles sur des champignons telluriques des cultures maraichères en Cote d' Ivoire. *J.Appl.Biosc.* P 3523-3530.
- **FELIACHI K., 2002.** Le développement des légumineuses alimentaires et les perspectives,de relance en Algérie. *Proceedings du 2éme séminaire du réseau REMAFEVE/REMALA, « le devenir des légumineuses Alimentaires dans le Maghreb », Hammamet, Tunisie, 100p.*

- **FELLAH, S., ROMDHANE, M., ABDERRABA, M., 2006.** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* l. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. Journal-Societe Algerienne De Chimie, 16(2), 193.
- **FLEURIET, A., JAY-ALLEMAND, C., MACHEIX, J.J., 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.
- **FU, Z., WANG, H., HU, X., SUN, Z., & HAN, C., 2013.** The pharmacological properties of *Salvia* essential oils. Journal of applied pharmaceutical science, 3(7), 122-127.
- **GHEZELBASH GH. R., PARISHANI M. R., FOUANI M. H., 2015.** Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* acetone extract against pathogenic isolates. Journal of Medicinal Herbs, 5 (4): 215-18.
- **GLEN, H., Y-DOW, H., AND SUSAN, L., 2003.** Characterization of soybean pathogens and Disease Management, pp. 1-4, Australian Plant Pathology Society, Australia.
- **GODIN, C. et BOIVIN, G., 2002.** Guide d'identification des pucerons dans les cultures maraîchères au Québec. Agriculture et agroalimentaire Canada. AACCRDH/prisme,(31), 04-30.
- **GORDON, T. R. ET MARTYN, R. D., 1997.** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. Annual review of phytopathology, 35(1), 111-128.
- **GOYOAGA C., BURBANO C., CUADRADO C., ROMERO R., GUILLAMO'N E., VARELA A., PEDROSA M.M. et MUZQUIZ M., 2011.** Content and distribution of protein, sugars and inositol phosphates during the germination and seedling growth of two cultivars of *Vicia faba*. Journal of Food Composition and Analysis 24,391–397.
- **GUO, Y., LV, J., ZHAO, Q., DONG, Y., DONG, K., 2020.** Cinnamic acid increased the incidence of Fusarium wilt by increasing the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* and reducing the physiological and biochemical resistance of *faba bean*, which was alleviated by intercropping with wheat. Frontiers in Plant Science, 11, 608389.
- **HABALLAH, R., TIMILALI, S., Ouaini, A., 2018.** Rôle des *Pseudomonas* rhézosphériques dans l'allègement de l'effet du stress salin sur la fève (Doctoral dissertation, Université Ahmed Draia-ADRAR).
- **HADDOUDI, I., MHADHBI, H., GARGOURI, M., BARHOUMI, F., ROMDHANE, S. B., ET MRABET, M., 2021.** Occurrence of fungal diseases in faba bean (*Vicia faba* L.) under salt and drought stress. *European Journal of Plant Pathology*, 159, 385-398.
- **HAMADACHE, A., 2003** la feverole. Inst. Techn.gr. cult (T.T.G.C), 13p
- **HENNI, J., BOISSON, C., GEIGER, J.P., 1994.** Variabilité de la morphologie chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathologia Mediterranea*, 51-58.
- **HENNI, J.E. 1998.** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran.171 p.

