



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en sciences agronomiques

**Spécialité : Protections des cultures**

### THÈME

**Effet *in vitro* de l'extrait méthanolique des feuilles  
et des tiges de *Ruta chalepensis*, *Ruta angustifolia* et  
*Applophyllum tuberculatum* vis-à-vis de *Fusarium  
oxysporum f. sp. Radicis lycopersici*, *Alternaria  
solani*, *botrytis cinerea* et *pectobacterium  
cacarotovorum*.**

**Présenté par : M<sup>lle</sup> SPIGA Nerdjes**

#### DEVANT LE JURY

Président : M.NEMMICH

MCA, Univ. Mostaganem

Encadreur : M<sup>me</sup> BERGHEUL S.

MAA, Univ. Mostaganem

Examineurs M<sup>me</sup> SAYAH F.

MCB, Univ. Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire de Protection des cultures, Université de Mostaganem*

# Liste des figures

**Figure 01:** Diffusion de la tomate dans le monde.

**Figure 02 :** Les fruits de *L.esculentum* Miller.

**Figure 03 :** cycle biologique de la tomate *L.esculentum* Miller.

**Figure 04:** Production des principaux pays producteurs de la tomate dans le monde (million de tonnes).

**Figure06 :** cycle biologique de *Fusarium oxysporum f. sp radicis-lycopersici*.

**Figure07 :** symptômes de *Fusarium oxysporum* sur feuilles et tiges de tomate.

**Figure08 :** symptômes d'Alternariose sur plant de tomate sur fruit, feuille et tige

**Figure09 :** cycle évolutif d'*Alternaria solani* sur tomate et pomme de terre

**Figure10 :** Cycle de développement (production asexuée) de *Botrytis cinerea* sur différentes cultures

**Figure11 :** Symptômes de *Botrytis cinerea* sur fruits, feuilles et tiges de tomate

**Figure12 :** cycle de reproduction de *Pectobacterium carotovorum* sur pomme de terre.

**Figure 13 :** La carte de situation des différentes zones d'étude

**Figure 14 :** Photos de *Haplophyllum tuberculatum* (fraîche et sèche)

**Figure 15 :** Photos de *Ruta chalepensis* L (fraîche et sèche)

**Figure 16 :** Photos de *Ruta angustifolia* Pers (fraîche et sèche)

**Figure 17 :** Montage d'un soxhlet

**Figure 18 :** schéma représentant les étapes du dosage des flavonoïdes.

**Figure 19 :** les dilutions préparées pour les feuilles de *R.chalepensis*

**Figure 20 :** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

**Figure 21 :** Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits méthanoïque des trois espèces de *Ruta.sp* (Feuilles et tiges).

**Figure 22 :** résultats du test antibactérien obtenu avec les extraits purs de chaque plante sur la bactérie *Pectobacterium carotovorum*.

**Figure 23 :** Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des feuilles de *Ruta chalepensis*.

**Figure 24** : croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Ruta angustifolia*.

**Figure 25** : croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Haplophyllum tuberculatum*.

**Figure 26** : Taux d'inhibition (%) de FORL traité à l'extrait méthanolique des feuilles des trois espèces étudiées.

**Figure 27** : Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges de *Ruta chalepensis*.

**Figure 28** : croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges de *Ruta angustifolia*.

**Figure 29** : croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges d'*Haplophyllum tuberculatum*.

**Figure 30** : Taux d'inhibition (%) de FORL traité à l'extrait méthanolique des tiges des trois espèces étudiées.

**Figure 31** : Croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Ruta chalepensis*.

**Figure 32** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Ruta angustifolia*.

**Figure 33** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles d'*Haplophyllum tuberculatum*.

**Figure 34** : Taux d'inhibition (%) d'*Alternaria solani* traité à l'extrait méthanolique des feuilles des trois espèces étudiées.

**Figure 35** : Croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des tiges de *Ruta chalepensis*.

**Figure 36** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges de *Ruta angustifolia*.

**Figure 37** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges d'*Haplophyllum tuberculatum*.

**Figure 38** : Taux d'inhibition (%) d'*Alternaria solani* traité à l'extrait méthanolique des tiges des trois espèces étudiées.

**Figure 39** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *R.chalepensis* sur *Fusarium oxysporum f. sp radicis lycopersici*.

**Figure 40** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *R.angustifolia* sur *Fusarium oxysporum f. sp radicis lycopersici*.

**Figure 40** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *A.tuberculatum* sur *Fusarium oxysporum f. sp radicis lycopersici*.

**Figure 41** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *R.angustifolia* sur *Alternaria solani*.

**Figure 42** : resultat du test antifongique de l'ensemble des extraits méthanoliques sur *Botrytis cinerea*.

# Liste des tableaux

**Tableau 01** : Composition biochimique de la tomate crue.

**Tableau02** : Les maladies cryptogamiques de la tomate *L.esculentum* Miller.

**Tableau03** : Les maladies bactériennes de la tomate *L.esculentum* Miller.

**Tableau 04** : maladies virales de la tomate *L.esculentum* Miller.

**Tableau 05** : les ravageurs de la tomate *L.esculentum* Miller.

**Tableau 06** : les critères de différenciation entre les espèces de *Ruta*.

**Tableau 07** : autres groupes de composants chimiques des rues.

**Tableau08** : Exemple de produits de lutte biologique commercialisés dans le monde pour la lutte contre *Botrytis cinerea*.

**Tableau09** : les différentes méthodes de lutte contre *B.cinerea*.

**Tableau 10** : situation géographique et climatique des trois zones de récolte

**Tableau 11** : Observation macroscopique et microscopique des souches fongiques et de la souche bactérienne utilisés.

**Tableau 12** : Caractéristiques organoleptiques des extraits obtenus.

# REMERCIEMENTS

Que ces quelques mots très importants glissés à l'endroit de certaines personnes ne soient pris pour des compliments ou complaisances. C'est juste une manière symbolique de remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce document.

D'abord, nous tenons à remercier ALLAH Le tout puissant de nous avoir les ressources morales et physiques pour conduire à terme ce travail.

Nous tenons ensuite à exprimer notre reconnaissance et nos respects sans limite pour notre encadreur M<sup>me</sup> BERGHEUL S. pour sa prise en charge, ses conseils précieux et surtout son humilité. Elle a su motiver et diriger notre travail avec tout enthousiasme. Merci pour tout ce que vous avez apporté à nos connaissances.

Nous ne pourrions également oublier de remercier vivement M. BERAHAL Nabil de nous avoir pris en charge et accueilli dans son laboratoire. Notre grand respect pour cet humble ingénieur qui n'a jamais lésiné de son temps pour orienter et conseiller tous les étudiants sans exception.

Nous nous permettons aussi d'exprimer notre profonde gratitude à l'endroit de :

Notre collègue M. BOURABA Abderraouf de nous avoir accompagné tout au long de l'étude et partager avec nous les moments de travail inoubliables. Merci cher frère pour ta générosité et ton grand cœur.

Le professeur M.NEMMICH qui, malgré les charges qu'il avait dans son travail, il nous a énormément aidé et orienté. Merci pour votre disponibilité.

Notre chef de parcours M<sup>m</sup>. SAYAH.F de nous avoir encouragé et d'avoir accepté de juger notre travail.

Notre examinatrice M<sup>m</sup>. BENWERAD d'avoir accepté de juger notre travail.

Tous les ingénieurs des laboratoires de biochimies du département de biotechnologie : M.Djilali, M<sup>m</sup> Fatima, M<sup>lle</sup> Hafida, M<sup>m</sup> Mokhtariya pour leur accueil et leur bonne humeur.

Merci enfin à toutes les personnes qui ont contribué, de près comme de loin, au bon déroulement de l'étude, ainsi ceux qui ont bien voulu nous apporter leur soutien moral et matériel dans l'élaboration de ce travail.

M<sup>lle</sup> Nerdjes SPIGA

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Liste des abréviations

## Résumé

## Abstract

## Introduction générale .....01

## Partie bibliographique

### Chapitre I : la plante hôte *Lycopersicon esculentum* Mill.

#### I. Introduction .....03

#### II. Origine et historique .....03

#### III. Classification botanique .....04

#### IV. Description botanique du plant de la tomate .....04

#### V. Biologie de la tomate .....05

#### VI. Composition biochimique .....06

#### VII. Importance économique de la tomate dans le monde .....07

#### VIII. Principales maladies de la tomate .....07

##### 1. Maladies cryptogamiques .....08

##### 2. Maladies bactériennes .....08

##### 3. Maladies virales .....09

##### 4. Les ravageurs de la tomate .....10

### Chapitre II : la matière végétale

#### I. Caractéristiques générales des rutacées .....11

#### II. Aperçu sur le genre *Ruta* .....11

#### III. Les espèces de *Ruta* les plus connues .....11

##### 1. *Ruta chalepensis* (décrite ci-dessous) .....11

##### 2. *Ruta montana* ..... 11

##### 3. *Ruta graveolens* .....11

#### IV. *Ruta chalepensis* (rue d'Alep) .....12

##### IV. 1. Historique .....12

##### IV.2. Origine et répartition géographique .....13

IV.3. Description	
botanique .....	13
IV.4. Position Systématique.....	14
IV.5. Composition chimique .....	14
V. <i>Ruta angustifolia</i> (Rue à feuilles étroites) .....	15
V.1. Historique .....	15
V.2. Origine et répartition géographique .....	15
V.3. Position systématique .....	15
V.4. Description botanique .....	16
V.5. Composition chimique .....	16
VI. <i>Haplophyllum tuberculatum</i> (rue saharienne) .....	16
VI.1. Historique .....	16
VI.2. Origine et répartition géographique .....	17
VI.3. Position Systématique .....	17
VI.4. Description botanique .....	17
VI.5. Composition chimique .....	18
VII. Les flavonoïdes .....	18
VII.1. Définition .....	18
VII.2. Présence des flavonoïdes chez les genres <i>Ruta</i> et <i>Haplophyllum</i> .....	19
IX. Activité biologique des rues .....	20

### **Chapitre III : les agents pathogènes**

I. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Radicis lycopersici</i> .....	22
I.1. Présentation du pathogène .....	22
I.2. Position taxonomique .....	22
I.3. Caractères morphologiques .....	22
I.4. Biologie du pathogène .....	23
I.4.1. Conservation, source d'inoculum .....	23



I.4.2. Pénétration et invasion .....	23
I.4.3. Sporulation et dissémination .....	23
I.5. Gamme d'hôtes .....	24
I.6. Symptomatologie .....	25
I.6.1. La flétrissure fusarienne ou fusariose vasculaire .....	25
I.6.2. La pourriture de la racine et du collet .....	25
I.7. Moyens de lutte .....	26
I.7.1. Lutte biologique contre la fusariose vasculaire des tomates (L'emploi de souches non-pathogènes de <i>F. oxysporum</i> ).....	26
I.7.2. Lutte prophylactique .....	26
I.7.3. Lutte chimique .....	26
III. <i>Alternaria solani</i> .....	27
III.1. Présentation du pathogène .....	27
III.2. Caractéristiques morphologiques .....	27
III.4. Symptômes sur tomate .....	28
III.5. Biologie du pathogène .....	28
III.6. Moyens de lutte .....	29
III.6.1. Lutte préventive et culturale .....	29
III.6.2. Lutte chimique .....	29
II. <i>Botrytis cinerea</i> .....	30
II.1. Présentation du pathogène .....	30
II.2. Position taxonomique .....	30
II.3. Caractéristiques morphologiques .....	30
II.4. Gamme d'hôte .....	30
II.5. Biologie du pathogène .....	31

II.6. Symptômes sur tomate .....	32
II.7. Moyens de lutte .....	32
II.7.1. Lutte biologique (par les agents microbiens) .....	32
II.7.2. Lutte physique, chimique et culturale .....	34
IV. <i>Pectobacterium carotovorum</i> .....	35
IV.1. Présentation du pathogène .....	35
IV.2. Position taxonomique .....	35
IV.3. Caractéristiques morphologiques .....	35
IV.4. Gamme d'hôtes .....	35
IV.5. Symptômes .....	36
IV.6. Biologie du pathogène .....	36
IV.6.1. Conservation, sources d'inoculum .....	36
IV.6.2. Pénétration et invasion .....	36
IV.6.3. Multiplication et dissémination .....	37
IV.7. Moyens de lutte .....	38
 <b>Chapitre IV : utilisation des extraits végétaux dans la lutte biologique</b>	
I. Historique et définition de la lutte biologique .....	39
II. Utilisation des extraits végétaux dans la lutte biologique .....	39
II.1. Introduction .....	39
II.2. Caractéristiques et intérêts des préparations à base de plantes .....	39
II.3. Mécanisme d'action sur les microorganismes .....	40
II.4. Les opportunités de développement des anciennes utilisations des extraits de plantes ...	41
II.6. Perspectives et progrès visés par l'utilisation des extraits naturels dans la lutte biologique .....	42

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : matériel et méthode**

I. Introduction .....	43
II. Objectif .....	43
III. Partie biochimique .....	43
III.1. Préparation de l'extrait méthanolique .....	43
III.1.1. Matériel destiné à l'extraction .....	44
III.1.1.1. Matière végétale .....	44
III.1.1.2. Appareillage .....	47
III.1.1.3. Verrerie .....	48
III.1.1.4. Produits utilisés .....	48
III.1.2. Principe de l'extraction par soxhlet .....	49
III.1.3. Mode opératoire .....	49
III.2. Dosage des flavonoïdes .....	49
IV. Partie microbiologique .....	51
IV.1. Matériels destinés à l'étude microbiologique .....	51
IV.1.1. Matériel fongique et bactérien .....	52
IV.1.2. Matériel du laboratoire .....	52
IV.1.3. Appareillage .....	52
IV.1.4. Produits utilisés .....	53
IV.2. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne .....	53
IV.3. Méthode d'évaluation de l'activité antifongique .....	54
IV.3.1. Préparation des dilutions de l'extrait méthanoïque .....	54
IV.3.2. Le Rendement d'extraction .....	55

IV.3.4. Détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne .....	56
IV.3.5. Analyse statistique des donnés .....	56
<b>Chapitre II : résultats et discussion</b>	
I. Caractéristiques organoleptiques des extraits obtenus .....	57
II. Teneur en flavonoïdes des extraits obtenus .....	59
IV. Résultats du test antibactérien .....	60
V. Résultats des tests antifongiques .....	60
Discussion .....	72
I. Rendement d'extraction .....	72
II. Teneur en flavonoïdes des extraits bruts méthanoïques .....	73
III. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	73
IV. Evaluation de l'activité antifongique .....	74
V. La relation déduite entre la teneur en flavonoïdes et le potentiel antimicrobien .....	76
<b>Conclusion</b> .....	78

## Résumé

Notre étude vise à évaluer l'activité antifongique et antibactérienne de l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles de trois espèces de la famille des rutacées récoltées dans trois régions différentes de l'Algérie (Sud, Est et Ouest), il s'agit de : *Haplophyllum tuberculatum*, *Ruta angustifolia* et *Ruta chalepensis*. Ces essais sont sous tendue par deux préoccupations : la première étant d'étudier la composition phytochimique des extraits obtenus par le dosage des flavonoïdes dans la partie aérienne des trois espèces ; la seconde consiste à mettre en interaction ces extraits avec un ensemble de champignons (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*) et bactérie (*Pectubacterium carotovorum*) ; des agents phytopathogènes qui attaquent la tomate dont les résultats nous permettent d'estimer leur potentiel antimicrobien. Tout cela est investigué dans le cadre de la lutte biologique contre les maladies de la tomate.

Le dosage spectrophotométrique des flavonoïdes a révélé que les deux espèces *R.angustifolia* et *R.chalepensis* contiennent un taux beaucoup plus important que celui de *H.tuberculatum*.

Les extraits méthanoliques des espèces n'ont révélé aucun effet bactérien. *Pectubacterium carotovorum* a montré une résistance remarquable et ceci pour toutes les doses utilisées.

Les résultats du test « in vivo » de l'effet antifongique des trois espèces de la rue ont été suffisamment intéressants dont le plus intéressant était celui obtenu avec *Botrytis cinerea* qui s'est montré hautement sensible vis-à-vis de tous les extraits utilisés. Le taux d'inhibition de ce champignon s'est révélé de 100% avec toutes les concentrations et donc à une CMI de 0.02g/ml. *Fusarium oxysporum* s'est également révélé hautement sensible vis-à-vis des feuilles de *Ruta angustifolia* avec un taux d'inhibition de 100% à une CMI de 0.08g/ml, de même les tiges de *R.chalepensis* et *Ruta angustifolia* ont signalées un taux d'inhibition de 100% à une CMI de 0.08g/ml vis-à-vis d'*Alternaria solani*.

**Mots clés :** *Ruta. angustifolia Pers*, *Ruta chalepensis L* et *Haplophyllum tuberculatum (Fosk) Juss*), dosage des flavonoïdes, pouvoir antimicrobien, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Pectubacterium carotovorum*, extrait méthanolique.

## Abstract

The fundamental aim of our study is to evaluate the antifungal and antibacterial activity of the methanolic extract of three plants from solanacees family, there are *Ruta chalepensis*, *Ruta angustifolia* and *Haplophyllum tuberculatum*. This activity is destined for a series of tomato pathogens which are *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* and the bacteria *Pectubacterium carotovorum*.

This test spends up on two main concerns, the first consist of evaluating the chemical composition by professional methods. The second consist of putting the methanolic extract in interaction with microorganism choised in order to estimate their antimicrobial potential. All this experiment is investigated in an aspect of biological control. Now in both cases there are many physical and biological factors that should be considered.

In this order we have elaborated our protocol and we have obtained good results; the most important was about *Botrytis cinerea* which reveled a high sensibility with a 100% of inhibition percentage at a CMI of 0.02g/ml. *Fusarium oxysporum* has also reveled a high sensibility with an inhibition of 100% of its growth at a CMI of 0.08g/ml of *Ruta angustifolia* extract.

**Key words :** *Ruta. angustifolia Pers., Ruta chalepensis L et Haplophyllum tuberculatum (Fosk) Juss*), dosage of flavonoïds, antimicrobial power, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Pectubacterium carotovorum*, méthanolic extract.

La culture de la tomate est d'une grande importance économique dans le monde. Elle occupe le deuxième rang parmi les légumes les plus commercialisés au niveau du marché international. Toutes les communautés se forcent à augmenter la production de cet aliment si utile pour garantir leur autosuffisance, mais des milliers d'hectares se détruisent chaque saison à cause d'une maladie ou d'un ravageur. Il est dans ce cas indispensable de sauver le maximum de cette production, et cela n'est possible qu'avec une maîtrise de protection à tous les niveaux.

Au cours de leur développement, les plantes notamment la tomate, sont continuellement soumises à un ensemble de bioagresseurs provoquant des maladies et des dégâts qui ont un fort impact sur la production agricole.

Pour augmenter le rendement et éviter les pertes post-récolte, les producteurs agricoles ont de plus en plus recours aux pesticides chimiques, et donc automatiquement à une pollution de plus en plus accrue sur l'environnement.

En effet, dans le cadre d'une agriculture largement intensive, l'usage de produits phytosanitaires est devenu quasiment systématique car en contrôlant ces bioagresseurs, il permet de maintenir un haut niveau de productivité.

La fusariose, l'alternariose, la pourriture grise et la pourriture molle font partie des maladies les plus destructives de la tomate. Ces maladies sont causées par des agents pathogènes qu'on peut citer respectivement : *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* et *Pectubacterium carotovorum*. La pathogénicité de ces organismes qui évolue avec le temps, ainsi que la résistance qu'ils développent vis-à-vis des produits phytosanitaires ont rendu difficile leur contrôle.

Par ailleurs, dans un contexte de plus en plus focalisé sur le respect de l'environnement et la santé publique, les stratégies de lutte tendent à privilégier des pratiques limitant les intrants notamment l'utilisation de pesticides chimiques.

Tout en encourageant la revalorisation des substances d'origine végétale en Algérie, l'exploration de cette richesse floristique présente dans nos différents écosystèmes pourrait aboutir à l'homologation de nouveaux pesticides à base de plantes qui sont très riches en métabolites secondaires.

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, et le Sahara.

Du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs utilisations par les populations locales pour se soigner, les Rues se sont imposées dans la présente étude, et font l'objet de notre essai sur une série de pathogènes de la tomate. Trois espèces différentes de la famille des rutacées ont été choisies, la rue d'Alep (*Ruta chalepensis*), la rue à feuille étroite (*Ruta angustifolia*), et la rue saharienne (*Haplophyllum tuberculatum*) réparties sur trois zones géographiques distinctes (la cote de Mostaganem, la plaine de Bordj bouareridj, et le sahara d'Adrar).

Les aptitudes que possèdent les plantes de cette famille les rendent intéressantes dans la recherche de substances végétales éventuellement efficaces contre les pathogènes choisis.

En associant la connaissance traditionnelle des plantes riches en métabolites secondaires, la recherche scientifique sur leurs constituants actifs, et les observations in-vitro de leur effet antimicrobien, il est possible de dresser une stratégie d'exploitation des plantes ayant cette particularité dans le domaine de la lutte biologique contre les maladies des cultures.

En effet, la flore algérienne avec plus de 3000 espèces est à ce jour peu explorée. Plusieurs plantes aromatiques ont été révélées comme antimicrobiens au cours des recherches récemment réalisées. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'études phytochimiques et ont abouti à l'isolement et à l'identification de diverses catégories de molécules qui confirment solidement les propriétés décrites ci-dessus.

Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très variés et très différents selon les espèces. Leur exploration, et notamment celle du monde végétal, est encore capitale à l'heure actuelle et réalisée souvent par une étude phytochimique qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance végétale. Dans le cas de notre étude, les rutacées sont connues pour leur richesse en molécules, parmi celles-ci, les flavonoïdes qui constituent l'un des groupes les plus importants.

A cet effet, nous apportons notre modeste contribution à un vaste programme qui consiste à la recherche de l'activité biologique des extraits naturels de différentes sources végétales. Nos essais ont été dirigé contre une gamme de pathogène bien précise.



## I. Introduction

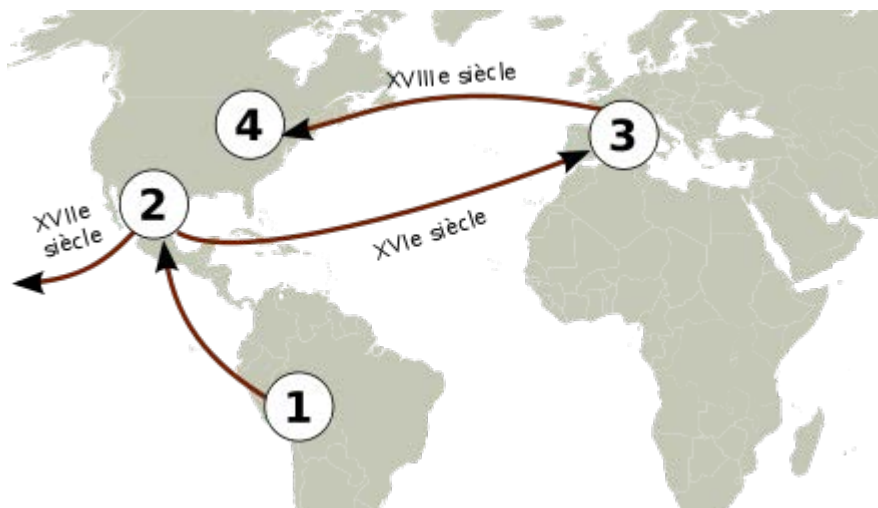
La tomate est une espèce de plantes herbacées de la famille des Solanacées. Cette culture est très répandue dans le monde entier, 90% de la production mondiale est obtenue dans l'hémisphère nord (bassin méditerranéen, Californie et Chine). Il existe plus de 4000 variétés de tomate, certaines sont résistantes aux maladies et à d'autres facteurs (biotiques et abiotiques), d'autres sont différentes par les caractéristiques de leurs fruits, leur précocité et leur type de croissance (indéterminé ou déterminé) (Celma *et al*, 2009).

Selon le même auteur, la tomate est une culture à cycle assez court, donne un haut rendement et elle présente de bonnes perspectives économiques. Elle est cultivée aussi bien pour la consommation fraîche que pour la transformation industrielle.

## II. Origine et historique

La tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. est originaire d'Amérique du sud (Mexique, Pérou Equateur, Bolivie etc.). Elle fut découverte par Mathiolus en 1554, puis introduite en Europe au 16<sup>ème</sup> siècle via l'Espagne (Grasselley *et al*, 2000). Elle s'est ensuite propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et en Moyen-Orient (Shankara *et al*, 2005).

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



**Figure 01:** Diffusion de la tomate dans le monde (Gallaiis et Bannerot, 1992).

### III. Classification botanique

Selon Dupont et Guignard, (2012) et Spichiger *et al*, (2004), la tomate appartient à la classification suivante :

**Règne** ..... Plantae  
**Sous règne** ..... Trachenobionta  
**Division** ..... Magnoliophyta  
**Classe** ..... Magnoliopsida  
**Sous classe** ..... Asteridae  
**Ordre** ..... Solonales  
**Famille** ..... Solanaceae  
**Genre** ..... *Lycopersicon*  
**Espèce** ..... *L. esculentum* Miller



**Figure 02** : Les fruits de *L.esculentum* Miller  
 (Photos originale, 2014).

### IV. Description botanique du plant de la tomate

La tomate est une plante annuelle buissonnante, poilue et aux tiges plutôt grimpantes. Cette plante potagère herbacée voit sa taille varier de 40 cm à plus 5 mètres selon les variétés et le mode de culture (Dumortier, 2010). La racine de la tomate pivotante, pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices. La tige présente un port de croissance entre érigé et prostré, elle pousse jusqu'à une longueur de 2 à 4 m, elle est pleine, fortement poilue et glandulaire. Des feuilles sont disposées en spirale, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires (Spichiger *et al*,2004).

L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm. les fleurs sont bisexuées, régulières et entre 1,5 et 2 cm de diamètre, elles poussent opposées aux - ou entre les feuilles. Le tube du calice est court et velu, les sépales sont persistants, jaunes et courbées lorsqu'elles sont mûres. Il y a 6 étamines et les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le style qui a une extrémité stérile allongée. L'ovaire est supère avec entre 2 et 9 carpelles. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu.

Le fruit est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés. Les graines sont nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (NAIKA *et al.*, 2005).

