

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire - Salhi Ahmed - Nâama

Institut des Sciences et de Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Laboratoire de recherche :

Gestion durable des ressources naturelles dans les zones arides et semi-aride



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER Académique**

En Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté Par :

Bellia Fatima Zohra & Benkhedda Hanane

### Thème

---

**L'évaluation de l'effet antifongique de l'huile essentielle extraite à partir de *T.algeriensis* et *R.graveolens* L. pour la lutte biologique contre des *Alternaria* spp.**

---

Soutenu le : 03/07/2022 Devant le jury :

**Président** : M<sup>r</sup> Gherib Mohammed

Professeur, Centre Universitaire de Naama

**Examineur** : M<sup>me</sup> Derouiche Salima

M.C.B Centre Universitaire de Naama

**Encadreur** : M<sup>me</sup> Yakoubi Meryem

M.C.B Centre Universitaire de Naama

**Année universitaire 2021 / 2022**

merci

# REMERCIEMENT



*Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail.*

*En second lieu, nous exprimons nos profonds remerciements à notre promoteur Madame YAKOUBI Meryem, Maître de conférence (B) au Département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la Vie de CUN Naama, pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire, pour votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien et pour l'aide que vous nous avez apportée et pour l'intérêt constant que vous n'avez cessé d'accorder pour l'orientation de ce travail.*

*Merci Mr GHERIB Mohamed, professeur au département des sciences biologiques à la faculté des sciences de la nature et de la Vie de CUN Naama, pour avoir accepté de présider le jury, qui font l'honneur de juger notre travail.*

*Nous remercions l'examinatrice Mme DEROUICH Salima, de me faire l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail.*

*Nous remercions également à tous les enseignants, Mr Seddiki M, Mr  
Kebdani M, Mr Mehddad Y, Mr amrouche A, Mme Lagha N, Mme  
Benghanem*

*Merci à toute l'équipe du laboratoire de centre universitaire de Naama « Salhi Ahmed »,  
Yakoute, Fatima, Wahiba, Amina, Sabah, Souhila, Ibrahim, Nour Dine, Othman,  
Abdel ghani pour leur accueil, leur sympathie et leurs pensées d'encouragement en tout  
temps.*

*A toute personne ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous à  
ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et encouragement durant la réalisation de ce  
travail.*

*Merci*



# Dédicace

*A l'aide de Dieu nous avons pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A l'âme de mon cher père **BELLIA MOHAMMED**, que Dieu repose son âme et réside dans son ciel, pour ses encouragements et son soutien tout au long de mes études et aussi pour ses innombrables sacrifices. C'est la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route.*

*A la lumière de mes yeux et le bonheur de mon existence, ma mère, celle qui a sacrifié les meilleurs moments de sa vie pour ma réussite de ma naissance au ce jour. Que Dieu la protège.*

*A ma grande mère Que Dieu tout puissant préserve vos sourires et vous assure une bonne santé et une longue vie.*

*A Mes chers Sœurs qui m'ont toujours soutenu : Chahra Zed et kheira. A mes frères : Mustapha, Mokhtar, Bahous, Sofian et mon jumeau Dady.*

*A Femmes de mes frères : Baraa, Sanaa, Mounira.*

*A toute ma famille sans exception.*

*A mes proches et meilleurs amis : Hanane, Asma, Houda, Fatima, Amel, Salima, Zoubida, Ikram, Fatna, Imane.*





# Dédicace

Grâce au DIEU le Tout Puissant et son aide, qui Ma donner le courage et la santé pour mener ce modeste travail, que je dédie :

*A MES PARENTS* qui ont constamment été à mes côtés, m'ont toujours aidée et soutenue, et qui n'ont jamais cessé de donner leurs tendresse affection, conseils, patience et encouragement depuis ma enfance jusqu'à ce jour, et je leurs souhaité toujours une bonne santé.

*A mes chers frères : Mohammed et Alaa*

*A ma sœur : Halima*

*A Femme de mon frère : Imane*

*A toute ma famille.*

*A tous mes copains et mes amis : Fatima, Amel, Salima, Zoubida, Ikram, Fatna et Fatima.*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou loin avec mes sentiments les plus profonds.*



## Résumé

Dans le cadre de la recherche de substances naturelles antifongiques, nous avons testé l'effet antifongique in vitro des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la région de Nâama : *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L. Les huiles essentielles extraites du (*Thymus algeriensis*) et de (*Ruta graveolens* L.) ont été testées vis-à-vis de quatre souches fongiques des *Alternaria* spp responsables de l'alternariose de la tomate.

L'identification des souches a été basée sur les caractères cultureux et les caractères morphologiques. Les souches identifiées appartiennent aux espèces *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* et *Alternaria solani*.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation qui nous a permis d'obtenir un rendement de 0.68 % et 2.68 % pour *Ruta graveolens* L. et *Thymus algeriensis* respectivement. L'étude de l'activité antifongique de ces huiles essentielles a révélé une importance activité sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores des souches testées.

L'huile essentielle de *Thymus algeriensis* possède une activité puissante à des faibles concentrations leur CMI était autour de 0.5µl/ml pour les trois souches (*Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* et *Alternaria solani*) et 1µl/ml pour la souche d'*Alternaria alternata*, alors que celle *Ruta graveolens* L. était de 5µl/ml contre *Alternaria alternata* et supérieur de 7µl/ml contre *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* et *Alternaria solani*.

Alors que pour la germination des spores, une inhibition totale (100%) a été enregistré pour l'huile essentielle de *Ruta graveolens* L. à la concentration de 5µl/ml pour la souche A10, par contre pour la souche AT4, on remarque qu'il y a une inhibition importante supérieure à 80% aux concentration (5µl/ml, 6µl/ml, 6.5µl/ml et 7µl/ml), bien que, pour l'huile essentielle de *T.algeriensis*, l'inhibition totale (100%) de la germination des spores a été obtenue chez la souche AT4 à la concentration de 4 µL/mL. Cependant, la germination des spores de la souche A10, n'est pas été inhibée totalement aux concentrations testées (0.5 µL/mL, 1 µL/mL, 2µL/mL et 4 µL/mL).

Les résultats obtenus montrent que lors de la mise en place d'une stratégie de lutte éventuel nous aurions la possibilité d'utiliser ces souches et ces huiles essentielles comme des bio-fongicides contre les champignons pathogènes de la tomate.

**Mots clés :** *Thymus algeriensis*, *Ruta graveolens* L., *Alternaria* spp., *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae*, *Alternaria solani*, Huile essentielle, Activité antifongique.

## *Abstract*

As part of the search for natural antifungal substances, we tested the antifungal effect in vitro of the essential oils of two aromatic plants of the Nâama region: *Thymus algeriensis* and *Ruta graveolens* L. The essential oils extracted from (*Thymus algeriensis*) and (*Ruta graveolens* L.) have been tested against four fungal strains of *Alternaria* spp responsible for tomato alternariosis

The identification of strains was based on cultural and morphological traits. The identified strains belong to the species *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* and *Alternaria solani*.

The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation which allowed us to obtain a yield of 0.68% and 2.68% for *Ruta graveolens* L. *Thymus algeriensis* and respectively.

The study of the antifungal activity of these essential oils revealed an important activity on the mycelial growth and germination of the spores of the strains tested.

The essential oil of *Thymus algeriensis* has a powerful activity at low concentrations their MIC was around 0.5 µl/ml for the three strains (*Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* and *Alternaria solani*) and 1 µl/ml for the strain of *Alternaria alternata*, whereas *Ruta graveolens* L. was 5 µl/mL against *Alternaria alternata* and higher by 7 µl/mL against *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* and *Alternaria solani*.

Whereas for the germination of spores, a total inhibition (100%) was recorded for the essential oil of *Ruta graveolens* L. at the concentration of 5 µl/ml for strain A10, on the other hand for strain AT4, it is noted that there is a significant inhibition greater than 80% at the concentration (5 µl/mL, 6 µl/mL, 6.5 µl/mL and 7 µl/mL), although, for the essential oil of *T.algeriensis*, the total inhibition (100%) Spore germination was obtained in the AT4 strain at a concentration of 4 µL/mL. However, spore germination of the A10 was not completely inhibited at the concentrations tested (0.5 µL/mL, 1 µL/mL, 2 µL/mL and 4 µL/mL).

The results obtained show that during the implementation of a possible control strategy we would have the possibility to use these strains and these essential oils as bio-fungicides against the pathogenic mushrooms of the tomato.

Keywords: *Thymus algeriensis*, *Ruta graveolens* L., *Alternaria* spp., *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae*, *Alternaria solani*, Essential oil, Antifungal activity.

## ملخص

في إطار البحث عن المواد الطبيعية المضادة للفطريات، اختبرنا التأثير المضاد للفطريات في المختبر للزيوت الأساسية لنباتين عطريين في منطقة النعامة: تم اختبار الزيوت الأساسية المستخرجة من (*Thymus algeriensis*) و (*L. Ruta graveolens*). ضد أربع سلالات فطرية من *spp Alternaria* مسؤولة عن مرض الطماطم. استند تحديد السلالات إلى السمات الثقافية والمورفولوجية. تنتمي السلالات المحددة إلى الأنواع *Alternaria alternata* و *Alternaria tenuissima* و *Alternaria linariae* و *Alternaria solani*.

تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي الذي سمح لنا بالحصول على عائد بنسبة 0.68% و 2.68% *graveolens L. R. Thymus algeriensis* بالترتيب.

كشفت دراسة النشاط المضاد للفطريات لهذه الزيوت الأساسية عن نشاط مهم ضد النمو الفطري و ضد تشكل الابواغ على السلالات التي تم اختبارها. يتمتع زيت *Thymus algeriensis* الأساسي بنشاط قوي بتركيزات منخفضة، وكانت قيمة CMI حوالي 0.5 ميكرولترا مل ضد السلالات الثلاث (*Alternaria tenuissima, Alternaria linariae* و *Alternaria solani*) و 1 ميكرولترا مل ضد سلالة *Alternata alternata*، في حين أن *L. graveolens R.* كان أقل أو يساوي 5 ميكرولترا مل ضد السلالة *Alternata alternata* و أكثر من 7 ميكرولترا مل بالنسبة ل *Alternaria tenuissima, Alternaria linariae* و *Alternaria solani*.

بينما بالنسبة الى تشكل الابواغ، تثبيط كلي (100%) تم تسجيله للزيت العطري *L. graveolens R.* بتركيز 5 ميكرولترا مل للسلالة A10، على عكس السلالة AT4، يلاحظ أن هناك تثبيطاً كبيراً أكبر من 80% عند التركيزات (5 ميكرولترا مل، 6 ميكرولترا مل، 6.5 ميكرولترا مل و 7 ميكرولترا مل، على الرغم من أنه بالنسبة للزيت الأساسي لـ *T. algeriensis*، فإن التثبيط الكلي لتشكل الابواغ (100%) تم الحصول عليه في سلالة AT4 بتركيز 4 ميكرولترا مل ومع ذلك، لم يتم تثبيط إنبات أبواغ A10 تمامًا عند التركيزات التي تم اختبارها (0.5 ميكرولترا مل، و 1 ميكرولترا مل، و 2 ميكرولترا مل و 4 ميكرولترا مل).

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أنه أثناء تنفيذ استراتيجية التحكم المحتملة سيكون لدينا إمكانية استخدام هذه السلالات وهذه الزيوت الأساسية كمبيدات فطرية حيوية ضد فطر الطماطم المسبب للأمراض.

الكلمات الرئيسية: *Ruta graveolens, Thymus algeriensis, L. Alternaria spp.*, *Alternaria alternata, Alternaria linariae, Alternaria tenuissima, Alternaria solani*, الزيت الأساسي، النشاط المضاد للفطريات.

# Tables Des Matières

<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I LES PLANTES</b>	<b>3</b>
<b>I.1. Généralité sur la tomate</b>	<b>3</b>
<b>I.2. Historique</b>	<b>3</b>
<b>I.3. Nomenclature et classification</b>	<b>3</b>
<b>I.4. Description botanique</b>	<b>4</b>
<b>I.5. Production de la tomate</b>	<b>5</b>
1.5.1. Dans le monde	5
1.5.2. En Algérie	6
<b>I.6. Importance nutritionnelle</b>	<b>6</b>
<b>CHAPITRE II LE PATHOGENE</b>	<b>7</b>
<b>II.1. Généralités sur <i>Alternaria</i></b>	<b>7</b>
<b>II.2. Historique</b>	<b>8</b>
<b>II.3. Classification</b>	<b>8</b>
<b>II.4. Caractéristiques du genre</b>	<b>9</b>
II.4.1. Caractères culturaux	9
II.4.2. Caractères morphologiques	9
<b>II.5. <i>Alternaria</i> pathogène des tomates</b>	<b>10</b>
II.5.1. <i>Alternaria</i> à petites spores	10
II.5.1.1. <i>Alternaria alternata</i>	10
II.5.1.2. <i>Alternaria tenuissima</i>	11
II.5.1.3. <i>Alternaria arborescens</i>	12
II.5.2. <i>Alternaria</i> à grosses spores	13
II.5.2.1. <i>Alternaria solani</i>	13
II.5.2.2. <i>Alternaria linariae</i> (Syn. <i>A. tomatophila</i> )	14
<b>II.6. Alternariose</b>	<b>14</b>
II.6.1. Symptômes	14
II.6.1.1. Sur feuille	14
II.6.1.2. Sur tige	15
II.6.1.3. Sur fruit	15

<b>II.7. Cycle infectieux</b> .....	<b>16</b>
II.7. 1.Conservation, source d'inoculum.....	16
II.7 2 .Pénétration et invasion.....	16
II.7 2. Sporulation et dissémination.....	16
<b>II.8. Lutte biologique</b> .....	<b>17</b>
<b>CHAPITRE III LES HUILES ESSENTIELLES</b> .....	<b>18</b>
<b>III.1. Généralités sur les huiles essentielles</b> .....	<b>18</b>
<b>III.2. Composants chimiques</b> .....	<b>18</b>
III.2.1.Les terpènes.....	19
III.2 .2.Composés aromatiques.....	19
<b>III.3. Localisation dans la plante</b> .....	<b>19</b>
<b>III.4. Méthodes d'extraction</b> .....	<b>20</b>
<b>III.5. Effet antifongique des huiles essentielles et leur Mode d'action</b> .....	<b>20</b>
III.5. 1. Sur la membrane et la paroi cellulaire .....	20
III.5. 2. Dysfonctionnement des mitochondries fongiques .....	21
III.5. 3. Inhibition des pompes à efflux.....	21
<b>III.6. Plantes étudiées</b> .....	<b>21</b>
III.6.1. <i>Thymus algeriensis</i> .....	22
III.6.1.1. Présentation de la plante.....	22
III.6.1 2. Noms vernaculaires.....	22
III.6.1.3. Position systématique de <i>Thymus algeriensis</i> .....	22
III.6.1.4. Description botanique.....	23
III.6.1.5. Composition chimique.....	23
III.6.1.6. Propriétés thérapeutiques.....	25
III.6.2. <i>Ruta graveolens</i> L.....	25
III.6.2.1. Présentation de la plante.....	25
III.6.2.2. Nomenclature.....	25
III.6.2.3. Position systématique de <i>R.graveolens</i> L .....	25
III.6.2.4. Description botanique.....	26
III.6.2.5.Composition chimique.....	27
III.6.2.6. Propriétés thérapeutiques.....	28
<b>MATERIELS ET METHODES</b> .....	<b>29</b>
I. Matériel fongique.....	29
I.1.Choix des souches.....	29

I.2. Origine des souches.....	29
I.3. Repiquage des souches.....	29
I.4. Induction de la sporulation.....	30
I.5. Conservation des isolats.....	30
I.6. Identification des souches.....	30
I.6.1. Etude Macroscopique.....	30
I.6.2. Etude Microscopique.....	30
II. Matériel végétal.....	32
II.1. Identification des plantes.....	33
II. 2. Préparation des échantillons.....	33
II. 3. Méthode d'extraction.....	34
II .4. Conservation de l'huile essentielle -----	34
II .5. Détermination des rendements des huiles essentielles -----	34
III. Activité antifongique.....	35
III.1. Tests antifongiques des huiles sur la croissance mycélienne, <i>in vitro</i> -----	35
III.2. Effet des huiles essentielles sur la germination des spores -----	36
III.3. Évaluation de l'indice antifongique-----	37
<b>RESULTATS ET DISCUSSIONS -----</b>	<b>38</b>
I. Matériel fongique.....	38
I.1. Identification des souches.....	38
I.1. 1. Etude macroscopique.....	38
I.1. 2. Etude microscopique.....	41
II. Essai <i>in vitro</i> de la lutte biologique par les huiles essentielles	43
II.1. Caractérisation des deux huiles essentielles-----	43
II. 2. Rendement des huiles essentielles-----	43
III. Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antifongique des huiles essentielles-----	45
III.1. Sur la croissance mycélienne.....	45
a. Cas d'HE de <i>R. graveolens</i> L.....	45
b. Cas d'HE de <i>T. algeriensis</i> .....	48

➤ Evaluation de l'activité antifongique de deux huiles essentielles de <i>R.graveolens</i> L.et <i>T. algeriensis</i> sur la croissance mycélienne des <i>Alternaria</i> spp. Par caractérisation microscopique.....	56
III.2. Sur la germination des spores .....	58
a. Cas d'HE de <i>R.graveolens</i> L.....	58
b. Cas d'HE de <i>T. algeriensis</i> .....	59
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>67</b>
<b>REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>68</b>
<b>ANNEXE</b>	

## *Liste des abréviations*

**ha** : hectare

**Qx** : Quintaux

**%** : Pour cent

**°C** : Degré Celsius

**µm** : micromètre

**HE** : Huile Essentielle

**mg** : milligramme

**mL** : millilitre

**Mm** : millimètre

**H** : heure

**µL** : microlitre

**cm** : Centimètre

**mm** : millimètre

**PCA** : Pomme de terre Carotte Agar

**PDA** : Pomme de terre Dextrose Agar

***T. algeriensis*** : *thymus algeriensis*

***R.graveolens L.***: *Ruta graveolens L.*

**CMI** : Concentration minimale d'inhibitrice

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : plante de tomate .....	5
<b>Figure 1</b> : Feuilles de tomate .....	5
<b>Figure 2</b> : Fleur de tomate .....	5
<b>Figure 3</b> : Fruits de tomate .....	5
<b>Figure 5</b> : Représentation des différents stades de développement des spores et conidiophores d' <i>Alternaria alternata</i> .....	10
<b>Figure 6</b> : <i>A. alternata</i> , (a) colonie sur gélose pomme de terre carotte (PCA) après 6 jours, (b) modèle de sporulation à long chaînes, (c) conidies dans une chaîne avec cloisons longitudinales et transversales .....	11
<b>Figure 7</b> : <i>A. tenuissima</i> , (a) colonie sur milieu PCA après 6 jours, (b) sporulation à courte chaîne, (c) chaînes conidiales et conidies.....	12
<b>Figure 8</b> : Traits morphologiques de <i>A. arborescens</i> (a) morphologie de la colonie sur milieu APP après 7 jours, (b) conidies et surface décorations. Echelle = 10 µm.....	12
<b>Figure 9</b> : Morphologie de <i>Alternaria solani</i> sur milieu PCA. <b>A1</b> : Recto. <b>A2</b> : verso. <b>A3</b> : les Conidies.....	13
<b>Figure 10</b> : Morphologie de <i>Alternaria linariae</i> sur PCA. <b>B1</b> : Recto. <b>B2</b> : verso. <b>B3</b> :les Conidies.....	13
<b>Figure 11</b> : Symptômes de l'alternariose: <b>A</b> . taches sur foliole de tomate provoquée par <i>A. linariae</i> et <i>A. alternata</i> (sensu lato) .....	14
<b>Figure 12</b> : Lésions causées par <i>A. linariae</i> et <i>A. alternata</i> ; <b>a</b> . sur tige, <b>b</b> . sur collet. (Bessadat, 2014) .....	15
<b>Figure 13</b> : Lésions sur fruits de tomates commercialisés provoquées par <i>Alternaria linariae</i> ( <b>A</b> ) et par <i>A. solani</i> ( <b>B</b> ), <i>A. arborescens</i> et <i>A. alternata</i> ( <b>C</b> ) .....	15
<b>Figure 14</b> : Cycle infectieux de l'alternariose.....	17
<b>Figure 15</b> : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles.....	19

<b>Figure 16 :</b> Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile .....	20
<b>Figure 17 :</b> Photo de la plante <i>Thymus algeriensis</i> .....	22
<b>Figure 18 :</b> Photo des <i>Thymus algeriensis</i> .....	23
<b>Figure 19 :</b> <i>Ruta graveolens</i> L .....	26
<b>Figure 20 :</b> Photo des feuilles et fleurs de <i>Ruta graveolens</i> L.....	27
<b>Figure 21 :</b> Photos montre la méthode de micro culture.....	32
<b>Figure 22 :</b> Localisation géographique des lieux des récoltes.....	33
<b>Figure 23 :</b> Appareil Clevenger utilisé .....	34
<b>Figure 24 :</b> Schéma de la méthode de mesure des deux diamètres perpendiculaires.....	36
<b>Figure 25 :</b> Aspect macroscopique des colonies (recto et verso) des espèces d' <i>Alternaria</i> à petites spores sur milieu PDA .....	40
<b>Figure 26 :</b> Aspect macroscopique des colonies (recto et verso) des espèces d' <i>Alternaria</i> à grosses spores sur milieu PDA .....	40
<b>Figure 27 :</b> Aspect microscopique des espèces d' <i>Alternaria</i> à petites spores .....	40
<b>Figure 28 :</b> Aspect microscopique des espèces d' <i>Alternaria</i> à grosses spores ( <i>A.lin</i> et <i>A.sol</i> ) à Gross x (40 et 100) .....	42
<b>Figure 29 :</b> Huile essentielle de <i>R.graveolens</i> L .....	43
<b>Figure 30 :</b> Huile essentielle de <i>T.algeriensis</i> .....	43
<b>Figure 31 :</b> Cinétique de la croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A10,AT4, A43 et A51) en fonction de temps (jours) et concentration de l'HE de <i>R.graveolens</i> L.....	47
<b>Figure 32 :</b> Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de <i>R.graveolens</i> L.....	48
<b>Figure 33 :</b> Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A10, AT4, A43 et A51) en fonction de temps (jours) et concentration de l'HE de <i>T.algeriensis</i> .....	51
<b>Figure 34 :</b> Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de <i>T.algeriensis</i> .....	52
<b>Figure 35 :</b> Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations de l'HE.de <i>R.graveolens</i> L. après 10 jours d'incubation .....	53

<b>Figure 36</b> : Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations de l'HE.de <i>T.algeriensis</i> après 10 jours d'incubation.....	54
<b>Figure 37</b> : Aspect macroscopique de la colonie après transfert d'un disque mycélien présente une inhibition totale à 5 µL/mL de <i>R.graveolens</i> L. après 10 jours d'incubation .....	55
<b>Figure 38</b> : Aspect macroscopique des colonies après transfert des disques mycéliens présentant une inhibition totale à 0.5 µL/mL et 1µL/mL de <i>T.algeriensis</i> après 10 jours d'incubation.....	55
<b>Figure 39</b> : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de <i>T.algeriensis</i> sur la morphologie des hyphes de l'espèce d' <i>A. alternata</i> . (A10).....	57
<b>Figure 40</b> : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de <i>R.graveolens</i> L. sur la morphologie des hyphes de l'espèce d' <i>A. tenuissima</i> (AT4), (a) : Hyphes endommagées.....	57
<b>Figure 41</b> : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de <i>R.graveolens</i> sur la morphologie des hyphes de l'espèce d' <i>A. linariae</i> (A51). (b) : vésicule.....	57
<b>Figure 42</b> : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de <i>R.graveolens</i> L. sur la morphologie des hyphes de l'espèce d' <i>A. solani</i> (A43).....	57
<b>Figure 43</b> : Taux d'inhibition de la germination des spores de l'HE de <i>R.graveolens</i> L .....	59
<b>Figure 44</b> Taux d'inhibition de la germination des spores de l'HE de <i>T.algeriensis</i> .....	60
<b>Figure 45</b> Aspect microscopique des spores germées et non germées après le teste par différentes concentrations de l'HE.de <i>R.graveolens</i> L. sur la germination des spores (Gross x10) .....	61
<b>Figure 46</b> Aspect microscopique des spores germées et non germées après le teste par différentes concentrations de l'HE de <i>T.algeriensis</i> sur la germination des spores (Gross x10).....	62
<b>Figure 47</b> : Aspect microscopique des spores des espèces <i>d'Alternaria</i> à petites spores (A10 et AT4) par Gross x (40) , (a) :Spore non germée, (b) : Spore germée.....	63

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Principaux pays producteur de la tomate.....	6
<b>Tableau 2 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Thymus algeriensis</i> .....	24
<b>Tableau 3 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>R. graveolens</i> L.....	28
<b>Tableau 4 :</b> Origine des isolats d' <i>Alternaria</i> spp.....	29
<b>Tableau 5 :</b> Caractères culturaux des isolats d' <i>Alternaria</i> spp. sur milieu PDA .....	38
<b>Tableau 6 :</b> Caractéristiques des huiles essentielles .....	43
<b>Tableau 7 :</b> Rendement calculé en (%) pour les deux plantes étudiées .....	44



*Introduction Générale*



### Introduction

La culture de la tomate en Algérie occupe une place importante dans le secteur socioéconomique et elle est considérée comme l'une des cultures principales avec une production annuelle en constante augmenté, passant de 157.414 tonnes en 2005 à 159.132 tonnes en 2006. Entre 2018 et 2019, la production de la tomate fraîche est passée de 253.150 tonnes à 274.700 tonnes (FAOSTAT, 2021).