- **HOADJLI, M. A., 2022.** Etude de la faculté suppressive d'un sol au *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* race 1, agent causal du Fusarium wilt sur tomate.
- **IDER, S., OURARI, N., BOUADAM, S. E., 2017.** Extraction des composés phénoliques et des huiles essentielles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* et évaluation de ses activités antioxydante et antibactérienne.
- **IKEGBUNAM, M., UKAMAKA, M., et EMMANUEL, O., 2016.** Evaluation of the antifungal activity of aqueous and alcoholic extracts of six spices. *American Journal of Plant Sciences*, 7(1), 118-125.
- **INRA., 2015.** Guide Pratique Pour le Conseil Agricole: Lentille, pois Chiche et FÈVE/ دليل الاستشارة الفلاحية العدس الحمص والفاصوليا (Ar, Fr) Rabat (Ma), 1-28p.
- **JAKOVLJEVIĆ M, JOKIĆ S, MOLNAR M, JAŠIĆ M, BABIĆ J, JUKIĆ H, BANJARI I., 2019.** Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis L.* Preparations. *Plants*, 8(3):55.
- **JEDIDI, S., SAMMARI, H., SELMI, H., HOSNI, K., RTIBI, K., ALOUI, F., ... SEBAI, H., 2021.** Forts Effets Protecteurs De L'extrait De Décoction De Feuilles De *Salvia officinalis. L* Contre La Colite Ulcéreuse Induite Par L'acide Acétique Et Les Troubles Métaboliques Chez Le Rat. *Journal Des Aliments Fonctionnels*. 79, 104406
- **JENSEN, E.S., PEOPLES, B. et NIELSEN, H., 2010.** Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research*, 115 :203–216.
- **KABRAN, G. R. M., MAMYRBEKOVA-BEKRO, J. A., PIRAT, J. L., BEKRO, Y. A., SOMMERER, N., VERBAERE, A., MEUDEC, E., 2014.** Identification de composés phénoliques extraits de deux plantes de la pharmacopée ivoirienne. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, (038), 57-63.
- **KHAIRI H., TEMANI R., 2009.** Mécanismes de protection des plantes de pois par des polysaccharides extraits d'une souche de *Rhizobium* contre *Orobanche crenata*. Th. Uni de MONASTIR : Inst Sup des Sciences Appliquées & Technologie de Mahdia. 15 p.
- **KHALDI R., ZEKRI S., MAATOUGUI M.E.H. et BEN YASSINE A., 2002 :** L'Economie des Légumineuses Alimentaires au Maghreb et dans le Monde. Proceedings du 2ème séminaire du réseau REMAFEVE/REMALA, « Le devenir des Légumineuses Alimentaires dans le Maghreb », Hammamet, Tunisie, 100p.
- **KHALEIL, M.M., ALNOMAN, M.M., ELRAZIK, E.S.A., ZAGLOUL, H., KHALIL, A.M.A., 2021.** Essential Oil of *Foeniculum vulgare* Mill. as a Green Fungicide and Defense-Inducing Agent against *Fusarium* Root Rot Disease in *Vicia faba L.* *Biology*, 10, 696.
- **KHARRAT M, 2002.** Etude de la Virulence de l'Ecotype de Beja d'Orobanche foetida sur Différentes Espèces de Légumineuses. Proceedings du 2ème séminaire du réseau REMAFEVE/REMALA, « Le devenir des Légumineuses Alimentaires dans le Maghreb », Hammamet, Tunisie, 100p.

- **KHDIM, B. et MERROUCHE, A., 2022.** Evaluation antifongique de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Colletotrichum* sp. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- **KHIREDDINE, H., 2014.** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie.
- **KHURSHEED, S., RAINA, A., LASKAR, R. A., ET KHAN, S., 2018.** Effect of gamma radiation and EMS on mutation rate: their effectiveness and efficiency in faba bean (*Vicia faba L.*). *Caryologia*, 71(4), 397-404.
- **KIHELI, A., MAKHLOUFI, A., NEDJHIOUI, M., HAMIDI, N., 2016.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique et thérapeutique d'une plante médicinale: La sauge officinale.
- **KLECZEWSKI, NM., EGEL, DS.A., 2011.** diagnostic guide for Fusarium wilt of watermelon. *Plant Health Prog*; 12:27. doi: 10.1094/PHP-2011-1129-01-DG.
- **LAKHEL, Z. et ZEGHLOUL, Z., 2013.** Contribution à l'étude de l'agressivité de *Fusarium oxysporum* sur les tubercules de trois variétés de pomme de terre. Thesis, université de jijel.
- **LALIBI, M., 2022.** Contribution à l'étude de l'effet du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) sur le taux de croissance et de germination in vitro de *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici*.
- **LAMARI, L., et BERNIER, C.C., 1985.** Etiology of Seedling Blight and Root Rot of Faba Bean (*Vicia faba*) in Manitoba, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 7:2, 139-145.
- **LARRALDE, J. et MARTINEZ J.A., 1991.** Nutritional value of *faba bean*: effects on nutrient utilization, protein turnover and immunity. Département de physiologie animale et nutrition. Université de Navarre. Espagne. Séminaire N°10 : 111-117
- **LAUMONIER, R., 1979.** Culture légumières et maraichère, Tome III. Ed.J.B. BAILLIERE.276p.
- **LEGUEN J. et DUC G. , 1992.**La féverole : amélioration des especes végétales cultivés ; objectif et varieté de sélection. INRA. Paris. 189-203pp.
- **LIMA, C. F., VALENTAO, P. C., ANDRADE, P. B., SEABRA, R. M., FERNANDES-FERREIRA, M.,PEREIRA-WILSON, C., 2007.**Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 167(2), 107-115.
- **LIONETTI, V., CERVONE, F., BELLINCAMPI, D., 2012.** Methyl esterification of pectin plays a role during plant–pathogen interactions and affects plant resistance to diseases. *Journal of Plant Physiology*, 169:1623-1630.
- **LOMBARD, L., SANDOVAL-DENIS, M., LAMPRECHT, S. C., CROUS, P. W., 2019.**Epitypification of *Fusarium oxysporum*–clearing the taxonomic chaos. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 43(1), 1-47.
- **LOUDARENE, B. et BOUZEBOUDJA, H., 2022.** Etude rétrospective sur l'utilisation des huiles essentielles pour lutter contre la bruche de la fève *Bruchus rufimanus Bohmann* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