## V. Biologie de la tomate

### La germination :

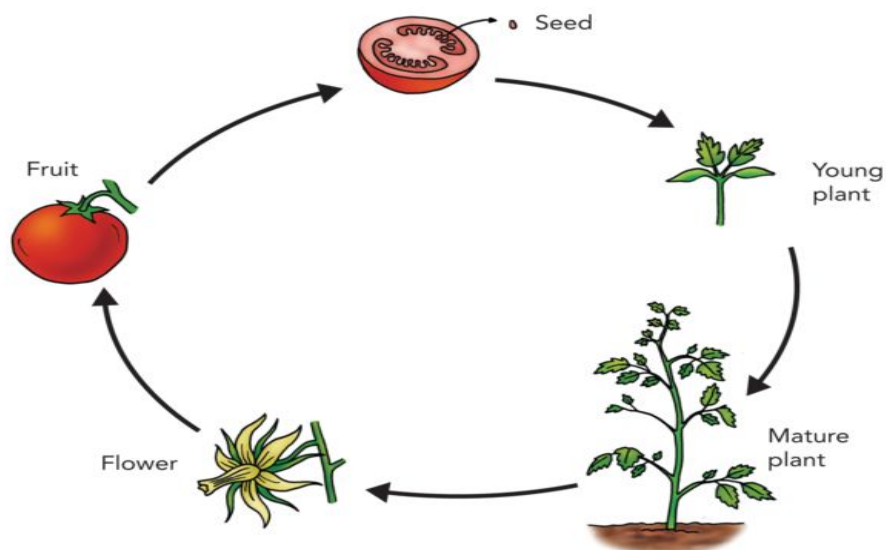
La graine est épicée, un axe hypocotylé porte deux cotylédons de forme ovale, le cycle végétatif dure 4 à 6 mois, l'initiation florale se produit dans les deux semaines suivant le déploiement des cotylédons, La 1ère inflorescence apparaît entre le 2ème et le 3ème entre nœud et la tige secondaire tous les 4 feuilles. Ce type de croissance est dit (indéterminé). De nouvelles inflorescences se forment sur des ramifications secondaires développées à partir des bourgeons axillaires situés à l'aisselle des feuilles. La graine doit être soumise à des conditions favorables de température et d'aération et du sol (Dupont et Guignard, 2012).

### La croissance :

Selon Rey et Costes (1965) la croissance d'un végétal est définie par une augmentation irréversible d'une ou de plusieurs de ses dimensions. Cette augmentation des dimensions se traduit par le développement de la plante à travers ses différents stades.

### La floraison et la fécondation :

La floraison est l'épanouissement des fleurs. Ce phénomène est précédé par l'apparition et le développement des ébauches florales dus à la transformation du méristème apicale lorsqu'il passe de l'état végétatif à l'état reproducteur. Mais la fécondation se fait par pollinisation naturelle sous l'influence de plusieurs facteurs tels que la température, le vent et les insectes. Lorsque la fécondation a lieu, elle se traduit par l'apparition de fruit vert. La durée entre la pollinisation et la fécondation est 2 à 3 jours (Rey et Costes, 1965).



**Figure 03 :** cycle biologique de la tomate *L.esculentum* Miller.

**VI. Composition biochimique :**

La tomate est un aliment diététique riche en eau et pauvre en calories. Le fruit renferme aussi beaucoup d'éléments minéraux et de vitamines (Tableau 3), dont la plus importante en quantité est la vitamine C (ou acide ascorbique). Lorsque le fruit est mûr, il contient aussi des pigments de la famille des caroténoïdes. Le B-carotène possède une activité de provitamine A. Le lycopène, aussi présent en grande quantité dans le fruit mûr (entre 3 et 8 mg/100 g de matière fraîche) mais surtout dans les concentrés de tomate (30 mg pour 100 g de concentré). (Zidani, 2009)

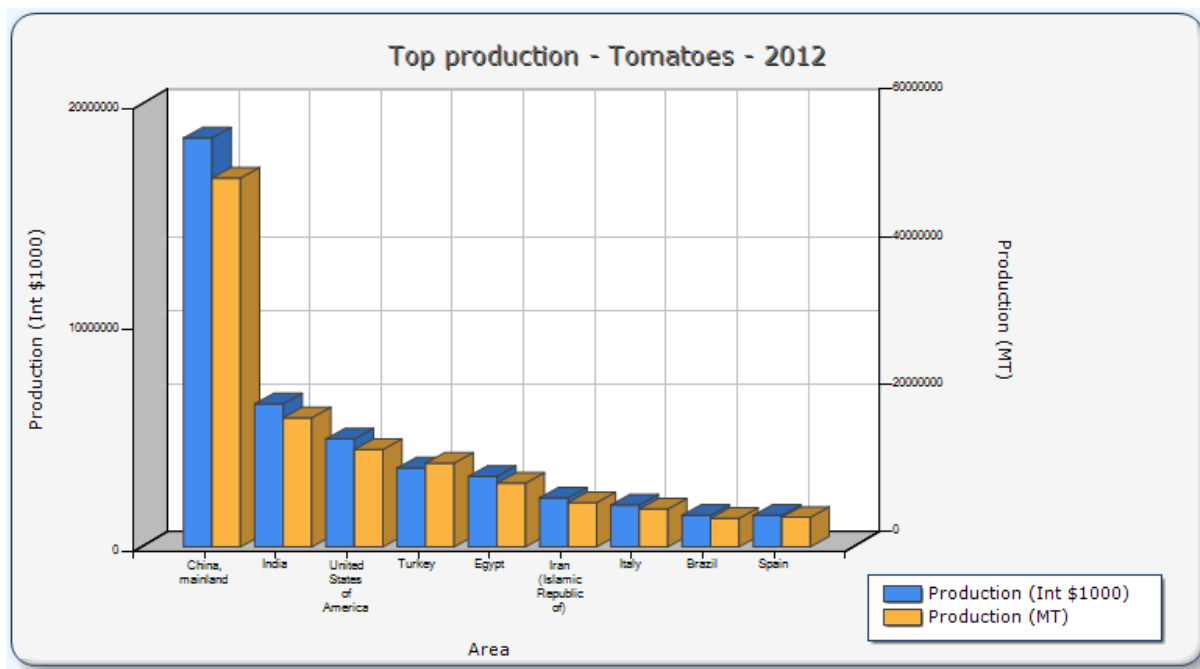
Tomate crue (Teneur par 100 g)	
Energie (kcal)	18
Energie (KJ)	77
Eau (g)	93.3
Glucides disponibles (g)	3.2
Fibres alimentaires (g)	1.3
Lipides (g)	0.2
Protéines (g)	0.9
Sodium (g)	6
Potassium (g)	245
Magnésium (g)	11

Phosphore (g)	25
Calcium (g)	10
Fer (g)	0.4
Carotène (µg)	600
Lycopène (mg)	6

**Tableau 01** : Composition biochimique de la tomate crue (Zidani, 2009).

### VII. Importance économique de la tomate dans le monde

la tomate est cultivée dans presque tous les pays du monde, sa production est répartie dans toutes les zones climatiques, y compris dans des régions relativement froides grâce au développement des cultures sous abri. A l'échelle mondiale la tomate est classé deuxième culture légumière après la pomme de terre de par son volume de production. En effet, près de cinq millions d'hectares sont réservé annuellement à cette culture avec une production plus de 140 millions de tonnes et un rendement moyen de 28,3 tonne à l'hectare (Faostat,2011).



**Figure 04:** Production des principaux pays producteurs de la tomate dans le monde (million de tonnes) ( FAO STAT,2012).

### VIII. Principales maladies de la tomate

La culture de tomate peut être affectée par plusieurs maladies : maladie cryptogamiques,

bactériennes, virales et physiologiques

### 1. Maladies cryptogamiques

Maladies	Symptôme et dégâts
Mildiou	Grandes taches brunes sur les feuilles et les tiges.
Alternariose	Tâches noires de taille variables sur les feuilles.
Fusariose	Flétrissement des feuilles avec brunissement des vaisseaux et pourriture des racines.
Verticilliose	Flétrissement des feuilles accompagné d'un jaunissement. Unilatéral suivi de dessèchement des feuilles de la base.
Anthraxose	Tâches circulaires de 05 à 10 mm sur les fruits rouges.
Oïdium	Feutrage blanc sur feuilles.
Pourriture grise	Feutrage gris sur les feuilles et sur les fruits.

**Tableau02** : Les maladies cryptogamiques de la tomate *L.esculentum* Miller. (Snoussi, 2010).

### 2. Maladies bactériennes

Maladie	Nom scientifique	Symptômes et dégâts
Chancre bactérien	<i>Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis.</i>	Flétrissement unilatéral sur feuille, suivi d'un dessèchement total des coupes longitudinales sur tige et pétioles. Sur fruits, se forment des taches blanchâtres.
Moucheture de la tomate	<i>Pseudomonas syringae pv. tomato.</i>	Sur feuillage : Apparition des taches noires de contour irrégulier entourées d'un halo jaune. Les folioles se dessèchent et tombent

Gale bactérienne	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Vesicatoria</i> .	De nombreuses taches entraînent le dessèchement de folioles et la chute des feuilles. Sur fruit, de petits chancres pustuleux apparaissent et prennent un aspect liégeux.
Flétrissement bactérienne des solanacées	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Flétrissement de type <i>Verticillium</i> ou <i>Fusarium</i> mais suivi de la mort très rapide de la plante.

**Tableau03** : Les maladies bactériennes de la tomate *L.esculentum* Miller (Snoussi, 2010).

### 3. Maladies virales :

Maladie virale	Symptômes et dégâts
Virus de la mosaïque du tabac (TMV)	Transmis par la semence et par voie mécanique donnant des plages vert clair et vert foncé sur feuilles jeunes.
Virus de la mosaïque du tabac (pep MV)	Donne des décolorations de feuilles et une stérilisation des inflorescences, également transmis par les semences et par voie mécanique.
Virus Y de la pomme de terre (PYV)	Donne des nécroses sur feuilles avec dessèchement.
Tomato chlorosis crinivirus et Tomato infectious chlorosis crinivirus (TICV), Tomato spotted, wilt virus ou maladie bronzée. Tomato yellow leaf-cruf (TYLCV)	Virus provoquant la crispation et le jaunissement sur feuilles.
Stolbur	Maladie à mycoplasmes, reprise ici dans les maladies à virus car elle a des caractéristiques similaires symptômes de chloroses, prolifération des rameaux, réduction du feuillage, et transmission par les insectes (cicadelles).

**Tableau 04** : maladies virales de la tomate *L.esculentum* Miller. (Snoussi, 2010).

## IX. Les ravageurs de la tomate :

Insectes et ravageurs	Nom scientifique	Symptômes et dégâts
Nématodes à galles	<i>Meloidogyne incognito</i> Chitwood. et <i>M.arenaria</i> Neal.	Des galles sur les racines des plants attaqués. La tige rabougrit, les feuilles jaunissent, puis la plante dépérit.
Acariens	<i>Tetranychus (urticae)</i> Koch, 1836). et <i>T.cinnabarinus</i> (Boisduval, 1867).	La face inférieure des folioles devient brune à bronzée. Sur fruit, la peau présente des craquelures
Noctuelles terricoles Noctuelles des fruites	<i>Agrostis segetum</i> (Oberdorfer, 1938) <i>Chloridea armigera</i> (Hampson, 1903)	Les jeunes chenilles dévorent le collet et entraînent la mort de la plante.
Aleurodes	<i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood,1856). et <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius,1889).	Rabougrissement des apex et développement de fumagine sur le miellat produit par les larves, transmission des virus ToCV, TICV et TYLCV
Cicadelles	<i>Hialesther obsoletus</i>	Transmission du stolbur, mycoplasmosse.
Mineuses	<i>Liriomyza trifolii</i> (Burgess, 1880), <i>L.strigata</i> (Meigen, 1830) et <i>Tuta absoluta</i> Meyrick.	Galleries dans le limbe des feuilles âgées par les larves (figure 7)
pucerons	<i>Macrosiphone eneuphorbiae</i> (Buninge, 1985). <i>Myzus persicae</i> (Sulze, 1776).	Enroulement des feuilles, développement de la fumagine et transmission de virus.

Tableau 05 : les ravageurs de la tomate *L.esculentum* Miller. (Ziris, 2011).



## I. Caractéristiques générales des rutacées

Les rutacées s'identifient par leur appareil sécréteur représenté par des poches sécrétrices, d'origines épidermiques, elles sont surtout présentes dans les feuilles ou elles apparaissent sous formes de point transparent dans les organes d'origine foliaire (sépal, pétale paroi de l'ovaire et du fruit) et dans les tiges jeunes, encore d'une assise suberophélodermique. Les poches sécrétrices à essence, sont parfois remplacées ou accompagnées par des cellules sécrétrices à essence (Judd *et al.* 2002).

La famille est remarquable par la diversité de ses fruits qui peuvent être une baie à paroi coriace ou une capsule. La majorité est allogame en raison de leurs fleurs unisexuées ou dans le cas de fleurs hermaphrodite parce que les stigmates et les anthères sont distants spatialement ou ont des périodes de maturité différentes (Spichiger *et al.*, 2002).

## II. Aperçu sur le genre *Ruta* :

*Ruta* vient du grec « rhyté » qui signifie sauver, prévenir, ou de « reô » qui signifie qui coule faisant certainement référence à ses vertus emménagogues (Doerper, 2008).

Ce genre comprend 8 espèces d'arbustes, de sous-arbrisseaux et de vivaces herbacées à souche ligneuse, caducs ou persistants, vivants dans les lieux secs et rocailleux, de la région méditerranéenne, et du nord-est de l'Afrique jusqu'au sud-ouest de l'Asie. Les fleurs et le feuillage aromatiques, sont le principal attrait des rues. Les feuilles sont alternes, parfois opposées, ovales, larges, arrondies et pennatiséquées ou pennées. Les fleurs, jaunes, fimbriées ou dentées, à quatre ou cinq pétales, s'épanouissent en cymes terminales (Mioulane, 2004).

Le feuillage a parfois un usage médicinal, la plante entière étant toxique (Spichiger *et al.*, 2002).

## III. Les espèces de *Ruta* les plus connues :

Ils sont très proches en forme, composition et en propriétés pharmacologiques

1. *Ruta chalepensis* (décrite ci-dessous).
2. *Ruta montana* : c'est la rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima* Jacq. ; *Ruta tenuifolia* Gouan) ou bonne rue, appelée vulgairement en Algérie : *fidjlet el-djbel*(فيجل) ou *Fidjela*(فجلة), a une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne (Doerper, 2008).
3. *Ruta graveolens* : *graveolens* vient du latin « gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (Oliva *et al.*, 2003). Appelée aussi rue-officinale, rue-puante, rue fétide, rue des jardins, Herbe à la belle-

fille, Rue des murailles et également péganion (Lemoine, 2001), cette espèce est appelée vulgairement *Fidjen* فيجن (Abdulbasset et Abde Tawab, 2008).

Nom scientifique	Port	Feuille/ folioles	Fleur	Fruit/capsule
<b><i>Ruta chalepensis</i></b> (Rue d'Alep)	-feuillage léger -base ligneuse -80 cm à 1 cm	-vert jaunâtre -segments oblong (plus large à la partie supérieure)	Pétales concaves, frangés (franges dressées)	-allongé (6 à 7 mm) -lobe aigu réunit au sommet -pédoncule > fruit
<b><i>Ruta graveolens</i></b> (Rue commune)	-touffes denses -tiges ligneuses -80 cm	-vert glauque -folioles à peine ovales, presque égales	Pétales entiers, denticulés, concaves où se logent les étamines	-globuleux -lobe arrondi -pédoncule > fruit
<b><i>Ruta montana</i></b> (Rue de montagne)	-tiges grêles -40 cm	-vert glauque -segments fins (très découpée)	Pétales en spatules, à peine dentés	-globuleux -lobe arrondi -pédoncule court (4 mm)
<b><i>Ruta angustifolia</i></b> (Rue à feuille étroite)	-feuillage peu dense, glanduleux à la partie supérieure -30 à 60 cm	Segment étroit, couvert d'un duvet court, peu abondant	-8 à 10 mm -pétales à longues franges	-grande taille -lobes aigus rapprochés au sommet

**Tableau 06 :** les critères de différenciation entre les espèces de *Ruta* (Oliva *et al.*, 2003).

#### IV. *Ruta chalepensis* (rue d'Alep) :

##### IV. 1. Historique :

Le nom générique des Rutacées est ancien. Dérivé d'un mot grec signifiant « qui libère », il fait allusion aux propriétés médicinales de ces plantes qu'avait la réputation de « soulager » tant de maux de l'empoisonnement aux troubles psychiques.

*Chalepensis* signifiant « d'Alep » (ville de Syrie), indique le lieu d'origine des spécimens ayant servi à identifier et classer cette espèce en premier lieu ou simplement l'abondance de celle-ci, dans la région.

ARISTOTE, dans son « Histoire des animaux IX-6 » rapporte que la belette, avant de combattre les serpents, va se frotter contre cette plante redoutée des reptiles où cette croyance est encore vivace de nos jours.

La rue est citée sous le terme de *Sadzab* par Abdalbasset et Abde Tawab, 2008, elle est aussi dite en berbère : *Aouermi, Issel, Issin* (Baba aissa, 1999). Autres noms sont indiqués par Duke et al en 2008 : *Al Shatha, Bou Ghans*, en grec : *Pigam, zent*.

#### IV.2. Origine et répartition géographique :

Plante originaire du Sud-est de l'Europe (Ukraine, Albanie, Bulgarie et ex-Yougoslavie). Elle est largement réponde dans toute l'Europe et en Afrique du Nord. (Ozenda, 2014). *Ruta chalepensis* est une espèce méditerranéenne bien connue en toute l'Algérie septentrionale, qui existe à l'état spontané dans les rocailles et les endroits secs du Tell. Selon Eberhard et al (2005), *Ruta chalepensis* L. Réponde dans toute la région méditerranéenne, est cultivée à l'ouest de l'archipel indonésien, au Mexique, en Amérique centrale et en Amérique de Sud.

#### IV.3. Description botanique :

La rue d'Alep, plante herbacée à tige ligneuse à la base, pouvant atteindre 1 m (Baba Aissa, 1999). Les feuilles de 6 à 12 cm de long, sont aromatiques, ovales, larges, alternées d'un vert jaunâtre découpées en segments de forme ovale elliptiques et finement glanduleuses. En été, s'épanouissent des fleurs jaunes de plus de 1cm de diamètre, formées de 4 ou 5 pétales et 4 sépales groupées en corymbes et longuement frangés entre lesquels s'étalent de fines étamines.

Les fruits sont aigus acuminés de 6 à 9 mm de diamètre, et les grappes fructifères sont étalées.

La période de floraison est de février à juin. (Mioulane, 2004). C'est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale (Baba Aissa, 1999), au nord-est de l'Afrique, sud de l'Europe et le sud-ouest de l'Asie (Mioulane, 2004).

**IV.4. Position Systématique :**(Wiart, 2006 ; Bonnier, 1999 ; Takhtajan, 2009)**Règne :** Plantae**Sous règne :** Tracheobionta (plantes vasculaires)**Super division :** Spermatophyta (plantes à graine)**Division :** Magnoliophyta (plantes à fleurs)**Sous division :** Angiospermae**Classe :** Magnoliopsida (dicotylédons)**Sous classe :** Rosidae**Super ordre :** Rutanae**Ordre :** Sapindales**Famille :** Rutaceae**Genre :** Ruta**Espèce :** *R.chalepensis***IV.5. Composition chimique :**

Les composés isolés de *Ruta chalepensis* Let de *Ruta graveonlens* sont essentiellement les mêmes, bien qu'il y ait des différences d'un point de vue quantitatif (Oliva *et al*, 2003). Les deux espèces se caractérisent par la présence d'alcaloïdes de type furoquinoline (la Kokusaginine, la skimmianine et la gravéoline), des alcaloïdes de type acridone (la 1-hydroxy-N-méthylacridone et la chaloridon), ainsi que la chalepensine, une furano-coumarine et d'huiles essentielles. Ils sont constitués principalement de 2-undécanone (41,3-67,8%), de 2-nonanone (5,2-33,6%), de 2-nonyl-acétate (2,8-15,3%) et de 2-dodécanone (<0,1-11,6%). Les feuilles séchées en contiennent de 7- 8% de rutine, un hétéroside de la quercétine qui contient un disaccharide (la rutinose) comme composé sucré, qui est à l'origine de l'amertume (Emam *et al*, 2009).

L'huile essentielle, présente principalement dans les parties aériennes, représente 0,1 à 0,7 % de matière sèche (MS). Elle renferme, selon le cas, jusqu'à 90 constituants dont les principaux sont des cétones aliphatiques (Al Quarawi *et al*, 2005).

## V. *Ruta angustifolia* (Rue à feuilles étroites)

### V.1. Historique :

*R.angustifolia* est supposée avoir quelques vertus thérapeutiques ,bien qu'elle fut largement utilisée dans les anciens temps ,elle n'est guère une plante qui convient aux usages actuels à cause de son odeur, pour cette raison *R.angustifolia* est méconnue par le grand public .Selon Elia ,cette plante peut être utilisée comme anti-irritant sous forme d'infusion ,et très peu d'études ont démontré ses propriétés anti-oxydantes ,par contre elle possède des vertus antibactériennes très prometteuses. Des études récentes se font pour prouver ses propriétés anti-oxydantes et déterminer la corrélation entre les différents groupes Polyphénoliques .

### V.2. Origine et répartition géographique :

L'aire générale de l'espèce est strictement eu-méditerranéen, elle se rencontre sur une grande partie des côtes de l'Europe méridionale, de l'Afrique du Nord et des îles de la Méditerranée, mais ne s'écarte guère du littoral. Ce n'est toutefois pas une espèce halophile, car elle peut s'enfoncer à quelques kilomètres vers l'intérieur (très loin même en Tunisie et en Algérie) et s'élever jusqu'à l'altitude de 600 m. D'après Ozenda (2014), son aire est la suivante :

- ✓ En Europe : Catalogne, Provence orientale, côtes Ouest et Sud de la péninsule italienne, littoral dalmate (localement), Grèce.
- ✓ Dans les îles : Baléares (Majorque et Minorque seulement) ; Corse, Sardaigne, Sicile ; Crète, Cyclades.
- ✓ En Afrique du Nord : Algérie orientale, Tunisie, Cyrénaïque.
- ✓ En outre, une station éloignée, sur la côte de Palestine.

### V.3. Position systématique :

**Domaine** : Biota

**Règne** : Plantae. Haeckel, 1866 .

**Sous-Règne** : Viridaplantae

**Division** : Magnoliophyta. Cronquist, Takhtajan & W. Zimmermann, 1966 .

**Classe** : Equisetopsida. C.Agardh, 1825 .

**Sous-Classe** : Magnolidae. Novák ex Takht, 1967 .

**Super-Ordre** : Rosanae Takht, 1967 .

**Ordre** : Sapindales. Juss, ExBercht, J. Presl, 1820.

**Famille** : Rutaceae Juss, 1789.

**Genre** : Ruta L, 1753.

**Espèce** : *Ruta angustifolia* Pers, 1805.

#### V.4. Description botanique :

Plante vivace de 30 à 80cm de hauteur, glauque, glanduleuse dans le haut. Les feuilles sont oblongues dans leur pourtour, à folioles oblongues en coin, les inférieures en forme de stipules. Elle possède des fleurs jaunes, assez grandes et des bractées petites, lancéolées, plus étroites que le rameau ou le pédoncule qui les porte. Les sépales sont ovales, sub-obtus et les pétales en spatules, ciliés-frangés, à franges fines aussi longues que leur largeur. Quant à l'inflorescence, la plante est caractérisée par une grappe fructifère allongée, lâche, à pédicelles à peine plus longs que la capsule. Le fruit est une capsule assez grande, subglobuleuse, à 4-5 lobes aigus, connivents (Spichiger et al,2002).

#### V.5. Composition chimique :

(Ekiert *et al.* 2008) ont montré que la détection par HPLC du contenu phénolique de *Ruta angustifolia* a révélé une teneur importante en acides phénoliques et en furocoumarines. *R.angustifolia* contient également une quantité importante de flavonoïdes. Les huiles essentielles des parties aériennes de plantes de *Ruta angustifolia* récoltées à différents stades de croissance contiennent 19 composés qui représentent 85,4-93,3% de l'huile.

### VI. *Haplophyllum tuberculatum* (rue saharienne)

#### VI.1. Historique :

Une revue littéraire a fait état de quelques rapports sur son large éventail d'usages traditionnels extensifs. la plante est récoltée et vendue dans les magasins en région côtière Ouest de la méditerranée sous le nom de shajrah. Dans le Nord du Sinai, elle prend le nom de « Dharret rieh » ou « Oum djeneineh » (Al youssouf *et al.*,2005). Des branches portant fleurs et fruits sont utilisées contre la fièvre dans la médecine traditionnelle égyptienne et comme antipoison local et contre nausées et vomissements, comme contraceptif, contre la malaria, pour les accouchements difficiles, l'anémie, les rhumatismes, les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux et les problèmes oculaires et auriculaires. Tandis qu'au soudan la plante est utilisée comme antispasmodique, pour traiter les rhinites allergiques, les problèmes

respiratoires montrant ainsi un très grand degré de variabilité dans ses usages traditionnels (Kallel *et al*, 2009).

## VI.2. Origine et répartition géographique :

*Haplophyllum tuberculatum* est présent dans tout le nord de l'Afrique, en passant par la péninsule Arabique jusqu'en Israël et au Pakistan et en Iran (Javidnia *et al*, 2006). En Afrique tropicale, il se rencontre au Soudan et en Somalie. Il est présent dans les déserts sableux ou pierreux ou dans les steppes dégradées, sur différents types de sols, souvent sur des dépôts de limon et également dans des cours d'eau asséchés, des plaines côtières, des terres cultivées ou des jachères et des zones rudérales, du niveau de la mer jusqu'à 1330 m d'altitude (Onifade *et al*, 2008).

## VI.3. Position Systématique :

Selon Townsend (1986), la classification de *Haplophyllum tuberculatum* est représentée comme suit :

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre :</b>	Sapindales
<b>Famille :</b>	Rutaceae
<b>Genre :</b>	Haplophyllum
<b>Espèce :</b>	<i>A.Tuberculatum</i>

## VI.4. Description botanique :

Plante herbacée vivace, parfois ligneuse à la base, atteignant 40(-60) cm de haut, glabre ou à poils courts ; tige habituellement très ramifiée depuis la base, parfois avec des pousses stériles basales, vert jaunâtre à presque blanches ; glandes nombreuses sur toutes les parties, très variables, non-apparentes à fortement verruqueuses, jaunes (Spichiger, 2002). Feuilles alternes, fortement odorantes ; stipules absentes ; pétiole court au-dessous, absent au-dessus ; limbe très variable, de presque circulaire, environ 2 mm × environ 2 mm, elliptique, lancéolé ou linéaire, de 9-50 mm × 2-17 mm, base s'amenuisant, bords entiers, lobés ou parfois profondément découpés en 3 lobes. Inflorescence : cyme lâche en corymbe, terminale ou à

l'aisselle des feuilles supérieures, de 2–10(–15) cm de diamètre, à fleurs nombreuses, mais bien séparées ; bractées petites, vertes. Fleurs bisexuées, 5-mères, régulières ; pédicelle court ; sépales deltoïdes-ovales à largement lancéolés, d'environ 1 mm de long, libres ; pétales elliptiques-oblongs à oblongs-ovales, de 3–5,5 mm de long, carénés, rétrécis en onglet, jaune vif, glabres ; anthères deux fois plus nombreux que les pétales ; ovaire supère, presque rond, 5-lobé, 5-loculaire, style de 1,5–2,5 mm de long. Fruit : capsule 3–5-lobée, de 2,5–4,5 mm × 1,5–2 mm, glabre à poils blancs, à nombreuses glandes discrètes à verruqueuses, segments s'ouvrant à l'apex, contenant 5–10 graines. Graines réniformes, d'environ 1,5 mm de long, brun foncé à gris ou noir-brunâtre, densément sillonnées. (Botineau, 2010)

### VI.5. Composition chimique :

*Haplophyllum tuberculatum* contient une gamme d'alcaloïdes quinoliniques, le skimmiannine, l'évoxine, la  $\gamma$ -fagarine, la flindersine, la folifine et l'haplofoline (Javidnia *et al*, 2006), également des alcaloïdes tyramines comme la tubérine, la tubasénécine et l'haplotubine (Ulubelen, Oztürk, 2008). Les parties aériennes permettent également d'isoler la diphylline (un lignane), la justicidine-A et B (des lignanes arylnaphtalène), ainsi que la tuberculatine (un lignane apioside) (Al burtamani *et al*, 2005). Les huiles essentielles obtenus à partir de *Haplophyllum tuberculatum* contiennent principalement des monoterpènes (77,8%), des sesquiterpènes (13,8%) et des hydrocarbures et ont une forte odeur de citron (Abdelsalam et Bogdadi, 2010).