Les principaux microorganismes responsables de pertes en agriculture sont les champignons (Kacemi *et al.*, 2017). D'après la FAO (1999), les maladies phytopathogènes réduisent de 12 à 14% la production agricole mondiale, 70% des dommages étant d'origine fongique (Aouar, 2012).

Parmi ces maladies fongiques, l'alternariose causée par (*Alternaria* spp.) et la pourriture grise causée par (*Botrytis cinerea*).

Les espèces du genre *Alternaria* sont propagées à grande échelle. Une partie considérable des espèces sont cosmopolites. Selon leur style de vie saprophyte ils se développent sur les parties mortes des plantes. Une partie d'entre eux jouent un mode de vie parasite nécrotrophes et autre ou partie qui cause des maladies graves, ces espèces sont considérées comme un véritable organisme nuisible spécifique de l'hôte. Les symptômes provoqués par ces pathogènes se présentes habituellement sous formes de taches brunes à noirâtres sur les *Solanacées*.

Les agents de l'alternariose provoquent des dégâts qui se traduisent par des brûlures au niveau des feuilles, des tiges, des collets et des fruits. Cette maladie peut entraîner la diminution du pouvoir germinatif des semences, la détérioration des produits avant la récolte ou encore la perte des produits récoltés pendant le stockage et représente donc un risque pour la sécurité alimentaire (Bessadat, 2014).

Différentes méthodes de lutte peuvent être appliquées contre ces maladies :

Les traitements avec des pesticides (insecticide, acaricides, nématicides, fongicides, bactéricides et herbicides) présentent de bons résultats à court temps, à longtemps leur action secondaire sur l'environnement devient inquiétante (Vanachter *et al.*, 1983). Les fongicides chimiques peuvent contaminer l'environnement en raison de leur toxicité élevée, se

retrouver sur les produits finis (fruits) et stimuler la résistance à long terme aux pathogènes (Moenne *et al.*, 1998).

Depuis des siècles les plantes médicinales sont utilisées comme remède à diverses maladies humaines (Dob *et al.*, 2006). Ces plantes ayant des propriétés médicales dépendent à leur pouvoir thérapeutique à des composés dites alors bioactifs, variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle (HE), peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques (El Mansouri, 2013).

Les huiles essentielles sont riches en composés bioactifs tels que les phénols, les terpènes, les quinones, etc...Possèdent des activités antimicrobiennes (Baka et Rashad, 2016). D'ailleurs, plusieurs chercheurs ont mis le point sur certaines huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales qui possèdent les propriétés antimicrobiennes (Jazet-Dongmo *et al.*, 2009 ; Bourkhiss *et al.*, 2007 ; Magina *et al.*, 2009), en particulier leurs pouvoir antifongique (Hu *et al.*, 2007; Bakkali *et al.*, 2008; Lang et Buchbauer, 2012 ).

L'Algérie est caractérisé par une richesse et une biodiversité de la flore aromatique, utilisée comme des herbes pour des fins thérapeutique; à cet effet nous sommes intéressés à valoriser notre flore locale de la wilaya de Naama par le choix de deux plantes aromatiques et médicinales *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L.

Le présent travail consiste donc à évalué l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L. de la wilaya de Naama sur quatre souches de champignons du genre *Alternaria* responsables de l'alternariose de la tomate.

❖ Notre travail est réparti en trois parties :

➤ La 1ere partie concerne l'étude bibliographique, elle contient trois chapitres : la plante hôte : Tomate, l'agent pathogène et la lutte biologique par les huiles essentielles de deux plantes aromatiques: *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L.

➤ La 2ème partie concerne la partie expérimentale consiste à l'identification des espèces d'*Alternaria* , l'extraction des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L. et l'étude du pouvoir antifongique de ces deux plantes sur les espèces d'*Alternaria*.

➤ La 3ème partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, notre travail est terminé par une conclusion générale pour rétablir les principaux résultats obtenus, Les limites de notre travail et perspectives souhaités pour compléter et améliorer cette étude.



*Synthèse Bibliographique*



## Chapitre I La plante hôte

### I.1. Généralité sur la tomate

La tomate (*Solanum lycopersicum*), est devenue un des légumes les plus importants du monde. La production de tomate connaît deux grandes filières : la tomate pour la consommation fraîche (tomate maraichère) d'une part et la tomate orientée à la transformation et la conserve (tomate industrielle) d'autre part (Shankara *et al.*, 2005), avec une production de 170,8 millions de tonnes en 2013 (FAO, 2013).

### I.2. Historique

La tomate est originaire des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut domestiquée au Mexique, après introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et en Moyen Orient. Plus récemment, la tomate sauvage a été introduite dans d'autres régions de l'Amérique du Sud et au Mexique (Shankara *et al.*, 2005).

En Algérie, la tomate a été introduite par les cultivateurs du Sud de l'Espagne. Sa culture a commencé dans la région d'Oran en 1905 après, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral Algérois (Latigui, 1984).

### I.3. Nomenclature et classification

En 1753, le botaniste suédois Linnaeus l'a nommée *Solanum lycopersicum*, mais 15 ans plus tard Philippe Miller a changé le nom en *Lycopersicom esculentum*. Quoique les taxonomistes aient récemment réintroduit son nom original *Solanum lycopersicum* (Milet, 2017).

La tomate appartient à la famille des Solanaceae et du genre *Solanum*. La famille des Solanaceae comprend 94 genres et environ 2950 espèces cosmopolites. Le genre *Solanum* est très important dans le monde (environ 1700 espèces recensées) et comporte des plantes comestibles comme la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), et la tomate (Ranc, 2010).

La classification scientifique de la tomate proposée en 2007 par Benton est la suivante :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Tracheophyta

**Classe :** Mangoliopsida

**Ordre :** Solanales

**Famille :** Solanaceae

**Genre :** *Solanum*

**Espèce :** *Solanum lycopersicum*

#### **I.4. Description botanique**

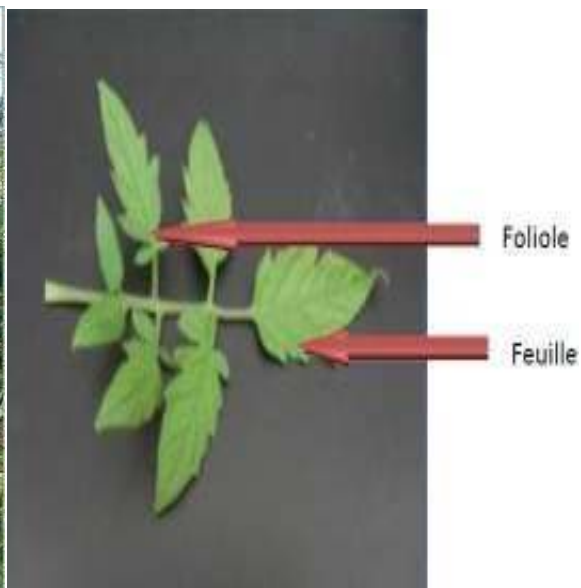
La tomate est une plante herbacée vivace, ce que veut dire qu'elle peut vivre plusieurs années, elle est cultivée dans des climats chauds, mais peut aussi être planté en serre en hiver (Posada, 2016).

C'est une plante aux tiges ramifiées et à port rampant. La tige est pubescente, épaisse aux entre-nœuds. Les feuilles sont constituées de 5 à 7 folioles, alternes et persistantes. Les fruits sont des baies formées de 2 à 3 baies, avec beaucoup de graines, et dont la taille, la forme et la couleur varient selon les diverses variétés. Il a une température de croissance optimale d'environ 25°C et une température quotidienne de 10°C, conditions qu'elle a conservée depuis son origine montagnarde (Bessadat, 2014).



**Figure 1 : Plante de tomate**

(Si Mohammed,2010)



**Figure -2 Feuilles de tomate**

(Si Mohammed,2010)



**Figure 3 : Fleur de tomate**

(Si Mohammed ,2010)



**Figure 4 : Fruits de tomate**

(Si Mohammed ,2010)

## I.5. Production de la tomate

### I.5.1.Dans le monde

Tomate, *Solanum lycopersicum* est l'une des meilleures et importantes cultures végétales dans le monde entier pour la production et la superficie récoltée. En 2017, 60% de la production mondiale est assurée par les cinq plus grands producteurs qui sont :

Tableau 1 : Principaux pays producteur de la tomate (FAOSTAT, 2017)

Classement	Pays	Production (%)
01	Chine	30.7
02	Inde	11.1
03	Etats-Unis	7.7
04	Turquie	7.2
05	Egypte	5.2

### I.5.2. En Algérie

Les tomates occupent une position privilégiée dans le secteur maraîcher algérien. Elle est considérée comme une espèce prioritaire et occupe la troisième place après les pommes de terre et les oignons. La production moyenne entre 2018 et 2019 de la tomate fraîche est passée de 253.150 tonnes à 274.700 tonnes (FAOSTAT, 2021).

### I.6. Importance nutritionnelle

L'importance de tomate réside dans leur valeur nutritionnelle et leur contenu riche en vitamine A, C et K, sa composition en vitamine, en acide organique, potassium et en lycopène la rend un légume anticancéreux (Posada, 2016).

Sa richesse en nutriment, sa peau fine et leurs tissus mous rend les tomates très sensibles à plusieurs pathogènes fongiques, en particulier nécrophiles agents tels que les espèces d'*Alternaria* (Prusky *et al.*, 2001), (Smith *et al.*, 2014) qui sont les agents causals du mildiou précoce, une maladie destructive qui compromet le rendement (Drbalah *et al.*, 2018).

## Chapitre II Le pathogène

### I. Généralités sur *Alternaria*

*Alternaria* est un genre fongique omniprésent qui regroupe près de 275 espèces (Simmons, 2007) mésophile, leurs activités prédominantes disparaissent avec l'augmentation de la température (Botton *et al.*, 1990), avec des modes de vies saprophytes endophytes et phytopathogènes (Saharan *et al.*, 2016), avec la susceptibilité d'affecter les cultures sur champ ou les produits végétaux pendant et après la récolte (Logrieco *et al.*, 2009).

En général, les espèces du genre *Alternaria* détruisent relativement lentement les tissus hôtes en réduisant le potentiel de photosynthèse. Les tissus fragilisés par le stress, la sénescence ou les lésions sont plus sensibles à l'infection par *Alternaria* spp. (Vaquera *et al.*, 2014). Ce genre peut croître sur plusieurs substrats, notamment les graines, les feuilles et les fruits des plantes, des cultures, du sol et de l'air (Kokaeva *et al.*, 2015).

Les spores sont marron foncé et proviennent de chaînes simples ou ramifiées à la fin de conidiophores simples et sombres ; elles sont divisées en plusieurs cellules par des parois transversales et verticales. Les nouvelles spores sont obtenues par extrusion à la fin de la spore précédente, à travers un pore dans la paroi. Elles sont généralement isolées de la décomposition des matières végétales, mais provoquent également des maladies végétales. Les spores des *Alternaria* sont dispersées par les courants d'air et sont généralement une composante majeure de l'air extérieur (Siciliano, 2017). Certaines espèces produisent des toxines spécifiques à l'hôte (HST) qui contribuent à leur pouvoir pathogène et à leur virulence (Virginia, 2016).

Les espèces d'*Alternaria* sont des agents phytopathogènes provoquent des détériorations des produits agricoles, capables de produire des métabolites secondaires pouvant affecter la santé humaine (Siciliano, 2017) voire des pertes économiques, les aliments végétaux infectés par *Alternaria* peuvent incorporer de grandes quantités de ces toxines dans l'alimentation humaine. Des études supplémentaires sur le potentiel toxique de ces toxines et leur danger pour la consommation humaine sont nécessaires pour réaliser une évaluation fiable des risques liés à une exposition alimentaire (Virginia, 2016).

## II. Historique

Ness a décrit pour la première fois en 1816 un champignon possédant des spores produites en chaîne portant un bec filiforme qu'il appela *Alternaria tenuis*. Le genre d'*Alternaria* a été successivement décrit par Groves et Skolko (1944), Neergaard (1945), Joly (1964) et Simmons (1967, 1986, 1992).

En 1993, Wiltshire a suggéré de regrouper dans le genre *Alternaria* toutes les espèces dont les spores possèdent un bec, sans tenir compte de la formation ou non de chaînes (Keonig, 1995). Simmons et Roberts (1993) ont encore divisé les taxons d'*Alternaria* à petites spores en six groupes morphologiques groupe 1 (groupe anonyme), groupe 2 (*A. gaisen*), groupe 3 (*A. arborescens*), groupe 4 (*A. alternata*), groupe 5 (*A. tenuissima*), groupe 6 (*A. infectoria*).

Après, ils ont identifié et décrit sept espèces : *A. alternata*, *A. tenuissima* (Fr. Wiltsh), *A. gaisen*, *A. abusti* (E.G. Simmons, 1993), *A. infectoria* (E.G. Simmons), *A. conjuncta* (E.G. Simmons, 1986), et *A. arborescens* (E.G. Simmons, 1999) (Simmons 1993, 1999; Simmons et Roberts, 1993). Les résultats d'une étude approfondie de la taxonomie morphologique d'*Alternaria* ont été résumés dans le manuel de Simmons, (2007), dans lequel 275 espèces d'*Alternaria* ont été reconnues. Grâce au développement de techniques moléculaires, plusieurs méthodes ont été utilisées pour classer les espèces d'*Alternaria*, particulièrement les espèces à petites spores. (Pryor et Gilbertson, 2000; Pryor et Michailides, 2002; Wang *et al.*, 2001). Dernièrement, Le genre *Alternaria* est divisée en 27 sections (Lawrence *et al.*, 2013, 2014; Woudenberg *et al.*, 2013, 2014; Grum-Grzhimaylo *et al.*, 2015).

## III. Classification

Le genre *Alternaria* regroupe plus de 250 espèces. Les méthodes traditionnelles d'identification des espèces d'*Alternaria* sont fondées sur les caractéristiques morphologiques, des structures de reproduction et les schémas de sporulation dans des conditions de culture contrôlées. (Virginia, 2016).

Selon NCBI, (2020), le genre *Alternaria* appartient à la classification suivante :

**Phylum** : Ascomycota  
**Subdivision** : Pezizomycotina  
**Classe** : Ascomycetes  
**Ordre** : Pleosporales  
**Famille** : Pleosporaceae  
**Genre** : *Alternaria*

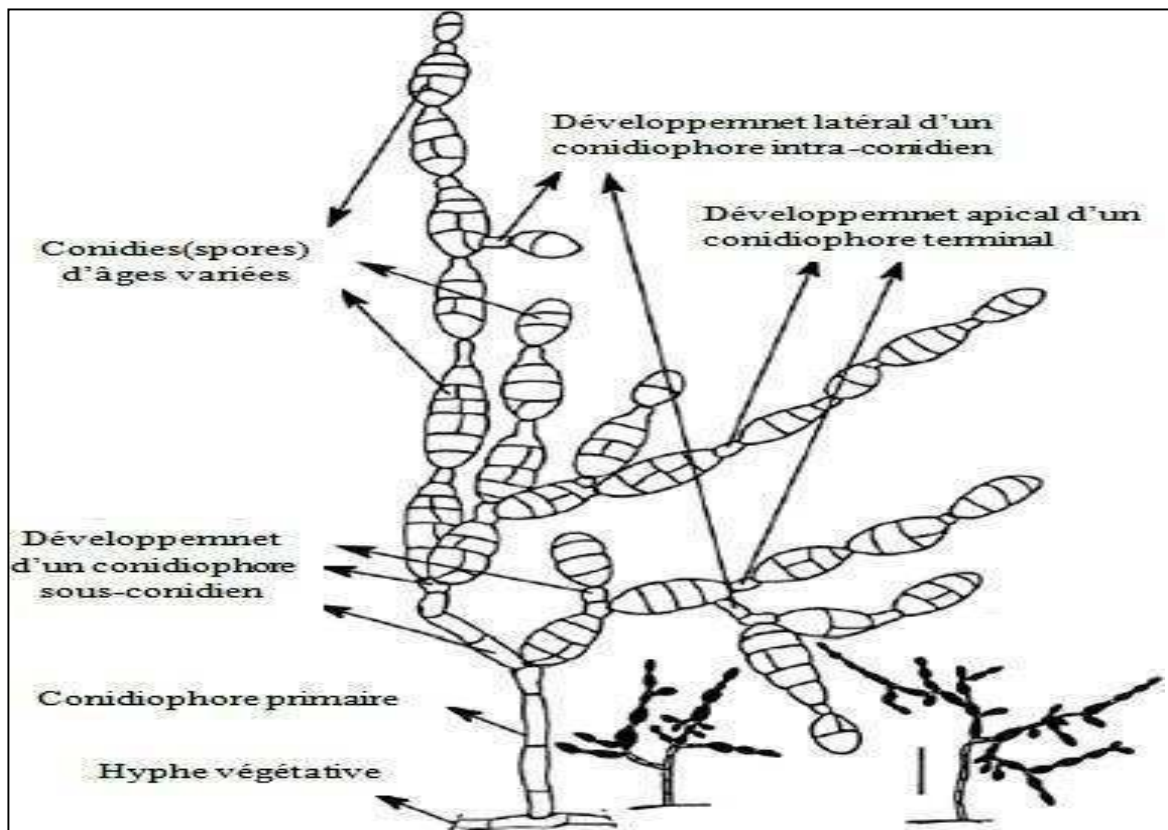
## IV. Caractéristiques du genre

### IV.1. Caractères cultureux

Les colonies d'*Alternaria* présente une bonne croissance sur milieu Sabouraud à 25-30°C. La croissance est généralement inhibée à 37°C, La colonie, blanc-gris au départ, devient rapidement foncée (vert foncé à noire) au recto comme au verso. La texture est duveteuse à laineuse (Pitt et Hocking, 1997).

### IV.2. Caractères morphologiques

Les hyphes, sont septées, ramifiées et sont colorées tardivement en brun. Les conidiophores sont cloisonnés, bruns, septés, simples ou ramifiés, plus ou moins droits ou flexueux (Chabasse, 2002). Les conidies sont également brunes, très caractéristique du genre, organisées en chaînette. Ce sont des dictyospores : conidies piriformes, à la base élargie avec des cloisons transversales, obliques et longitudinales en nombre variable. Leur extrémité est composée d'une partie rétrécie plus ou moins longue appelée le « bec ». L'aspect global rappelle la forme d'une massue. Elles mesurent entre 50-100 µm de long et 3-16 µm de large (Calmes, 2011).



**Figure 5 :** Représentation des différents stades de développement des spores et conidiophores d'*Alternaria alternata* (Simmons, 1999 ; Taralova *et al.*, 2011).