- **MAGHBOUNE, I. et NEKAA, F., 2020.** de la variabilité génétique chez l'espèce (*Vicia faba L. et Vicia sativa L.*) par la technique des SSRs
- **MAHIOUT, D., 2017.** Contribution à la caractérisation de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., agent causal de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum L.*) et étude de son interaction avec *Medicago truncatula* Gaertn.
- **MAHMOUD, AF. et ABD EL-FATAH, BES., 2020.** Genetic Diversity Studies and Identification of Molecular and Biochemical Markers Associated with *Fusarium* Wilt Resistance in Cultivated Faba Bean (*Vicia faba*). Plant Pathol J. Feb;36(1):11-28. doi: 10.5423/PPJ.OA.04.2019.0119. Epub 2020 Feb 1. PMID: 32089658; PMCID: PMC7012577.
- **MAKHLOUFI, A ., 2010.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens (Desf.) et Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Laboratoire produits naturels. Thèse de Doctorat d'état en biologie, p : 166.
- **MAOUI, R., SAY, B., EL HADJ, B., FRIKH, A. et GIRARD, C., 1990.** La culture de la fève en Tunisie. Ed. I.N.R.A.T, O.N.H., AGROPOL. I.T.C.F., 16 p.
- **MARDY, M., 2017.** Amélioration génétique de la fève et de la féverole : Mesure des différents paramètres morphologiques
- **MECHTA, N., AZOUAOUI-AIT KETTOUT, T. et RAHMANIA, F., 2015.** *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*: effets du milieu de culture sur la croissance mycelienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique.
- **MEKNI, S. ET RAHMOUNI, M., 2021.** Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Salvia officinalis*, université de tlemcen ,60p
- **MERABET, L., Y. et BAOUALI, S., 2020.** Effet insecticide des extrait vegetaux recuperer a partir de la partie aérien de la sauge officinale *salvia officinalis l* (Doctoral dissertation, M'hamed Bougara faculté des sciences).
- **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).
- **MEZANI, S., 2011.** Bioécologie de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus Boh.* (Coleoptera: Bruchidae) dans des parcelles de variétés de fèves différentes et de féverole dans la région de Tizi-Rached (Tizi-Ouzou) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **Mínguez, M. I., Rubiales, D., 2021.** Faba bean. In V. O. Sadras & D. F. Calderini (Eds.), Crop Physiology Case Histories for Major Crops (pp. 452– 481). Academic Press.
- **MIRAJ, S. et KIANI, S., 2016.** Une Etude De Revue Des Effets Thérapeutiques De *Salvia officinalis. L.* Der Pharmacia Lettre. 8(6).
- **MKONGWA, E.K., 2022.** Etude de l'effet fongicide des extraits d'Euphorbia peplus sur quelques champignons phytopathogènes, Master de spécialisation en production intégrée et préservation des ressources naturelles en milieu urbain et péri-urbain, 53p