## VII. Les flavonoïdes

### VII.1. Définition :

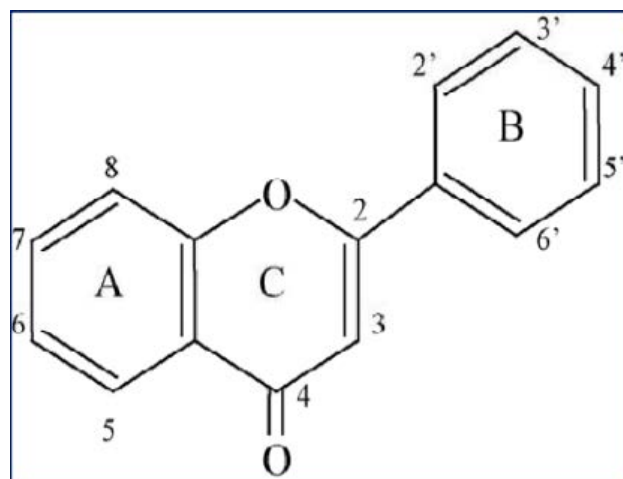
Le terme flavonoïde est dérivé du mot grec « flavus » qui veut dire jaune. Il rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, leur fonction principale semble être la coloration des plantes (Djahra, 2013).

Ils sont surtout abondants chez les plantes supérieures particulièrement dans certaines familles : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, Ombellifères et Composées, mais ils peuvent également se trouver dans le règne animal, les glandes à sécrétion odoriférante du castor, la propolis des abeilles (la Chrysin, la Quercétine, la Galangine) et dans les ailes des papillons (Nehir, 2014).



Les flavonoïdes sont présents dans les vacuoles sous forme d'hétérosides, ils jouent un rôle important dans les processus biologiques. Ils règlent la croissance de la plante par inhibition d'acide acétique.

La concentration en flavonoïdes est maximale dans les organes jeunes et dans les tissus externes et aériens car la lumière stimule leur biosynthèse (Lograda *et al*, 2014).



**Figure05** : structure de base d'un flavonoïde (Di Carlo *et al*, 1999).

## VII.2. Présence des flavonoïdes chez les genres *Ruta* et *Haplophyllum* :

Parmi les glycosides isolés, la rutine, ou rutoside, est un flavonoïde naturel de type flavonol ; c'est un rhamnoglucoside du quercétol, relativement fréquent dans la nature, qui a été extrait, pour la première fois, de *Ruta graveolens* où sa teneur est de 1 à 5 % [30,72]. Il existe dans les trois espèces. Les feuilles sont riches en gossypétine, kaempférol et isorhamnétine.

Un seul flavonoïde a été isolé de *Haplophyllum tuberculatum* (5, 7, 4 -trihydroxy-6methoxy-3-O-glucosyl flavone) (Khosravi *et al*, 2013).

Huile essentielle	Coumarines	Alcaloïdes
2-undécane (méthylnonylcétone), 2-nonane (méthylheptylcétone), 2-décane (méthyl-octylcétone), alcools (nonanol), esters.	Psoralène, bergaptène, xanthotoxine, isopimpinelline, daphnorétine, daphnorine, ombelliférone, scopolétine, gravelliférone, rutaculine, chalepense, chalépine, marmésine, rutarétine, rutarine, rutamarine.	- Dérivés des quinoléines : gravéolinine, gravéoline, arborine - Dérivés des furoquinoléines : dictamine, ptéléine, kokusaginine, skimmianine, fagarine - Dérivés de l'acridone : arborinine, acridinone, gravacridone, rutacridone, furacridone.

**Tableau 07** : autres groupes de composants chimiques des rues (Al Quarawi, 2005).

### IX. Activité biologique des rues

L'extrait de *R. chalepensis* a montré, à faible concentration (0,32 %), une activité antiproliférative sur les larves d'un papillon de la famille des Pyrales (*Hypsipyla grandella*) qui ravage les forêts tropicales. Cette action larvicide est retrouvée sur d'autres espèces ; elle implique les furocoumarines mais également des alcaloïdes comme la rutamine (quinolone). (Emam *et al*, 2009)

Au Maroc, les activités molluscicides de plusieurs plantes ont été testées ; l'extrait de *R. chalepensis* s'est montré le plus efficace vis-à-vis de *Bulinus truncatus*, hôte intermédiaire et vecteur de la transmission de la bilharziose. (Al Qarawi, 2005)

Les propriétés fongicides d'un extrait de feuilles de *R. graveolens* ont été mises en évidence. Les auteurs les attribuent aux furanocoumarines et aux alcaloïdes de type quinoléine et quinolone avec une activité fongicide très importante vis-à-vis de *Botrytis cinerea*, parasite de la vigne (Mancebo *et al*, 2001).

Dans une revue réalisée en 2003, les auteurs rapportent que l'activité inhibitrice de la croissance végétale d'extraits de *R. graveolens* est partiellement due aux furocoumarines (psoralène, bergaptène, xanthotoxine, isopimpinelline). Cette équipe a mis en évidence le rôle des alcaloïdes quaternaires (rutalinium, ribalinium, platydesminium) dans cette

activité herbicide (Oliva *et al*, 2003).

Un autre alcaloïde, la gravéoline, et des furocoumarines dérivées du psoralène, isolés d'un extrait de *R. graveolens*, ont manifesté des activités phyto- toxiques sur différents végétaux ; ainsi, ils ont considérablement réduit, à faibles doses, les divisions cellulaires des cultures d'oignon (Eickhost *et al*, 2007).

## I. *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis lycopersici*

### I.1. Présentation du pathogène :

*F. oxysporum* est en fait un complexe d'espèces et on le subdivise en nombreuses formes spécifiques, lesquelles peuvent être subdivisées en variétés. Sur la tomate (fusariose de la tomate) on distingue *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis lycopersici* qui attaque les parties racinaires et *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* qui attaque les parties aériennes de la plante (Bennet, Klich, 2003). Ce champignon dispose d'une large répartition géographique mais est plus adapté aux climats tempérés. Il est présent dans les sols sous forme sporulée (Smith, Snyder, 1971).

### I.2. Position taxonomique : (Snyder et Hansen, 1940)

**Règne :** Fungi

**Division :** Ascomycota

**Classe :** Sordariomycetes

**Sous-classe :** Hypocreomycetidae

**Ordre :** Hypocreales

**Famille :** Nectriaceae

**Genre :** *Fusarium*

**Espèce :** *F. oxysporum (FOL) ou (FORL)*

### I.3. Caractères morphologiques :

*Fusarium oxysporum* est caractérisé par un mycélium aérien feutré, blanc coloré de violet, revers violet intense. Ce champignon produit des macroconidies et des microconidies. Microconidies fusiformes à réniformes, présentant de 0 à 2 septa, agglomérées en fausses têtes, produites par de petites phialides lagéniformes dans le mycélium aérien. Macroconidies légèrement arquées, présentant 3 septa, cellule basale pédicellée, cellule apicale en crochet, produites par des phialides sur des conidiophores ramifiés ou en sporodochies. Chlamydospores hyalines lisses ou rugueuses, globuleuses, terminales ou

intercalaires, en chaîne, en paire ou isolées, formées dans l'hyphe ou les macroconidies (Querin *et al*, 2005).

#### **I.4. Biologie du pathogène**

##### **I.4.1. Conservation, source d'inoculum :**

*Fusarium oxysporum f. sp radicis-lycopersici* est capable de se maintenir dans le sol grâce au débris végétaux hébergeant du mycélium, des micro et macro-conidies et des chlamydospores aux parois épaisses et résistantes. Il est susceptible d'infecter les graines de la tomate dont il peut persister plus de 12 semaines sur des semences stockées (Arino *et al*, 2007).

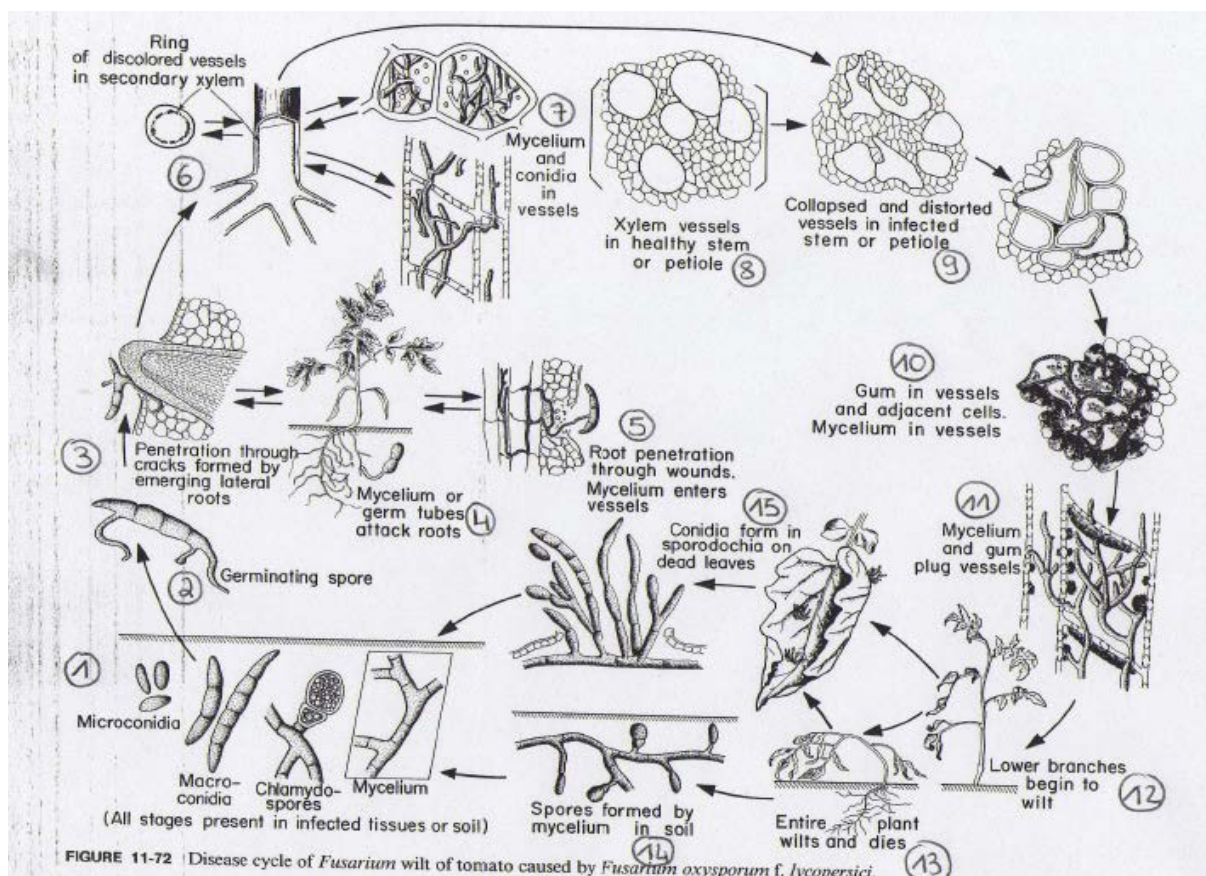
##### **I.4.2. Pénétration et invasion :**

Après germination des chlamydospores, le pathogène pénètre dans les racines de la tomate par l'intermédiaire de blessure naturelle de l'extrémité des racines. De récents travaux ont démontré que le mycélium du champignon peut entrer en contact avec le chevelu racinaire, s'entremêler avec lui et finir par se fixer aux radicelles. Le champignon envahit les tissus et finit par coloniser l'ensemble du système racinaire (Fandohan *et al*, 2005).

##### **I.4.3. Sporulation et dissémination :**

Sa dissémination peut avoir lieu par les chaussures et le matériel agricole, par l'eau d'irrigation ou par le courant d'air, ainsi que par les éclaboussures d'eau.

Certains vecteurs appartenant au genre *Bradysia* pourraient jouer un rôle de vecteur et favoriser la dissémination de ce champignon (Adejumo *et al*, 2007).



**Figure06** : cycle biologique de *Fusarium oxysporum* f. *sp radidis-lycopersici* (Alabouvette, 1990).

### I.5. Gamme d'hôtes

Nombreuses variétés pathogènes de plante : concombre, courgette, topinambour, piment, pomme de terre, patates douces, tomates, pastèques, céleri, asperge, ail, oignon, chou, gingembre..., mais il est aussi isolé de banane, et de nombreuses plantes environnementales. Provoque une pourriture des tissus avec apparition d'un mycélium blanc rosé à la surface (Bennet, Klich, 2003).

## I.6.Symptomatologie

### I.6.1. La flétrissure fusarienne ou fusariose vasculaire :

*Fusarium Oxysporum f. sp. Lycopersici (FOL)*

Les symptômes de FOL se manifestent en une décoloration de la tige commençant par un léger jaunissement longitudinal sur une portion de celle-ci et évoluant en une bande jaune plus marquée puis en une nécrose beige à marron clair. Les vaisseaux à l'intérieur de la tige brunissent. Il cause également un jaunissement du rachis, d'une foliole et éventuellement de la feuille entière (Arino *et al*, 2007).

### I.6.2. La pourriture de la racine et du collet :

« *Fusarium Oxysporum f.sp. Radicis Lycopersici (FORL)* »

Les symptômes de FORL se manifestent en un brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet. On le reconnaît aussi par l'apparition d'un chancre brun, légèrement déprimé se développant sur un seul côté du collet et de la tige, en forme de flamme (Adejumo *et al*, 2007).

Le système racinaire devient brun et pourri, les vaisseaux, les tissus corticaux et le collet brunissent. On peut remarquer également un flétrissement juste avant que les premiers fruits soient prêts à cueillir. Les feuilles hautes fanent avant les feuilles basses, il y a décoloration jaune ou doré (Fandohan *et al*, 2005).



**Figure07** : symptômes de *Fusarium oxysporum* sur feuilles et tiges de tomate (source : internet).

## I.7. Moyens de lutte :

### I.7.1. Lutte biologique contre la fusariose vasculaire des tomates (L'emploi de souches non-pathogènes de *F. oxysporum*) :

L'emploi de souches non-pathogènes de *F. oxysporum* est certainement un des moyens de lutte biologique le plus étudié contre la fusariose vasculaire des tomates. Ces souches non-pathogènes proviennent pour la plupart de sols résistants aux fusarioses vasculaires (Alabouvette *et al.*, 1979 ; Smith et Snyder, 1971).

De nombreux autres microorganismes réduisent l'incidence de la fusariose vasculaire des tomates : *Acrophialophorasp.*, *Aspergillus sp.*, *Chaetomium sp.*, *Stachybotrys sp.*, *Thielavia sp.*, *Bacillus sp.* (Kapoor et Kar, 1988) ; *Pseudomonas sp.* (Freitas et Pizzinatto, 1991) ; *Serratiaplymuthica* et *Pseudomonas sp.* (Frommel *et al.*, 1991) ; *Streptomyces sp.* (El-Abyadé<sup>tal.</sup>, 1993 ; Parveen et Ghaffar, 1991) ; *Pimelobacter sp.* (Parveen et Ghaffar ; 1991), *Pseudomonas fluorescens* (Lemanceau et Alabouvette, 1991), *Rhizobium meliloti* (Parveen et Ghaffar, 1991), *Serratiam arscescens* (Zavaleta-Mejia et Rojas-Martinez, 1989), *Acremonium kiliense* (Bargmann et Schoenbeck, 1992), *Paecilomyces lilacinus* (Parveen et Ghaffar, 1991).

### I.7.2. Lutte prophylactique :

- ✓ Désinfection du sol.
- ✓ Recours à des graines enrobées.
- ✓ Protection vis à vis des insectes et des blessures.
- ✓ Traitements fongicides systémiques de la culture, post récolte avant stockage.
- ✓ Elimination des fruits et légumes légèrement atteints avant le stockage.
- ✓ Stockage réfrigéré (développement ralenti à 10 °C).
- ✓ Utilisation de cultivars plus résistants.

### I.7.3. Lutte chimique :

Désinfection du sol à l'aide de fongicides chimiques dont les plus utilisés sont le triazole et ses dérivés.



### III. *Alternaria solani*

#### III.1. Présentation du pathogène

*Alternaria solani* est un champignon phytopathogène de la famille des *Pleosporaceae* présent dans les régions tempérées et tropicales de l'Ancien et du Nouveau monde, provoquant chez les plantes de la famille des *Solanaceae*, notamment la tomate et la pomme de terre, mais aussi le piment et l'aubergine, une maladie appelée « alternariose » ou « brûlure alternarienne.

#### III.2. Caractéristiques morphologiques :

*A.solani* qui se distinguent par son niveau de virulence est identifiable par la forme caractéristique de ses spores. Les conidies fuselées et muriformes de *A. solani* se caractérisent par un appendice apical, aussi long que le corps de la spore, et mesurent 150 à 300 pm de longueur. Le montage et l'examen microscopique des conidies dans une goutte d'eau permet d'identifier les spores (Idnurm, Heitman, 2005).

#### III.3. Position taxonomique :(Soraueur, 1896)

<u>Règne</u>	<i>Fungi</i> .
<u>Division</u>	<i>Ascomycota</i> .
<u>Sous-division</u>	<i>Pezizomycotina</i> .
<u>Classe</u>	<i>Dothideomycetes</i> .
<u>Ordre</u>	<i>Pleosporales</i> .
<u>Famille</u>	<i>Pleosporaceae</i> .
<u>Genre</u>	<i>Alternaria</i> .
<u>Espèce</u>	<i>A.solani</i>

### III.4. Symptômes sur tomate

L'alternariose est une maladie très répandue chez la tomate de plein champ et parfois chez la tomate de serre élevée dans du sol et en substrats artificiels. *Alternaria solani* infecte aussi la pomme de terre, l'aubergine et des adventives de la famille des solanacées (Vieira, 2004).

Chez la tomate de serre, cette maladie atteint les feuilles plus âgées, mais elle se trouve aussi sur les tiges et les fruits qui mûrissent. Les taches foliaires sont rondes, brun foncé à noires, mesurent environ 1 cm de diamètre et se reconnaissent facilement par les anneaux concentriques ou zones (taches zonées) qu'elles forment. Les anneaux peuvent ne pas apparaître sur les lésions situées en bordure de la feuille. Sur les tiges, les rameaux et les pédoncules, les lésions sont noires, s'élargissent, s'allongent par la suite et parfois les encerclent. Sur le fruit, les lésions apparaissent d'abord autour d'un pédoncule, d'une blessure ou d'une fissure, s'agrandissent rapidement et forment des plages noires, déprimées et coriaces. Si la défoliation est importante, les fruits sans protection peuvent subir des insulations (Shankar, 2006).



**Figure08** : symptômes d'Alternariose sur plant de tomate sur fruit, feuille et tige (source : internet).

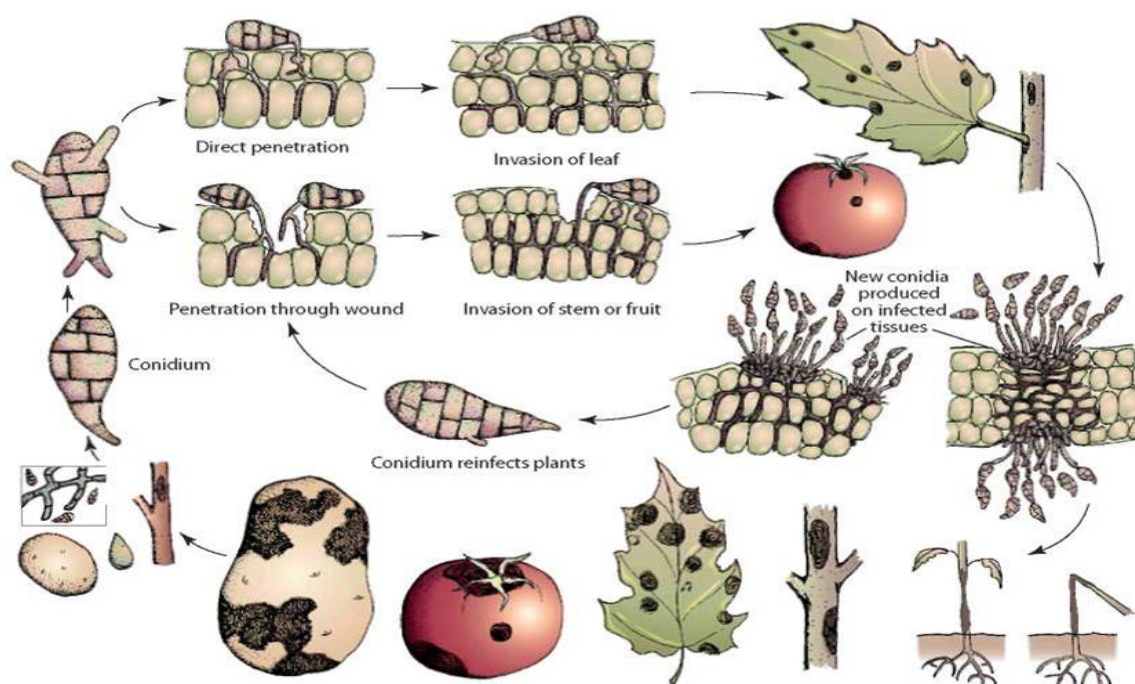
### III.5. Biologie du pathogène

Pendant l'hiver, le parasite se conserve dans le sol, sur les reliquats des cultures antérieures. Les spores hivernales sont très résistantes et capables de survivre plus d'un an à la surface du sol ou dans les reliquats enfouis.

Dès que les températures sont comprises entre 18 et 25 °C, des pluies légères suffisent à déclencher la contamination des plantes. La propagation de la maladie est ensuite rapide, dépendante des faibles précipitations ou de la répétition des rosées matinales. Ce champignon

produit ses organes de dissémination (spores) à des températures qui varient entre 8 et 28 °C, lorsque l'humidité est élevée. Les spores présentes sur les premières taches disséminent ensuite la maladie sur les fruits ou les plantes, transportées par le vent, la pluie, les insectes ou les oiseaux. La rosée ou la pluie sont essentielles à leur germination et à leur pénétration dans la plante.

La maladie se transmet également par les semences, notamment lorsque l'on récolte soi-même les graines sur une culture contaminée (Vieira, 2004).



**Figure09** : cycle évolutif d'*Alternaria solani* sur tomate et pomme de terre (source : internet).

### III.6. Moyens de lutte :

#### III.6.1. Lutte préventive et culturale :

Des mesures de préventions consistent principalement à observer une rotation de manière que les cultures de Solanées respectent un intervalle de trois ans sur la même parcelle, et à veiller à une bonne aération des plantations (intervalle entre les rangs). Il est également possible de sélectionner des cultivars résistants à cette maladie.

#### III.6.2. Lutte chimique :

Le recours aux fongicides, notamment l'azoxystrobine, le manèbe, le bicarbonate de potassium ou le peroxyde d'hydrogène.

## II. *Botrytis cinerea*

### II.1. Présentation du pathogène :

*Botrytis cinerea* est une espèce de champignons haploïde de la famille des moniliaceae, de la division des Ascomycota. Ce champignon phytopathogène est responsable de la pourriture grise, maladie cryptogamique qui sévit sur plusieurs cultures d'intérêt agronomique majeur comme la vigne, le tournesol, la tomate, la fraise.

### II.2. Position taxonomique :

*Botrytis* a été reconnu comme un genre par Micheli en 1729 où il a été répertorié dans son livre « *Nova Plantarum Genera* ». Le nom *Botrytis cinerea* a été donné par Persoon en 1801 à un agent pathogène de la vigne. Ce champignon comme beaucoup d'autres connaît une double classification :

- ✓ Une forme parfaite (téleomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetzl. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae.
- ✓ Une forme imparfaite (anamorphe), *Botrytis cinerea* Pers. C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae.

### II.3. Caractéristiques morphologiques :

Le mycélium de *B.cinerea* comprend des filaments articulés, grisâtres ou olivâtres, cylindriques, quelquefois vésiculeux au niveau de la cloison médiane, dont le diamètre varie considérablement suivant les conditions de développement des hyphes. Lorsque le mycélium est au stade de fructification, il produit des touffes de conidiophores grisâtres.

Parfois, ce mode de multiplication peut disparaître et laisser place à une prolifération mycélienne blanche qui correspond à l'élongation d'hyphes grêles, hyalins qui se répandent sous forme de "toile" (Daugaard *et al*, 2003).

### II.4. Gamme d'hôte :

*Botrytis cinerea* est un champignon polyphage capable d'attaquer plus de 230 espèces de plantes. Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ, comme par exemple : le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise et le kiwi en production fruitière, l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le

poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen. Ce champignon est responsable de lourdes pertes économiques sur de nombreuses cultures (Gullino, 1992).

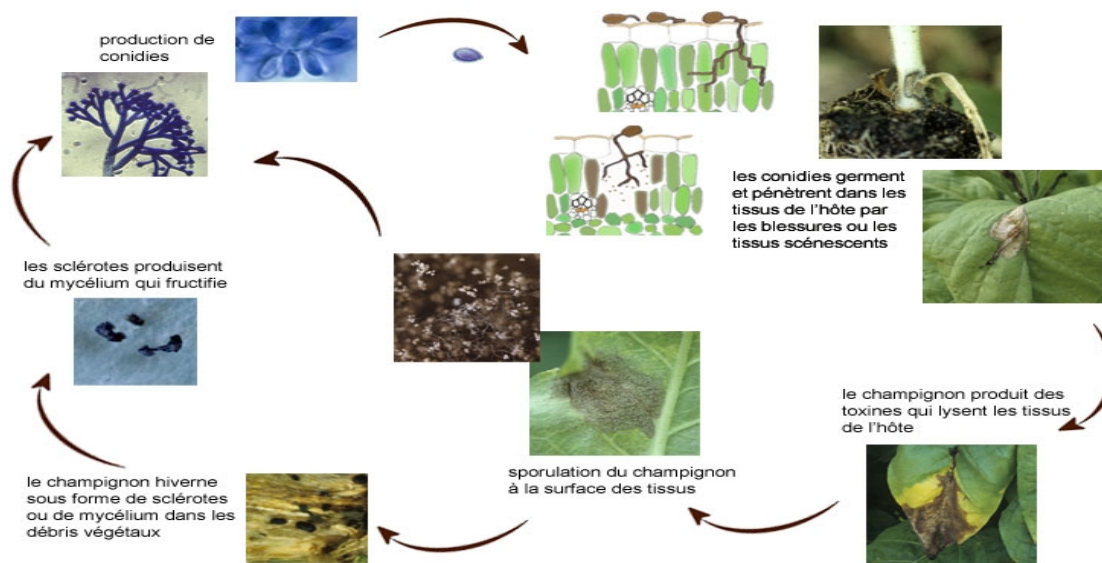
**II.5. Biologie du pathogène :**

Au cours de son cycle biologique, *B. cinerea* peut produire du mycélium, des spores asexuées ou conidies, des spores sexuées ainsi que des sclérotés.