## V. *Alternaria* pathogène des tomates

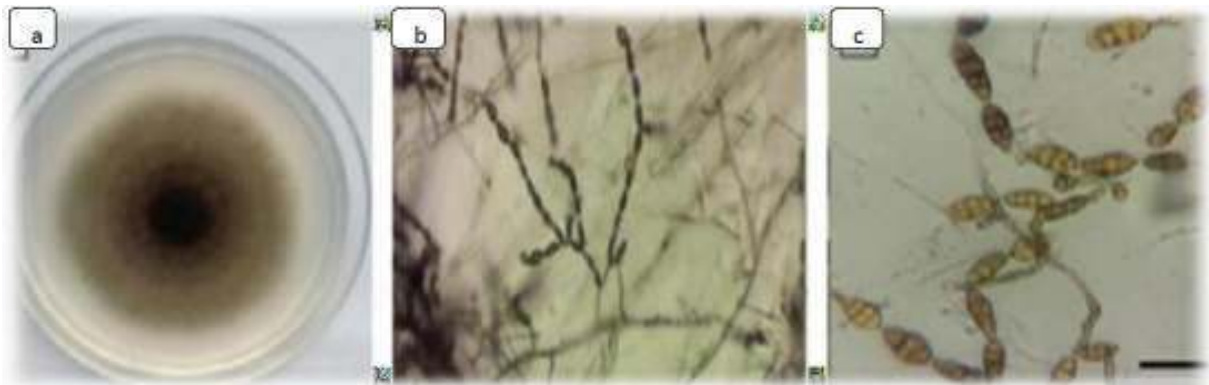
Plusieurs espèces d'*Alternaria* ont été signalées sur des plants de tomates et des fruits. En particulier, *A. solani* est considéré comme l'agent pathogène le plus important associé à la maladie du mildiou précoce des plants de tomates et de pommes de terre (Chaerani *et al.*, 2006), (Stammler *et al.*, 2014) alors que *A. arborescens* et *A. alternata* sont considérés comme les espèces les plus importantes associées au chancre de la tige et aux taches noires de fruit de tomate (Caldas *et al.*, 1994).

### V.1. *Alternaria* à petites spores

#### V.1.1. *Alternaria alternata*

*Alternaria alternata* est un champignon cosmopolite filamenteux omniprésent. Généralement isolée à partir de plantes, de terre, d'aliments corrompus et d'air.

Selon des études morphologiques, les colonies typiques d'*Alternaria alternata* ont une couleur vert olive et une marge blanche de (2-5 mm) au cours de la croissance sur le milieu PCA (Figure 6)

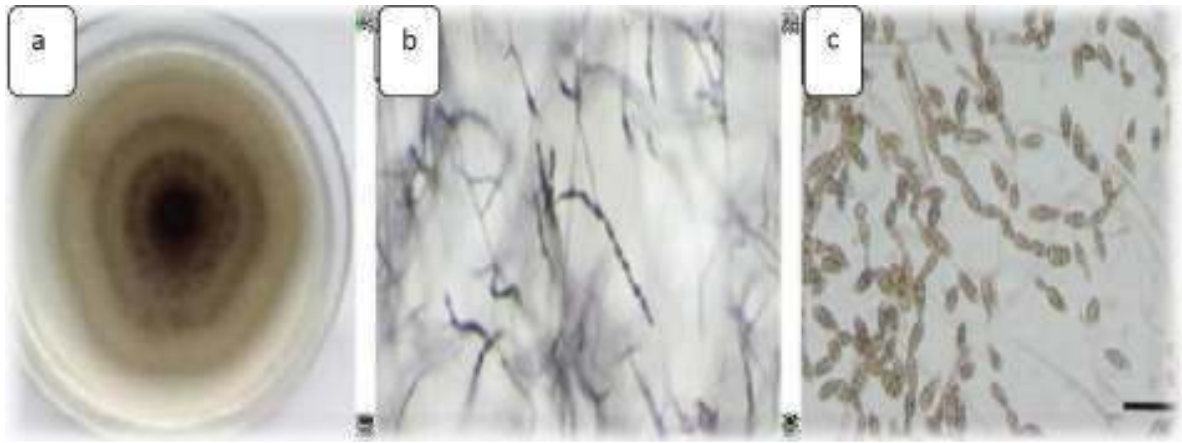


**Figure 6 :** *A. alternata*, (a) colonie sur gélose pomme de terre carotte (PCA) après 6 jours, (b) modèle de sporulation à long chaînes, (c) conidies dans une chaîne avec cloisons longitudinales et transversales (**Ramezani et al., 2019**).

Après 7 à 10 jours, les isolats produisent habituellement des colonies de plus de 70 mm de diamètre. Sur la base de l'habitude de sporulation des colonies à spores simples, *A. alternata* se distingue par la formation de longues chaînes conidiennes de six à quatorze conidies, ainsi que par le développement de nombreuses chaînes secondaires et parfois tertiaires de deux à huit conidies. La ramification sympodiale des chaînes se produit par l'allongement des conidiophores secondaires à partir des cellules conidiales terminales distales et la formation subséquente de conidies. Les petites conidies (20–50 µm de long) ont une caractéristique distinctive de cette espèce. Les conidies sont de forme ovale, divisés par des parois transversales et verticales, avec un développement minimal des extensions apicales. Les hyphes et les conidiophores sont brun clair et cloisonnés (**Pryor et Michailides, 2002**).

### V.1.2. *Alternaria tenuissima*

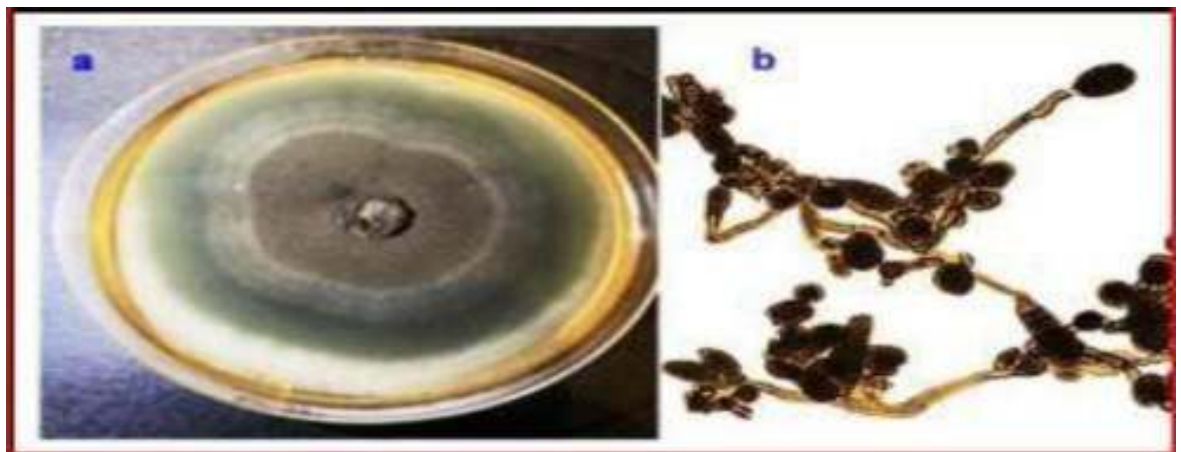
Après sept jours d'incubation, les colonies d'*A. tenuissima* ont un diamètre d'environ 50 mm et sont composées de chaînes de conidies jusqu'à 12 conidies par hyphe ramifiée. La longueur des conidies est généralement plus courte, avec une couleur brune à brun doré. Les conidies ont des cloisonnements transversaux (4-9) et longitudinaux (0-4), d'une taille de 18,4 à 59,1 9,2 à 22,3 µm, avec zéro à deux cloisons longitudinales et une à cinq cloisons transversales et avec un bec brun clair cylindrique (**Figure 7**) (**Simmons, 2007**).



**Figure 7 :** *A.tenuissima*, (a) colonie sur milieu PCA après 6 jours, (b) sporulation à courte chaîne, (c) chaînes conidiales et conidies (Ramezani *et al.*, 2019).

### V.1.3. *Alternaria arborescens*

Les colonies sont de couleur gris olive foncé avec une marge blanche, les conidies sont de forme ovoïde avec une couleur brun foncé (11 à 33  $\times$  6,0 à 14,0  $\mu\text{m}$ ) (Ramezani *et al.*, 2019). Elle est caractérisée par des longues conidiophores secondaires portent des chaînes de conidies. Les conidiophores secondaires étaient ramifiés et difficiles à distinguer à partir du mycélium résultant en une ramification complexe qui a été observé comme buissonnant. Les conidies semblaient ovales et souvent en forme de club avec une couleur brune à doré (Figure 8) (Kgatle *et al.*, 2018).

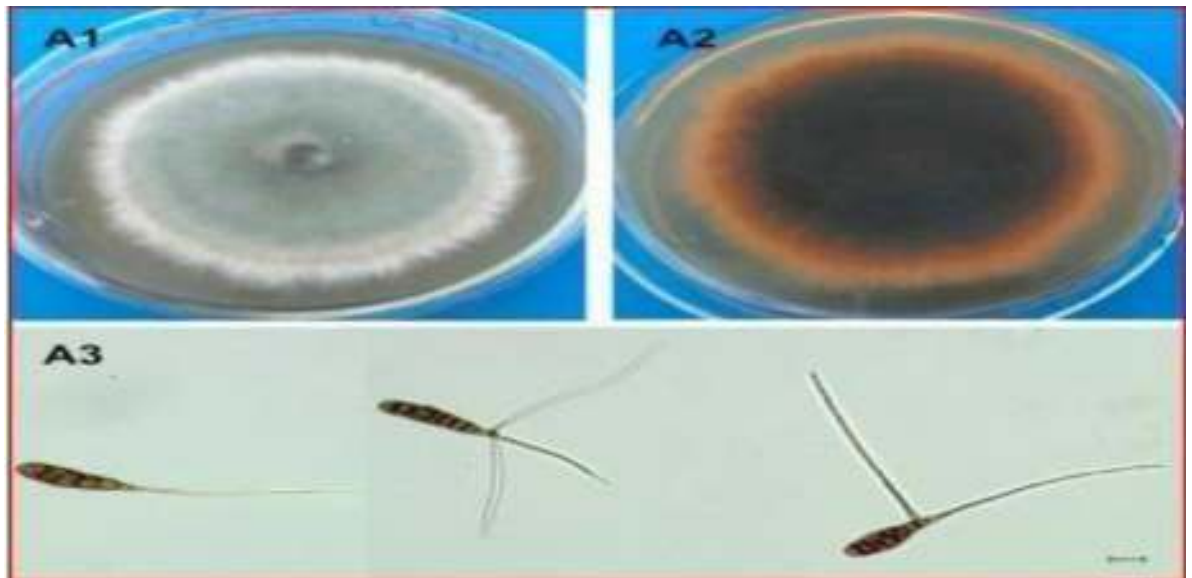


**Figure 8 :** Traits morphologiques de *A. arborescens* (a) morphologie de la colonie sur milieu APP après 7 jours, (b) conidies et surface décorations. Echelle = 10  $\mu\text{m}$  (Razak and Abass, 2021).

## V.2. *Alternaria* a grosses spores

### V.2.1. *Alternaria solani*

Les colonies de cette espèce sont cotonneuses, grises foncées, et produisent un pigment diffusible de couleur variable (jaune-orange-rouge). Le revers des colonies est de couleur noir au centre (Figure 9 A1-A2) (Zhang *et al.*, 2021). Elle est caractérisée par des conidies de couleur pâles dorés à brun olivâtre, généralement solitaires, rarement dans des chaînes courtes, droites ou légèrement incurvées, obclavées ou ellipsoïdales et effilée à un bec, qui peut être plus long que le corps de la conidie (Figure 9 A3). Elles mesurent entre 150-300  $\mu\text{m}$  de long et entre 15-19  $\mu\text{m}$  de largeur (Ganie *et al.*, 2013).



**Figure 9 :** Morphologie de *Alternaria solani* sur milieu PCA. A1: Recto. A2 : verso.  
A3 : les Conidies) (Zhang *et al.*, 2021).

### V.2.2. *Alternaria linariae* (Syn. *A. tomatophila*)

La colonie a développé une croissance faiblement cotonneuse qui était vert grisâtre à brun. Les corps conidiens sont également brun foncé et d'une taille variait entre 47 et 103  $\mu\text{m}$ , avec 5 à 13 transepta, 0 à 4 longisepta, la longueur du bec entre 51 et 284  $\mu\text{m}$  et se compose de 1 à 3 branches (Figure 10)(Zhang *et al.*, 2021).



**Figure 10 :** Morphologie de *Alternaria linariae* sur PCA. **B1:** Recto. **B2:** verso .**B3:** les Conidies (Zhang et al., 2021).

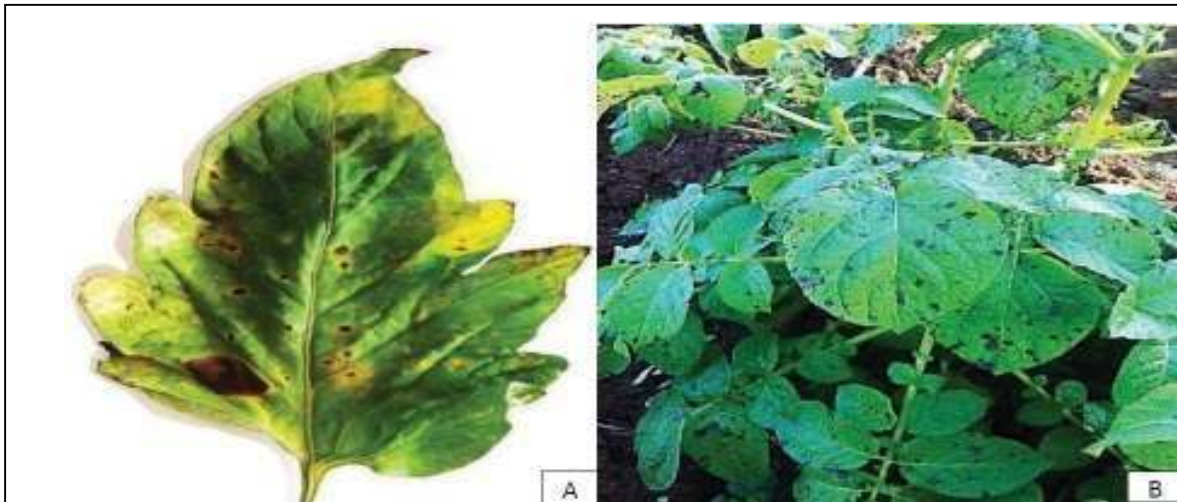
## VI.Alternariose

L'alternariose est l'une des pathologies les plus fréquentes chez les tomates. En raison de sa transmission rapide et de sa persistance dans les sols infectés. Les moisissures qui la causent appartiennent au genre *Alternaria* . *Alternaria alternata* est l'une des espèces les plus dangereuses parmi elles. Elle se caractérise par des taches foncées qui peuvent changer toute la structure de la plante (Meena et al., 2017).

### VI.1. Symptômes

#### VI.1.1.Sur feuille

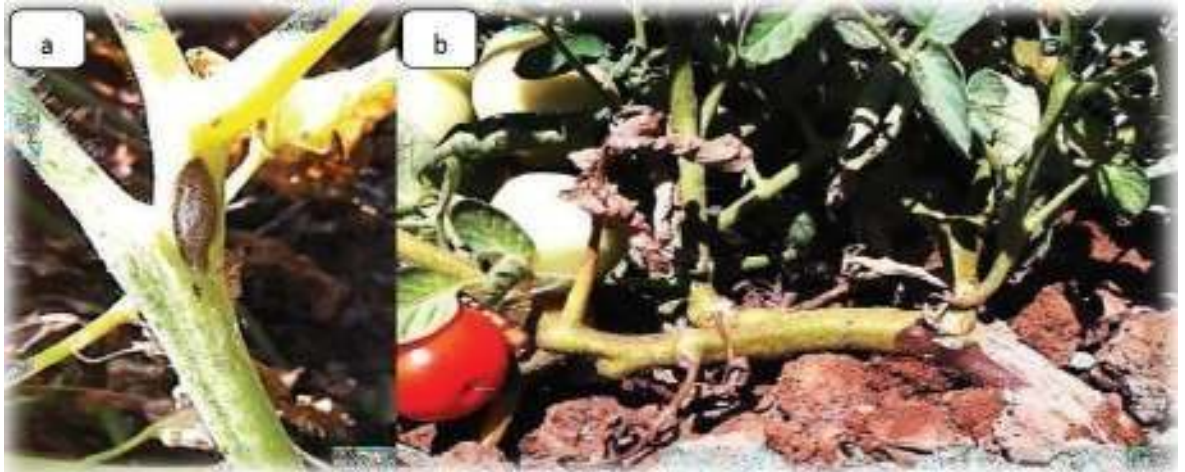
L'alternariose montre sous forme des taches concentriques brunes foncés et bien définis de tailles variables, la feuille commence à pourrir ; L'infection par la suite s'étend à toute la feuille. La plante finit par perdre ses feuilles (Figure 11) (Michel, 1991).



**Figure 11** : Symptômes de l'alternariose: A. taches sur foliole de tomate provoquée par *A.linariae* et *A. alternata* (sensu lato).

### VI.1.2.Sur tige

Les tiges attaquées par l'*Alternaria* ont des taches brunes sur leurs surfaces qui grandissent avec la progresse de la maladie. La mort de la tige, ou la mort de la plante entière, peut résulter du dessèchement de la tige (Figure 12) (Bessadat, 2014) .

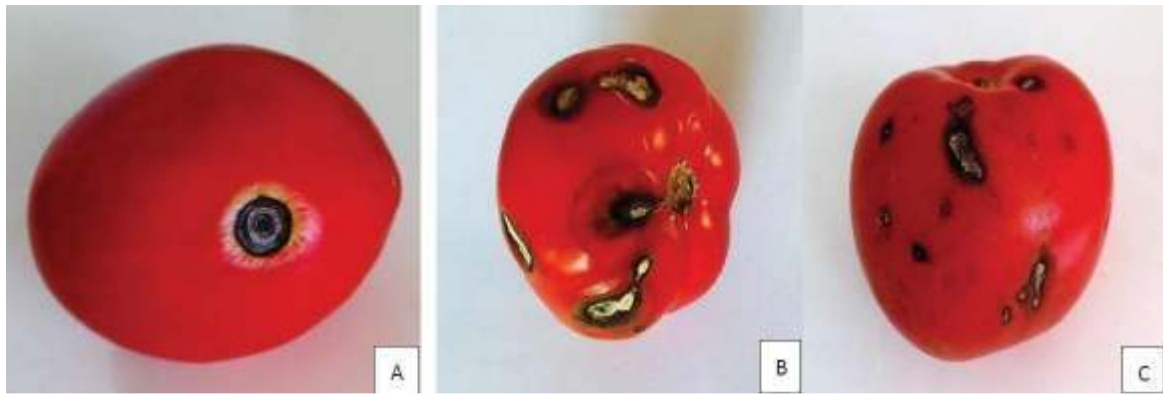


**Figure 12** : Lésions causées par *A.linariae* et *A. alternata* ; a. sur tige, b. sur collet.

(Bessadat, 2014)

### VI.1.3.Sur fruit

Les taches sur le fruit apparaissent d'abord sous forme de zones creuses avec des anneaux concentriques (Figure 13). Le champignon se répand dans cette zone, et la pourriture peut finir par recouvrir la moitié supérieure du fruit. (Glasscock, 1944; Jones *et al.*, 1997).



**Figure 13** : Lésions sur fruits de tomates commercialisés provoquées par *Alternaria linariae* (A) et par *A. solani* (B), *A. arborescens* et *A. alternata* (C).

## VII. Cycle infectieux

Le processus infectieux utilisé par les champignons *Alternaria* pour infecter leur plante hôte peut être divisé en plusieurs étapes : conservation, pénétration et invasion, sporulation et dissémination. (Bessadat, 2014).

### VII.1. Conservation, source d'inoculum

Pendant plusieurs années, *Alternaria* peut être trouvé dans les résidus de culture, les sols contaminés et les tubercules infectés. (Christine, 2000). Les chlamydospores peuvent également servir de structure de survie (Basu, 1974). L'agent pathogène serait capable aussi de se maintenir d'une saison à l'autre sur d'autres solanacées comme la tomate, l'aubergine, poivron (Neegaard, 1945 ; Ellis et Gibson, 1975 ; Blancard *et al.*, 2012).

### VII.2. Pénétration et invasion

La pénétration de l'agent pathogène dans les organes de l'hôte se déroule de façon passive à travers des ouvertures déjà existantes, ou active par l'usage d'enzymes ou de forces mécaniques par la formation de structures différenciées (Almeida et Brand, 2017), cette stratégie est la plus évidente chez les *Alternaria*. La colonisation de l'hôte est facilitée par des enzymes (cellulase) (Sherf et Macnab, 1986).

### VII.3. Sporulation et dissémination

Quand les conditions environnementales sont favorables, *Alternaria* produira des conidiophores sur des tissus colonisés, le vent, la pluie et les insectes sont des facteurs de dissémination des spores ; les conidies produites assurent des contaminations secondaires et par la suite plusieurs cycles parasitaires peuvent avoir lieu dans la culture (Messiaen, 1991).