- **MOHAMED BEN KOIBICH, M. et OMARI, M., 2017.** Etude de l'influence de quelques facteurs abiotique sur le comportement « in vitro » de *Fusarium sp.*, agent de la Fusariose des agrumes (Citrus). Et évaluation « in vitro » de l'effet antifongique de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* à son égard.
- **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, Tlemcen
- **MOKRANI, F. et MEDJROUD, N., 2022.** Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Fusarium sp.*, agent de la fusariose des agrumes.
- **MOUSSAOUI, F., BOUCAIDI, H. et CHAOUATI, K., 2019.** Evaluation d'activité biologique des extraits de *Pistacia lentiscus*. I vis-à-vis certain bioagresseurs (Doctoral dissertation).
- **MUANDA, F. N., 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, 238.
- **MUEHLBAUER, F.J et ABEBE, TULLU., 1997.** *Vicia faba* L. New CROP Fact SHEET.
- **NEGGAZ, S., FORTAS, Z., CHENNI, M., EL ABED, D., RAMLI, B. et KAMBOUCHE, N., 2018.** In vitro evaluation of antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Terfezia claveryi* Chatin. Phytothérapie, 16(1), 20-26.
- **PEGG, K., et MANNERS, A. 2014.** Fusarium: A formidable nursery pathogen. Plant health biosecurity, risk management and capacity building for the nursery industry, 4, 1-7.
- **PEREZ-DE-LUQUE, A., EIZENBERG, H., GRENZ, JH., SILLERO., AVILA, C., SAUERBORN, J. et RUBIALES D., 2010.** Broomrape management in faba bean. Field Crops Research. 115 : 319-328.
- **PLANCHON, A., 2018.** Le pathosystème Lin (*Linum usitatissimum*)-*Fusarium oxysporum*: Impact du champignon et d'un agent de biocontrôle sur des réponses moléculaires de la plante et le développement de la fusariose (Doctoral dissertation, Université de Rouen Normandie).
- **RABIA, R., 2019.** Valorisation de la graine de fève sèche " *vicia faba* L. Major " en alimentation du lapin (Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou).
- **RAPILLY F, 1968:** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Paris: INRA. Ann. Epiphyt. 19. 102p
- **RAPILLY, F., 1998.** Évolution historique des concepts de résistance des plantes aux agents pathogènes. Cahiers Agricultures, 7(3), 223-228.
- **REZAIRE, A., 2012.** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) (Doctoral dissertation, Antilles-Guyane).
- **SAIAH, F., 1996.** Etude de la résistance des sols à la fusariose causée par *fusarium oxysporum fsp melonis* dans la plaine du chellef. *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*) at different developmental stages, Original Scientific.

- **SINGH, A. K., BHARATI, R. C., MANIBHUSHAN, N. C., PEDPATI, A., 2013.** An assessment of faba bean (*Vicia faba L.*) current status and future prospect. *African Journal of Agricultural Research*, 8(50), 6634-6641.
- **SOLTANE, F.E.Z., 2022.** L'effet de quelques plantes spontanées sur le champignon *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* agent causal de la fusariose de la tomate.
- **STANOJEVIĆ, D., LJILJANA, Č, OLGICA, S., 2010.** Synergy between *Salvia officinalis L.* and some preservatives. *Central European Journal of Biology* 5: 491-95.
- **STEPIEN, L., LALAK-KANCZUGOWSKA, J., WITASZAK, N. et URBANIAK, M., 2019.** Fusarium secondary metabolism biosynthetic Pathways: so close but So Far Away. J.-M. Mérillon, K. G. Ramawat (eds.), *Co-Evolution of Secondary Metabolites*.01-04.
- **STÖCKIGT, J., SHELUDKO, Y., UNGER, M., GERASIMENKO, I., WARZECHA, H., STÖCKIGT, D., 2002.** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.
- **TANJI, A., 2001.** Adventices de la fève non irriguée dans la province de settat. Institut National de la Recherche Agronomique, BP 589' Settat, Maroc, *Al Awamia*, 103, 1-1.
- **THANGAVELU, R., PALANISWANI, A. & VELAZHAHAN, R., 2003.** Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing *Fusarium* wilt of banana. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 103, 259-263.
- **THOMAS, F., 2008.** La féverole confirme son intérêt. *Techniques culturales simplifiées* N°48.4ème édition. 102p.
- **TIWARI, R., RANA, C. S., 2015.** Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(5), 661-
- **TWAIJ, B. M., HASAN, M. N., 2022.** Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14
- **WAHBI, S., 2016.** Influence des cultures associées fève/blé sur le potentiel mycorhizien des sols et la structure de la microflore mycorhizosphérique : conséquences sur la productivité des agrosystèmes au Maroc. Montpellier : Université de Montpellier Université Cadi Ayyad (Marrakech, Maroc) : thèse de doctorat, Ecosystèmes et sciences agronomiques, sous la direction de Duponnois, Robin Hafidi, Mohamed
- **WALKER, J B., SYTSMA, K J., TREUTLEIN, J., WINK, M., 2004.** *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *Am. J. Bot.* 91, 1115–1125.
- **WANG, H –F., ZHANG, H., HUANG, J., YANG, T., SUN, X-L, MA, Y., REDDEN, R., 2012.** Genetic diversity and relationship of global faba bean (*vicia faba L.*) germplasm revealed by ISSR markers. *Theor APPL Genet.* 124: 789-797.