Le mycélium peut se conserver dans les débris de plante de la culture précédente. Lorsque les conditions deviennent favorables, *B. cinerea* fructifie pour donner des conidies. Leur développement se manifeste par la production de conidiophores.

Lorsque les conditions deviennent défavorables au développement du mycélium et des conidies, des sclérotés se forment. Ils sont constitués par du mycélium agrégé blanchâtre. En vieillissant, ils durcissent et deviennent noirâtres. Au printemps, les sclérotés peuvent germer et produire un mycélium ou des conidies. Ils peuvent également être à l'origine de la formation des apothécies (Beever, Weeds, 2004).

Les apothécies contiennent des asques linéaires contenant eux-mêmes des ascospores. Chaque asque contient quatre paires d'ascospores. Leur production est déclenchée par des conditions stressantes défavorables à la multiplication végétative (Baarlen *et al*, 2004).



**Figure10 :** Cycle de développement (production asexuée) de *Botrytis cinerea* sur différentes cultures (Agrios, 2005).

## II.6. Symptômes sur tomate :

*Botrytis cinerea* est un agent d'une maladie appelée pourriture grise. Une moisissure grise s'observe alors sur les différents organes de la plante. Ce champignon est un parasite dit « de faiblesse » et « de blessure » qui s'installe très souvent quand la tomate est affaiblie ou à partir d'une blessure de la plante. Ainsi, les techniques de conduite provoquant des plaies, même superficielles, telles que le "couchage" des plantes, favorisent les attaques de botrytis. Tout organe, feuilles ou fleurs, en contact avec le sol est une porte d'entrée pour le botrytis (Cilindre et al, 2007). Le pathogène peut ensuite contaminer l'ensemble de la plante. Il se manifeste sous forme de taches spectrales, c'est à dire des auréoles pâles avec un petit point brun noir en leur centre. Le champignon se présente ensuite sous forme d'un duvet gris, d'où son nom de pourriture grise (Bardin *et al*, 2008)



**Figure11** : Symptômes de *Botrytis cinerea* sur fruits, feuilles et tiges de tomate (bayer-agri.fr)

## II.7. Moyens de lutte

### II.7.1. Lutte biologique (par les agents microbiens) :

Newhook (1957) a pu contrôler *B. Cinerea* sur tomates sous serres par pulvérisation d'une suspension de spores de *Cladosporium herbarum* et *Penicillium* sp. Inoculé sur les débris de fleurs attachés au fruit (Buck,Jeffers, 2004). Des travaux menés par l'unité de pathologie végétale à l'INRA de France depuis 1990 ont montré que le champignon *Microdochium dimerum* souche L13 a une bonne efficacité pour protéger les plaies d'effeuillage et les feuilles de plants de tomates contre les attaques de *B.cirenea* en cultures sous abris.

Nom de produit	Antagoniste	Utilisation	Fabricant/Pays
Trichodex	<i>Trichoderma Harzianum</i>	En vignes et en cultures sous serre	Makhteshim, Israël
Binab	<i>Trichoderma harzianum</i> et <i>Trichoderma polysporum</i>	Culture de fraise	Binab Bio-Innovation AB, Suède
Mycostop	<i>Streptomyces Griseoviridis</i>	En serre sur concombre, tomate, poivron, laitue et plantes ornementales	Kemira Gro Oy, Finlande
Plantshield	<i>Trichoderma Harzianum</i>	Culture sous serre	BioWorks Inc, Etats-Unis
Botry-Zen	<i>Ulocladium Oudemansii</i>	Vignes	Botry-Zen Ltd, Nouvelle-Zélande
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	Fruits après récolte	Ecogen, Etats-Unis
Yield Plus	<i>Cryptococcus albidus</i>	Fruits après récolte	Anchor Yeast, Cape Town, Afrique du Sud
Bio-save	<i>Pseudomonas syringae</i>	Fruits après récolte	Eco Science Corp, Etats-Unis
Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	Cultures sous serre et de plein champ	Agra Quest, Etats- Unis

**Tableau08 :** Exemple de produits de lutte biologique commercialisés dans le monde pour la lutte contre *Botrytis cinerea* (Davidson, Krysinska-Kaczmarek, 2007).

### II.7.2. Lutte physique, chimique et culturale :

<p><b>Lutte prophylactique</b></p>	<p>Elle se base sur la prévention et le dépistage hâtif. Une surveillance attentionnée de la culture est un exercice à faire au moins une fois par semaine afin de pouvoir intervenir dès les premiers signes. les mesures préventives sont les suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ De bonnes pratiques d'hygiène pendant les étapes de la production</li> <li>▪ Gérer l'environnement pour maintenir un déficit de pression de vapeur optimal</li> <li>▪ Éviter des plantes luxuriantes par une gestion appropriée de la nutrition et de la défoliation</li> <li>▪ L'achèvement en temps opportun des activités qui causent des lésions</li> </ul>		
<p><b>Lutte culturale</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Retirer de la parcelle ou de la serre les feuilles sénescentes et les organes infectés afin de réduire les sources d'inoculum.</li> <li>▪ Dans les serres, effeuiller afin de permettre une circulation d'air optimale et réduire ainsi l'hygrométrie.</li> <li>▪ Réduire la densité de plantes afin de limiter les zones de confinement entraînant l'accroissement de l'humidité relative et de la condensation dans les serres.</li> <li>▪ Raisonner la fertilisation afin de limiter le développement de <i>B. cinerea</i>.</li> </ul>		
<p><b>Lutte chimique</b></p>	<p>Fongicides anti-botrytis (d'après Reynier)</p>		
	<p>Fongicides polyvalents</p>		<p>phtalimides.</p>
	<p>Fongicides spécifiques</p>	<p>à actions préventive et curative</p>	<p>Imides cycliques</p>
<p>à action préventive</p>	<p>Pyriméthanyl, fludioxonil, fluazinam, fenhexamide, boscalid, mépanipirim</p>		

**Tableau09** : les différentes méthodes de lutte contre *B.cinerea* (source internet).



#### IV. *Pectobacterium carotovorum*

##### IV.1. Présentation du pathogène :

*Pectobacterium carotovorum* est une bactérie phytopathogène de la famille des Enterobacteriaceae. Agent de la pourriture molle bactérienne, elle affecte la quasi-totalité des familles de plantes possédant ainsi une gamme d'hôtes assez variée.

##### IV.2. Position taxonomique :(Jones, 1901), (Waldee, 1945)

<b>Règne :</b>	Bacteria
<b>Embranchement :</b>	Proteobacteria
<b>Classe :</b>	Gamma Proteobacteria
<b>Ordre :</b>	Enterobacteriales
<b>Famille :</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre :</b>	<i>Pectobacterium</i>
<b>Espèce :</b>	<i>P.carotovorum</i>

##### IV.3. Caractéristiques morphologiques :

Les *P. carotovorum* sont des bacilles (0,5-1  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 1-3  $\mu\text{m}$  de longueur) Gram-négatif mobiles (flagelles péritriches), anaérobies facultatifs et ayant une forte activité pectinolytique (Lelliot et Dickey, 1984 ; Stevenson et al, 2001).

La paroi des bactéries *P. carotovorum* est composée d'environ 95% de phosphatidyl éthanolamine. Leur membrane externe serait principalement composée d'une couche de ce phospholipide (34% du total) recouverte à l'extérieur d'une couche de lipopolysaccharides, alors que la membrane interne serait constituée d'une bicouche du même phospholipide (65% du total). La bicouche externe de la paroi de ces bactéries a un ratio protéines/lipides de 1,20, et serait moins fluide que la bicouche interne qui a un ratio protéines/lipides de 0,89. Entre les deux membranes se trouve une mince couche de peptidoglycane (Bdliya, Langerfeld, 2003).

##### IV.4. Gamme d'hôtes :

Cette bactérie est un agent pathogène de nombreux fruits et légumes, elle possède une gamme d'hôte assez variée qui comprend essentiellement des cultures légumières (carotte,

navet, betterave, tomate, pomme de terre. Elle provoque notamment la nécrose vasculaire de la betterave. Chez la pomme de terre, c'est l'agent de la pourriture molle bactérienne et la gambe noire (Cetinkaya et al, 2004).

#### **IV.5. Symptômes :**

Les symptômes apparaissent à la première ou à la deuxième récolte. Les cicatrices à la base des feuilles présentent des lésions brun foncé, alors que le bas des tiges devient creux et paraît huileux. L'écorce se met à peler et la moelle de la tige brunit et se décompose (Catara et al, 2001). A un stade avancé de la maladie, les plantes flétrissent et meurent. La pourriture molle est favorisée par une hygrométrie élevée et peut être propagée par les éclaboussures d'eau, les mains des ouvriers et les outils (Jones et al, 2004).

L'altération interne de la tige n'est pas sans conséquence sur le fonctionnement des plantes et notamment sur le transport de l'eau et des éléments minéraux. Celui-ci est limité, ce qui entraîne le flétrissement et le jaunissement des feuilles, en particulier lors de périodes climatiques plus clémentes et/ou à partir de la récolte des premiers fruits. Si les conditions sont favorables, la maladie évolue et les plantes peuvent en mourir. Lorsqu'elle envahit les fruits, cette bactérie est à l'origine d'une pourriture humide, visqueuse et molle, qui conduira à la liquéfaction totale de ces derniers (Cetinkaya et al, 2004).

#### **IV.6. Biologie du pathogène**

##### **IV.6.1. Conservation, sources d'inoculum :**

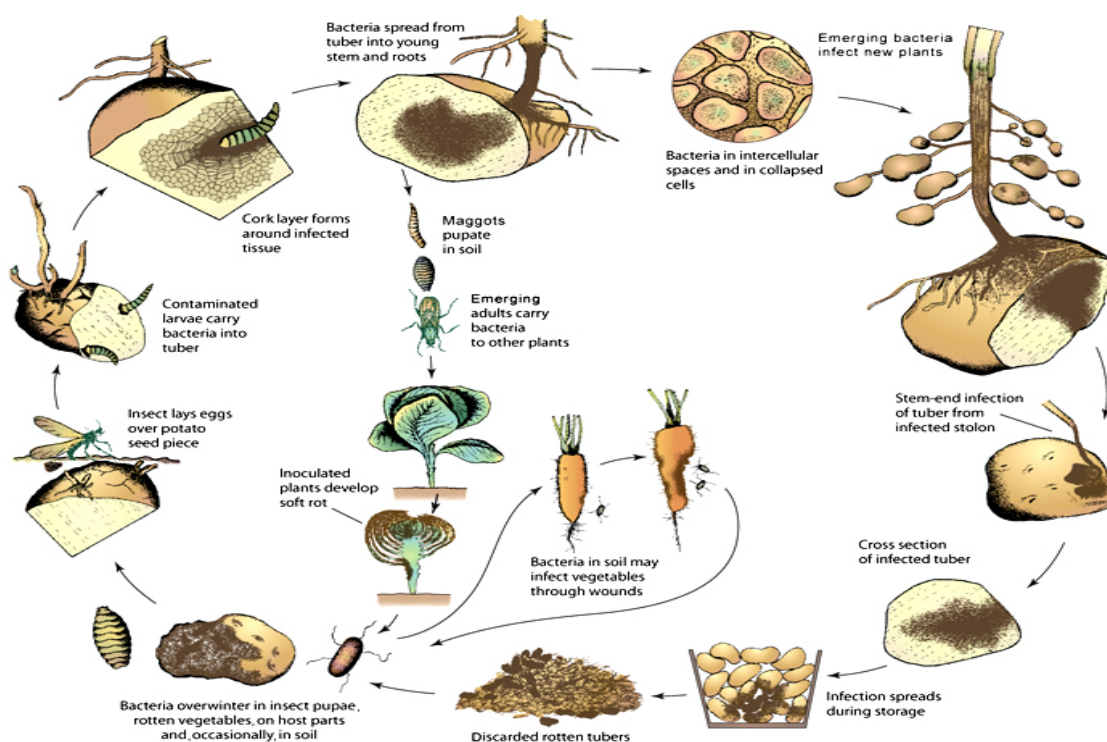
*Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* est ubiquiste ; il est présent dans de nombreux sols dans lesquels il persiste sans peine plusieurs années, notamment dans les débris végétaux et dans la phase aqueuse. On le retrouve aussi au sein de la phylloflore de la tomate. Polyphage, cette bactérie est susceptible de se maintenir sur un assez grand nombre d'hôtes cultivés ou non, surtout des dicotylédones herbacées (Anajjar et al, 2007). Elle sévit sur de nombreux légumes, notamment d'autres solanacées comme la pomme de terre, l'aubergine et le poivron qui semblent plus sensibles. On la retrouve aussi sur salade, céleri rave, choux, basilic, fenouil... Cette bactérie est également isolée dans les bacs de lavage des tomates destinées à l'industrie (Catara et al, 2001).

##### **IV.6.2. Pénétration et invasion :**

Elle pénètre dans les différents organes de la tomate, et en particulier les fruits, essentiellement par des blessures (cicatrice pédonculaire, blessures mécaniques, dégâts liés aux insectes, effets du sable, etc.) et/ou à la suite de différentes opérations durant la culture ou après récolte (récolte en période humide, lavage des fruits). C'est un parasite de faiblesse qui peut aussi survenir secondairement après d'autres agents pathogènes. Une fois en place, ses enzymes cellulolytiques et pectinolytiques contribuent activement à sa rapide extension dans les tissus qui ne tardent pas à pourrir et à prendre parfois une odeur nauséabonde (Anajjar et al, 2007).

#### IV.6.3. Multiplication et dissémination :

Comme de nombreuses bactéries, elle est facilement disséminée par l'eau, lors d'éclaboussures et de ruissellements. Les insectes, ainsi que les outils lors des interventions culturales, contribuent à sa dispersion.(De Boer et al, 2001).



**Figure12** : cycle de reproduction de *Pectobacterium carotovorum* sur pomme de terre (Anajjar et al, 2007).

**IV.7. Moyens de lutte :**

Actuellement, un contrôle partiel de la pourriture molle est obtenu principalement par l'application de certaines pratiques culturales et sanitaires, et indirectement par l'utilisation de fongicides chimiques. L'utilisation de variétés résistantes demeure encore très expérimentale (Jones et al, 2004).

Les pratiques culturales et sanitaires consistent à éviter de blesser les plants pendant les opérations de récolte (les blessures étant une porte d'entrée privilégiée pour la pourriture molle) et à désinfecter les équipements agricoles (De Boer, 1994). L'utilisation de semences saines et un bon espacement des plants au champ, ainsi que la pratique des rotations de cultures permettent de réduire l'incidence de cette maladie.

## I. Objectif

Cette présente étude vise particulièrement à :

- ✓ Quantifier les flavonoïdes totaux de l'extrait méthanoliques des tiges et des feuilles de : *Ruta chalepensis* L récoltée de la région de Mostaganem (Ouest Algérien), *Ruta angustifolia* collectée de la région de Bordj Bou Arreridj (Est Algérien) et *Haplophyllum tuberculatum* (Fosk) Juss recueillis de la région d'Adrar (Sud Algérien).
- ✓ Evaluer in-vitro le potentiel antifongique des trois espèces vis-à-vis de trois champignons phytopathogènes (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria solani*).
- ✓ Tester l'activité antibactérienne des trois plantes vis-à-vis d'une bactérie phytopathogène (*Petobacterium carotovorum*).

### Site et conditions d'échantillonnage

La partie aérienne (tiges et feuilles) des trois plantes étudiées ont été récoltées au mois de mars (2016) ; période correspondante à la saison de floraison, dans trois régions différentes de l'Algérie ayant des situations géographiques et des conditions climatiques différentes : Mostaganem (l'Oust Algérien), située à 102m (35 ° 55' 52 " Nord, 0 ° 05' 21 " Est) ; Bordj Bou Arreridj (Est Algérien) située à 906m (36 ° 4 '0 "Nord , 4 ° 46' 0 " Est) et *Haplophyllum tuberculatum* (Fosk) Juss à Adrar (dans le Sud algérien) 27 ° 52 '27 " du Nord, 0 ° 17' 37 " Ouest) placée à 257m ( Figure n°13) . Les paramètres géographiques de ces différentes régions sont représentés dans le tableau n °10.

Le séchage des échantillons a été réalisé à l'abri de la lumière et à une température ambiante afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Elles ont été ensuite pesées et broyées à l'aide d'un mortier pour nos futures investigations phytochimiques et microbiologique.

#### III.1.1.1. Matière végétale

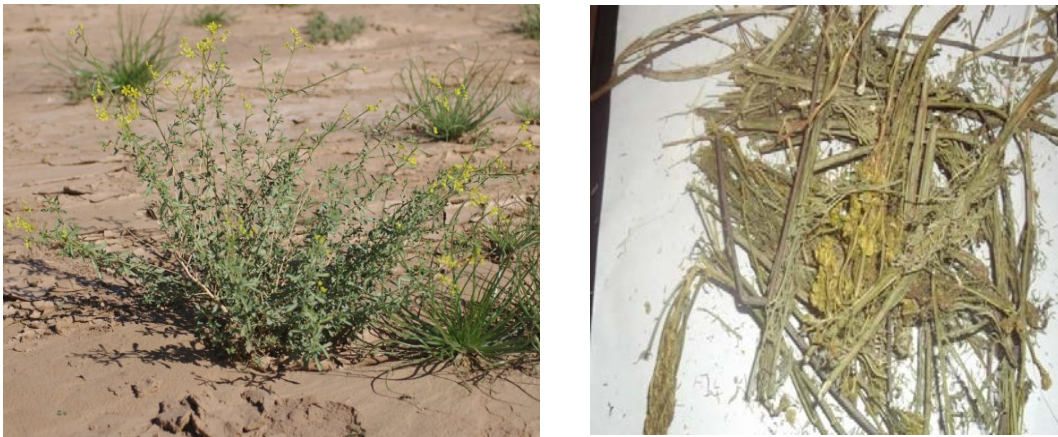
Non scientifique	Nom commun	Région de récolte	Situation géographique	Climat
<i>Ruta Chalepensis .L</i>	La rue d'Alep Nom arabe :Fidjel	Mostaganem	Achachaa située à la wilaya de Mostaganem (l'Ouest algérien) La wilaya de Mostaganem se situe au Nord-Ouest). Elle est délimitée : <ul style="list-style-type: none"> <li>• au Nord, par la Méditerranée ;</li> <li>• à l'Ouest, par la wilaya d'Oran ;</li> <li>• à l'Est, par la wilaya de Chlef ;</li> <li>• au Sud, par les wilayas de Mascara et Relizane;</li> </ul>	Climat méditerranéen avec été chaud
<i>Ruta angustifolia.pers</i>	La rue à feuille étroite Nom arabe :Fidjel	Bordj bouareridj	La ville de Bordj-Bou-Argeridj est située sur les hauts plateaux Algériens (Nord-Est). Elle est délimitée : <ul style="list-style-type: none"> <li>• au Nord, par la wilaya de Béjaïa;</li> <li>• à l'Ouest, par la wilaya de Bouira;</li> <li>• au Sud, par la wilaya de M'Sila ;</li> <li>• à l'Est, par la wilaya de Sétif.</li> </ul>	Méditerranéen (semi-aride sec et chaud)

<p><i>Haplophyllum</i> <i>Tuberculatum</i>(Fosk) <i>Juss</i></p>	<p>La rue saharienne</p> <p>Nom arabe : (Chedjeret er rih Fidjel)</p>	<p>Adrar</p>	<p>Inzegmir située à la wilaya d'Adrar (sud-ouest de l'Algérie). Elle est délimitée :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• au Nord, par El Bayadh et Ghadaia ;</li> <li>• à l'Ouest, par Béchar et Tindouf</li> <li>• au Sud, par Mali et la Mauritanie ;</li> <li>• à l'Est, par Tamanrasset.</li> </ul>	<p>Désertique sec et chaud</p>
--	---	--------------	---	--------------------------------

**Tableau 10** : Situation géographique et climatique des trois zones de récolte



**Figure 13** : La carte de situation des différentes zones d'étude (Atlas géographique mondial, 2013). 1-Mostaganem (Ouest), 2- Bordj Bou Arreridj (Est), 3-Adrar (Sud)



**Figure 14** : Photos de *Haplophyllum tuberculatum* (fraîche et sèche) (région d'Adrar) (photo original, 2014).



**Figure 15** : Photos de *Ruta chalepensis* L (fraîche et sèche) (région de Mostaganem) (Photo original, 2016).





**Figure 16 :** Photos de *Ruta angustifolia* Pers (fraîche et sèche) (région de Bordj Bou Arreridj) (photo original, 2016).

## Méthodes

### III. Partie biochimique

La préparation des extraits méthanolique et le dosage des flavonoïdes des tiges et des feuilles des trois espèces étudiées ont été réalisées au niveau du laboratoire de biochimie n°2 de l'université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem.

#### III.1 Préparation de l'extrait méthanolique

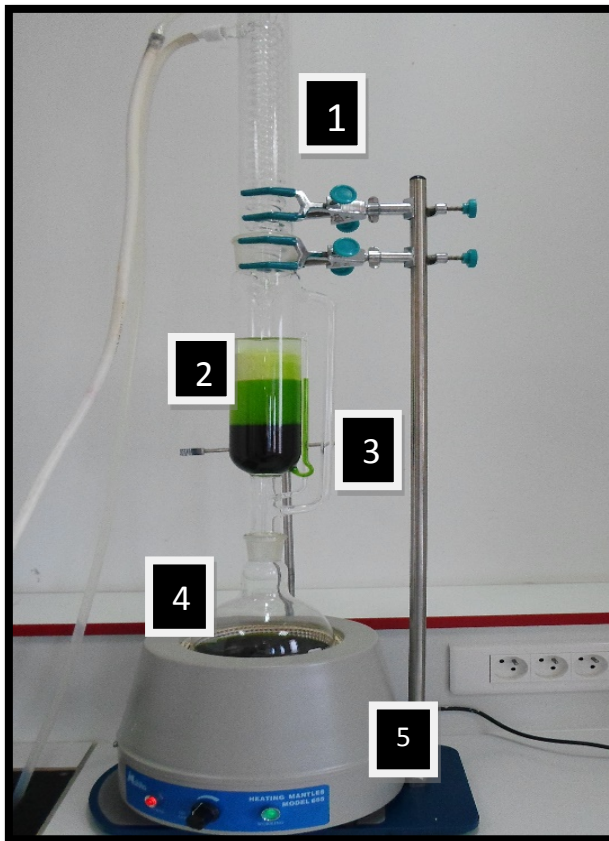
##### III.1.3. Mode opératoire

Après la collecte, la partie aérienne des échantillons des trois espèces étudiées sont mis à l'air libre. Les tiges et les feuilles sont ensuite séparées manuellement, broyées, puis pesées à sec. Ainsi, 8g de matière végétale sèche est destinée à l'extraction dans un appareil de type soxhlet.

Le solvant utilisé dans cette extraction est le méthanol absolu à un volume équivalent de 800ml.

En chauffant le solvant s'évapore, se condense dans le réfrigérant, retombe dans l'extracteur, solubilise les principes actifs et retourne dans le ballon de récupération : l'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à épuisement total de la plante (épuisement pour six cycles). Donc l'extraction est arrêtée.

Le temps du traitement est différent selon l'espèce et l'organe (tiges ou feuilles) utilisée. La solution méthanoïque obtenue est ensuite destinée à l'évaporation dans un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-200) pour enfin récupérer uniquement le résidu sec qui est ensuite pesé pour calculer le rendement de chaque plante. Le résidu sec est repris par quelques millilitres de méthanol et conservé à +4°C à l'obscurité.



1. Réfrigérant
2. Extracteur
3. Tube de vidange de l'extrait
4. Ballon
5. Chauffe ballon

Figure 17 : Montage d'un soxhlet (photos originale, 2016).

### III.2. Dosage des flavonoïdes

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits bruts méthanoliques et aqueux des trois espèces afin de déterminer la teneur totale des flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec un extrait de quercétine à une longueur d'onde de 425 nm.

Les flavonoïdes contenus dans nos extraits sont estimés par la méthode d' $\text{AlCl}_3$  (Ayoola et al., 2008). A 1.5 ml d'une solution méthanoïque d' $\text{AlCl}_3$  (2%) est rajouté à 1.5 ml de l'extrait de la plante. Après 30 minutes d'incubation à une température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 425 nm, la quercétine est utilisée comme un standard, la quantité des flavonoïdes est estimée en mg EQ/g d'extrait sec de la plante.

## IV. Partie microbiologique

**Activité antifongique de l'extrait méthanolique de *Ruta chalepensis*, *Ruta angustifolia* et *Haplophyllum tuberculatum* vis-à-vis de trois champignons**

**phytopathogènes (*Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria solani*).**

### **Matériel fongique**

Les trois champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria solani* ainsi que la bactérie *Pectobacterium carotovorum* ont été tous isolés à partir des plants de tomate *Lycopersicon esculentum*. Ils proviennent du laboratoire de protection des cultures ou ils ont été isolés, identifiés et conservés

### **Identification**

L'identification repose sur un ensemble de critères notamment

- Les caractères culturels tels que le diamètre, la couleur des colonies et la variation de la couleur en fonction du temps, le changement de couleur du milieu et la texture de la surface des colonies.
- Les éléments structuraux ont été dimensionnés sur une lame micrométrique porte objet. L'étude des caractères microscopiques, qui est réalisée à l'aide d'un microscope optique, telles que la présence ou absence de métules, arrangement et forme des phialides, forme et taille de la vésicule, formes taille et couleur des conidies, couleur et taille du conidiophore (Chabasse, 2002).

### **Matériel bactérien**

#### **Provenance de *Pectobacterium carotovorum***

La souche bactérienne utilisée dans cette étude, nous a été fournie par le laboratoire de protection des végétaux (Université de Mostaganem), elles ont été identifiées par Mme Kolei .N .

### **Test de confirmation de la souche bactérienne**

La souche bactérienne a été confirmée au préalable par le laboratoire de protection des cultures université de MOSTAGANEM. La pureté de la souche a été vérifiée par une étude microscopique et des tests biochimiques.

Une coloration de Gram a été nécessaire à fin de confirmer la forme et le type de Gram de la bactérie.

Après le processus de coloration de Gram selon la méthode décrite par Dellaras (2007), les bactéries possédant une paroi épaisse sont de couleurs violettes, on les appelle "à Gram positif" tandis que les bactéries à paroi fine sont colorées en rouge et appelées "à Gram négatif".

### **Tests biochimiques**

Des tests biochimiques complémentaires ont été réalisés pour l'identification de la souche étudiée.

#### **Test de catalase**

Ce test permet de différencier les bactéries à Gram positif de la famille des Micrococcaceae qui sont catalase positive, des familles *Streptococcaceae* et *Enterococcaceae* qui sont catalase négative. La catalase agit en dégradant  $H_2O_2$  (eau oxygénée) en  $H_2O$  et oxygène qui se manifeste par un dégagement gazeux.