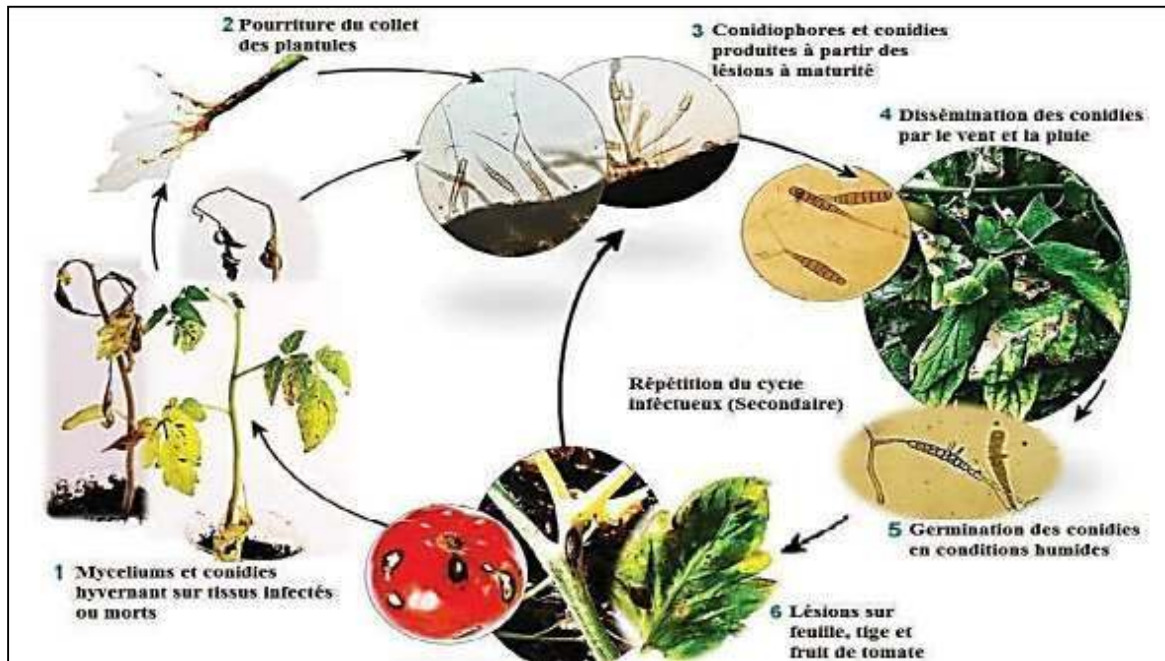


Figure 14 : Cycle infectieux de l'alternariose (Bessadat. 2014)

### VIII. Lutte biologique

Plusieurs méthodes sont utilisées pour lutter contre les *Alternaria* pathogènes de tomates ; des méthodes culturelles, chimiques et biologiques. Depuis longtemps, l'utilisation des fongicides chimiques sont utilisés pour la protection des cultures contre les champignons phytopathogènes. Toutefois, en raison de leurs toxicité, de leurs propriétés cancérigènes et de la pollution résiduelle, leur utilisation est devenue de plus en plus restreinte. De plus, plusieurs micro-organismes pathogènes peuvent résister à ces fongicides (Touaibia, 2012). Plusieurs alternatives ont été proposées au cours de ces dernières années pour remplacer les pesticides chimiques, y compris la lutte biologique au moyen de microorganismes, d'extraits de plantes, etc... Actuellement, les chercheurs se sont montrés très intéressés par les huiles essentielles extraites à partir des plantes aromatiques (Adebayo *et al.*, 2010; Nagendra Prasad *et al.*, 2010) et les ont considérées comme une alternative aux pesticides synthétiques dans la lutte contre les pathogènes, en raison de leurs propriétés antifongiques, leurs biodégradabilité et absence de phytotoxicité (Essawi et Srurr, 2000 ; Znini *et al.*, 2013).

## Chapitre III Les huiles essentielles

### I. Généralités sur les huiles essentielles

Selon la norme **AFNOR NF T 75-006**, l'huile essentielle est définie comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation » (**AFNOR, 1980**). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques. (1) Fleurs : oranger, rose, lavande, bouton floral (girofle) ; (2) Feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge ; (3) Fruits : fenouil, anis, épicarpes des Citrus ; (4) Tiges : citronnelles, (5) Rhizomes et racines : gingembre, vétiver, iris ;(6) Graines : noix de muscade, coriandre ; (7) Bois et écorces : cannelle, santal, bois de rose (Leon, 2005 ; Teixeira ., 2013) .

Depuis des millénaires les huiles essentielles (HE) ont été utilisées pour leurs vertus thérapeutiques (antiseptique, antibactérienne, antivirale, analgésique, sédative, anti inflammatoire ...) et ont été abondamment utilisées en tant que fragrance et le sont toujours (**El Haci, 2015**) .

Aujourd'hui, le règne végétal nous offre une large diversité permettant d'obtenir plus de 3000 HE, parmi lesquelles, environ 300 sont importantes d'un point de vue commercial, surtout dans l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, le cosmétique et la parfumerie (**Bakkali ., 2008**).

Généralement les huiles essentielles possèdent des propriétés physiques, elles sont liquides, et malgré leur nom, elles sont habituellement non grasses et volatiles, inflammables et s'évaporent à des degrés variés, en conséquence, il est conseillé de les conserver dans un endroit frais et de les tenir à l'écart des flammes. Elles sont aromatiques, ce qui contient un élément majeur du traitement. Non diluées, elles sont très puissantes ; elles doivent donc être diluées soit dans une huile ou une graisse de soutien, soit dans de l'alcool ( **Joanna, 2012**).

### II. Composants chimiques

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe, ces huiles existent en mélanges variables, principalement constitués de terpénoïdes, mais peuvent également rencontrer d'autres types de molécules, comme des acides, des alcools, des aldéhydes, des esters, des hydrocarbures aliphatiques acycliques ou des lactones ; il existe peu d'azote et de composés contenant du soufre, des homologues de la coumarine et du phénylpropane (**Bouyahya ., 2017b**). L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par

chromatographie en phase gazeuse (CPG). Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), La résonance magnétique nucléaire (RMN). qui donné principaux composant apparentée :

## II.1. Les terpènes

Sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). Conduit à la formation de plus de 20000 molécules terpéniques différents (Gallagher *et al.*, 2010 ; Tholl, 2006). les monoterpènes : les carbures sont presque toujours présent. ils peuvent être acyliques (terpinène) ou bicyclique (sabinène) ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (Bruneton, 2009). Les sesquiterpènes : sont de structures très diverses les carbures, les alcools et les cétones sont les plus fréquents (Bruneton, 2009).

## II.2. Composés aromatiques

Représenté par les phénylpropanoïdes est beaucoup moins fréquent, comme le saffrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde (Buchanan, 2000). On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles (El Kalamouni, 2010).



**Figure 15** : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles (Scimeca, 2007 ; Bruneton, 2009)

## III. Localisation dans la plante

Généralement elles sont stockées par la plante dans les cellules sécrétrices, les cavités, les canaux, les trichomes glandulaires ou les cellules épidermiques (Bouyahya, 2017).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Buchbauer, 2010).

## IV. Méthodes d'extraction

L'obtention des HEs se fait par diverses manières, certains auteurs les classifient en deux groupes : les méthodes conventionnelles, dites classiques ; hydrodistillation, entraînement à la vapeur, expression, enfleurage, pressage à froid, extraction au CO<sub>2</sub> supercritique, et les méthodes innovantes assisté par micro-onde ou par ultrasons (Ouis, 2015).

. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation (Marrouf et Tremblin, 2009).

Parmi ces méthodes, l'**hydrodistillation** est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Cette méthode consiste à évaporer l'huile essentielle en chauffant un mélange d'eau ou d'autres matériaux comme les solvants avec la plante, suivie par la liquéfaction des vapeurs dans un condenseur, cette dernière étape peut réaliser sans ou avec retour d'eau dans le ballon.

Ce recyclage est dit cohobage et l'appareil utilisé pour l'opération est appelé **Clevenger** (Fabrocini, 2007).

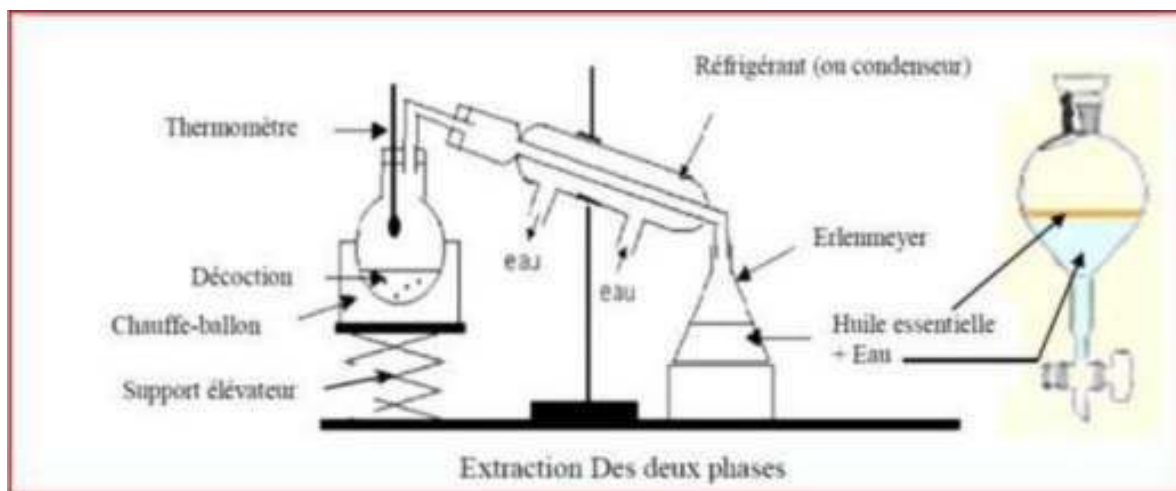


Figure 16 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Lagunez, 2007).

## V. Effet antifongique des huiles essentielles et leur Mode d'action

### V.1. Sur la membrane et la paroi cellulaire

Les terpènes et terpénoïdes dans les huiles essentielles ont la capacité de perturber les membranes cellulaires, causer la mort cellulaire, et empêcher la sporulation et la germination des champignons en raison de leurs lipophilie élevée et faible poids moléculaire. Les antifongiques peuvent rendre le champignon inactif en interférant avec la structure et la

fonction des membranes ou des organites des cellules fongiques, ainsi qu'en bloquant la formation de matières nucléaires ou de protéines. (Nazzaro ., 2017) .

Les ergostérols jouent un rôle essentiel dans la conservation de l'intégrité et de la fonction de la membrane cellulaire fongique. Si ces stérols sont liés à des antifongiques ou leur biosynthèse est inhibée par des inhibiteurs spécifiques ; l'intégrité de la membrane cellulaire sera perturbée.

La paroi cellulaire fongique joue un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité structurelle des cellules fongiques. La chitine est la composante la plus importante de la paroi fongique. Elle est nécessaire pour la synthèse de la paroi cellulaire et, par conséquent, pour la survie du champignon (Moore *et al.*, 1992).

Cette intégrité peut être perturbée par blocage de la formation de B-glucanes.

## V.2.Dysfonctionnement des mitochondries fongiques

Certaines HEs peuvent influencer le fonctionnement des mitochondries par l'inhibition de l'activité des déshydrogénases mitochondriales, impliquées dans la biosynthèse de l'ATP, comme La malate déshydrogénase, la lactate déshydrogénase et la succinate déshydrogénase (Nazzaro ., 2017).

Les agents antifongiques peuvent inhiber la fonction de la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, ce qui réduit le potentiel membranaire mitochondrial. L'inhibition peut également se produire par l'inhibition des pompes à protons dans la chaîne respiratoire. Entraînant une diminution de la production d'ATP et, par conséquent, la mort cellulaire.

## V.3.Inhibition des pompes à efflux

Les pompes à efflux, qui se trouvent dans toutes les cellules vivantes, éliminent les substances toxiques de l'extérieur de la cellule. Souvent, le transport comprend le transport de médicaments accumulés à l'extérieur de la cellule fongique. En conséquence, la surexpression de ces pompes à efflux peut conduire à une pharmacorésistance Au contraire, leur inhibition peut réduire la résistance aux médicaments.

## VI.Plantes étudiées

L'intérêt pour les plantes aromatiques n'a cessé de croître ces dernières années. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet antifongique des HEs des deux plantes, *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L.

## VI.1. *Thymus algeriensis*

### VI.1.1. Présentation de la plante

*Thymus algeriensis* Bioss et Reut est un arbuste odorant à fleurs rose pourpre largement répandu en Afrique du Nord, connu sous le nom de « zhitra ». Cette espèce est capable de survivre à des conditions climatiques extrêmes, en particulier à des températures élevées et une eau limitée. Ces plantes sont largement cultivées dans la région méditerranéenne occidentale, y compris en Algérie (Righi ., 2020). Il se caractérise par une odeur modérée et épicées très prononcées (Khoudja ., 2014).



Figure 17 : Photo de la plante *Thymus algeriensis* (Achi, 2017).

### VI.1.2 Noms vernaculaires

*T. algeriensis* est plus répandu dans les pays d'Afrique du Nord et ses noms populaires en arabe et en berbère sont : « zhitra », « azoukni », « djertil », « djoushshen », « hamriya », « hamzosha », « khieta », « mezoukesh », « rebba », « toushna », (Quezel et Santa, 1963 ; Boulos, 1983 ; Suelmassi, 1991 ; Morales 2002).

### VI.1.3. Position systématique de *Thymus algeriensis*

D'après Touhami, (2017), *Thymus algeriensis* appartient à la classification suivante :

**Règne :** Plantae

**Sous règne :** Tracheobionta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous classe :** Astéridae

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiaceae

**Genre :** *Thymus*

**Espèce :** *Thymus algeriensis*

#### VI.1.4. Description botanique

Généralement, *Thymus algeriensis*, est un sous-arbuste qui pousse à plus de 25 cm de longueur, a un parfum fort et très agréable, représentant une épice aromatique (El Hadjal., 2010), propagée à partir des graines, de 15-30 cm de haut et 40 cm de large, un arbrisseau ligneux persistant avec feuillage vert et précoce et fleurs d'été violettes ou roses et tiges ligneuses et ramifiées. La floraison a lieu entre avril et juin (Zouari., 2011).



Figure 18 : Photo des *Thymus algeriensis* (Bouhedida, 2019).

#### VI.1.5. Composition chimique

L'étude de la composition chimique de l'HE de *T.algeriensis* réalisée par Chemat., (2012) sur les parties aériennes de cette plante récolté dans la période de mai dans la commune de Hamam Alwan (sud-ouest d'Alger, Algérie), a révélé que cette HE contient :neuf hydrocarbures monoterpéniques, 16 monoterpènes oxygénés, 15 hydrobons sesquiterpéniques et cinq sesquiterpènes oxygénés.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation est caractérisée par une teneur élevée en composés phénoliques tels que le thymol (71 %) et le carvacrol (4 %), et une faible teneur en hydrocarbures monoterpéniques tels que le p-cymene(3 %) et la c-terpinène (0,5 %)

L'identification de 47 composés, représentant 97,4 % de l'huile totale, est présentée dans le **Tableau 2**. La classe principale, les monoterpènes oxygénés (88,50 %), était principalement représentée par le thymol (71,45 %), le bylinalool (7,89 %) et le carvacrol (3,98 %).

**Tableau 2 :** Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Thymus algeriensis* (chemat et al., 2012)

N°	Composons chimique	Pourcentage (%)	N°	Composons chimique	Pourcentage (%)
01	$\alpha$ -thujene	0.08	25	Unidentified	0.15
02	$\alpha$ -pinene	0.01	26	Geraniol	0.31
03	1-octen 3-ol	<b>1.78</b>	27	<b>Thymol</b>	71.45
04	3-octanone	0.06	28	<b>Carvacrol</b>	3.98
05	Myrcene	0.07	29	$\alpha$ -cubebene	0.02
06	3-octanol	0.07	30	Neryl acetate	0.05
07	$\alpha$ -phellandrene	0.01	31	$\alpha$ -copaene	0.04
08	$\alpha$ -terpinene	0.07	32	Terpinolene	0.02
09	p-cymene	<b>3.00</b>	33	$\beta$ -cubebene	0.03
10	Limonene	0.05	34	trans-b-caryophyllene	<b>2.11</b>
11	1,8-cineole	0.67	35	$\alpha$ -humulene	0.19
12	$\gamma$ -terpinene	0.53	36	$\beta$ -farnesene	0.03
13	cis-sabinene hydrate	<b>1.24</b>	37	Germacrene D	0.21
14	Terpinolene	0.01	38	$\alpha$ -amorphene	0.11
15	<b>Linalool</b>	7.89	39	$\gamma$ -cadinene	0.18
16	Camphor	Traces	40	cis-c-bisabolene	0.15
17	trans-pinocarveol	0.03	41	$\delta$ -cadinene	0.11
18	Iso-borneol	0.05	42	$\alpha$ -cadinene	0.03
19	Borneol	0.82	43	Geranyl n-butyrate	0.09
20	terpinen-4-ol	0.52	44	Caryophyllene oxide	<b>1.06</b>
21	$\alpha$ -terpineol	0.23	45	Humulene oxide	0.10
22	Thymol methyl ether	0.10	46	t-cadinol	0.19
23	Carvacrol methyl ether	0.92	47	$\alpha$ -cadinol	0.21
24	Carvone	0.13			

### VI.1.6. Propriétés thérapeutiques

Le thym aide au nettoyage et à la cicatrisation des plaies, ainsi qu'à l'évacuation des gaz intestinaux. (Hans, 2007). Il possède également des propriétés antiseptiques et antispasmodiques bronchiques et peut être utilisé pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures. Il présente également des propriétés insecticides et des propriétés antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires et antibactériennes (Bazylo et Strzelecka, 2007).

## VI.2. *Ruta graveolens* L.

### VI.2.1. Présentation de la plante

*Ruta graveolens* L. est une plante aromatique (Sarker, 2012) vivace de la famille des Rutacées (Auday ., 2021). Elle est répartie dans les régions tropicales et tempérées (Mahmoud ., 2020). Cette plante contient de nombreux métabolites secondaires utilisés dans l'industrie pharmaceutique, dont alcaloïdes d'acridon, des coumarines, des substances volatils, des terpénoïdes, des flavonoïdes, des floquinolines, des saponines, des tanins et des glycosides (Auday ., 2021). Il est principalement présent dans les feuilles, surtout avant la floraison (Amrutha ., 2015).

### VI.2.2. Nomenclature

Le nom scientifique de l'espèce est *Ruta graveolens* L., il est nommé « Sodaab » en Iran et « Fidjen » en arabe, et en France appelé « Rue-officinale » ou « Péganion » (Francois, 2012).

### VI.2.3. Position systématique de *R. graveolens* L.

D'après Ratheesh et Helen, (2007), *Ruta graveolens* L. appartient à la classification suivante :

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Spérmaphytes

**Classe :** Magnoliopsida

**Famille :** Sapindales

**Ordre :** Rutaceae

**Genre :** *Ruta*

**Espèce :** *Ruta graveolens* L.

#### VI.2.4. Description botanique

*Ruta graveolens* L. est une plante vivace, avec une haute de 65 à 70 cm, semi-arbustive plante à forte odeur désagréable. *Ruta graveolens* L. est aussi connu sous le nom de Rue et la famille à laquelle il appartient est Rutaceae. Les feuilles sont vertes de couleur bleu-vert, glande parsemée, alterne, tripinnée ou bipinnée avec un aspect plumeux.

Les feuilles sont linéaires-ovales ou oblongues. Les fleurs sont bisexuelles, régulières, jaunes, longues tiges avec 4-5 pétales, et né dans les cymes.

Terminaux sont pentamères et d'autres sont tétramères. Les pétales sont jaune verdâtre, largement étalé, distinct et encapuchonné le haut, brusquement relié à la griffe étroite en dessous, marge ondulé ou denté. La capsule de fruit contenant 4-5 lobes avec de nombreuses graines. La tige pousse jusqu'à une hauteur d'un mètre et il est lisse, mince, et glauque pâle vert (Mancuso ., 2015) .



**Figure 19 :** *Ruta graveolens* L. (Photo personale)



Figure 20 : Photo des feuilles et fleurs de *Ruta graveolens* L. (Asgarpanah, 2012)

#### VI.2.5.Composition chimique

Les composés phytochimiques connus de *Ruta graveolens* L. sont les alcaloïdes de l'acridone , les coumarines , les substances volatiles , les terpénoïdes , les flavonoïdes et les furoquinolines ( **Kuzovkina ., 2004** ) .

La rutine et la quercétine sont les principaux flavonoïdes actifs de *Ruta graveolens* L. La rutine a été isolée des feuilles de *Ruta graveolens* L. ( **Pathak ., 2003** ) . Une teneur élevée en acides aliphatiques , alcools et cétons a été trouvée dans l'huile volatile de *Ruta graveolens* L. ( **Ivanovaa ., 2003** ) . Les principaux composants de l'huile essentielle des parties aériennes florifères de la plante *Ruta graveolens* L. sont résumés dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3 :** Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *R.graveolens* L.  
( Soleimani *et al.*, 2009)

<i>Composant chimique</i>	<i>Pourcentage %</i>
<b>2 - undécanone</b>	33.9
<b>geyrene</b>	10.4
<b>2 - nonanone</b>	8.8
<b>2 - décanone</b>	1.9
<b>Geijerene</b>	1.6
<b>oxyde de trans pipériténone</b>	1.4
<b>oxyde de cis - pipériténone</b>	1.2
<b>2 - méthyl - undécanal</b>	1.1
<b>2 - dodécanone</b>	1.1
<b>2 - nonanol</b>	1.1
<b>élémol</b>	1.1

## VI.26. Propriétés thérapeutiques

*R. graveolens* L. est utilisée en Homéopathie, car cette herbe est très efficace contre diverses maladies. Elle a été largement utilisée pour traiter la leucodermie, du vitiligo, du psoriasis, de la sclérose en plaques (Amrutha ., 2015). Il est connu pour sa valeur médicinale grâce à son activité antioxydante, antifongique, anti-inflammatoire, cytotoxique, antitumoral, antiarythmique, anti androgène (Sharifi ., 2019)



*Matériels et méthodes*



### Matériels et méthodes

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie centre universitaire SALHI-Ahmed, Naama. Il porte sur l'extraction des huiles essentielles des plantes de *Ruta graveolens* L. et *Thymus algeriensis* ainsi que l'étude de leur activité antifongique contre les espèces d'*Alternaria*.

#### I. Matériel fongique

##### I.1. Choix des souches

Notre étude a été réalisée sur quatre (04) isolats d'*Alternaria* spp. révélées fortement virulentes par, Dr Yakoubi M. sur deux variétés des plants de tomates.

##### I.2. Origine des souches

Les isolats d'*Alternaria*, ont été isolés à partir de différentes régions d'Algérie (Wilayas d'Oran, Mostaganem, Relizane, Naâma, et Ain Temouchent). Plusieurs échantillons ont été prélevés à partir de différentes parties de plante de tomate (feuilles, tiges, fruits) présentant les symptômes d'alternariose (**Tableau 4**).

L'isolement de ces isolats a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie appliquée (université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella) par Dr Yakoubi M.

**Tableau 4 :** Origine des isolats d'*Alternaria* spp

Code d'isolat	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Partie d'isolement
A10	18/03/2015	Mostaganem (Ouriah)	Fruit
A43	04/03/2015	Naâma	Fruit
A51	10/04/2015	Ain Temouchent	Feuille
AT4	18/03/2015	Mostaganem(Ouriah)	Tige

##### I.3. Repiquage des souches

On réalise des repiquages successives de chaque colonie dans le but d'obtenir des cultures jeunes, cette méthode consiste à repiquer quatre (4) isolats d'*Alternaria* spp. qui obtenu à partir d'isolement et purification avec plusieurs technique dans l'étude de (**Yakoubi, 2021**).