- **YAHIA Y., GUETAT A., ELFALLEH W., FERCHICHI A., YAHIA H., LOUMEREM M., 2012.** Analysis of agro morphological diversity of southern Tunisia faba bean (*Vicia faba L.*) germplasm. African Journal of Biotechnology, 11 (56), 11913- 11924.
- **Yılar, M., et Kadioğlu, İ., 2016.**Antifungal activities of some *Salvia* species extracts on *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* (Forl) mycelium growth in-vitro.
- **ZHANG, C., OU, X., WANG, J., WANG, Z., DU, W., ZHAO, J., HAN, Y., 2022.** Antifungal Peptide P852 Controls Fusarium Wilt in Faba Bean (*Vicia faba L.*) by Promoting Antioxidant Defense and Isoquinoline Alkaloid, Betaine, and Arginine Biosyntheses. Antioxidants, 11(9), 1767
- **ZHENG, J., WANG, L., HOU, W., HAN, Y., 2022.** *Fusarium oxysporum* Associated with Fusarium Wilt on *Pennisetum sinense* in China. Pathogens , 11, 999.

Annexes

ANNEXE 1

Milieux de culture

1. Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) : Selon Rappilly (1968) :

a. Composition

Tableau 6: Composition du milieu Potato Dextrose Agar (PDA)

Ingrédient	Quantité	Ingrédient	Quantité
Pomme de terre	200g	Agar agar	20g
Glucose	20g	Eau distillée	1000ml

b. Préparation

Peler, laver, couper en tranche la pomme de terre. Cuire 15 à 20 minutes dans 200ml d'eau, filtrer sur mousseline et presser. Ajouter le glucose au filtrat, compléter le volume à 1000ml, ajouter l'agar agar, la bien dissoudre en agitant. Autoclaver pendant 30 minutes à 121° C.

2. Milieu FEA (Faba Extract Agar) :

a. Composition

Tableau 7: Composition du milieu FEA (Faba Extract Agar)

Ingrédient	Quantité	Ingrédient	Quantité
Extrait de fève	200g	Agar agar	20g
Glucose	20g	Eau distillée	1000ml

b. Préparation

Laver 200g des graines de fève .Les mettre dans 500ml d'eau distillée et porter à l'ébullition pendant 20min. filtrer et prendre l'extrait, Ajouter le glucose au filtrat, compléter le volume à un litre, ajouter agar-agar. Stériliser le milieu 20minutes à 120°C.

3. Milieu CZ (Czapek Dox Agar) : Selon Rapilly (1968) :

a. Composition

Tableau 8: Composition du milieu CZ (Gzapek Dox Agar)

Ingrédient	Quantité	Ingrédient	Quantité
NaNO ₃	2g	FeSO ₄	0.01g
K ₂ HPO ₄	1g	Saccharose	30g
MgSO ₄	0.5g	Agar agar	20 g
KCl	0.5g	Eau distillée	1000ml

b. Préparation

Dans un volume d'eau distillée faire dissoudre séparément les substances minérales, une fois dissoutes mélanger l'ensemble des solutions. Ajouter le saccharose .Chauffer toute en agitant, ajouter l'agar agar, agiter pour la bien dissoudre, compléter le volume à 1000ml. Autoclaver pendant 30 minutes à 121° C.