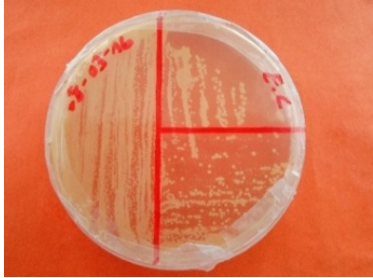
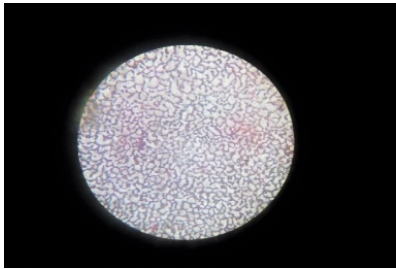


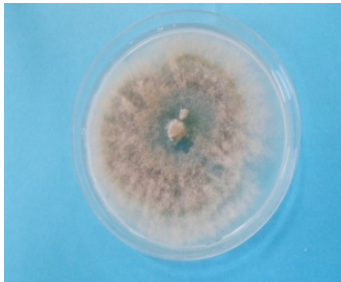

#### **Test de l'oxydase**

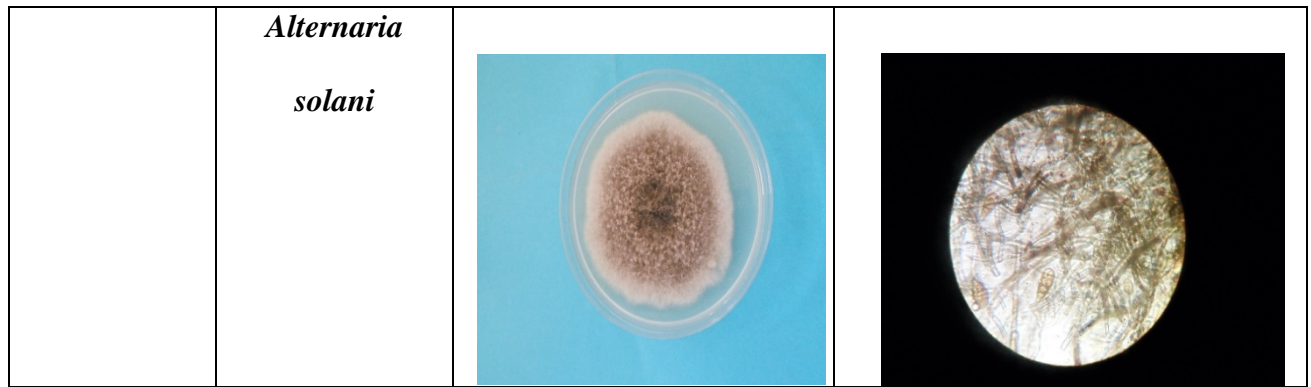
Le test de l'oxydase permet de distinguer les bactéries à Gram négatif, de la famille des *Enterobacteriaceae* à oxydase négative des *Pseudomonadaceae* à oxydase positive.

L'enzyme oxydase ou phényle diamine oxydase intervient dans la phosphorylation oxydative. La présence de cette enzyme chez la bactérie indique la présence du cytochrome C dans la chaîne respiratoire. Sur le disque d'oxydase imprégné de N-diméthyl paraphénylène diamine (incolore), les bactéries qui produisent l'enzyme de l'oxydase oxydent le réactif formant l'indophénol (un composé violet).

#### **Conservation de la souche bactérienne**

Des repiquages successifs dans des tubes de gélose ont été effectués par piqure centrale. Les tubes sont ensuite incubés à  $37^\circ C$  pendant 24 heures, puis conservés dans le réfrigérateur à  $6^\circ C$ .

Les souches	Nom scientifique	Observation	
		Macroscopique	Microscopique
Bactérienne	<i>Pectobacterium carotovorum</i>		
Fongiques	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Radicallyopersici</i>		
	<i>Botrytis cinerea</i>		



**Tableau 11** : Observation macroscopique et microscopique des souches fongiques et de la souche bactérienne utilisées.

### **Test « in-vivo » de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des trois espèces de la rue vis-à-vis de *Petobacterium carotovorum***

#### **Etude de l'activité antibactérienne**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles « pur » a été réalisée par deux méthodes :

##### ➤ **Méthodes des puits**

Méthode proposée par Cooper et Woodman en 1946 et, reprise par Shroeder et Messing en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l'huile essentielle à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'extrait de concentration connue. L'extrait diffus radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (Eymard, 2003).

##### ➤ **Méthode des disques**

La technique utilisée dans notre étude est la méthode Vincent (Aromatogramme) qui permet d'étudier d'une façon crédible et reproductible la sensibilité et la résistance des germes vis-à-vis des extraits végétaux.

La mise en valeur de la sensibilité et la résistance des agents microbiens consiste à les mettre dans une culture gélatineuse solide (dans notre cas le milieu Muller Hinton), et déposer en dessus des disques buvard imbibés d'extrait méthanoïque, afin de déterminer leur effet antibactérien.

La sensibilité des germes testés sur les extraits méthanoïques se caractérise par la formation d'un cercle clair (zone d'inhibition) autour du disque contenant les extraits. Dans cet objectif, le pouvoir d'inhibition des extraits méthanoïques est évalué par la détermination de la magnitude du diamètre de la zone d'inhibition formée. En fonction du diamètre d'inhibition, la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante (Shryock *et al.*, 2002).

### **Préparation de l'inoculum**

La souche bactérienne a été régénérée dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures. Puis des gouttelettes de suspension bactérienne sontensemencées en strie dans des boîtes de Pétri préalablement coulées de gélose Mueller Hinton. Après incubation, deux ou trois colonies, bien isolées, ont été prélevées et mise en culture dans 10ml de bouillon nutritif. Après 18 heures d'incubation à 37°C, nous avons effectué des dilutions de la suspension afin de standardiser l'inoculum. Ce dernier doit être ajusté à une densité optique entre 0,08-0,1 à 625nm soit environ 10<sup>8</sup> UFC/ml (Rasooli *et al.* 2006).

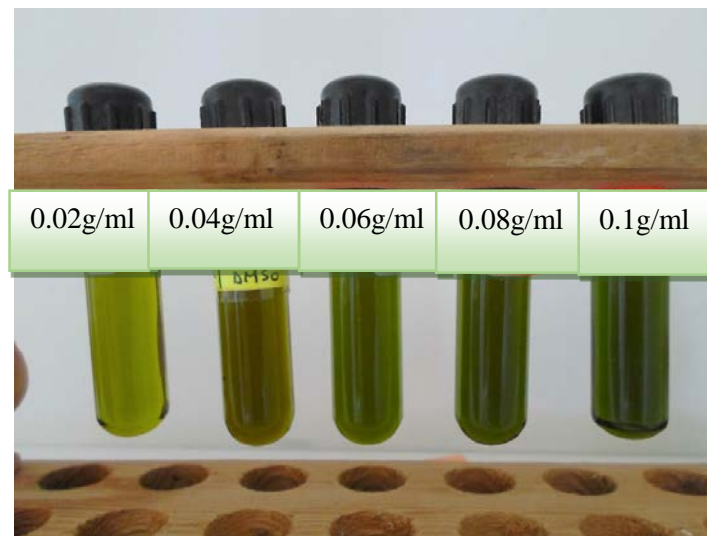
### **Protocole expérimental**

En premier lieu, l'extrait méthanolique est dilué dans le diméthyle sulfoxide (DMSO). Pour se faire, 100 ml d'extrait sont dilués dans 200 µl de DMSO (la solution obtenue est appelée solution 1/2). De cette dernière 100 µl sont pris à leur tour dans 200 µl de DMSO (la solution obtenue est appelée solution 1/4). La solution 1/8 est obtenue de la même manière. Pour le test d'aromatogramme, le milieu de culture gélosé Mueller Hinton en surfusion a été coulé aseptiquement dans des boîtes de Pétri. Après la solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose à deux reprises, en tournant la boîte à environ 90° après chaque application dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Les disques stériles imprégnés de différentes dilutions d'extraits à raison de 10µl par disque; ont été déposés à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C la sensibilité a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition (Ngameni *et al.*, 2009).

### IV.3. Méthode d'évaluation de l'activité antifongique

#### IV.3.1. Préparation des dilutions de l'extrait méthanoïque

A partir de la solution mère de l'extrait méthanoïque, Cinq concentrations ont été préparé. 1000, 2000, 3000, 4000 et 5000ul de l'extrait ont été dilués dans 5ml de DMSO (diméthyle sulfoxide).



**Figure 19** : Les dilutions préparées pour les feuilles de *R.chalepensis* (région Mostaganem) (photos originale, 2016).

#### Mode opératoire

L'essai antifongique a été utilisé selon la méthode de contact direct sur milieu PDA. Dans chaque boîte Pétrie, 1ml de chaque concentration est versée dans le milieu de culture PDA. Chaque contenu de boîte est homogénéisé instantanément par agitation manuelle.

Un disque mycélien de diamètre de 6mm prélevé de la culture jeune du mycète a été inoculé et incubé à 28°C. La lecture s'effectue chaque 24h durant une période de 7 jours pour observer le développement mycélien par mesure du diamètre de la zone de sa croissance. Parallèlement, nous avons déterminé le diamètre de la zone de croissance de ces mêmes souches fongiques en absence d'extrait (El-Haci et *al.*, 2012).

#### IV.3.2. Le Rendement d'extraction



Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel sec du départ, il est déterminé par la relation suivante :

$$\text{RE (\%)} = \text{M}_{\text{ext sec}} * 100 / \text{M}_{\text{ext}}$$

$\text{M}_{\text{ext}}$  : la masse d'extrait avant l'évaporation (en g).

$\text{M}_{\text{ext sec}}$  : la masse de l'extrait après l'évaporation (en g) (Clémance et Dongmo, 2009).

#### IV.3.3. Evaluation de la croissance mycélienne

La technique utilisée est celle décrite par Brewer (1960) ; qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale en utilisant la formule suivante :

$$L = D - d / 2$$

Où :

**L** : Croissance mycélienne ;

**D** : diamètre de la colonie ;

**d** : diamètre de l'explant.

#### IV.3.4. Détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne :

L'effet antimicrobien de nos extraits sur la croissance des souches filamenteuses est déterminé par la mesure du taux d'inhibition de la croissance en utilisant la formule d'Ebbot (Motiéjunaité et Peiculuyté, 2004) :

$$T = (Dk - D0) / Dk \times 100$$

**Dk** : Diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm)

**D0** : Diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm)

**T** : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage

L'extrait est dit (**Shryock et al**).

✓ Très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est dite très sensible ;




- ✓ Actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est dite sensible ;
- ✓ Moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est dite limite ;
- ✓ Peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est dite peu sensible ou résistante.



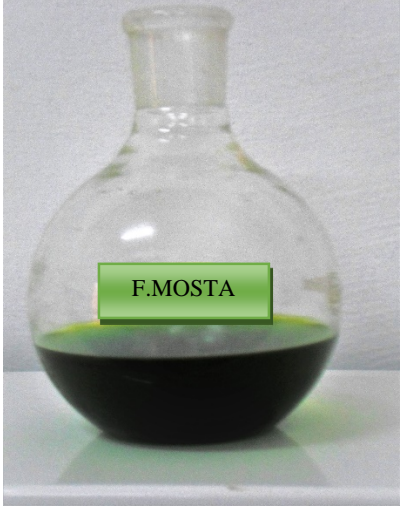
#### **IV.3.5. Analyse statistique des données**

Les résultats expérimentaux vont subir une analyse de variance par le logiciel statistique Stat box (version 6,4), ils sont représentés sous forme de moyenne  $\pm$  Ecart type. Les résultats sont considérés non significatifs lorsque  $p > 0,05$  et significatif quand  $p < 0,05$ .



## I. Caractéristiques organoleptiques des extraits obtenus :

Espèce	Organe	Couleur de l'extrait méthanoïque	Aspect	Durée d'extraction	Nombre de cycles	Rdm (%)
<i>Ruta angustifolia</i> (région BBA)	Tige		Léger ↓ Pâteux	45 mn	6	1.30± 0.052%
	Feuille		Léger ↓ Pâteux	1 h 30 mn	6	1.51± 0.16%
<i>Applophylum tuberculatum</i> (Région d'ADRAR)	Tige		Léger ↓ Pâteux	2 h 45 mn	6	1.11± 0.098%

	Feuille		Léger ↓ Pâteux	2 h 20 mn	6	1.19± 0.18%
<i>Ruta chalepensis</i> (Région Mostaganem)	Tige		Léger ↓ Pâteux	2 h	6	1.32± 0.15%
	Feuille		Léger ↓ Pâteux	2 h 30 mn	6	1.85± 0.09%

**Tableau 12 :** Caractéristiques organoleptiques des extraits obtenus.

## II. Teneur en flavonoïdes des extraits obtenus :

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits bruts méthanoliques et aqueux des deux espèces afin de déterminer la teneur totale des flavonoïdes. Une courbe d'étalonnage (figure) a été réalisée avec un extrait de catéchine à une longueur d'onde de 425nm.

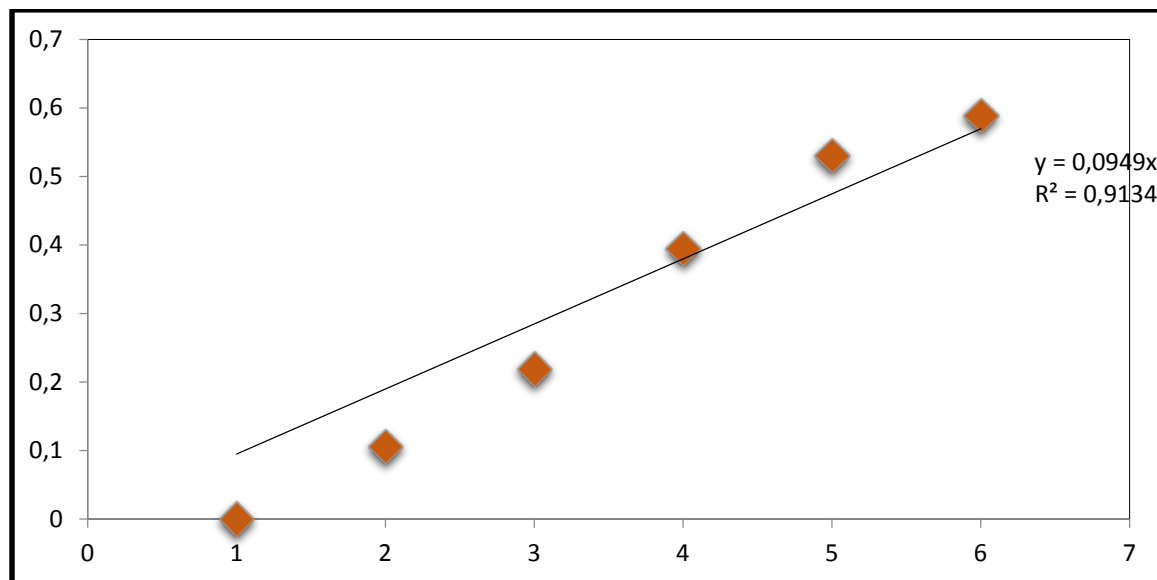
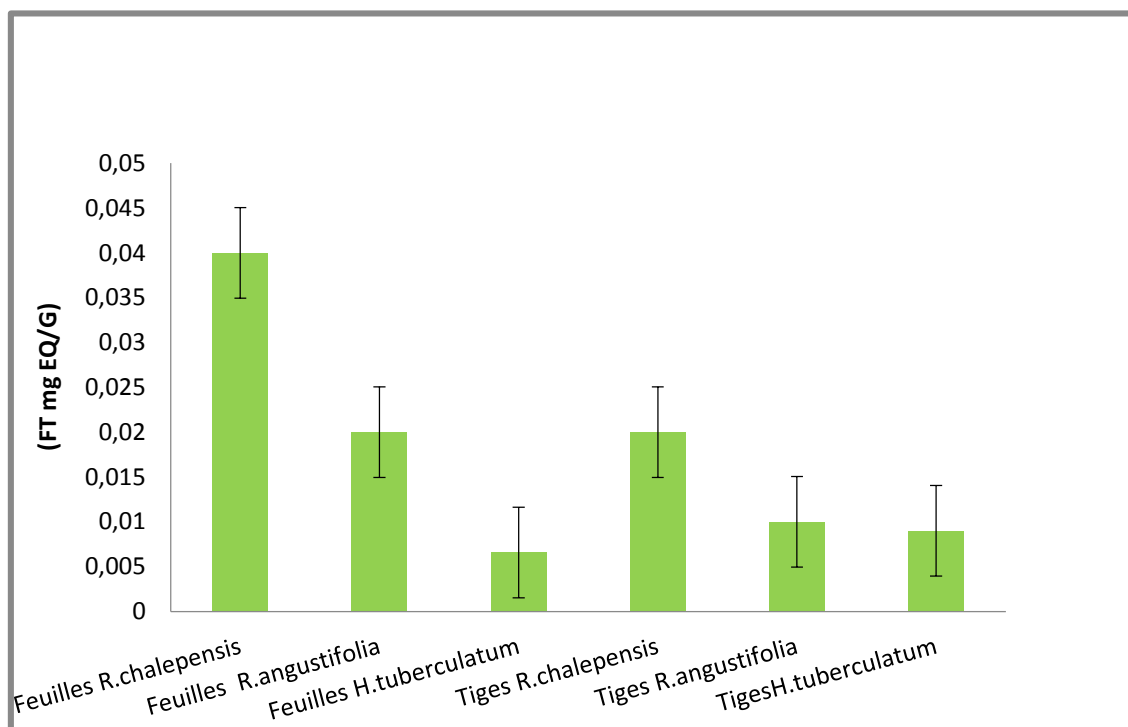


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

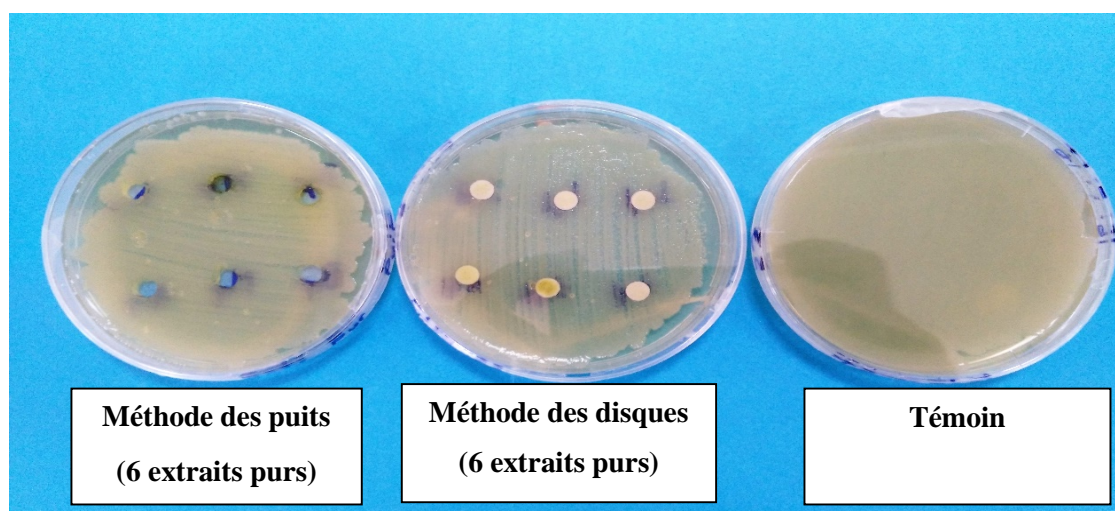


**Figure 21 :** Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits méthanoïque des trois espèces de *Ruta.sp* (Feuilles et tiges). Moyennes suivies de lettres différentes significativement (Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ).

#### Analyse du graphe :

La teneur en flavonoïdes des 6 extraits varie entre  $0,006 \pm 0,06$  mg EQ/g et  $0,04 \pm 0,03$  mg EQ/g dont les pourcentages les plus élevée concernent les feuilles et les tiges de *R.chalepensis* ; puis celles de *R.angustifolia*, puis enfin celles de *A.tuberculatum* qui représente les valeurs les plus faibles.

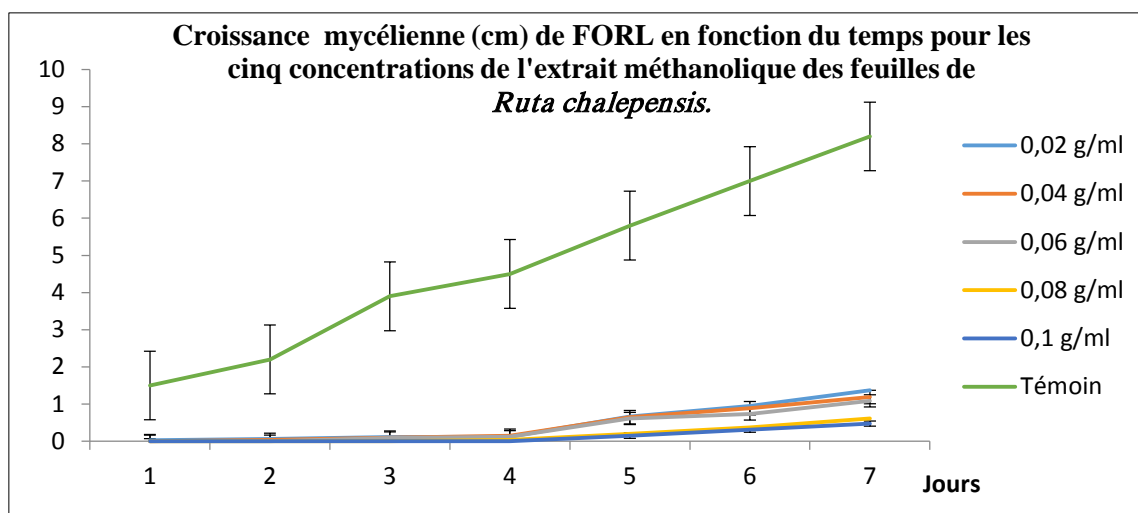
#### IV. Résultats du test antibactérien :



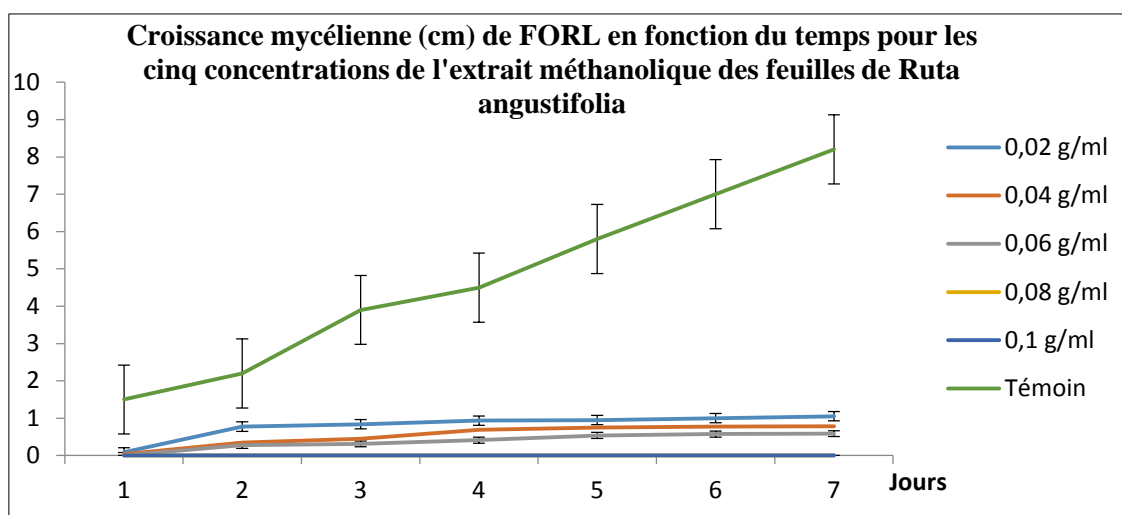
**Figure 22 :** résultats du test antibactérien obtenu avec les extraits purs de chaque plante sur la bactérie *Pectobacterium carotovorum*.

Les extraits purs n'ont eu aucun effet sur le développement de la bactérie, on peut remarquer ça par l'absence des anneaux d'inhibition autour des puits et également autour des disques.

#### V. Résultats des tests antifongiques :

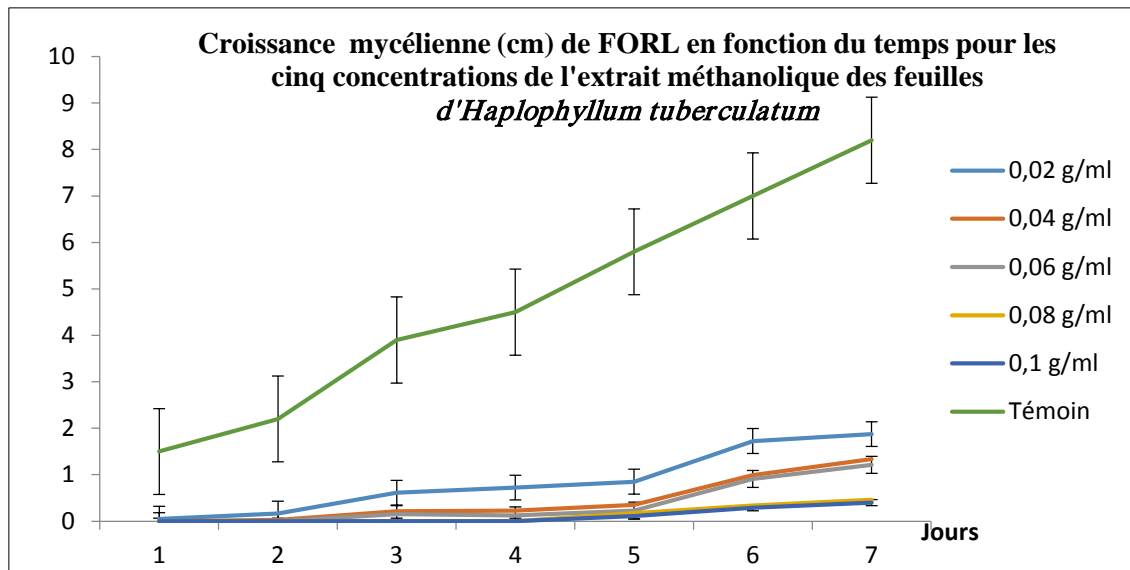


**Figure 23 :** Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des feuilles de *Ruta chalepensis*.



**Figure 24 :** croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Ruta angustifolia*.





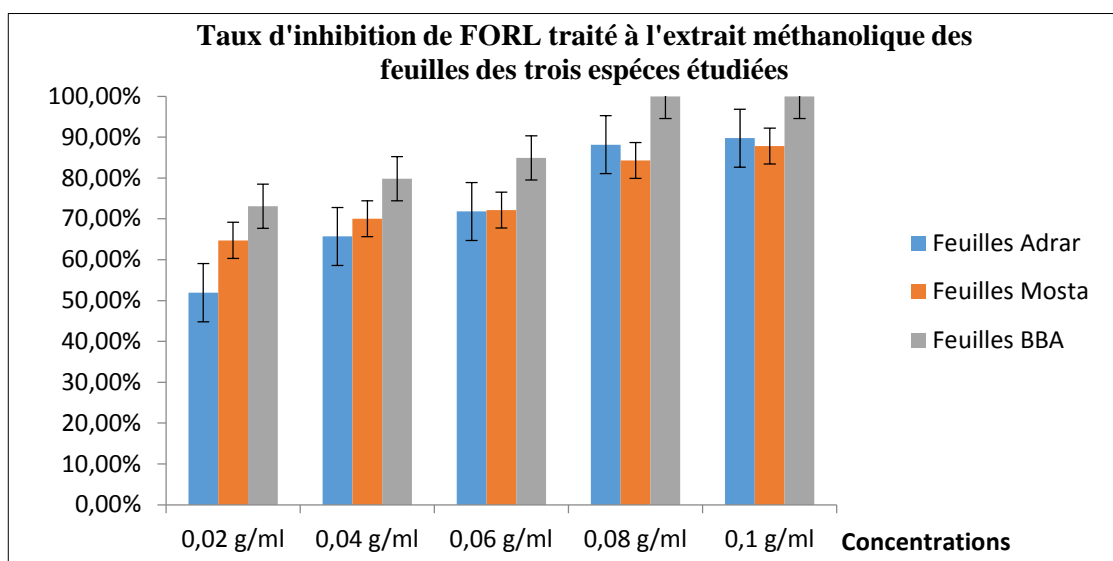
**Figure 25** : croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des feuilles de *Haplophyllum tuberculatum*.