Le repiquage se fait par prélèvement de deux fragments carrés dans la zone périphérique de croissance des colonies à l'aide d'une aiguille stérilisée, ces fragments sont déposés au centre d'une nouvelle boîte contenant le milieu PDA( **Annex 1**) sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement, Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen. Ces boîtes sont incubées à 25°C pendant 7 à 10 jours jusqu'à l'obtention des cultures jeunes.

### I.4. Induction de la sporulation

Certaines espèces du genre *Alternaria* sont incapables de produire des spores au cours de la culture *in vitro*, les conidies sont alors obtenues après une induction de la sporulation afin d'assurer une production suffisante de spores, selon la méthode rapportée par (Lyudmila *et al.*, 2005), et modifiée comme suit, des fragments mycéliens sont prélevés à partir des colonies cultivées sur milieu PDA et placés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu PCA ( **Annexe 1**), Après 10 à 14 jours d'incubation à 25±2°C les colonies sont blessées à l'aide d'un scalpel stérile ensuite les boîtes de pétri sont placées au réfrigérateur (+5°C) pendant 12 heures et puis exposées à la lumière directe du soleil pendant 120 min, pour stimuler la sporulation fongique, elles sont ensuite incubées à 25±2°C pendant 48h à l'obscurité.

### I.5. Conservation des isolats

La conservation des isolats se fait par culture des isolats dans des tubes à essai contenant le milieu PDA incliné, incubés pendant 7 jours à 25 ± 2°C, puis mise au réfrigérateur à 4°C pour des utilisations ultérieures.

### I.6. Identification des souches

L'identification des isolats d'*Alternaria* spp. est faite par leur caractérisation morphologique, en se basant sur une étude macroscopique et microscopique.

#### I.6.1. Etude Macroscopique

L'étude macroscopique des isolats est basée sur la caractérisation morphologique des colonies cultivées sur milieu PDA et incubées pendant 7 jours à 25°C.

Cette identification s'appuie sur les critères suivants : la vitesse de croissance, la texture et la couleur du thalle, la couleur au verso de la boîte, la présence ou l'absence d'exsudat et de sclérotas (**Bessadat *et al.*, 2014**, **Meena *et al.*, 2017**).

#### I.6.2. Etude Microscopique

Dans les cas des espèces d'*Alternaria* à petites et à grosses spores, il est très difficile de séparer certaines espèces étroitement liés tel que *A. alternata*, *A. tenuissima*

## *Matériels et méthodes*

---

et *A. arborescens* de la section *Alternata* et ceux de la section *Porri* comme *A. solani* et *A. linariae*. Pour cela, l'examen microscopique des isolats se fait en fonction de la morphologie des spores produites est réalisé à l'aide d'un microscope optique (Simmons, 2007).

Les structures des chaînes de conidies après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à température 25°C.

La formation des chaînes des conidies sont examinées au microscope au grossissement x40 et x100.

Pour l'étude morphologique des conidies déterminent la taille et la forme des spores incluant le nombre de cloisons.

Les préparations microscopiques se fait par deux méthodes :

### ➤ **Par examen à l'état frais**

Cette technique est réalisée par un prélèvement d'un petit fragment mycélien puis déposé sur une lame propre à l'aide d'une anse de platine stérile placée entre deux bec bunsen en présence d'une goutte de bleu de Méthylène et l'égerment le dilacéré avec une anse de platine pour éviter la réalisation d'une préparation condensée, puis le recouvrir délicatement d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air ou des débordements (Chabasse et al., 2002).

L'observation microscopique a été effectuée aux grossissements x40, x100 à l'aide d'un microscope optique.

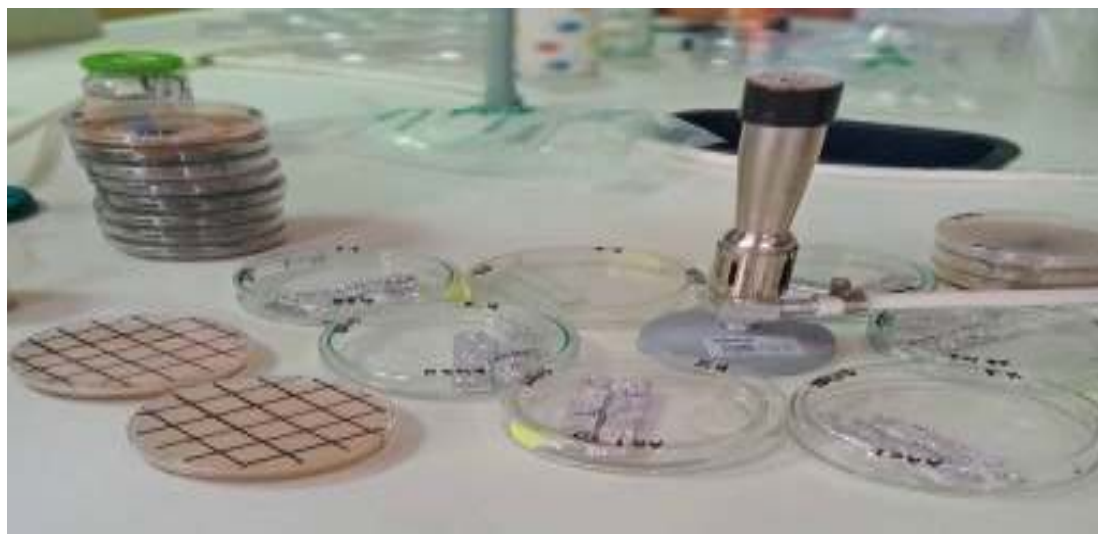
### ➤ **Par micro culture (culture sur lame ou méthode de carré de gélose)**

Cette technique a pour objectif de mettre en évidence les organes de fructification et d'observer l'organisation complète du champignon (Chabasse et al., 2002).

Elle consiste à ensemercer les spores des moisissures sur les côtés de morceaux de milieu PDA (15mm x 15mm) d'environ 5 mm d'épaisseur.

Ces morceaux sont coupés à partir d'une boîte coulée (PDA) en couche épaisse, ensuite les porter sur des lames stériles et recouvrir de lamelles stériles. Les lames sont déposées dans des boîtes de Pétrie humidifiées par l'eau distillée stérile, refermer les boîtes et placer le tout dans l'étuve. Après 2 à 3 jours d'incubation à 25±2°C les lames auxquelles s'adhèrent le champignon sont montées avec d'autre lamelles stériles, d'autre

part on monte la lamelle avec une lame neuve, pour l'observation microscopique aux grossissements x10, x40 et x100.



**Figure 21 :** Photos montre la méthode de micro culture **(Photo personnel)**

### ➤ Description et clés taxonomiques

Les caractéristiques des colonies, le schéma de sporulation et les caractéristiques des conidies de chacune des espèces trouvées dans cette étude, accompagnées de photographies des caractéristiques microscopiques, sont comparées aux clés d'identification de Pryor et Michailides, (2002), de (Rai et Kumari et al., 2009), de Simmons, (2007), de Yakoubi, (2021) et de Bessadat, (2014) et de Criquet and Calvert, (2008) et de (Rodrigues et al., 2010) propre à chaque espèce.

## II. Matériel végétal

Nous avons utilisé la partie aérienne de la plante *Ruta graveolens* L. et *Thymus algeriensis*, récoltées pendant la période de floraison les mois de mars et avril 2022 dans la wilaya de Naama et la région d'Ain Sefra : Djebel Aissa respectives **(Figure 22)**.

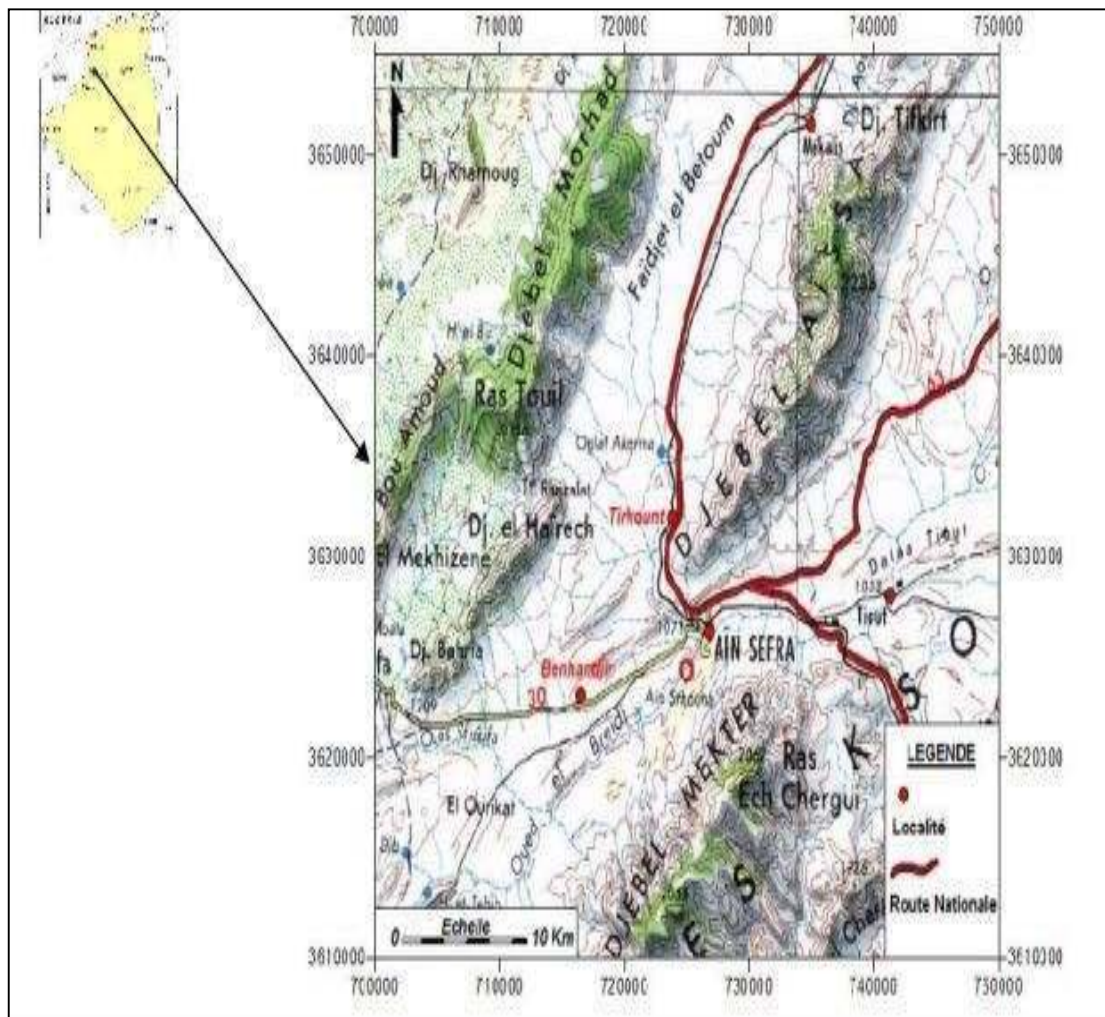


Figure 22 : Localisation géographique des lieux des récoltes (Rahmani *et al.*, 2017)

## II.1. Identification des plantes

Les deux plantes ont été identifiées au niveau du centre universitaire Salhi Ahmed de Naama dans le laboratoire de microbiologie par Mr Gherib.M (Professeur au C.U.N) et Mr Bouaafya.M (Dr au Université de Tlemcen) respectivement.

## II.2. Préparation des échantillons

Le matériel végétal récolté est ensuite séché à l'abri de la température et la lumière de soleil durant quatre (4) jours en moyenne. Après l'opération de séchage, le matériel végétal a été conservé dans des sacs en papier.

### II.3.Méthode d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L. a été faite par un montage de type Clevenger (**Figure 23**). Il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation, le principe de cette méthode consiste à exploiter la volatilité des composés de l'HE. Le matériel végétal est immergé directement dans l'eau distillée, 70 à 100 g de matériel végétal sec est introduit dans un ballon de 01 litres imprégné d'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures. Les constituants volatils générés par la vapeur d'eau dégagée sont condensés au niveau d'un réfrigérant et en suite sont récupérées. Après décantation l'huile essentielle obtenue est conservé à une température de 4°C dans des tubes secs (**Bettaieb et al. ,2017**).



**Figure 23** : Appareil Clevenger utilisé (**Photo personnel**).

### II.4.Conservation de l'huile essentielle obtenue

Nous avons conservé l'huile essentielle de *Ruta graveolens* L. et *Thymus algeriensis*. à une température voisine de 4°C, dans un tube en verre fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier d'aluminium).

### II.5.Détermination des rendements des huiles essentielles

Le rendement correspond au rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétale utilisée, le rendement est exprimé sous forme un pourcentage (%) et calculé selon la formule de Selvakumar et al., (2012) :

$$\text{RHE}\% = (\text{mh} / \text{mv}) \times 100$$

**RHE** = rendement en huile essentielle en %.

**mh** = masse d'huiles essentielles récupérées en gramme (g).

**mv** = masse d'essai du matériel végétal en gramme (g)

### III. Activité antifongique

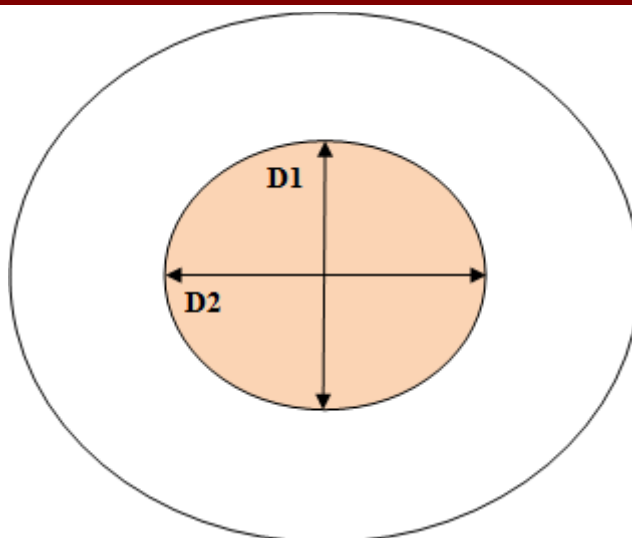
#### III.1. Tests antifongiques des huiles sur la croissance mycélienne, *in vitro*

La méthode de contact direct écrite par **Fandoham, (2004)** est utilisée pour évaluer l'effet antifongique des huiles essentielles sur les isolats d'*Alternaria* spp. pour cela, différentes concentrations (5 $\mu$ L/mL, 6 $\mu$ L/mL, 6.5 $\mu$ L/mL, 7 $\mu$ L/mL) en huile essentielle de *Ruta graveolens* L. et (0.5 $\mu$ L/mL, 1 $\mu$ L/mL, 2 $\mu$ L/mL, 4 $\mu$ L/mL) en huiles essentielles de *Thymus algeriensis* sont ajoutées à 15 mL de milieu PDA en surfusion à 45°C contenant Tween 20 (Sigma 0,5%, v/v). Le mélange (huile essentielle+PDA+ Tween 20) est ensuite homogénéisé au vortex puis coulé dans des boîtes de pétri.

Des disques mycéliens de 06 mm de diamètre, prélevés de la périphérie de cultures fongiques âgés de 10 jours, sont soigneusement placés au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionné des diverses concentrations d'huile essentielle, avec deux répétitions pour chaque souche et concentration. 15 ml de PDA ajouté au Tween 20 (sans huile essentielle) est inclus dans chacune des boîtes de pétri témoins. Ensuite, les souches sont incubées pendant 10 jours à 25 °C.

La mesure de la croissance mycélienne est réalisée à partir du 3<sup>ème</sup> jour jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation par mesure des deux diamètres perpendiculaires des colonies (**Figure 24**), selon la formule suivante :

$$\text{Diamètre de la colonie (cm)} = (D1+D2)/2$$



**Figure 24 :** Schéma de la méthode de mesure des deux diamètres perpendiculaires (Blaise *et al.*, 2001).

La CMI (concentration minimale inhibitrice) est évalué après 10 jours d'incubation et correspond à la plus petite concentration pour laquelle nous n'observons aucun développement fongique à l'œil nu (Remmal *et al.*, 1993, Kumar *et al.*, 2008).

L'effet antifongique (fongistatique ou fongicide) des huiles essentielles est confirmé par ré-inoculation des disques mycéliens n'ayant présenté aucune croissance mycélienne ; sur des boites contenant le milieu PDA neuf, suivies de l'observation des boites après incubation à 25°C pendant 10 jours (Hamdouch *et al.*, 2018).

Un effet fongicide correspond à une absence de croissance, alors que l'effet fongistatique correspond au cas contraire.

### III.2. Effet des huiles essentielles sur la germination des spores

Les boites contenant les souches fongiques âgées de 14 jours sont remplies par 5 mL d'eau distillée stérile additionné au tween 80 (0.05%, v/v). A l'aide d'une pipette pasteur les colonies d'*Alternaria* spp. sont grattées, les tubes sont ensuite agités au vortex 30 secondes afin de détacher les spores.

La suspension sporale obtenue est filtrée à travers une double mousseline stérile puis récupérée dans des tubes stériles. Le taux des spores est évalué à l'aide d'une cellule malassez.

Un volume de 0,1 mL d'une suspension sporale ajustée à  $10^6$  spores/mL d'eau distillée a étéensemencé sur des lames stériles contenant une goutte du milieu PDA additionné aux des différentes concentrations d'huile essentielles des deux plantes. Les

lames stériles ont été ensuite déposées sur un support en verre en forme de V, puis placées dans des boîtes de pétri stériles contenant un disque de papier filtre stérile imbibé d'eau distillée stérile, L'incubation a été faite à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures. Le comptage des spores, germées ou non a été déterminé sous microscope sur un total de 100 spores. Une spore est considérée germée si la longueur du tube germinatif est supérieure à son plus petit diamètre (Maouni et al.,2001).

### II.3. Évaluation de l'indice antifongique

Le dénombrement des spores, germées ou non germées est déterminé sous microscope. Une spore est considérée germée si la longueur du tube germinatif est supérieure à plus petit diamètre de spores (Mlaiki, 1970 ; Kemassi et Azouzi, 2017).

Le taux d'inhibition a été calculé selon la formule suivante (Amadioha, 2003) :

$$I (\%) = (T - E). 100 / T.$$

**I** : Taux d'inhibition en %.

**T**: estimation de la croissance mycélienne ou de la germination chez le témoin (en absence d'huile essentielle)

**E**: estimation de la croissance mycélienne ou de la germination chez l'essai (en présence d'huile essentielle).



*Résultats et discussions*



## Résultats et discussions

### I. Matériel fongique

#### I.1. Identification des souches

Les espèces d'*Alternaria* sont identifiées selon les clés d'identifications de (Pryor et Michailides, 2002 ; Rai et Kumari et al., 2009, Rodrigues et al., 2010 ; Simmons, 2007 ; Yakoubi, 2021 et Bessadat, 2014 ) en se basant sur les caractères morphologiques des colonies (aspect, couleur, pigmentation,...etc) et sur les caractéristiques de leurs mycéliums, et leurs spores (forme des spores, enchainement des spores, la couleur, la taille ....etc.).

##### I.1.1. Etude macroscopique

L'étude des caractères macroscopiques des quatre (4) isolats d'*Alternaria* spp. sur milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C a montré une variabilité entre les caractères morphologiques des isolats (tableau 5). Les colonies présentent un aspect cotonneux ou duveteux avec des contours réguliers. Les isolats ont une couleur de colonie qui varie entre claire et foncé avec une couleur vert olive, grise, à noir.

**Tableau 5 :** Caractères culturaux des isolats d'*Alternaria* spp. sur milieu PDA

Isolats	Diamètre de la colonies (cm)	Caractérisation des colonies				Pigmentation du milieu
		Couleur		Contour	Texture	
		Au recto	Au verso			
A10	7.6	Vert olive avec une surface gris clair	Vert olive avec un centre clair	Régulier blanc	Cotonneuse	Absence
AT4	8	Vert olive avec une surface gris clair	Noir	Régulier	Cotonneuse	Absence
A51	6.2	Gris avec un centre noir	Marron	Régulier jaune	Cotonneuse	Jaune à orange
A43	5.10	Gris	Marron	Régulier orange	Duveteuse	Jaune à orange

Selon les caractéristiques macroscopiques obtenus dans le tableau dessous, nous avons pu identifier quatre espèces d'*Alternaria* : *A. alternata*(A10), *A. tenuissima* (AT4), *A. solani* (A43), *A. linariae* (A51)

**Isolate A10**, cette colonie possède une couleur vert olive avec une surface gris clair avec un contour blanc régulier. La texture de la colonie est cotonneuse avec un diamètre de 7,6 cm après sept (7) jours d'incubation.

Ces caractéristiques sont les plus similaires à ceux d'*A. alternata*, ces observations sont en accord avec ceux obtenus par **Pryor et Michailides, (2002)**, qui ont montré que les colonies d'*A. alternata* ont une couleur vert olive et une marge blanche proéminente (2-5 mm) au cours de la croissance. De même **Kumari et al., (2009)** ont observé que les colonies d'*A. alternata* possèdent une texture cotonneuse à compacte et dense avec une couleur claire à noir foncé.

**Isolate AT4**, cet isolat a une couleur de colonie vert olive avec une surface gris clair et fond noir avec un aspect cotonneuse et une marge régulier, le diamètre de la colonie est 8 cm. Ces caractéristiques sont identiques à ceux d'*A. tenuissima*, des même observation ont été obtenues dans l'étude de **Simmons, (2007)**, les colonies d'*A. tenuissima* sur le milieu PDA, étaient gris-blanc avec des hyphes aériens lâches et cotonneux, avec un contour gris-blanc. Ces isolats d'*Alternaria* (A10 et AT4) *appartiennent au groupe des Alternaria à petites spores* et ne produisent aucune pigmentation dans le milieu PDA. **L'isolat A51**, a produit des colonies mesurant 6,2 cm de diamètre caractérisé par aspect cotonneux et une couleur qui varie du gris clair au gris foncé avec un centre noir. Les colonies ont produit un pigment variable (jaune ou orange). Ces caractéristiques sont similaires à ceux d'*A. linariae*. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus par **Bessadat, (2014)** qui a montré que cette espèce produit des colonies de couleur qui varie du gris clair au gris foncé un aspect ras, duveteux ou cotonneux et un diamètre qui varie du 4,20 à 8,20 cm.