#### Analyse graphique :

La figure 23 fait ressortir que les observations initiales indiquent une croissance mycélienne quasi nulle ; à partir du 4<sup>em</sup> jour, la croissance se déclenche modestement pour arriver à une valeur maximale de  $1.75 \pm 1.21$  cm, très moindre par rapport à celle du témoin.

La figure 24 montre une croissance approximativement stable en fonction du temps, et cela à partir du 2<sup>em</sup> jour dont la croissance se stabilise autour des valeurs de  $0.5875 \pm 0.22$  et  $1.05 \pm 0.37$  cm. en présence des 2 concentrations les plus fortes (0,1 g/ml et 0,08 g/ml), il n'y a eu aucune croissance.

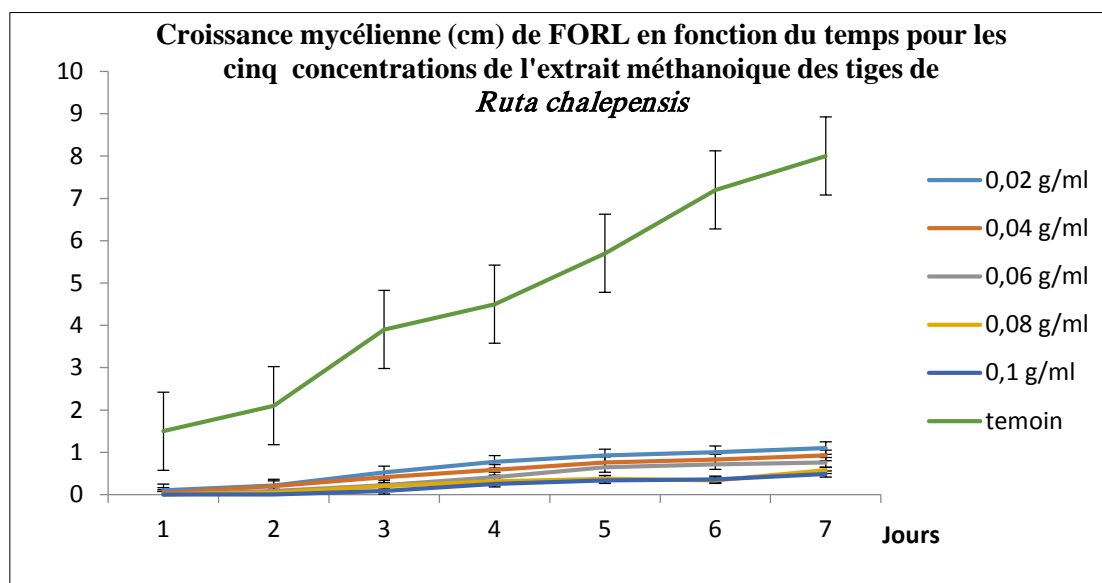
La figure 25 est pratiquement la plus fluctuante. La croissance mycélienne évolue lentement pendant la plupart du temps, puis augmente d'une manière spectaculaire les deux derniers jours pour atteindre un maximum de  $1.875 \pm 0.93$  cm.



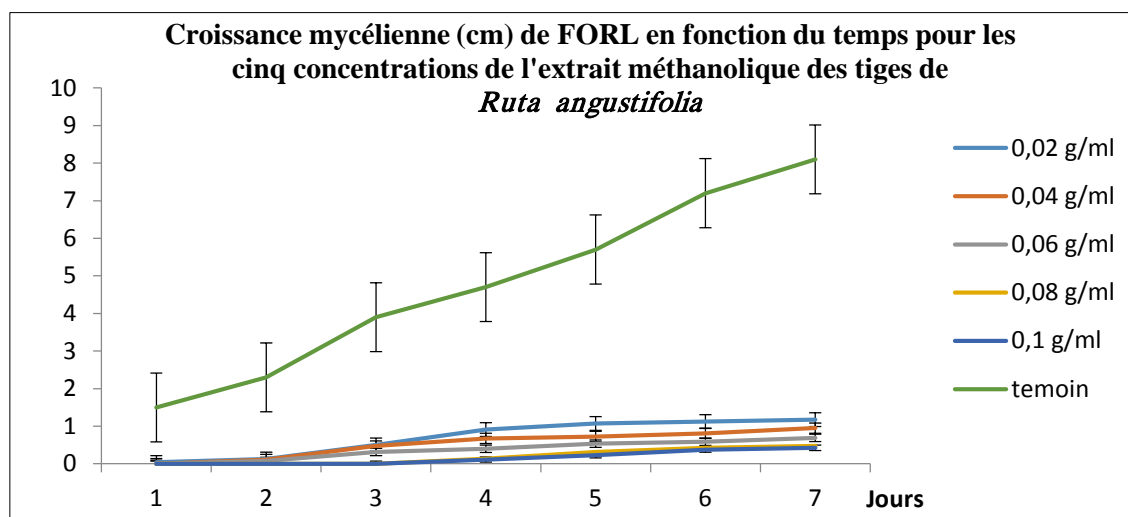
**Figure 26 :** Taux d'inhibition (%) de FORL traité à l'extrait méthanolique des feuilles des trois espèces étudiées.

### Analyse du graphe :

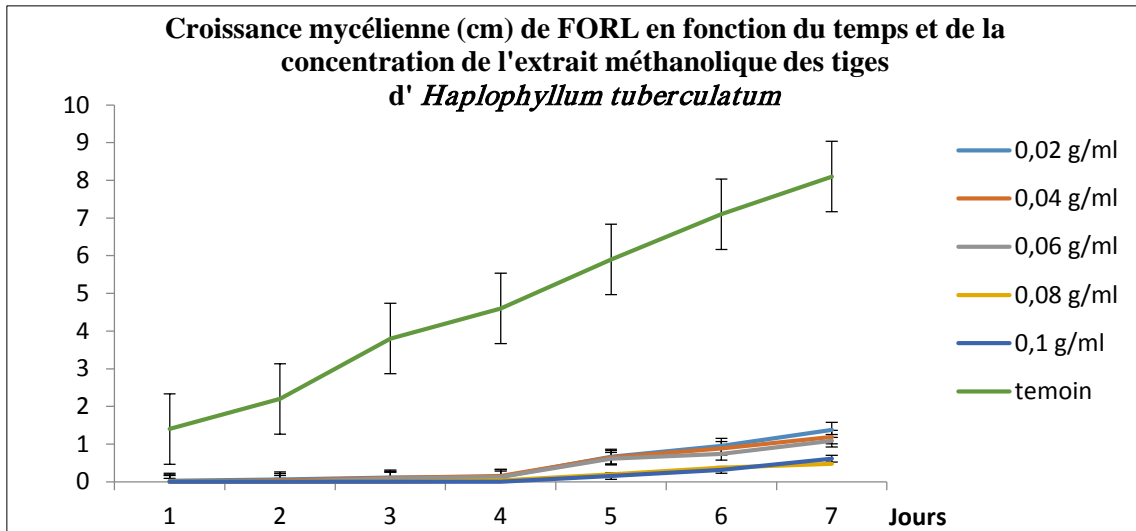
On remarque que le taux d'inhibition varie entre 87.82% et 100% pour les plus fortes concentrations (0.1g/ml) dont la valeur la plus élevée est enregistrée chez les feuilles de *R.angustifolia* (région BBA) avec un taux d'inhibition de 100%.



**Figure 27 :** Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des tiges de *Ruta chalepensis*.



**Figure 28 :** croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des tiges de *Ruta angustifolia*.



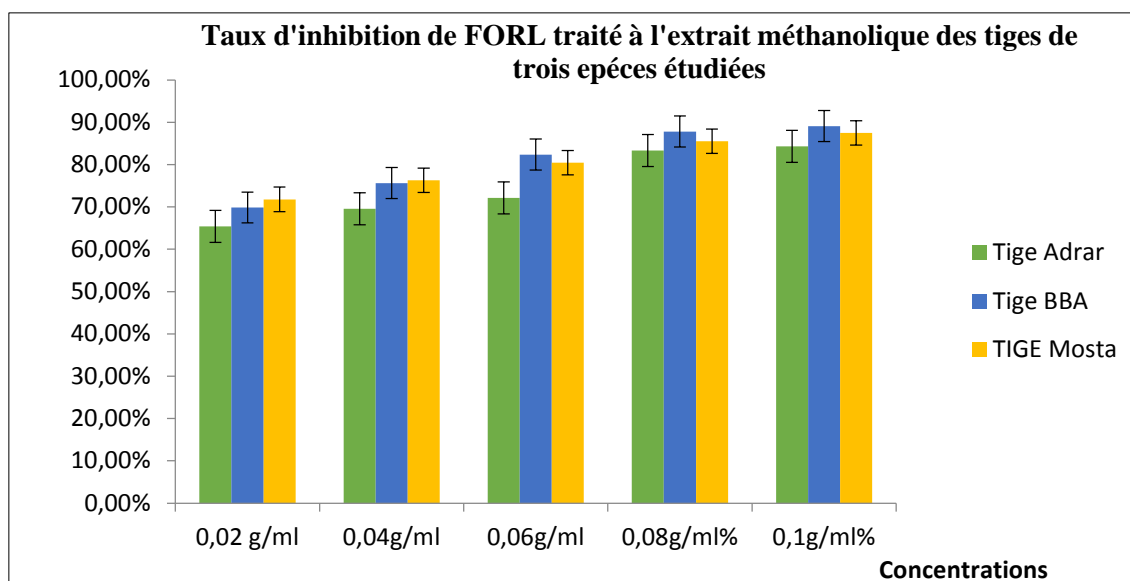
**Figure 29** : croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges d'*Haplophyllum tuberculatum*.

#### Analyse du graphe :

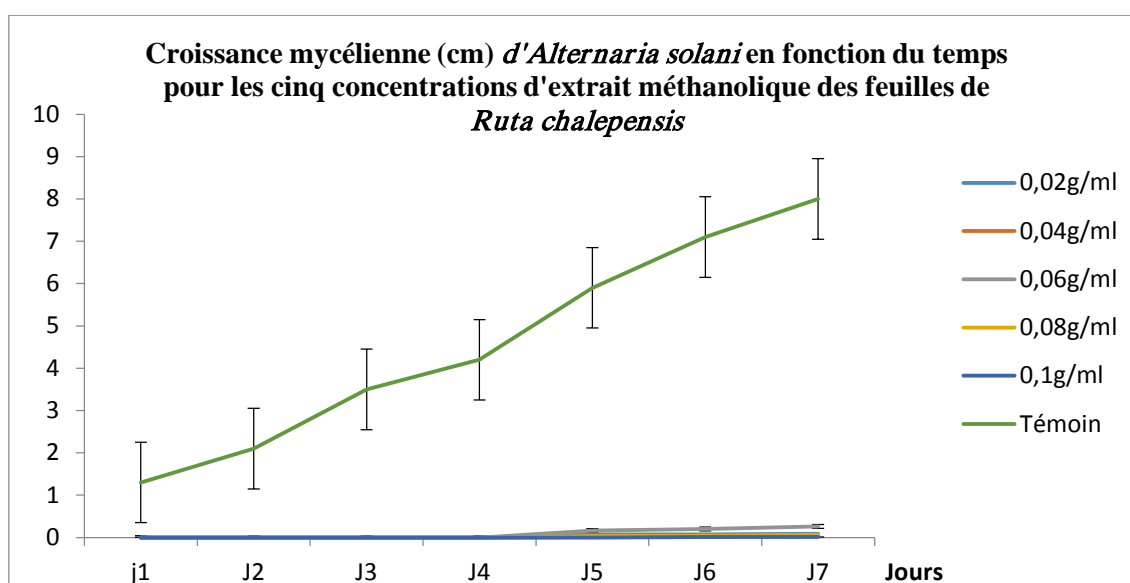
Les figures 27 et 28 présente une distribution linéaire assez proche l'une de l'autre ; la croissance mycélienne augmente très modestement dès les premiers jours du test. Les valeurs maximales atteintes sont de  $1.1 \pm 0.47$  cm et  $1.175 \pm 0.1$  cm respectivement.

La figure 29 montre une croissance quasi-nulle pour la plupart des concentrations, elle se déclenche à partir du 4<sup>ème</sup> jour et atteint un maximum de  $1.375 \pm 0.44$  cm pour la concentration la plus faible.

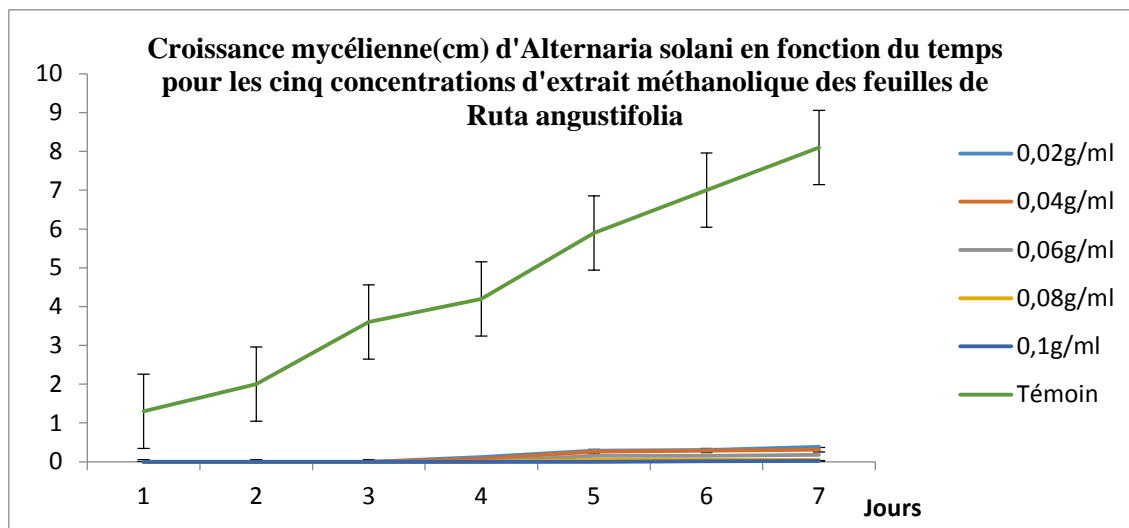
En se référant au témoin, les valeurs atteintes de la croissance mycélienne sont très faibles et d'une distribution linéaire très différente l'une de l'autre.



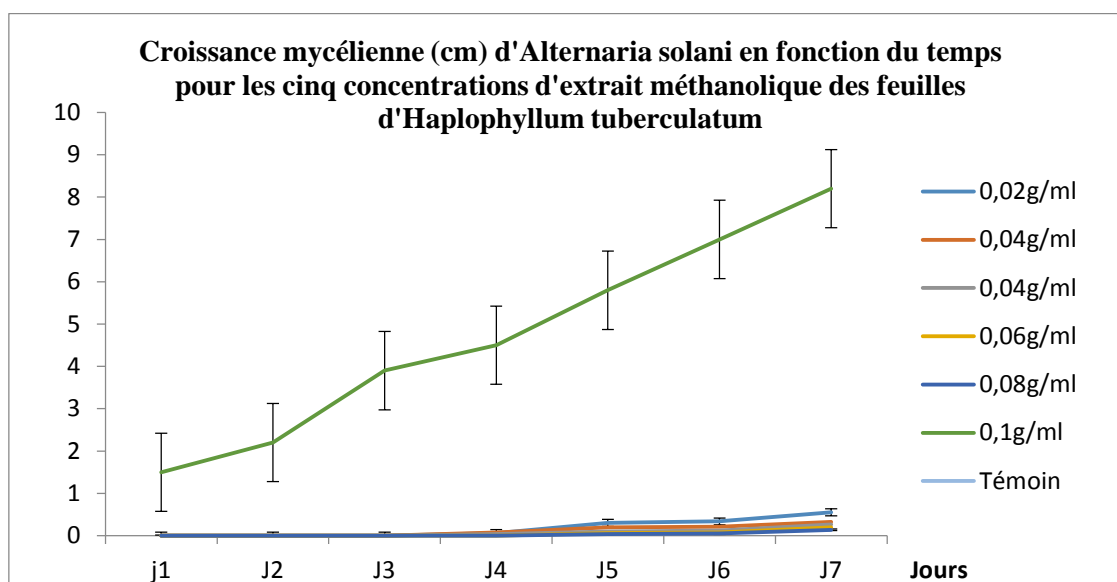
**Figure 30 :** Taux d'inhibition (%) de FORL traité à l'extrait méthanolique des tiges des trois espèces étudiées.



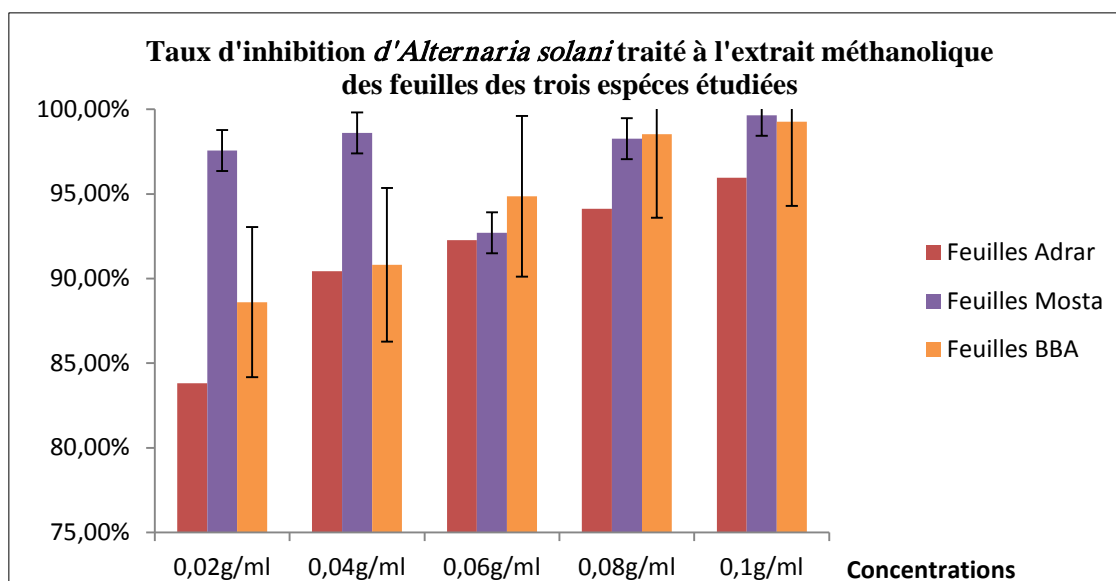
**Figure 31 :** Croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Ruta chalepensis*.



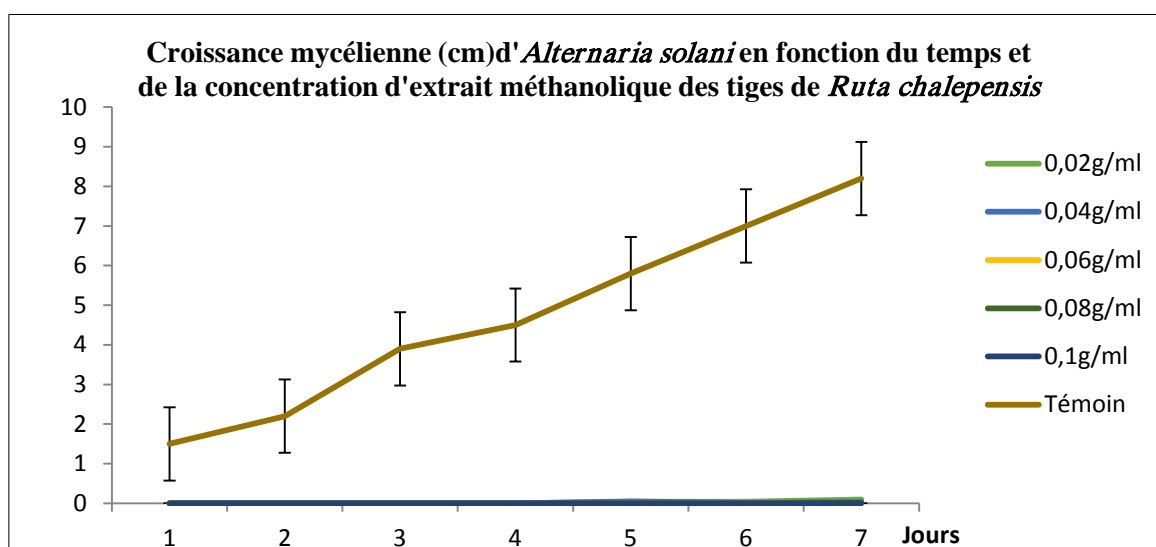
**Figure 32** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Ruta angustifolia*.



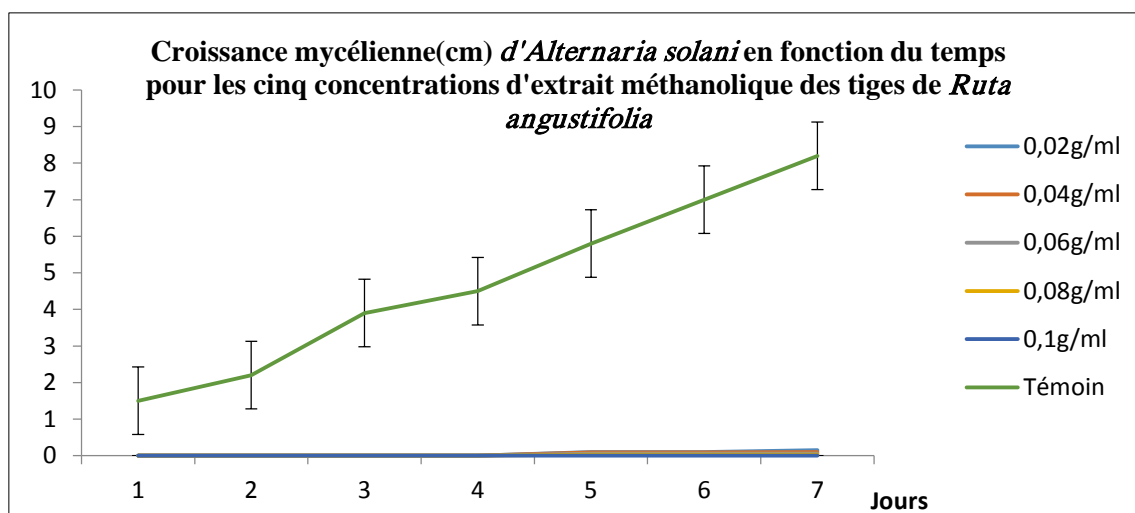
**Figure 33** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des feuilles d'*Haplophyllum tuberculatum*.



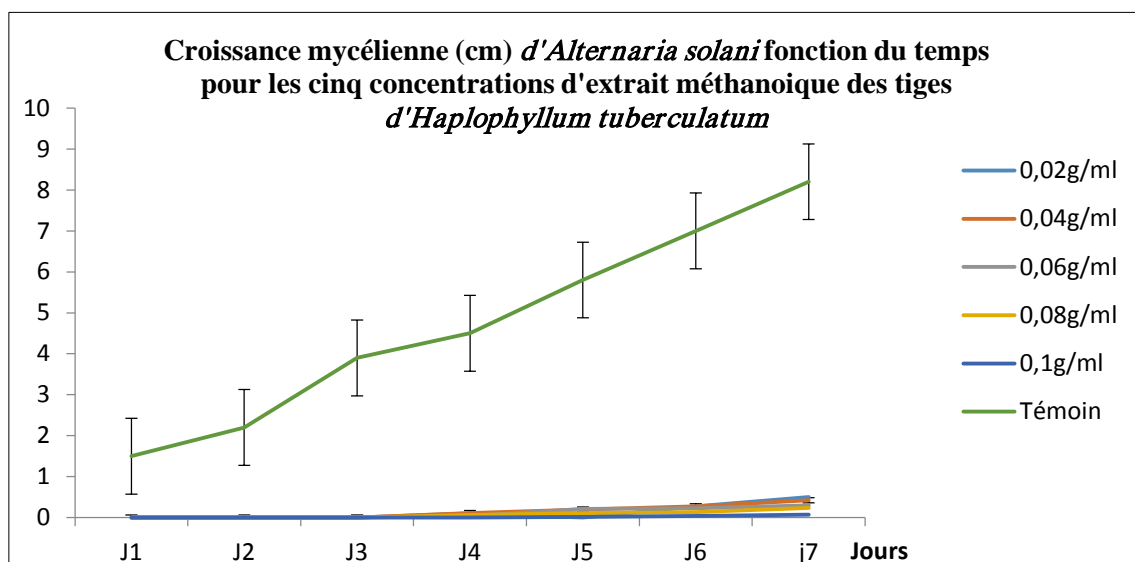
**Figure 34 :** Taux d'inhibition (%) d'*Alternaria solani* traité à l'extrait méthanolique des feuilles des trois espèces étudiées.