**L'isolat A43**, a produit des colonies de texture duveteuse et de couleur grise avec un fond marron. Les colonies ont produit un pigment de couleur variable (jaune ou orange). Le diamètre de la colonie est de 5,10 cm. Ces caractéristiques sont identiques à ceux d'*A. solani*, Des observations similaires ont été obtenues par **Yakoubi, (2021)** qui avait rapporté que les colonies d'*A. solani* ont une texture duveteuse et une couleur grise à grise foncée avec un fond noir et qu'elles produisent un pigment diffusible de couleur variable (jaune, orange ou rouge).

Ces isolats d'*Alternaria* (A43 et A51) *appartiennent au groupe des Alternaria à grosses spores* et produisent des pigmentation dans le milieu PDA.

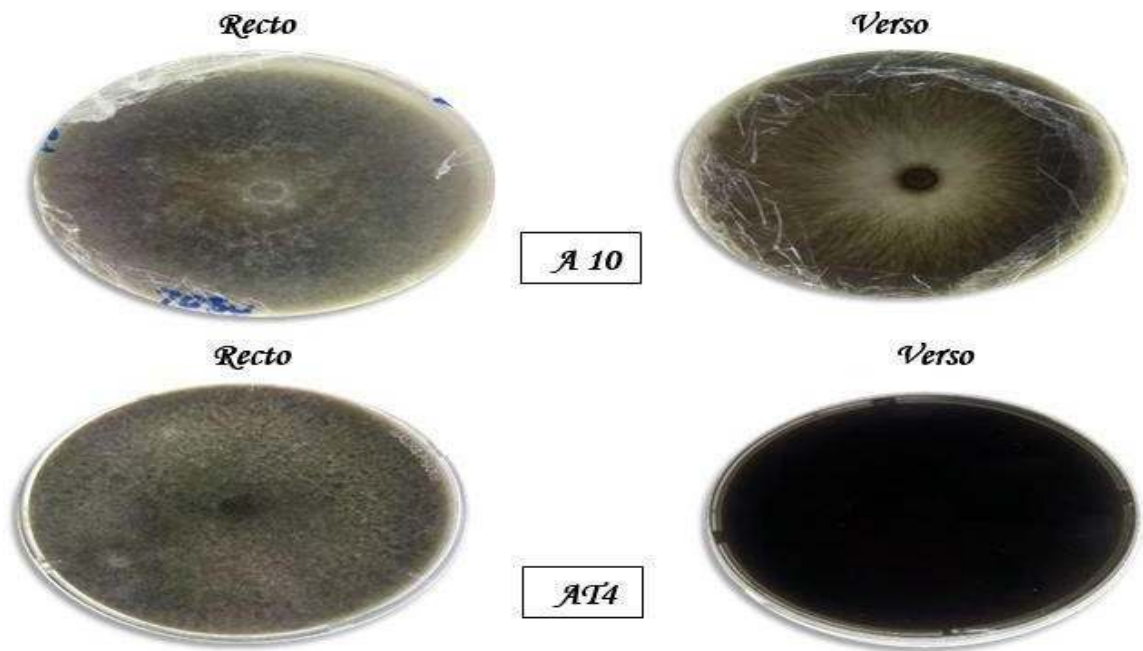


Figure 25 : Aspect macroscopique des colonies (recto et verso) des espèces d'*Alternaria* à petites spores sur milieu PDA.

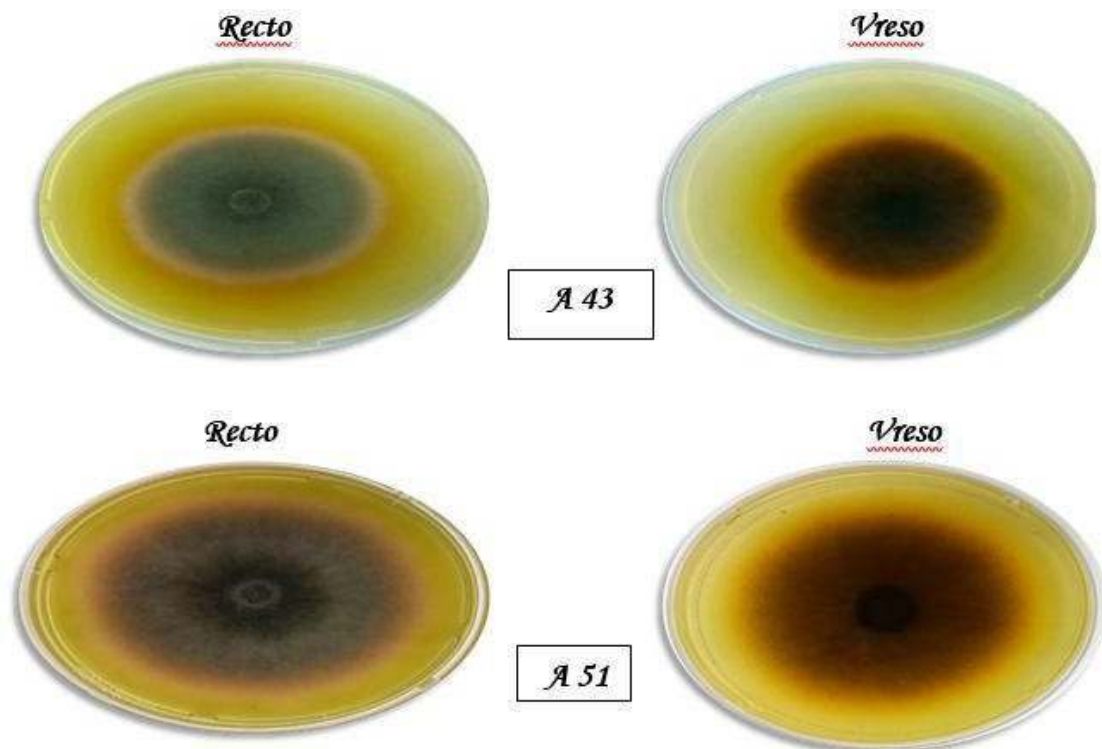


Figure 26 : Aspect macroscopique des colonies (recto et verso) des espèces d'*Alternaria* à grosses spores sur milieu PDA.

### I.1.2. Etude microscopique

L'étude microscopique des 4 isolats d'*Alternaria* spp. , basées sur la caractérisations des conidies et de leurs motifs de sporulation réalisé par l'examen a l'état frais et culture sur lame, a permis d'identifier deux groupes d'*Alternaria* : des isolats d'*Alternaria* à petites spores et des isolats d'*Alternaria* à grosses spores.

Le groupe d'*Alternaria* à petites spores est caractérisée par la production des spores de couleur brin à brin jaunâtre, de forme ellipsoïde et ovoïde, avec des cloisons transversales et longitudinales.

**L'isolat A10**, est caractérisé par des hyphes septés, des conidiophores courts portant des conidies présentent comme des bouquets touffus en chaînes ramifiés et d'une forme ovales ou obclavée, segmentées par des cloisons transversales et longitudinales. Ces caractéristiques nous ont permis d'identifier cette isolat comme *A. alternata* . Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par **Criquet and Calvert, (2008)** .

**L'isolat AT4**, présente des chaines de plusieurs conidies sur des conidiophores courts. La ramification des chaines est habituellement rare ou manquante. Les conidies produites sont de forme obclavée ou ellipsoïdale de couleur marron à marron doré, Ces caractéristiques sont identiques à ceux d'*A. tenuissima*. Ces résultats sont presque conformes à l'étude de **Simmons, (2007)** qui a montré que cette espèce formée de conidiophores brun pâle avec des chaînes peu ramifiées sur pommes de terre carotte agar (PCA) après incubation à 25° C dans l'obscurité pendant 7 jours. Les conidies étaient ellipsoïdales ou ovoïdes, brun clair.

**L'isolat A43**, produits des conidies de couleur pales dorés à brun olivâtre, habituellement solitaires, rarement portées sur des courtes chaines, droites ou légèrement incurvées, ellipsoïdales et effilée avec un bec qui peut être plus long que le corps de la conidie. Ces caractéristiques nous ont permis d'identifier cette isolat comme *A. solani* . Ces observations sont en accord avec ceux obtenus par **Yakoubi, (2021)** qui a trouvée que le groupe *A. solani* possède des conidies solitaires droites ou légèrement flexueuses, oblongues ou ellipsoïdales, de couleur marron-olive.

**L'isolat A51**, est caractérisé par des spores d'une couleur doré pâle à marron, largement ovoïdes, ellipsoïde avec un long bec filamenteux simple ou ramifié généralement plus long par rapport le corps de la spore. Ces caractéristiques sont identiques à ceux d'*A. linariae* . Ces résultats sont similaires à ceux cités par **Rodrigues et al., (2010)** qui a observé que *A. linariae* possède un long bec par rapport à *A. solani* parfois bifurqué et plus long que le corps de la spore.

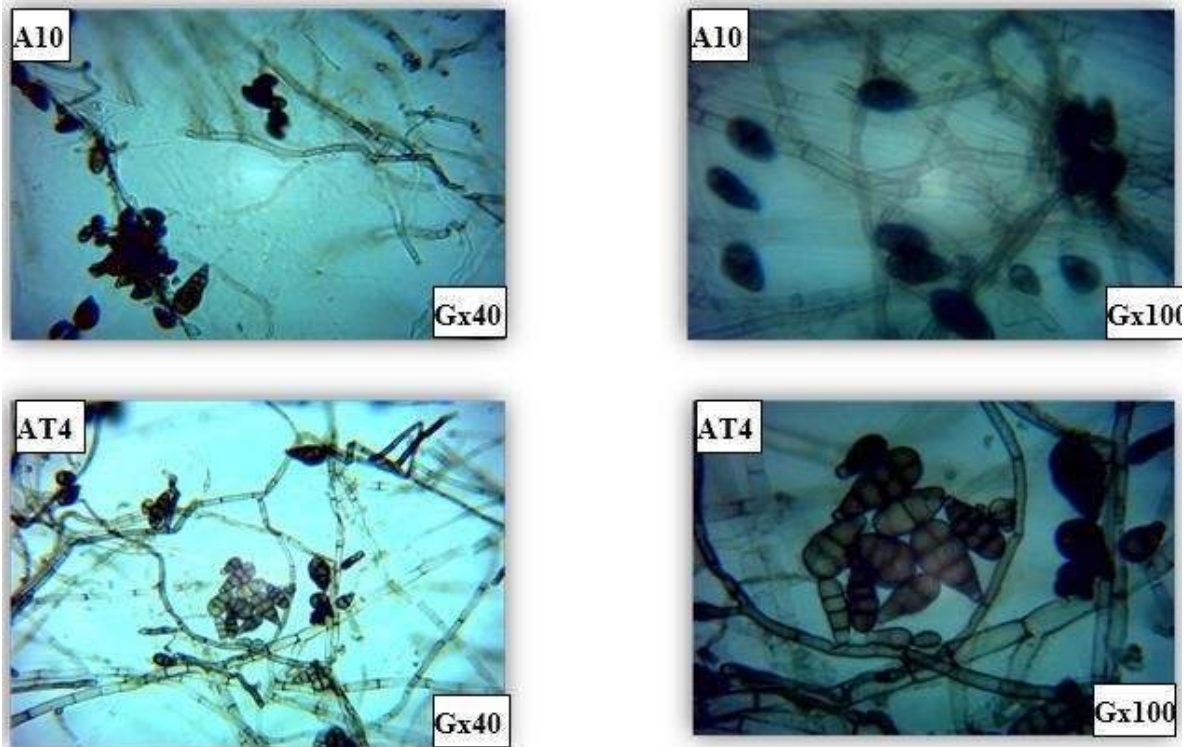


Figure 27 : Aspect microscopique des espèces d'*Alternaria* à petites spores (A.alt et A.ten )  
à Gross x (40 et 100)

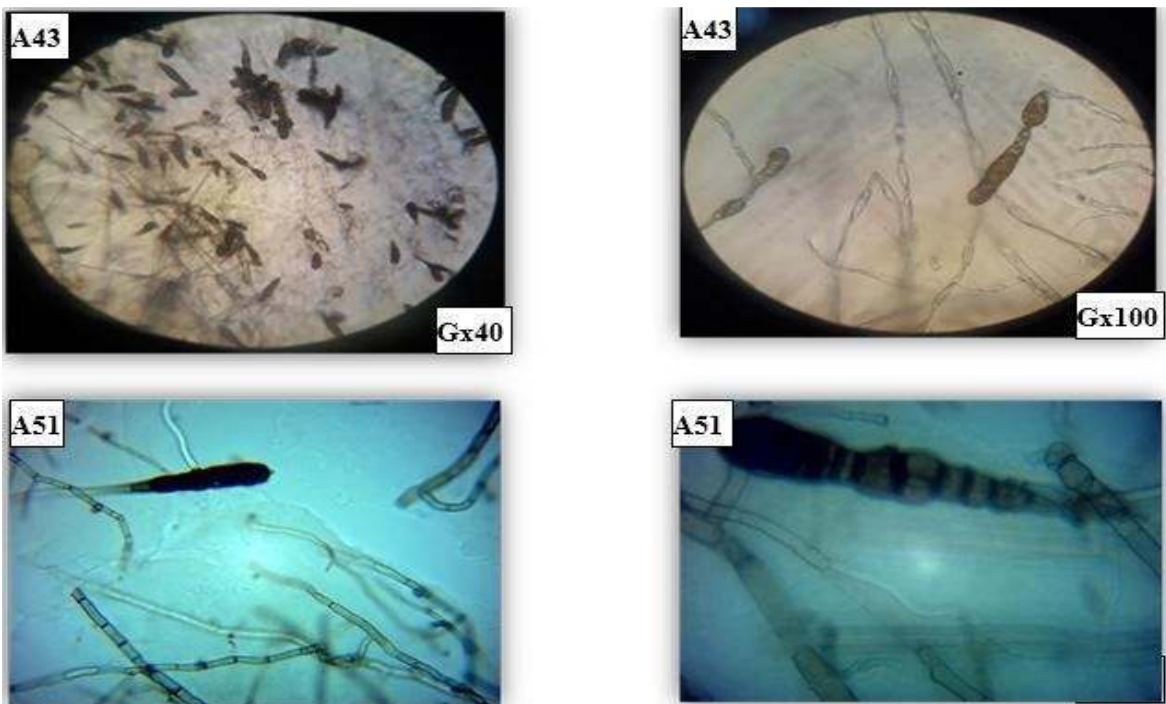


Figure 28 : Aspect microscopique des espèces d'*Alternaria* à grosses spores (A.lin et A.sol )  
Gross x (40 et 100)

## II. Essai in vitro de la lutte biologique par les huiles essentielles

### II.1. Caractérisation des deux huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites à partir des parties aériennes des deux plantes par l'hydrodistillation présentent des caractéristiques résumées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Caractéristiques des huiles essentielles

<i>Espèce</i>	<i>Couleur</i>	<i>Odeur</i>	<i>Aspect</i>
<i>R.graveolens L.</i>	Jaune foncé	Forte odeur	Liquide
<i>T.algeriensis</i>	Jaune claire	Forte odeur	Liquide



Figure 29 : Huile essentielle de *R.graveolens L.*



Figure 30 : Huile essentielle de *T.algeriensis*

### II.2. Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle des deux espèces est exprimé en pourcentage massique par rapport à la matière végétale sèche, représenté dans le (tableau 7)

Tableau 7 : Rendement calculé en (%) pour les deux plantes étudiées

<i>Espèce</i>	<i>Quantité totale de la matière sèche (g)</i>	<i>Quantité totale de l'huile (g)</i>	<i>Rendement globale (%)</i>
<i>R. graveolens L.</i>	70	1.876	$(1.876/70) \times 100 = 2.68$
<i>T. algeriensis</i>	637.6	4.3487	$(4.3487/637.6) \times 100 = 0.68$

Le rendement d'extraction que nous avons obtenu de l'HE de *R. graveolens L.* est de l'ordre de 0.68%, cette valeur est supérieure à celle obtenue par **Haddouchi et al., (2013)** qui ont trouvé que le rendement d'extraction de *R. graveolens L.* de la région d'Anaba est 0.18%

Les études réalisées par **Mejri et al., (2010)**, sur la partie aérienne de *R. graveolens L.* récoltée en Tunisie durant le mois de mai, ont révélé un rendement de 5.51% d'huile essentielle. Dans d'autre région du pays, la même plante récoltée dans la région de Blida, la même valeur (0.68%) que nous avons obtenue, elle a enregistré par **Mecheri et Akdif, (2017)**.

Le rendement d'extraction que nous avons obtenu de l'HE de *T. algeriensis* est de l'ordre de 2.68%, cette valeur est presque proche à celle obtenue par **Zayyad et son équipe, (2014)** qui ont révélé un rendement de 2,93% de l'HE de *T. algeriensis* de la région d'Adarouche (région de Meknès) Aussi (**Dob et al., 2006**) ont trouvé que le *T. algeriensis* a fourni un taux de l'HE d'environ 1,13%.

Cette différence entre les rendements peut être due à divers facteurs peuvent influencer tels que, la maturation, la partie soumise à l'extraction, conditions de stockage de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction utilisée (**Martinez et al., 2006**) .

### III. Évaluation in vitro de l'activité antifongique des huiles essentielles

#### III.1. Sur la croissance mycélienne

L'activité antifongique est évaluée par l'étude de la cinétique de croissance mycélienne et par estimation du taux d'inhibition de la croissance fongique des souches d'*Alternaria* spp. en présence de l'HE de deux plantes à différentes concentrations

##### a. Cas d'HE de *R.graveolens* L.

Les résultats de l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE de *R.graveolens* L. sur la croissance mycélienne des différentes espèces d'*Alternaria* sont résumés dans les **figures 31,32**.

Les résultats illustrés dans les **figures 31,32** montrent que les concentrations en HE de *R.graveolens* L. testées sur les *Alternaria* spp, situées entre 5 µL/mL et 7 µL/mL, permis de réduire la croissance mycélienne de toutes les souches avec des taux d'inhibition varies.

On a remarqué que la croissance mycélienne des souches testées est moins important par rapport au témoin et plus la concentration en HE augmente, plus la croissance diminue, ce qui explique que l'HE de *R.graveolens* L. a un effet inhibiteur sur la croissance avec des diamètres moyen variés d'une souche à une autre. Cette HE a permis une inhibition totale (100%) de la croissance mycélienne de l'isolat A10, aux différentes concentrations testées. Cette souche s'est montrée la plus sensible à cette HE.

Par contre, les autres souche étudiées (AT4, A43 et A51), n'ont pas été totalement inhibées aux différents concentrations (5 µL/mL, 6 µL/mL, 6.5 µL/mL et 7 µL/mL) de l'HE de *R.graveolens* L. Ceci indique que la concentration minimale inhibitrice de cette HE est inférieur ou égale à 5µL/mL pour la souche A10 et supérieur à 7 µL/mL pour les souches AT4, A43 et A51.

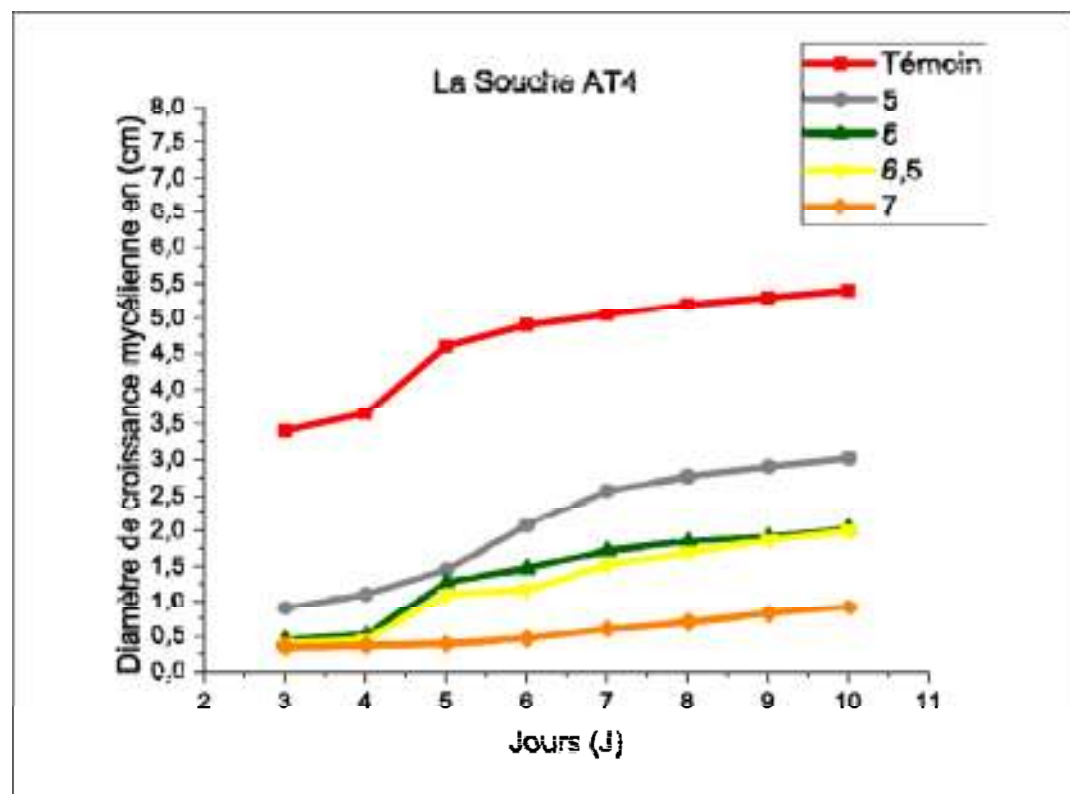
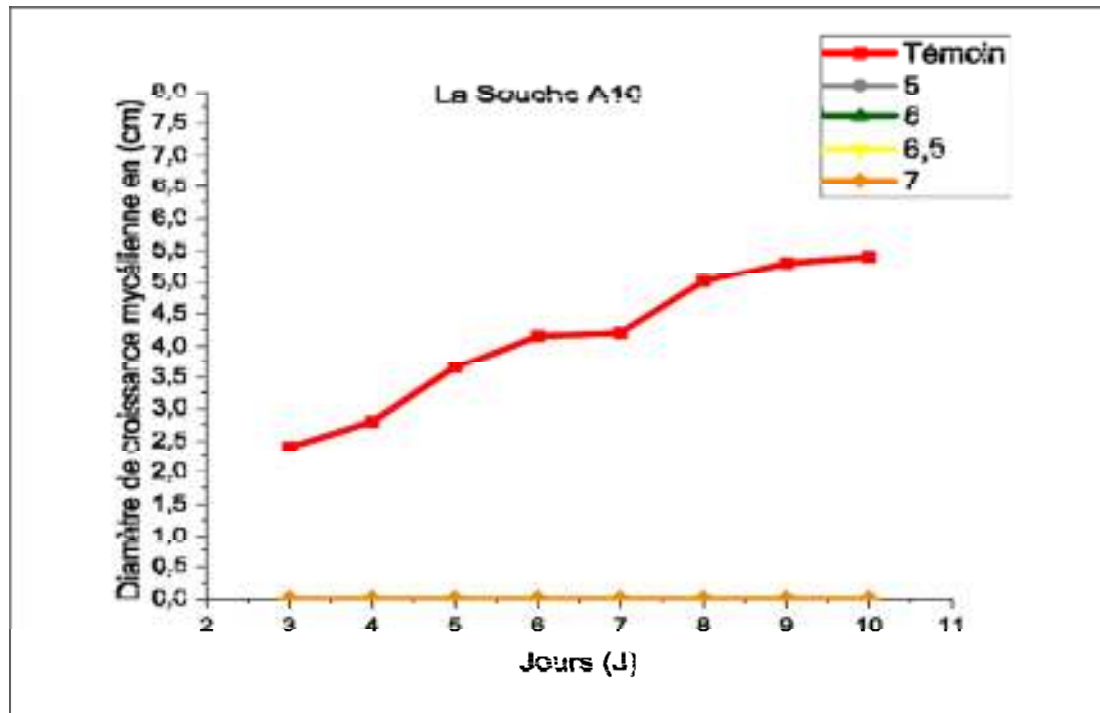
Nos conclusions sont proches de celles obtenues par **Haddouchi et al., (2013)**. Ces auteurs ont mené des études similaires sur l'activité antifongique de *R.graveolens* L. contre le champignons *Alternaria alternaria*. et ils ont rapporté que l'HE de *R.graveolens* L. a un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne d'*A.alternaria* après 7 jours d'incubation à 28°C et avec une CMI de l'ordre de 7.6 µL/mL.