**Figure 35 :** Croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanolique des tiges de *Ruta chalepensis*.

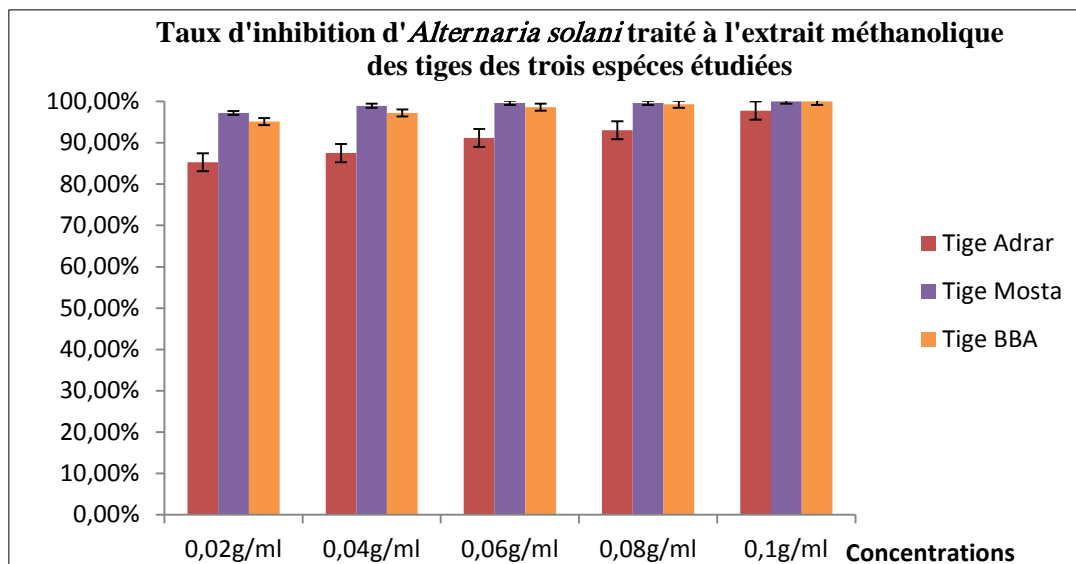


**Figure 36** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges de *Ruta angustifolia*.

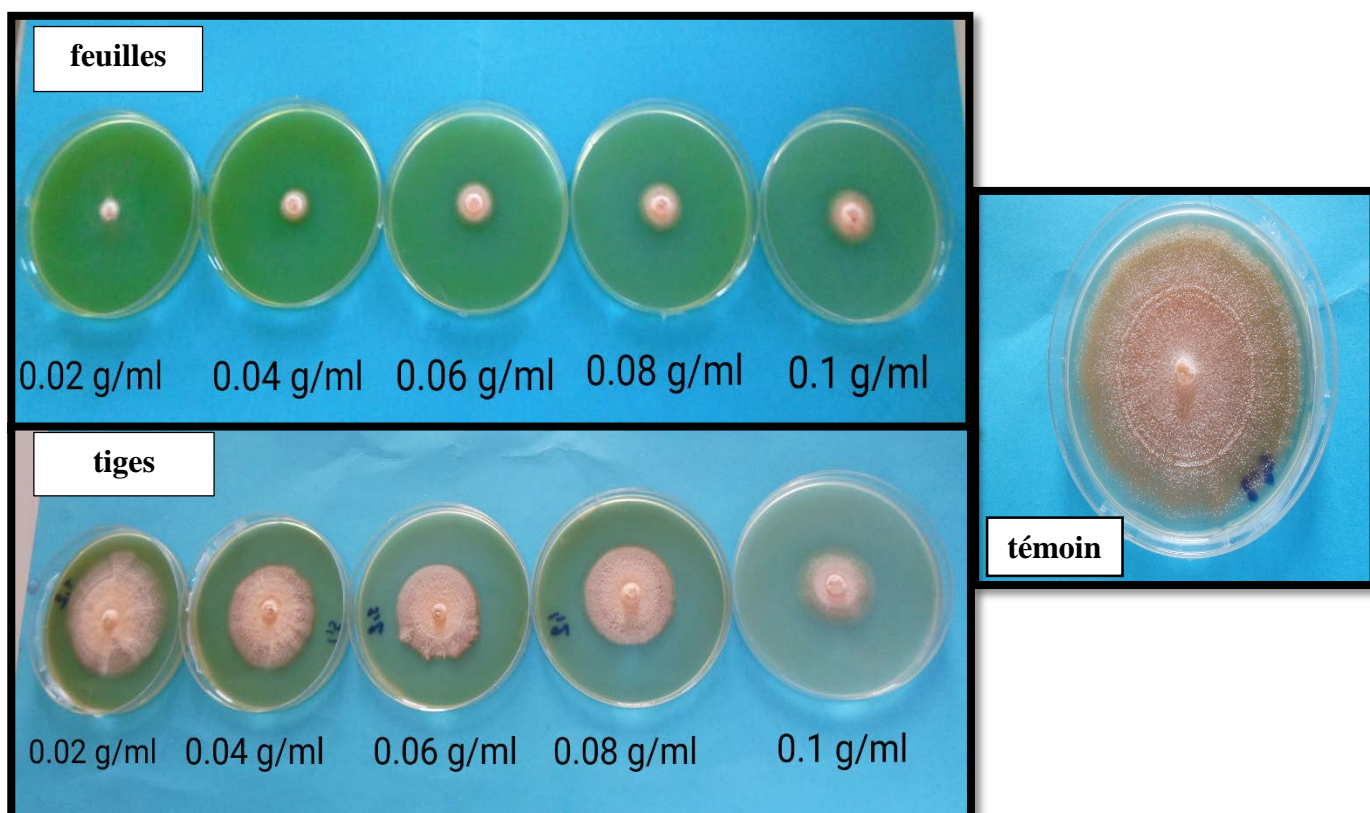


**Figure 37** : croissance mycélienne (cm) d'*Alternaria solani* en fonction du temps pour les différentes concentrations de l'extrait méthanoïque des tiges d'*Haplophyllum tuberculatum*.

Concernant les figures 31,32,33 et 37, les valeurs obtenues sont très faibles ne dépassant pas les 0.5cm. Pour les tiges de *R.chalepensis* et *R.angustifolia*, la croissance mycelienne est quasi nulle à partir des concentration 0.08g/ml.

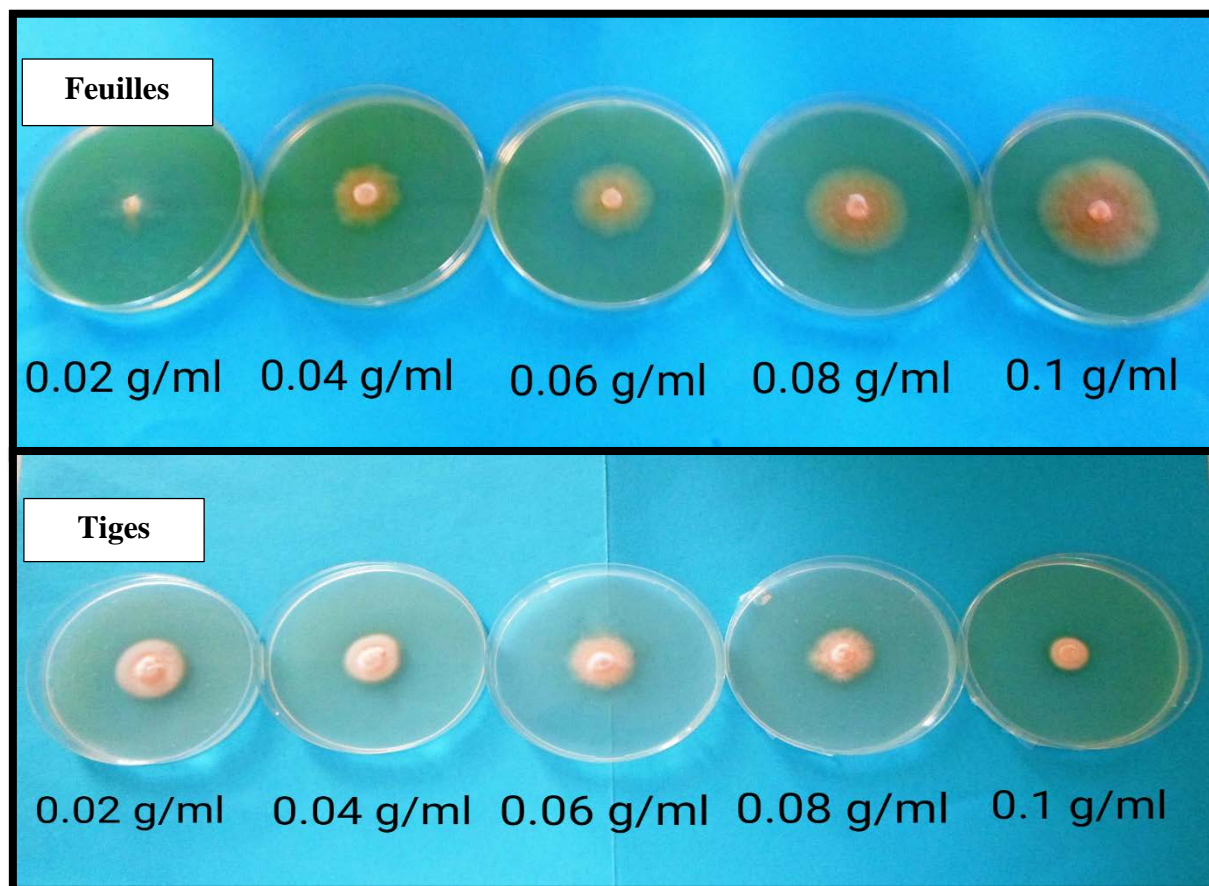


**Figure 38 :** Taux d'inhibition (%) d'*Alternaria solani* traité à l'extrait méthanolique des tiges des trois espèces étudiées.

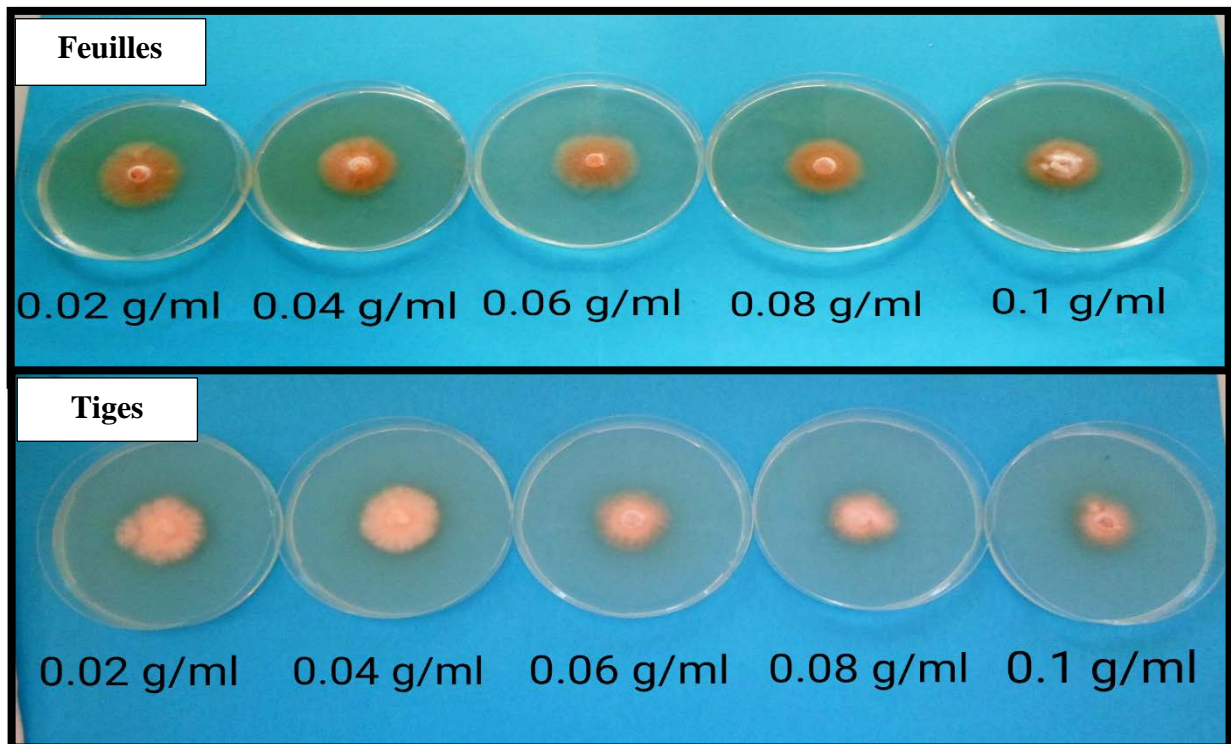


**Figure 39 :** résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *R.chalepensis* sur *Fusarium oxysporum f. sp radices lycopersici*.

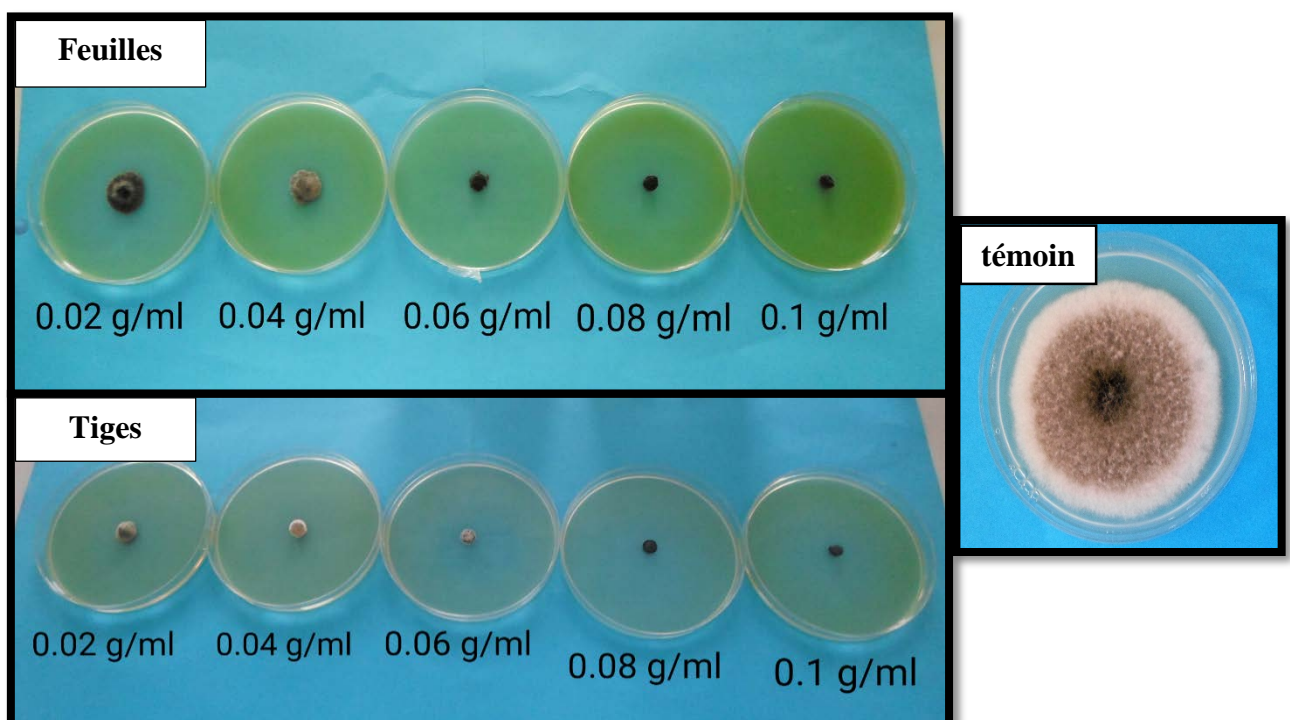




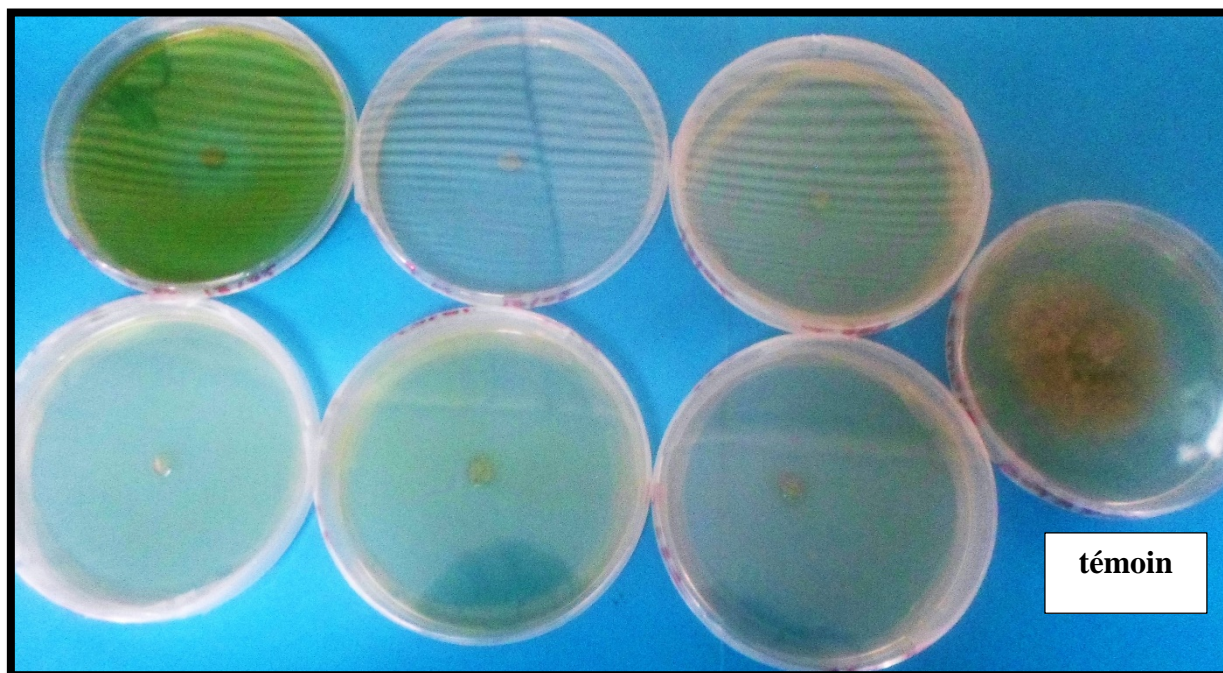
**Figure 40** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *R.angustifolia* sur *Fusarium oxysporum f. sp radices lycopersici*.



**Figure 40** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *A.tuberculatum* sur *Fusarium oxysporum f. sp radices lycopersici*.



**Figure 41** : résultat du test antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *R.angustifolia* sur *Alternaria solani*.



**Figure 42 :** resultat du test antifongique de l'ensemble des extraits méthanoliques sur *Botrytis cinerea*. FM : feuilles de *R.chalepensis*, TM : tiges de *R.chalepensis*, F.BBA : feuilles de *R.angustifolia*, T.BBA : tiges de *R.angustifolia*, FA : feuilles de *A.tuberculatum*, TA : tiges de *A.tuberculatum*.

# Discussion

## I. Rendement d'extraction :

Les rendements enregistrés avec les extraits bruts réalisés à partir des différentes parties de la plante (tiges et feuilles) sont relativement importants. Ils varient entre un minimum de 1.11% épuisé de la poudre végétale des tiges de *A.tuberculatum* (région d'Adrar) et un maximum de 1.85%, obtenu des feuilles de *R.chalepensis* (région Mostaganem). Il est à constater également que pour les trois espèces utilisées, les feuilles ont été plus rentables que les tiges, cela est prouvé par la plupart des études sur les extraits méthanoliques des plantes aromatiques, dont celles de (Kheyer et al,2014) et de (Khosravi et al, 2013) sont les meilleurs exemples. Ces auteurs ont démontré que les métabolites secondaires se concentrent au niveau des feuilles et des racines beaucoup plus que les tiges.

Des teneurs notables sont signalées dans les travaux menés par Mansour el-Said et al (1990) sur *R.chalepensis*, ou le rendement en extrait brut de la partie aérienne entière est de 3.75%. En revanche, ces résultats sont nettement inférieurs à ceux obtenus par Attou (2011) qui sont de l'ordre de 19.81% pour les feuilles et 5.75% pour les tiges.

Les variations des rendements d'une plante à une autre, semblent être liées aux différents facteurs, propriétés génétiques des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage, la période de récolte et surtout à la méthode d'extraction. En effet, la méthode d'extraction utilisée peut varier les teneurs des rendements des extraits obtenus. Dans le cas de l'extracteur Soxhlet, différents facteurs interviennent à savoir : le temps d'extraction, le nombre de cycles nécessaires, le débit de condensation, le rapport solvant/matière végétale, le taux de remplissage de la cartouche ainsi que la nature et le volume du solvant. (Andersen et Markham, 2006)

L'influence de la nature du solvant a déjà été confirmée par Cowan (1999) dont il révèle que la différence du rendement peut être due à la capacité d'extraction du solvant utilisé lors de l'extraction. Chaque solvant peut extraire des familles bien définies de métabolites secondaires. Le méthanol, solvant le plus polaire permet l'extraction des tanins, des saponines, des flavonoïdes, et bien d'autres polyphénols. Il a l'aptitude à fixer plus de composés ce qui augmente conséquemment le rendement d'extraction. (Cowan, 1999)

Attou dans son étude en 2011 sur l'Influence du volume du solvant sur le rendement rapporte que le volume optimal donnant le meilleur rendement pour la rue d'Alep est égal à 130 ml. Il a constaté que le meilleur rendement est obtenu en utilisant une quantité plus importante de solvant. Ce principe est bien respecté dans notre protocole puisqu'on a utilisé 100 ml de solvant pour 1g de poudre végétale, un volume assez important pour optimiser l'extraction. Le phénomène de solubilité intervient comme un facteur essentiel, du fait que les principes actifs seront beaucoup plus solubles dans des volumes importants de solvants, ce qui retardera la saturation. Toutefois, il est utile de noter qu'une augmentation excessive du volume de solvant, peut prolonger la durée de traitement (Andersen et Markham, 2006).

## II. Teneur en flavonoïdes des extraits bruts méthanoïques

En effet, la composition chimique des extraits est affectée par le climat, les températures maximales et minimales, les périodes (estivale ou hivernale), la durée d'ensoleillement et le pic des radiations solaires, la pluviométrie, l'altitude, la nature du sol et son pH (Boukhatem *et al.*, 2010).

Les résultats obtenus dans le dosage biochimique montrent une certaine hétérogénéité dans la répartition des flavonoïdes au niveau d'un même individu de plante. Pour les trois espèces de rutacées, La teneur en flavonoïdes des feuilles est révélée plus importante que celle des tiges. Ces résultats confirment ceux rapportés par (Mayad et al, 2003) qui ont démontré que la feuille est l'organe le plus riche qualitativement et quantitativement en métabolites secondaires.

Les teneurs les plus élevées ont été détectés dans l'extrait méthanolique de plantes *R.chalepensis* et *R.angustifolia*, tandis que les plus faibles sont remarquées dans l'extrait méthanolique de *A.tuberculatum*. Ce résultat est conforme à celui de (Zeghouane,2014) qui démontre que les teneurs maximales sont mentionnées chez l'espèce *R.tripartitus*, *R.graveolens* et *R.montana*, tandis que des teneurs minimales sont enregistrées chez l'espèce *A.tuberculatum*.

## III. Evaluation de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion sur disques aromatoigramme réalisée au moyen des extraits méthanoliques sur la bactérie *Pectobacterium carotovorum* n'a révélée aucun effet antibactérien.

L'absence d'anneau d'inhibition prouve que la bactérie est hautement résistante vis-à-vis de nos extraits ; la fiabilité de ce résultat a été renforcé par une autre méthode (celle des puits).

D'après la littérature, les bactéries Gram - sont généralement plus résistantes que les Gram + grâce à la structure de leur membrane externe. Les résultats expérimentaux obtenus par Boumediene en 2014 concernant l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *R.chalepensis* sur *Pseudomonas aeruginosa* indiquent que cette bactérie présente une importante résistance aux concentrations 1/8 et 1/4. Il cite également que les huiles essentielles sont beaucoup plus efficaces sur les bactéries que les extraits aqueux ou méthanoliques, ce qui explique l'absence d'effet antibactérien dans nos résultats.

Cette résistance peut être liée directement à la nature chimique de la membrane externe de la souche, composée de lipopolysaccharides formant une véritable barrière imperméable aux composés hydrophobes (Haddouchi et Benmansour, 2008).

#### **IV. Evaluation de l'activité antifongique**

Les résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antifongique ont démontré un pouvoir antifongique élevé dans la majorité des tests.

Si on établit une vue d'ensemble sur les résultats obtenus, Les six extraits testés ont présenté un large spectre d'action ; agissant aussi bien sur les champignons aériens (*botrytis cinerea*) que sur les champignons telluriques (*FORL*).

On note également que l'activité antifongique est proportionnelle à la concentration. Plus l'extrait méthanolique est concentré, moins le diamètre de la colonie fongique est étendu.

Plusieurs auteurs dans la littérature ont montré que les champignons aériens sont plus sensibles vis-à-vis des traitements antifongiques que les champignons telluriques et notamment vasculaires (Alilou *et al*, 2011) ; ce qui est le cas dans notre essai. *Botrytis cinerea* s'est révélé hautement sensible vis-à-vis de tous les extraits utilisés avec une croissance nulle dans l'ensemble du test, ce qui indique une très forte puissance antifongique des extraits utilisés. On peut faire ressortir de ce résultat une CMI de 0.02g/ml qui est sans doute une concentration très faible. Ce résultat est conforme à celui de Ghziel et Azizi en 2014 mais avec des CMI plus élevées que celle que nous avons obtenu.

Par ailleurs, beaucoup de substances naturelles se sont montrées efficaces contre *B.cinerea*, telle que la propolis et l'extrait des feuilles de la renouée. En effet, La concentration de 4% de la propolis dans l'eau distillée inhibe la croissance mycélienne de *B. cinerea* de plus de 50% en boîte de Pétri (Ozcan, 1999).

Les résultats qu'a révélé *Alternaria solani* paraissent également intéressantes du point de vue efficacité des extraits. Le champignon s'est montré hautement sensible dans les concentrations 0.1g/ml (CMI) pour les tiges de *R.angustifolia* et *R.chalepensis* avec un taux d'inhibition de 100%.

Même avec les plus faibles concentrations, le champignon manifeste une grande sensibilité dont la croissance mycélienne n'a pas dépassé les  $0.09\pm 0.8$ cm pour les feuilles de *Ruta chalepensis*,  $0.39\pm 0.4$ cm pour *R.angustifolia*, et  $0.55\pm 0.53$ cm pour *A.tuberculatum*.

L'extrait de *R.angustifolia* s'est révélé le plus efficace contre FORL, dont celui des tiges a atteint une inhibition de 100% à une CMI de 0.08g/ml. FORL est l'un des champignons vasculaires les plus difficiles à traiter, la littérature rédige que même avec des traitements chimiques parfois intenses, ce champignon résiste d'une façon étonnante.

Les essais *in-vitro* récemment effectués par Ghziel et Azizi sur le même champignon sont parmi les rares cas où le champignon s'est présenté hautement sensible vis-à-vis des extraits méthanoliques. Dans une étude réalisée au Mexique en 2009, les auteurs Snyder et Hansen rapporte que l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* n'a eu aucun effet sur la croissance de *Fusarium oxysporum f.sp. gladioli*, et cela avec toutes les concentrations utilisées.

Malgré que l'extrait méthanolique de *A.tuberculatum* est celui qui a montré l'effet antifongique le plus faible par rapport aux deux autres extraits, les résultats sont assez importants pour dire que cet effet est modéré dont le taux d'inhibition a atteint les 89.74% dans la concentration de 0.1g/ml.

Toutefois, le mode d'action s'est montré différent chez les trois espèces de plantes étudiées. En observant les courbes de la croissance mycélienne des pathogènes, on peut remarquer qu'elles sont d'une distribution linéaire différente l'une de l'autre, ce qui reflète formellement la nature des interactions (pathogène/substance végétale) qui se sont produites au cours de l'incubation. En se basant sur ces observations, on peut supposer que chacune possède un mode d'action caractéristique de la plante elle-même.

En effet, le mode d'action des extraits de plantes dépend non seulement du type et des caractéristiques de leurs composants actifs, mais aussi du type de microorganismes cible (Mlecky, 2008). Ce principe s'applique pratiquement sur l'ensemble de nos résultats.