Dans la même étude une valeur similaire de CMI a été enregistrée pour les souches de *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*.

Les études de **Reddy et Al-Rajab, (2016)**, montrent que l'HE de *R. graveolens* L.

révélée a un effet inhibiteur contre *C. albicans* avec une valeur de CMI de 22.00  $\mu\text{g/mL}$ .

Les résultats de l'évaluation de la nature de l'effet antifongique de l'HE de *R.graveolens* L. montre que cette huile possède un effet fongicide vis-à-vis la souche A10 à la concentration de 5  $\mu\text{L/mL}$  de l'huile.



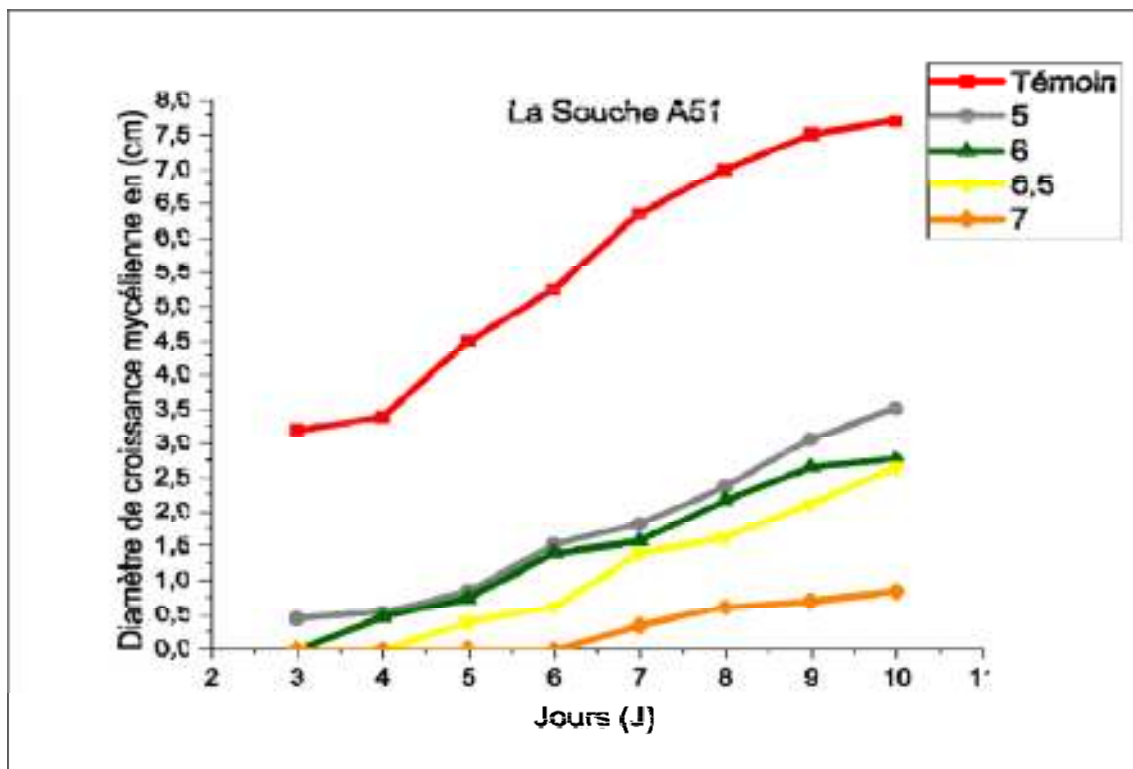
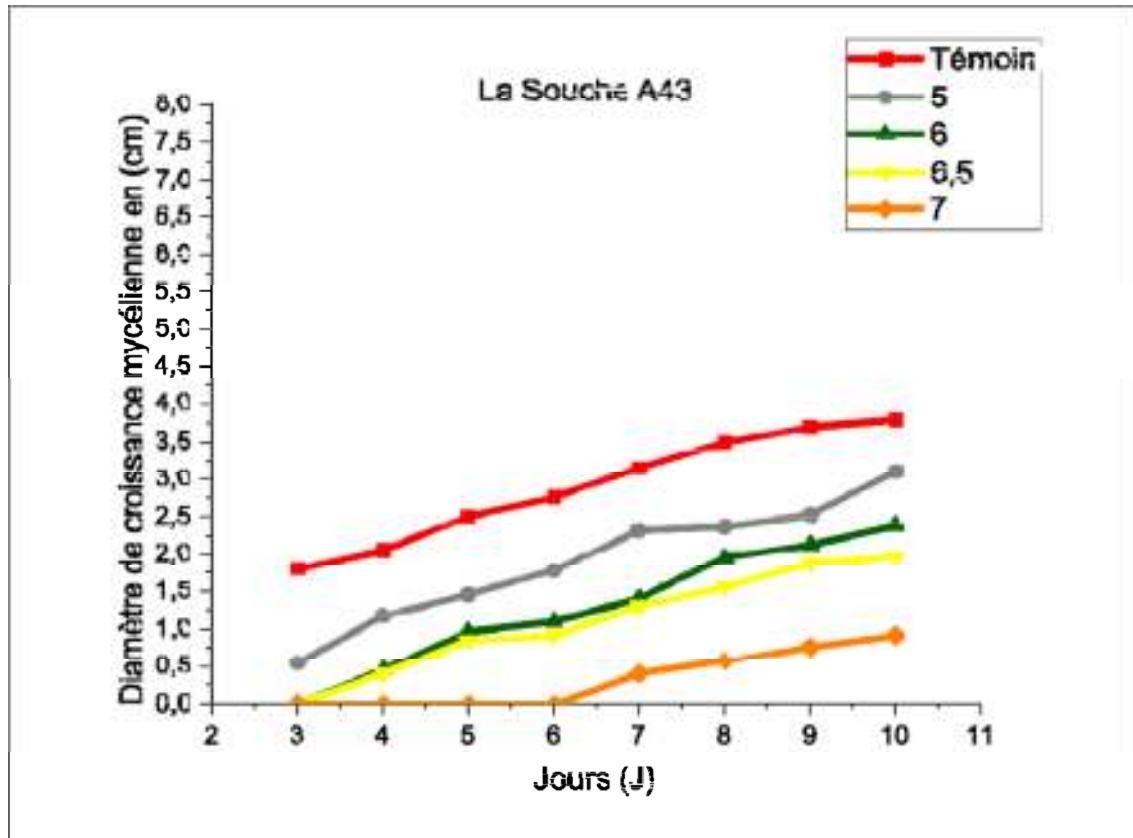


Figure 31 : Cinétique de la croissance des souches d'*Alternaria* (A10,AT4, A43 et A51) en fonction de temps (jours) et concentration de l'HE de *R.graveolens* L.

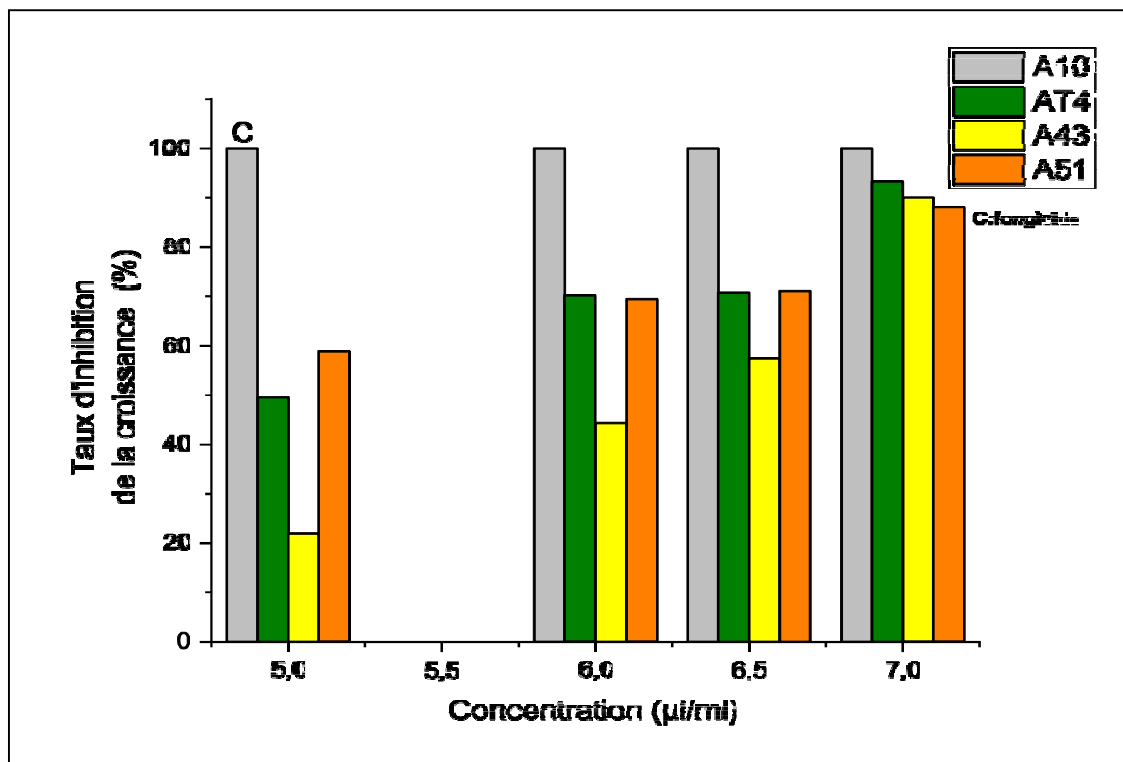


Figure 32 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de R. graveolens L.

#### b. Cas d'HE de *T. algeriensis*

Les résultats illustrés dans les Figure 33 et 34 montre que l'HE de *T. algeriensis* a inhiber la croissance mycélienne des *Alternaria* spp.

Cette HE a présenté un effet antifongique très remarquable sur toutes les souches étudiées, avec des concentrations différentes en HE de *T. algeriensis*, situées entre 0.5 µL/mL et 4 µL/mL,

Les valeurs de CMI de *T. algeriensis* qui ont été enregistrées pour toutes les souches est de l'ordre de 0.5µg/mL et 1µg/mL

La croissance mycélienne dans la souche A10 est lente a la concentration 0.5 µL/mL par rapport au témoin, elle a été inhibée totalement avec une valeur de CMI de 1µL/mL avec une taux d'inhibition de l'ordre de 92.70%

Les souche AT4, A43 et A51 sont les plus sensible, ont montré que l'HE de *T. algeriensis* a une activité antifongique élevé, car elle inhibe la totalité(100%) du

champignon avec une CMI inférieure ou égale à 0.5 µL/mL, avec une taux d'inhibition totale (Figure 34).

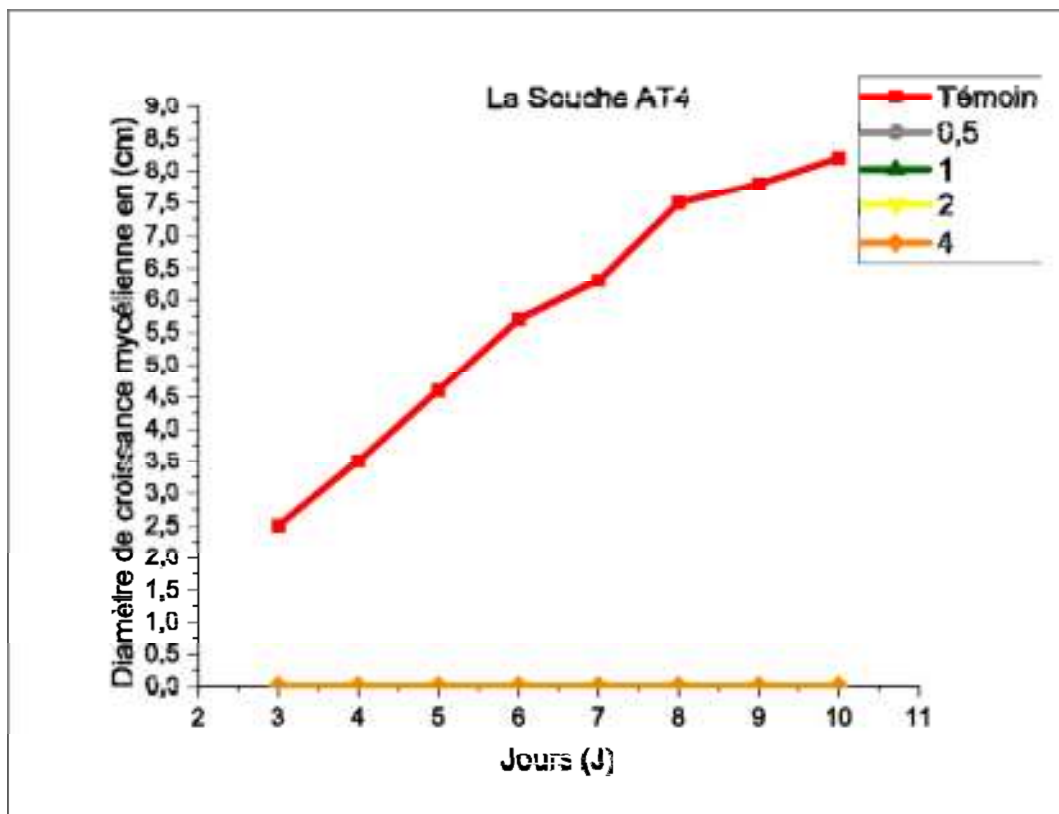
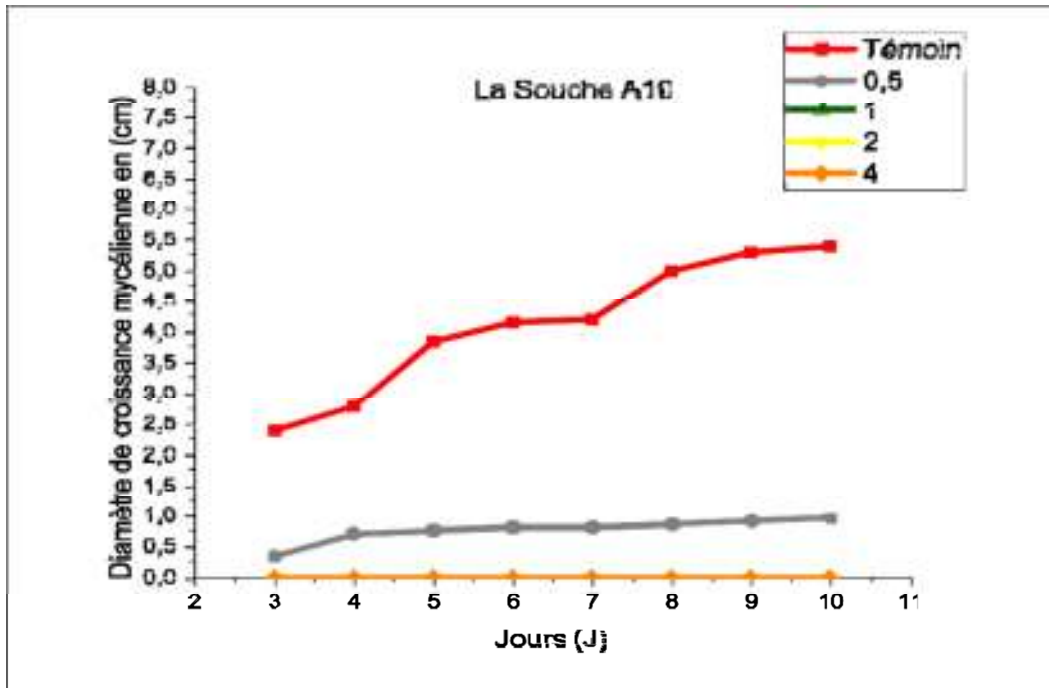
En comparaison avec les valeurs de CMI qui ont été enregistrées par plusieurs auteurs, les travaux de **El Ajjouri et al., (2010)** qui ont été menés sur la plante *T.algeriensis*. ont montré que l'HE de *T.algeriensis* a un effet inhibiteur sur les deux souches fongiques *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum* à partir de la concentration 2 µg/mL, cette valeur est relativement supérieure de ce qui a été enregistré dans la présente étude.

Par ailleurs, nos valeurs de CMI trouvés sur toutes les souches d'*Alternaria* étudiées, sont proches au valeur de CMI enregistrée par **Dob et al., (2006)** qui a démontré que l'HE de *T.algeriensis* collectée dans la région de Media a une inhibition totale de la croissance des souches *Fusarium oxysporum* *Fusarium* ssp. *albedinis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*, avec une valeur de CMI de 1µg/mL.

Aussi, **Zouari et son équipe en 2011**, ont montré que la concentration minimale inhibitrice de l'HE de *T.algeriensis* testés sur les champignons filamenteux, *Aspergillus niger*, *Fusarium soloni*, est à l'ordre de 1–2 µL/mL.

L'évaluation de la nature de l'effet antifongique, de l'HE de *T.algeriensis*, révèle que les souches AT4 et A43 , qui ont été exposé à une concentration de 0.5µL/mL, ont pu se développer avec un taux de croissance moyen (5,6 et 3,2 cm, respectivement) après 10 jours d'incubation, ceci indique que l'HE de *T.algeriensis* a un effet fongistatique vis-à-vis des souches AT4 et A43, néanmoins cette même huile a présenté un effet fongicide contre des souches A10 à la concentration de 1µL/mL et A51 à la concentration de 0.5µL/mL (Figure 34).

D'après ces résultats, on constate que les souches A10 et A51 sont plus sensibles au faible concentration de l'HE de *T.algeriensis* que les souches AT4 et A43.