Une récente étude sur l'activité antimicrobienne des extraits de plantes sur un ensemble de microorganismes a démontré à partir de leurs observations que les espèces de *Ruta* notamment

*R.chalepensis*, *R.angustifolia* et *R.tuberculata*, n'ont pas le même mode d'action antifongique (Haddouchi *et al*, 2013). L'auteur rapporte dans ce sens que *R.chalepensis* révèle un effet tardif contrairement à *R.angustifolia* où l'action a été immédiate. Ces estimations sont similaires aux résultats que nous avons obtenus, ce qui renforce donc notre supposition.

La constante observée au niveau des pourcentages d'inhibition de chaque champignon montre qu'à cette concentration, l'extrait serait capable d'agir complètement sur leur croissance et qu'une augmentation de la concentration n'aurait aucun effet.

L'ensemble des concentrations minimales inhibitrices obtenu sont consignés dans l'annexe. L'étude a révélé des valeurs de CMI relativement faibles, ce qui témoigne d'un pouvoir antifongique très intense.

Lors du repiquage sur un milieu sans extrait des champignons qui ne se sont pas développés, il a été observé que :

- ✓ Les champignons *A.solani* et *B.cinerea* n'ont pas repris leur croissance ce qui indique que l'effet des extraits utilisés est fongicide et le champignon est complètement détruit.
- ✓ Il y a une reprise de la croissance du champignon FORL ce qui indique que l'extrait n'a fait qu'inhiber le développement du mycélium. L'extrait aurait donc un effet fongistatique.

Ce résultat est conforme avec celui de Nuzhat et Vidiyasagar en 2013, qui démontre que l'extrait de *A.tuberculatum* affecte la croissance mycelienne de *Curvularia lunata* et *Fusarium oxysporum* à une concentration de 0.2g/ml, mais il n'a cependant aucun effet sur la germination de leurs spores.

L'analyse statistique a montré l'existence d'une relation linéaire entre l'activité antimicrobienne et les différentes concentrations des extraits.

## **V. La relation déduite entre la teneur en flavonoïdes et le potentiel antimicrobien**

La détermination de la teneur en flavonoïdes donne une idée sur le potentiel antimicrobien des extraits, mais elle ne peut pas être utilisée pour prédire le comportement antimicrobien. En effet, il s'agit d'une méthode générale qui ne donne pas d'information concernant la nature des composés flavonoïdiques qui se trouvent dans nos extraits. L'action antimicrobienne des flavonoïdes ne peut donc être suggérée que bien après les tests antifongiques et antibactériens.



Les tests réalisés dans notre travail ont témoigné les bénéfices apportés par les flavonoïdes. En effet, un grand nombre d'entre elles avait des activités biologiques très intéressantes. Il a été observé d'après les valeurs obtenues, que les teneurs en flavonoïdes des deux espèces du genre *Ruta* sont concomitantes avec leur pouvoir antifongique.

En les comparant avec l'effet d'*A.tuberculatum* qui est moins intense, on peut supposer, d'après nos résultats, que l'activité antifongique est significativement liée à la teneur en flavonoïdes de nos extraits, bien que cette supposition doive être renforcée par d'autres dosages biochimiques de l'ensemble des composés de la plante.

Selon la littérature, les activités des extraits flavoniques sont généralement proches de celles des extraits bruts. Djridane et al (2006) prouve dans ce sens que les flavonoïdes représentent un groupe important de composés phénoliques chez le genre *Ruta*.

La propolis est une résine végétale anti-infectieuse riche en flavonoïdes (Marcucci, 1995; Walker and Crane, 1987). Elle a une activité antibiotique, antibactérienne et antifongique (Tosi et al., 1996). La propolis a été utilisée par Lima et al., (1998) pour inhiber *B. cinerea* en traitement post récolte. Les taux d'inhibitions assez importants obtenus in-vitro ont prouvés l'efficacité des composants de la propolis sur la croissance de *B.cinerea* notamment les flavonoïdes. Si on essaye de lier ce résultat avec ceux obtenus dans notre test sur le même champignon, on pourrait renforcer notre hypothèse sur l'influence des flavonoïdes sur l'efficacité de nos extraits.

Mohammadi dans sa thèse en 2009 indique que pour chaque espèce végétale et au sein de la même espèce, la nature des composants phytochimiques est à l'origine des activités biologiques de chaque extrait ou fraction. Ces activités sont aussi en dépendance de la teneur de la substance ou l'ensemble des substances biologiquement actives.

Le potentiel d'une plante aromatique est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques (Oyedeji et al., 2011). Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (Okwu et Okwu, 2004).

Même si cette activité antifongique pourrait être influencée par d'autres composants phénoliques divers, l'action des flavonoïdes reste néanmoins non négligeable vue leur concentration assez importante détectée chez les trois espèces de rutacées. «

# CONCLUSION

Nous espérons par cette modeste étude pouvoir ouvrir une voie de recherche pour mieux se prononcer sur l'approche de la lutte biologique et rendre plus efficace une stratégie de lutte intégrée respectueuse de l'environnement.

Alors que l'on savait par la littérature scientifique que la tomate est sujette aux attaques de *Fusarium oxysporum*, d'*Alternaria solani* et de *Botrytis cinerea*, nous avons pu obtenir quelques résultats prometteurs qui pourront avoir plus de fiabilité dans de prochaines études espérées être complémentaires.

Certains de nos résultats nous paraissent suffisamment intéressants pour recommander ici qu'ils méritent d'être approfondis par des études plus fines avec des protocoles plus appropriées.

La quantification du rendement nous a permis de montrer que les trois plantes *Ruta chalepensis*, *Ruta angustifolia* et *Haplophyllum tuberculatum* sont productrices de métabolites secondaires avec des rendements assez importants.

Le dosage biochimique des flavonoïdes nous a permis de déterminer des teneurs assez élevées. L'influence des flavonoïdes sur les résultats de nos tests antifongiques est en effet une hypothèse que nous attribuons à cette étude.

Les tests *in vitro*, qui visaient à inhiber le développement de la maladie au moyen des extraits méthanoliques ont donné des résultats intéressants dont le plus remarquable est celui du test réalisé sur *Botrytis cinerea*. Un taux d'inhibition de 100% avec toutes les concentrations des six extraits utilisés.

Comme perspective dans la continuité de ce travail, il serait intéressant de

- Vérifier l'effet antifongique de ces plantes dans des conditions *in vivo*.

- Etudier la composition des extraits méthanoliques par des analyses plus poussées (HPLC) pour détecter et identifier les substances actives responsable de l'activité antimicrobienne.
- Etudier plus en détail la biologie des pathogènes afin de mieux maîtriser leur prolifération.
- Veiller à la fabrication et l'homologation de nouveaux biopesticides à base de plantes.

Enfin, il ne fait aucun doute que la nature renferme encore beaucoup de molécules susceptibles d'aider l'espèce humaine dans sa recherche de solutions acceptables pour lutter efficacement contre les organismes nuisibles. Pour qu'on puisse réussir à identifier les organismes contenant de telles molécules, il faut absolument mettre sur pied des équipes multidisciplinaires qui veilleront à la fois à préserver le patrimoine végétal contenant ces molécules, et à les développer tout en assurant que l'Homme et l'environnement en reçoivent les pleins bénéfices.

<b>Rendement en %</b>	<b>Tiges</b>	<b>Feuilles</b>
<i>R.chalepensis</i>	1.32±0.15%	1.85± 0.09%
<i>R.angustifolia</i>	1.30± 0.052%	1.51± 0.16%
<i>H.tuberculatum</i>	1.11±0.098%	1.19± 0.18%

**Tableau 01** : pourcentage du rendement des trois écotypes utilisés dans l'extraction.

<b>Espèces</b>	<b>Organes</b>	<b>Taux des flavonides (mg EAG/g MS) (b).</b>
<i>Ruta angustifolia</i> (Région EST)	<b>Tiges</b>	0,01±0,001 mgEQ/g
	<b>Feuilles</b>	0,02±0,004 mgEQ/g
<i>Ruta chalepensis</i> (Région OUEST)	<b>Tiges</b>	0,02±0,03 mgEQ/g
	<b>Feuilles</b>	0,04±0,03 mgEQ/g
<i>Haplophyllum tuberculatum</i> (Région Sud)	<b>Tiges</b>	0,006±0,06 mgEQ/g
	<b>Feuilles</b>	0,009±0,06 mgEQ/g

**Tableau 02** : pourcentage en flavonoïdes des trois écotypes étudiés. Significative (P< 0,05).

Concentration de l'extrait méthanolique (g/ml)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	Taux d'inhibition (%)
<b>0.02g/ml</b>	0,05± 0,06	0,1625± 0,05	0,6125± 0,1	0,725± 0,13	0,85± 0,96	1,725± 0,73	1,875± 0,21	51,92%
<b>0.04g/ml</b>	0	0,025± 0,05	0,0625± 0,08	0,125± 0,08	0,125± 0,29	0,6625± 0,35	1,95± 0,17	65,71%
<b>0.06g/ml</b>	0	0,375	0,1± 0,09	0,15± 0,17	0,65± 0,22	0,8875± 0,09	1,1875± 0,22	71,79%
<b>0.08g/ml</b>	0	0	0,0875± 0,09	0,125± 0,17	0,6125± 0,022	0,7375± 0,09	1,0875± 0,22	88,14%
<b>0.1g/ml</b>	0	0	0	0	0,1125± 0,78	0,2875± 0,23	0,4± 0,29	89,74%
<b>Témoin</b>	1.5	2.2	3.9	4.5	5.8	7	8.2	

**Tableau 03** : Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps et de la concentration en extrait méthanolique des feuilles de *Haplophyllum tuberculatum*.

Concentration de l'extrait méthanolique (g/ml)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	Taux d'inhibition (%)
<b>0.02g/ml</b>	0,05± 0,08	0,1625± 0,09	0,6125± 0,15	0,725± 0,17	0,85± 0,22	1,725± 0,54	1,875± 0,92	51,92%
<b>0.04g/ml</b>	0	0,025± 0,05	0,2125± 0,08	0,225± 0,08	0,35± 0,29	0,990625± 0,35	1,3375± 0,17	65,71%
<b>0.06g/ml</b>	0	0	0,15± 0,09	0,125± 0,17	0,225± 0,22	0,9125± 0,09	1,2125± 0,22	71,79%
<b>0.08g/ml</b>	0	0	0	0	0,175± 0,09	0,3375± 0,14	0,4625± 0,57	88,14%
<b>0.1g/ml</b>	0	0	0	0	0,1125± 0,78	0,2875± 0,23	0,4± 0,29	89,74%
<b>Témoin</b>	1.5	2.2	3.9	4.5	5.8	7	8.2	

**Tableau 04 :** Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps et de la concentration en extrait méthanolique des feuilles de *Ruta chalepensis*.

Concentration de l'extrait méthanolique (g/ml)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	Taux d'inhibition (%)
0.02g/ml	0,0875± 0,09	0,775± 0,05	0,8375± 0,38	0,9375± 0,44	0,95± 0,33	1± 0,34	1,05± 0,37	51,92%
0.04g/ml	0,0375± 0,05	0,35± 0,24	0,45± 0,24	0,6875± 0,05	0,75± 0,115	0,775± 0,19	0,7875± 0,24	65,71%
0.06g/ml	0	0,275± 0,1	0,3125± 0,21	0,4125± 0,15	0,5375± 0,17	0,575± 0,21	0,5875± 0,22	71,79%
0.08g/ml	0	0	0	0	0	0	0	88,14%
0.1g/ml	0	0	0	0	0	0	0	89,74%
Témoin	1.5	2.2	3.9	4.5	5.8	7	8.2	

**Tableau 05 :** Croissance mycélienne (cm) de FORL en fonction du temps et de la concentration en extrait méthanolique des feuilles de *R.angustifolia*.

#### ANALYSE DE VARIANCE de FORL

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	627,103	29	21,624				
VAR.FACTEUR 1	267,318	2	133,659	31,686	0,00023		
VAR.FACTEUR 2	20,901	1	20,901	4,955	0,05499		
VAR.FACTEUR 3	202,315	4	50,579	11,991	0,00214		
VAR.INTER F1*2	20,136	2	10,068	2,387	0,153		
VAR.INTER F1*3	74,467	8	9,308	2,207	0,14168		
VAR.INTER F2*3	8,221	4	2,055	0,487	0,74701		
VAR.RESIDUELLE 1	33,746	8	4,218			2,054	2,16%

## ANALYSE DE VARIANCE

*d'Alternaria solani*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	3389,826	29	116,891				
VAR.FACTEUR 1	516,627	2	258,313	51,358	0,00005		
VAR.FACTEUR 2	0,231	1	0,231	0,046	0,82967		
VAR.FACTEUR 3	2442,674	4	610,669	121,413	0		
VAR.INTER F1*2	167,338	2	83,669	16,635	0,0016		
VAR.INTER F1*3	72,29	8	9,036	1,797	0,21208		
VAR.INTER F2*3	150,428	4	37,607	7,477	0,00869		
VAR.RESIDUELLE 1	40,237	8	5,03			2,243	2,85%

- Aazza S., Lyoussi B. and Miguel MG., 2011. Antioxidant and Antiacetylcholinesterase
- Abdelsalam, H. & Bogdadi, A., 2010. Antimicrobial activities of ten medicinal plants used in the folk medicine of Libya. *Acta Horticulturae* 853: 419–422.
- Activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds. *Molecules*. 16 : 7672-7690.
- Adejumo, T.O., Hettwer, U., and Karlovsky, P. 2007. Occurrence of *Fusarium* species and trichothecenes in Nigerian maize. *International Journal of Food Microbiology* 116: 350-357.
- Adeola SA., Folorunso OS. and Amisu KO., 2012. Antimicrobial Activity of *Ocimum*
- Akrout A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. (2011). Antioxidant and
- Al Qarawi AA (2005) Stimulatory effect of the aqueous extract of *Rutachalepensis* on the sex organs and hormones of male rats. *The Journal of applied research* 5: 206-11
- Al Yousuf, M.H., Bashir, A.K., Veres, K., Dobos, A., Nagy, G., Mathe, I., Blunden, G. & Vera, J.R., 2005. Essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* (Forssk.) A. Juss. from the United Arab Emirates. *Journal of Essential Oil Research* 17(5): 519–521.
- Alabouvette, C. 1990. Biological control of *Fusarium* wilt pathogens in suppressive soils. Dans: *Biological control of soil-borne plant pathogens*, D. Hornby (ed.), C. A. B. International, Wallingford, pp. 27-43.
- Al-Burtamani, S.K.S., Fatope, M.O., Marwah, R.G., Onifade, A.K. & Al-Saidi, S., 2005. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. *Journal of Ethnopharmacology* 96(1–2): 107–112.
- Anajjar, B., Aitmand, R., Timinouni, M., & Ennaji, M. M. 2007. Caractérisation par PCR de deux souches d'*Erwinia carotovora* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre dans la région du grand Casablanca au Maroc. *Bulletin OEPP* 37 : 175–180. 3
- Arino, A., Juan, T., Estopanan, G., and Gonzalez-Cabo, J.F., 2007. Natural occurrence of *Fusarium* species, fumonisin production by toxigenic strains and concentration of fumonisins B1, and B2 in conventional and organic maize grown in Spain. *Journal of Food Protection* 70: 151-156. Bailly, J.D.,
- Baaren, P., Legendre, L., and Kan, J. 2004. Plant defence compounds against *Botrytis* infection, p. 143-161, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Bardin, M., Fargues, J., and Nicot, P.C. 2008. Compatibility between biopesticides used to control grey mould, powdery mildew and whitefly on tomato. *Biological Control* 46: 476-483.
- basilicum and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhimurium*. *Research Journal of Biology*. 02(05): 138-144.



- Bdliya, B. S. and Langerfeld, E. 2003. A semiselective medium for detection, isolation and enumeration of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* from plant materials and soil. *Tropical Science* 45 : 90-96.
- Beever, R., and Weeds, P. 2004. Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*, p. 29-52, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Beloued A., 2005. *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaires. Alger. 124p.
- Bennadja S., Tlili Ait Kaki Y., Djahoudi A., Hadeif Y. and Chefrour A., 2013.
- Bennett, J.W., and Klich M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16: 497-516.
- Billerbeck VG., Roques C., Vanière P., Marquier P., 2002. Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes X-n°3*: 248-251.
- Botineau M., 2010. *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Ed TEC&DOC,
- Brunneton J., 1993. *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. 484,489,548,555,634 p.
- Buck, J.W., and Jeffers, S.N. 2004. Effect of pathogen aggressiveness and vinclozolin on efficacy of *Rhodotorula glutinis* PM4 against *Botrytis cinerea* on geranium leaf disks and seedlings. *Plant Disease* 88: 1262-1268.
- Catara, V., Bella, P., Pollizi, G., and Paratore, A. 2001. First report of bacterial stem rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *P. carotovorum* subsp. *atrosepticum* on grafted eggplant in Italy. *Plant Disease* 85 : 921. 5.
- Celma A.R., Cuadros F., Lopez-rodriguez F., (2009) : Characterisation of industrial tomato by products from infrared drying process . *food Bioproducts Proc .*, 87 ;282-291 .
- Cetinkaya-Yildiz, R., Mirik, M., Aysan, Y., and Kusek, M. 2004. An outbreak of bacterial stem rot of *Dieffenbachia amoena* caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in the Eastern Mediterranean region of Turkey. *Plant Disease* 88 : 310-311. 6.
- Cilindre, C., Castro, A.J., Clément, C., Jeandet, P., and Marchal, R. 2007. Influence of *Botrytis cinerea* infection on Champagne wine proteins (characterized by two-dimensional electrophoresis/immunodetection) and wine foaming properties. *Food Chemistry* 103: 139-149.
- DAMOISEAU. L, 2013. *Colloque Intrants Naturels ITAB/GRAB*
- Daugaard, H., Sorensen, L., and Loschenkohl, B. 2003. Effect of plant spacing, nitrogen fertilisation, post-harvest defoliation and finger harrowing in the control of *Botrytis cinerea* Pers. in strawberry. *European Journal of Horticultural Science* 68: 77-82.

- Davidson, J.A., and Kryszka-Kaczmarek, M. 2007. Effects of inoculum concentration, temperature, plant age and interrupted wetness on infection of lentil (*Lens culinaris*) by *Botrytis* spp. conidia. *Australasian Plant Pathology* 36: 389-396.
- De Ana SG., 2006. Seasonal distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, and *Penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*. 16 (6): 357-363.
- De Belair G., 1990. Structure, fonctionnement et perspectives de gestions de quatre éco-complexes lacustres et marécageux (El-Kala, Est algérien) Thèse doc. Univ. Montpellier. 193 p.
- De Boer, S. H. and Kelman, A. 2001. Gram-negative bacteria: Erwinia soft rot group. Pages 56-72. In : *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F. (1999). Flavonoids: old and new aspects
- Djahra AB., 2013. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat, option biologie végétale. Univ. Badji Mokhtar, Annaba. 54p.
- Dupond F. et Guignard JL., 2012. Abrégés de pharmacie. Botanique- Familles des plantes.
- DUPONT F. et GUIGNARD J. L. 2012- Botanique les familles de plante. Edition Elsevier Masson. France, 300 p.
- Ed. Elsevier Masson 15e édition.
- Eickhorst K., DeLeo V., Csaposs J (2007) Rue the herb: *Rutagraveolens* associated Phytophototoxicity. *Dermatitis* 18: 52-5
- El-Abyad, M. S., El-Sayed, M. A., El-Shanshoury, A. R., & El-Sabbagh, S. M. 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. *Plant Soil* 149: 185-195.
- Emam AM, Swelam ES, Megally NY (2009) Furocoumarin and Quinolone Alkaloid-rutamin with Larvicidal and Antifeedant Activities Isolated from *Rutachalepensis* Leaves. *J Nat Prod* 2 : 10-22
- Fandohan, P., Gnonionfin, B., Hell, K., Marasas, W.F., and Wingfield, M.J., 2005. Natural occurrence of *Fusarium* and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin. *International Journal of Food Microbiology* 99: 173-183.
- FAOSTAT, 2013- Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Freitas, S. S., & Pizzinatto, M. A. 1991. Interactions between *Pseudomonas* sp. and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Summa Phytopathologica* 17: 105-112.
- Frommel, M. I., Pazos, G. S., & Nowak, J. 1991. Plant-growth stimulation and biocontrol of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) by coinoculation of tomato seeds with *Serratia plymuthica* and *Pseudomonas* sp. *Fitopatologia* 26: 66-73.

- Gallais A. et Bannerot H., 1992 : Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères de sélection. INRA, Paris. 765p.
- GALLAIS A. et BANNEROT H., (1992)- Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectif et critère de sélection. Paris. INRA, 771 p.
- Gausson H., LEFOY J. et OZENDA P., 1982. Précis de Botanique. Deuxième Ed. Masson, Paris. 172p.
- Guinochet T., 1973. Phytosociologie, Ed. Masson, France, 227p.
- Guinoiseau E., 2010. Molécules, antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie- Biologie moléculaire, France. 50p.
- Idnurm A, Heitman J (2005) Light controls growth and development via a conserved pathway in the fungal Kingdom. PLoSBiol3:615-626.
- Intervention - Académie du Biocontrôle et de la PBI.
- Isebaert, S., Haesaert, G., Devreese, R., Maene, P., Fremaut, F., and Vlaemynck, G., 2005. *Fusarium* spp and *Fusarium* mycotoxins in maize: a problem for Flanders Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences 70: 129-136.
- J. Food. Chem. Tox. 49: 342–347.
- Javidnia, K., Miri, R. & Banani, A., 2006. Volatile oil constituents of *Haplophyllum tuberculatum* (Forssk.) A. Juss. (Rutaceae) from Iran. Journal of Essential Oil Research 18(4): 355–356.
- Jones, and W. Chun, Third Ed, APS Press, St. Paul, MN, USA, 398 pp. 7. Fiori, M. and Schiaffino, A. 2004. Bacterial stem rot in greenhouse pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sardinia (Italy) : Occurrence of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. J. Phytopathology 152 : 28-33.
- Jordán MJ., Lax V., Rota MC., Lorán S., Sotomayor JÁ., 2013. Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Food Control. 30: 463–468.
- Kallel, S., Ouadday, M.Z.B. & Ghrabi, Z., 2009. Evaluation of the nematocidal activity of *Haplophyllum tuberculatum* on *Meloidogyne javanica*. Nematologia Mediterranea 37(1): 45–52.
- Kapoor, I. J., & Kar, B. 1988. Antagonistic effects of soil microbes on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, causing tomato wilt. International Journal of Tropical Plant Diseases 6: 257-262.
- Khanbabae K and Ree T.R. (2001). Tannins: Classification and Definition. Journal of Royal
- Kheyer N., Meridja D., Belhamel K., 2014. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Algerian Journal of Natural Products. 2(1): 18-26.

- Khosravi AR., Shokri H., Farahnejat Z., Chalangari R., Katalin M., 2013. Antimycotic efficacy of Iranian medicinal plants towards dermatophytes obtained from patients with dermatophytosis. *Chin. J. Nat. Med.* 11: 43–48.
- Latigui A., 1984 : Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse Magister. INA El-Harrach.
- Lima, G., De Curtis, F., Castoria, R., Pacifica, S., and De Cicco, V. 1998. Additives and natural products against post harvest pathogens compatibility with antagonistic yeasts. *Jornal of Plant Pathology* 80: 259.
- Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G., 2014. Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine.* 2: 794-807.
- Mancebo F, Hilje L, Mora GA *et al.* (2001) Biological activity of *Rutachalepensis* (*Rutaceae*) and *Sechiumpittieri* (*Cucurbitaceae*) extract on *Hypsipylagrandella* (*Lepidoptera: Pyralidae*) larvae. *Rev Biol Trop* 49 : 501-8
- Marcucci, M.C. 1995. *Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity.* *Apidologie* 26: 83-99.
- Naika S., Lidt J., Goffau M., Hilmi M. et Dam B., 2005- La culture de la tomate- production, transformation et commercialisation- Ed. Fondation Agromisa et C.T.A., 105 p.
- Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial
- Nehir El S., Karagozlu N., Karakaya S. and Sahm S., 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation. *Food and Nutrition Science.* 5: 97-106.
- Nyabyenda P., 2005- Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. Édit. Gembloux, France, 241 p.
- of a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci.* 65 (4): 337-53.
- Oliva A, Meepagala KM, Wedge DE *et al.* (2003) Natural fungicides from *Rutagraveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *J Agric Food Chem* 51: 890-6
- Onifade AK, Fatope MO, Deadman ML, Al-Kindy SMZ (2008) Nematicidal activity of *Haplophyllum tuberculatum* and *Plectranthus cylindraceus* soils against *Meloidogyne javanica*. *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 679-83
- Ozcan, M. 1999. Antifungal properties of propolis. *Grasas y Aceites* 50: 395-398.
- Ozenda.P (2014) L'aire de répartition des rûes et leur valeur biogéographique.

- Polese J.M., 2007- La culture des tomates. Amazon France paris. Edit.n°1, volartemis. 95p.
- Querin, A., Tardieu, D., and Guerre, P., 2005. Production and purification of fumonisins from a highly toxigenic strain of *Fusarium verticillioides* strain. *Revue de Médecine Vétérinaire* 156: 547-554.
- Shankar, J., 2006. Recombinant glutathione-S-transferase a major allergen from *Alternaria alternata* for clinical use in allergy patients. *Molecular Immunology*. 43 (12): 1927-1932
- Smith, S. N., & Snyder, W. C. 1971. Relationship of inoculum density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. *Phytopathology* 62: 273-277.
- SNOUSSI S. A., 2010- Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52 p.
- Snyder, W.C. and Hansen, H.N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *Amer. J. Bot.* 27:64-67.
- Society of Chemistry. 18: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- Soraueur, 1896. Catalogue of life
- Spichiger R. E., Vincent V., Figeat S. M. et Jeanmonod D., 2004- Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3eme édition. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes, Français, 413 p.
- Spichiger RE., Savolainen VV., Figeat M., Jeanmonod D., 2002. Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes. 413p.
- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., and Bruni, A. 1996. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytotherapy Research* 10: 335-336.
- Townsend, C.C., 1986. Taxonomic revision of the genus *Haplophyllum* (Rutaceae). *Hooker's Icon. Plantarum* 40: 1-336.
- Ulubelen A, Öztürk M (2008) Alkaloids, Coumarins and Lignans from *Haplophyllum* Species. *Rec Nat Prod* 2: 54-69
- Ulubelen, A. & Öztürk, M., 2008. Alkaloids, coumarins and lignans from *Haplophyllum* species. *Records of Natural Products* 2(3): 54-69.
- Vieira BS (2004) *Alternaria euphorbiicola* comomico herbicida para leiteiro (*Euphorbia heterophylla*): produção massal e integração com herbicidas químicos. Tese de Doutorado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa.
- Weber & Webster., 2009. Introduction to Fungi (3rd. Ed.). Cambridge Publishing Co.

Zavaleta-Mejia, E., & Rojas-Martinez, R. I. 1989. Antagonism of *Serratia marcescens* Bizio (*Enterobacteriaceae*) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyd. and Hans. *Revista Mexicana de Fitopatologia* 7: 113-118.

Ziri S., 2011- Contribution à la lutte intégrée contre *Tutaabsoluta* sur tomate en plein champ. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magister en science agronomiques, Ecole nationale supérieure agronomique El-harrach. 92 p.