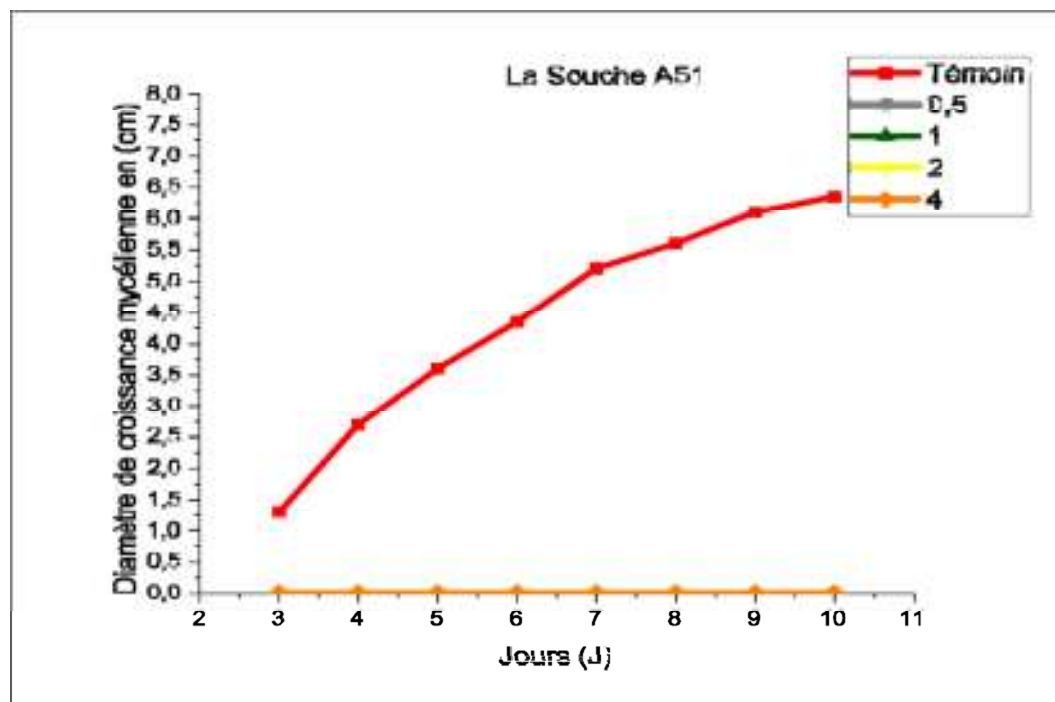
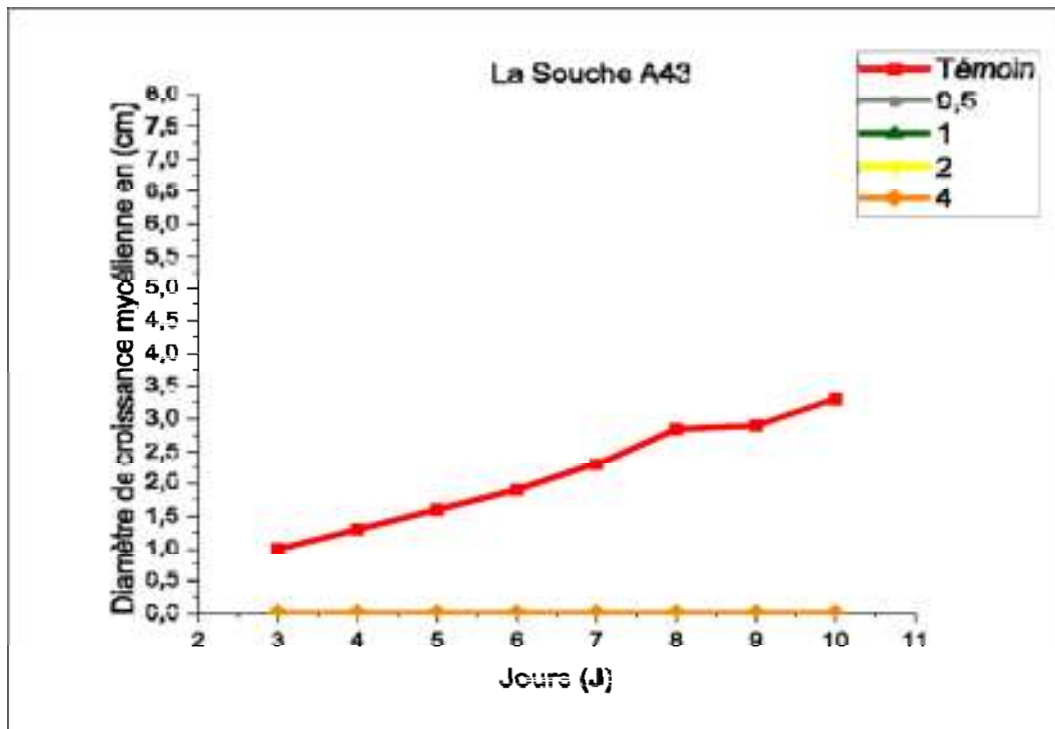


Figure 33 : Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (A10,AT4, A43 et A51) en fonction de temps (jours) et concentration de l'HE de *T.algeriensis*

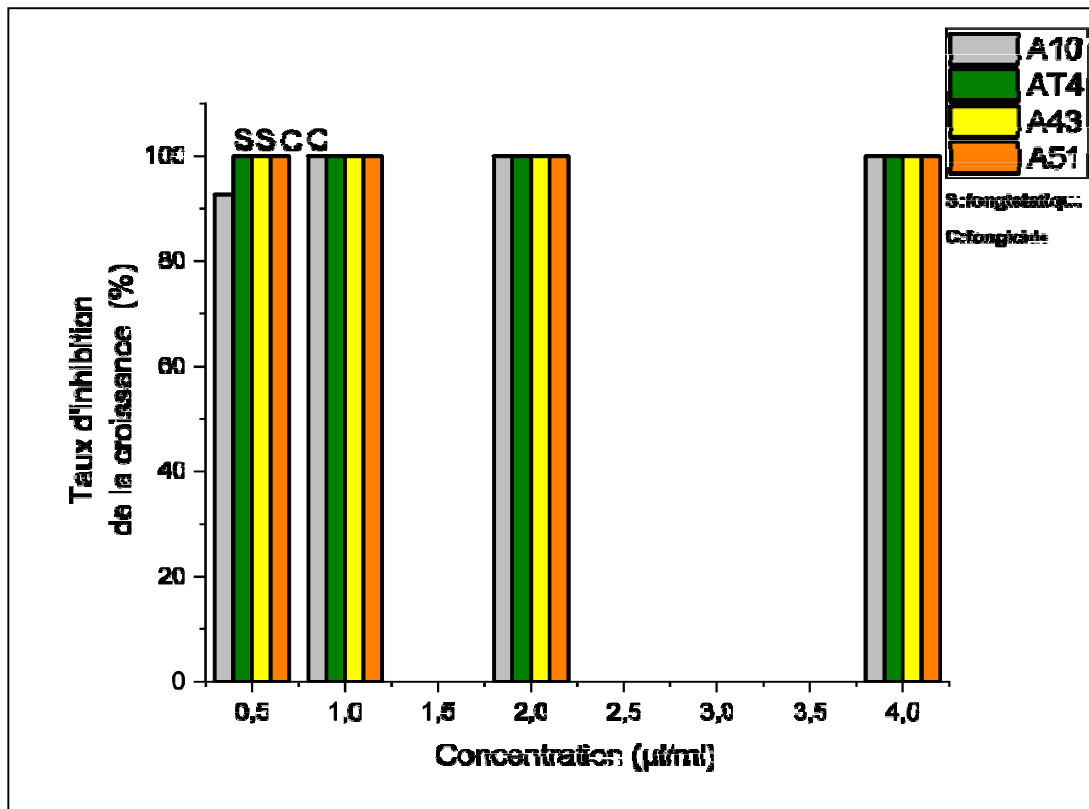


Figure 34 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de *T.algeriensis*

Donc, selon nos résultats on peut déduire une conclusion comme une comparaison entre les HEs testées sur les 4 souches d'*Alternaria* spp.

L'huile essentielle de *T.algeriensis* a révélé une activité antifongique plus élevée par rapport à celle de *R.graveolens* L. En effet cette huile a donné une inhibition totale (100 %) de la croissance mycélienne à la concentration de 1 µL/mL chez toutes les souches. Ces résultats suggèrent que cette HE a une activité antifongique élevée avec des faibles concentrations.

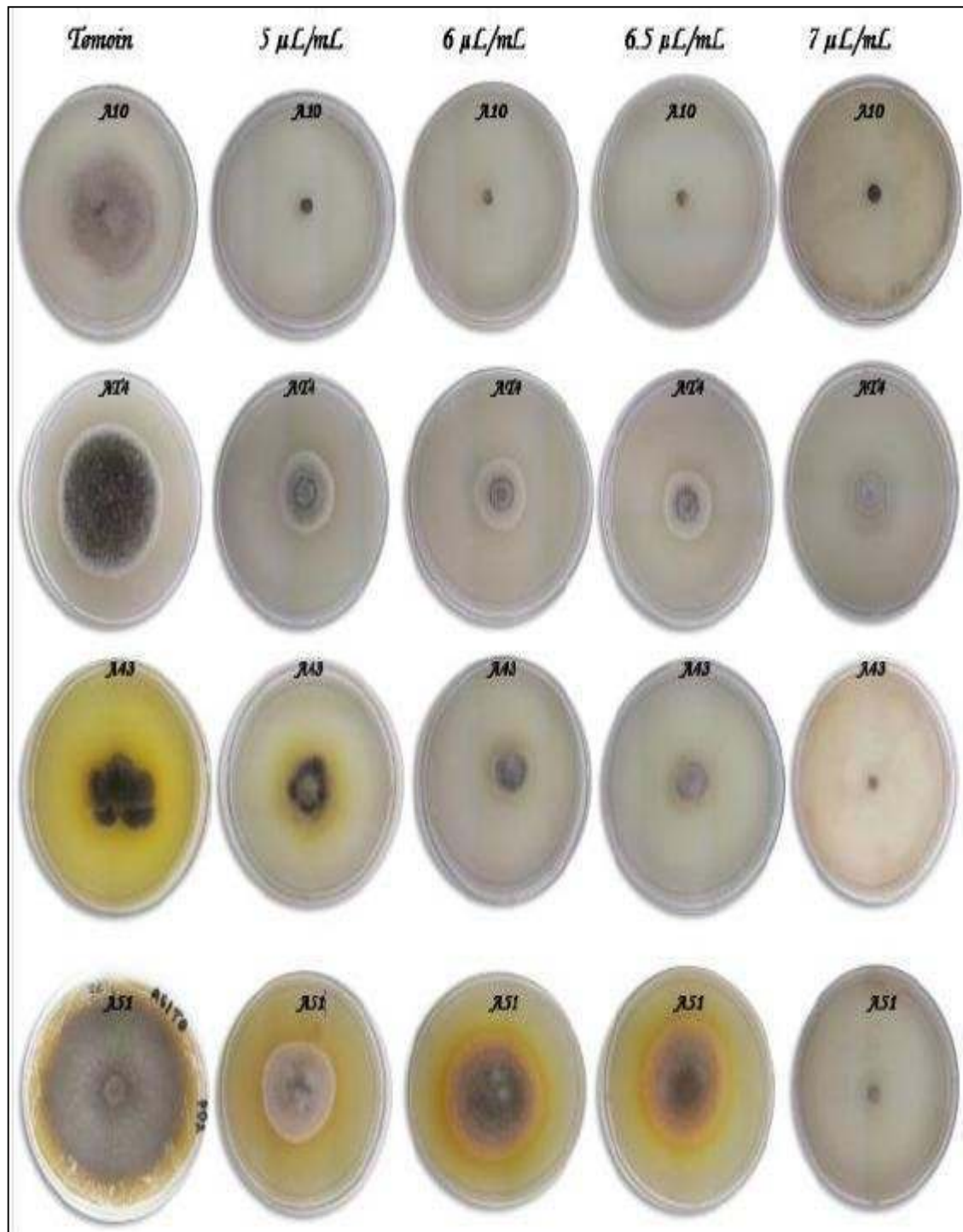


Figure 35 : Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations de l'HE.de *R.graveolens* L. après 10 jours d'incubation

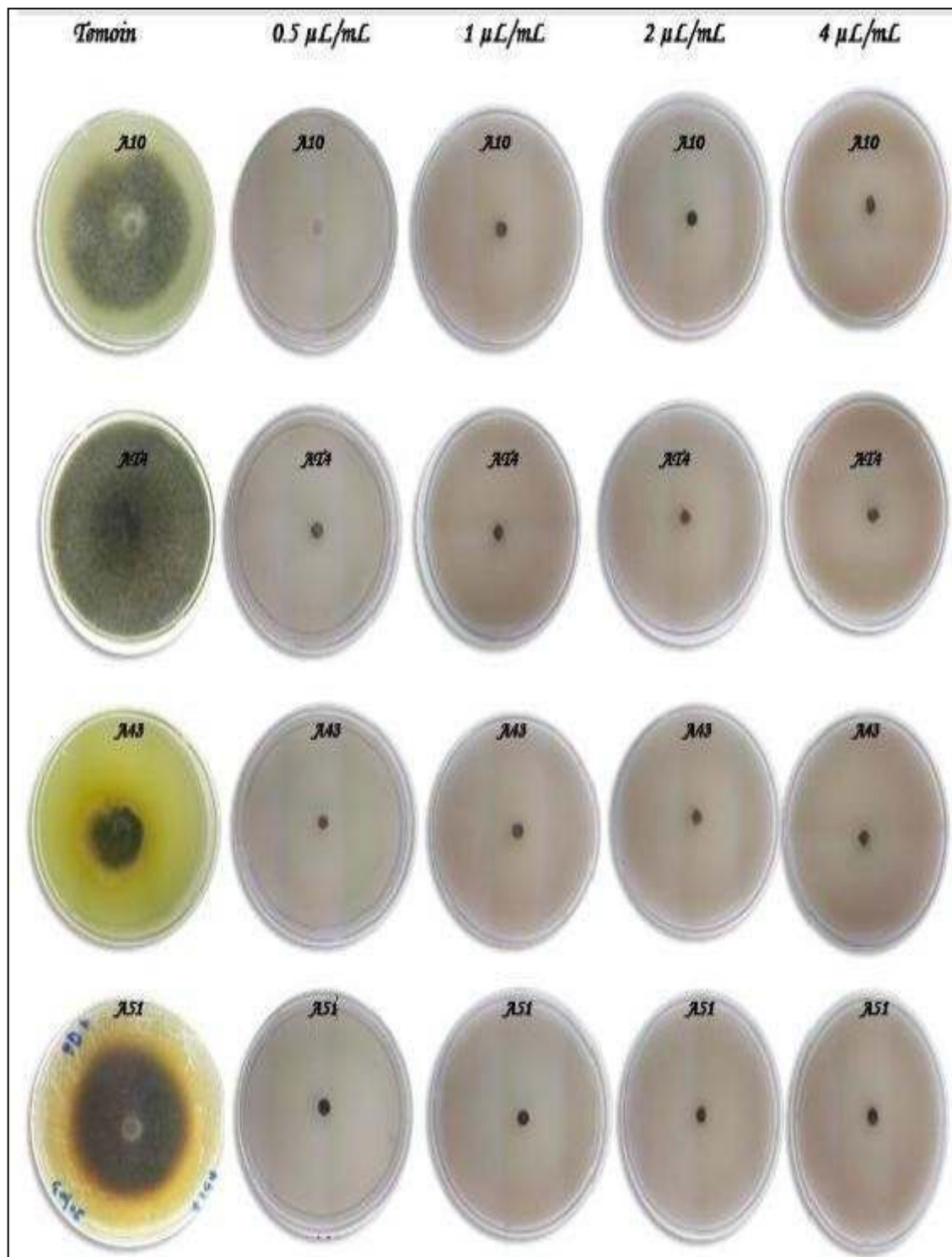
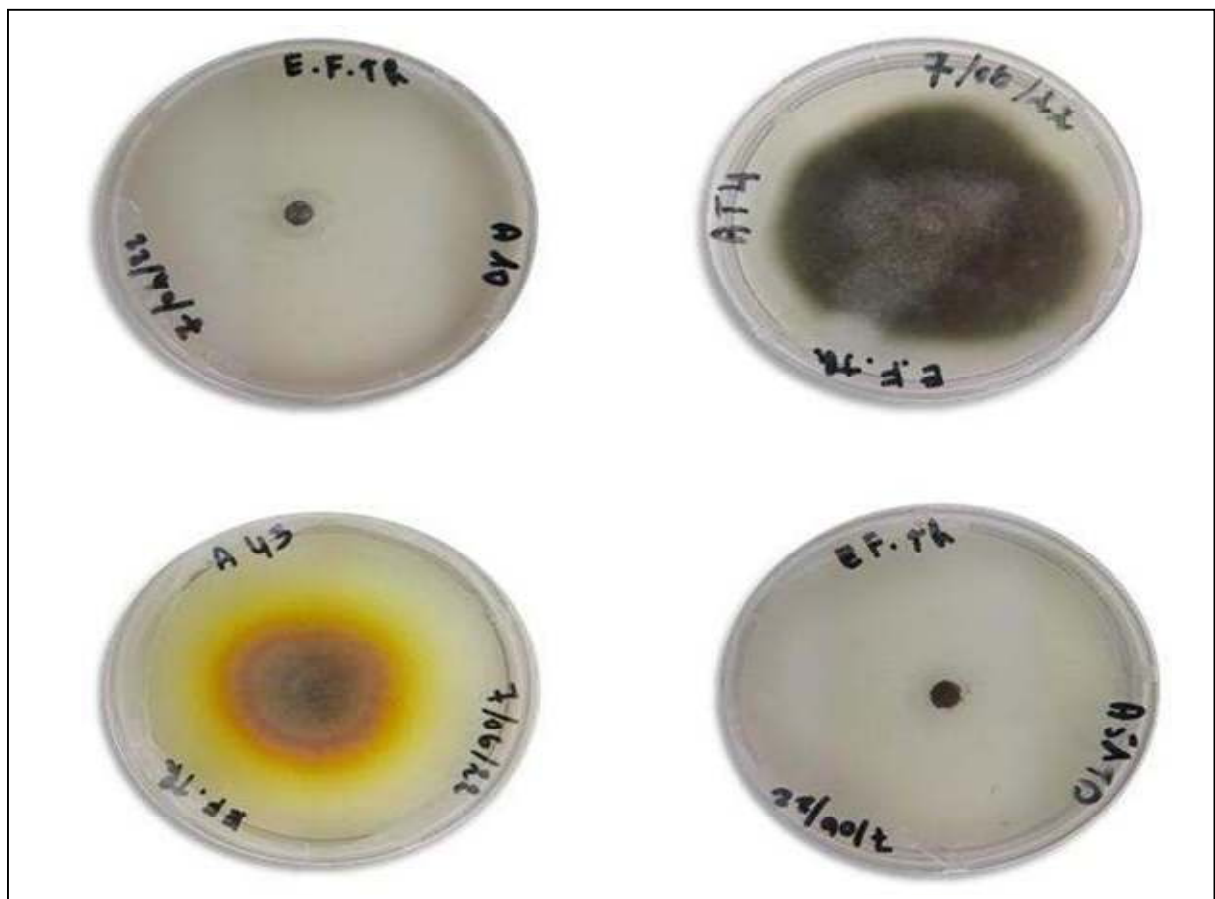


Figure 36 : Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations de l'HE.de *T.algeriensis* après 10 jours d'incubation.



**Figure 37 :** Aspect macroscopique de la colonie après transfert d'un disque mycélien présente une inhibition totale à 5  $\mu\text{L/mL}$  de *R.graveolens* L. après 10 jours d'incubation



**Figure 38 :** Aspect macroscopique des colonies après transfert des disques mycéliens présentant une inhibition totale à 0.5  $\mu\text{L/mL}$  et 1  $\mu\text{L/mL}$  de *T.algeriensis* après 10 jours d'incubation

### ➤ Evaluation de l'activité antifongique de deux huiles essentielles de *T.algeriensis* et *R.graveolens* L. sur la croissance mycélienne des *Alternaria* spp. par caractérisation microscopique

Les observations microscopiques de l'effet de deux HEs de *T.algeriensis* et *R.graveolens* L. ont montré des altérations de la morphologie des hyphes sur les différentes espèces d'*Alternaria*, illustrées dans les figures 39,40,41,42.

Des dommages aux hyphes ont été observés à une concentration d'huile de 0.5µL/mL pour *T.algeriensis* et une concentration de 5 µL/mL pour *R.graveolens* L., représentées par des agrégats hyphales vidés de leurs contenus cytoplasmique et aussi par formation des petites vésicules à l'intérieur des hyphes (figure 40 )

Des études similaires de **Soylu et al., (2007)** ont révélé des diamètres hyphals réduits et des lyses de la paroi hyphale ont été fréquemment observées dans le mycélium traité à l'huile, comparativement à une croissance mycélienne épaisse, allongée et normale chez les témoins.

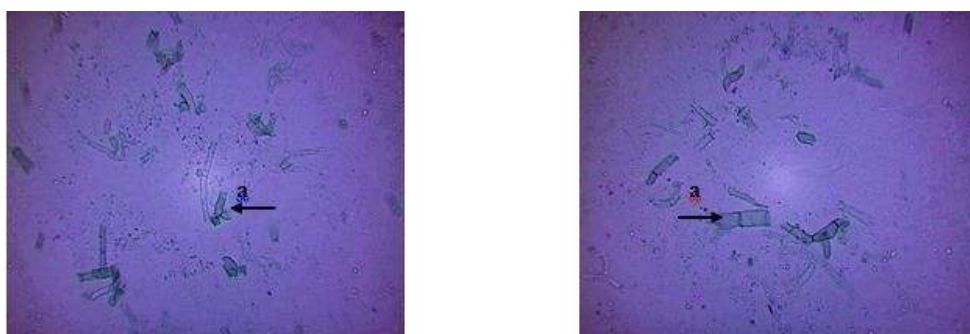
Ces modifications peuvent être liées à l'effet de l'huile essentielle en tant que réactions enzymatiques régulant la synthèse des parois (**Rasooli et al., 2006**).

Les propriétés lipophiles des composants de l'huile essentielle ont peut-être aussi aidé, par la pénétration de l'huile dans la membrane plasmique (**Knobloch et al., 1989**).

Les observations faites avec la microscopie optique sont conformes aux études antérieures dans lesquelles les huiles essentielles des plantes aromatiques ont causé des modifications morphologiques sur les hyphes fongiques (**Bianchi et al ., 1997; Fiori et al., 2000; Billerbeck et al., 2001; Romagnoli et al., 2005; Soyly et al., 2005b; Soyly et al., 2006**).



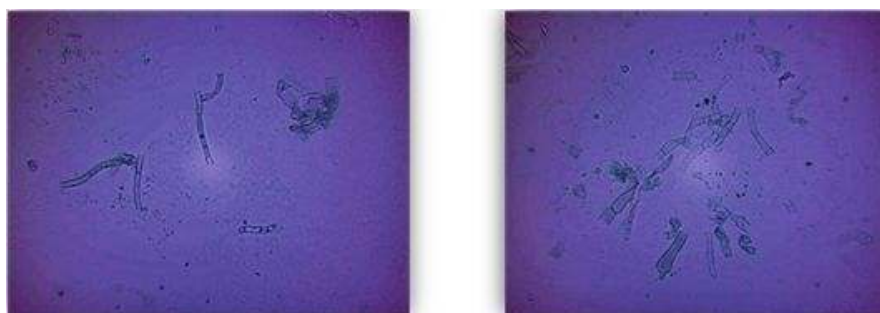
**Figure 39** : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de *T.algeriensis* sur la morphologie des hyphes de l'espèce d'*A. alternata*. (A10)



**Figure 40** : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de *R.graveolens* L. sur la morphologie des hyphes de l'espèce d'*A. tenuissima* (AT4), (a) : Hyphes endommagées.



**Figure 41** : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de *R.graveolens* sur la morphologie des hyphes de l'espèce d'*A. linariae* (A51). (b) : vésicule



**Figure 42** : Aspect microscopique de l'effet de l'HE de *R.graveolens* L. sur la morphologie des hyphes de l'espèce d'*A. solani* (A43)

## III .2.Sur la germination des spores

### III.2.1. Taux d'inhibition de la germination des spores

L'étude de l'activité antifongique de deux huiles essentielles de *T.algeriensis* et *R.graveolens* L. a été aussi évaluée sur la germination des spores des *Alternaria* à petites spores (A10, AT4), avec les même concentrations testés pour la croissance mycélienne.

#### a.Cas d'HE de *R.graveolens* L.

L'HE de *R.graveolens* L. a montrée une efficacité dans l'inhibition de la germination des spores des deux souches d'*Alternaria* ( A10, AT4). La **figure 43** montre une inhibition totale (100%) de la germination des spores à la concentration de 5 $\mu$ L/mL pour la souche A10 par contre pour la souche AT4, on remarque , qu'il y a une inhibition importante supérieure à 80% aux concentration (5 $\mu$ L/mL , 6 $\mu$ L/mL, 6.5 $\mu$ L/mL et 7 $\mu$ L/mL).

Des études de *Attia et al., (2018)* sur l'HE de *R.graveolens* L. révélé que cette HE a une activité antifongique traduite par la perturbation de la formation du tube germinatif des *Candida.albicans* *Candida.glabrata*

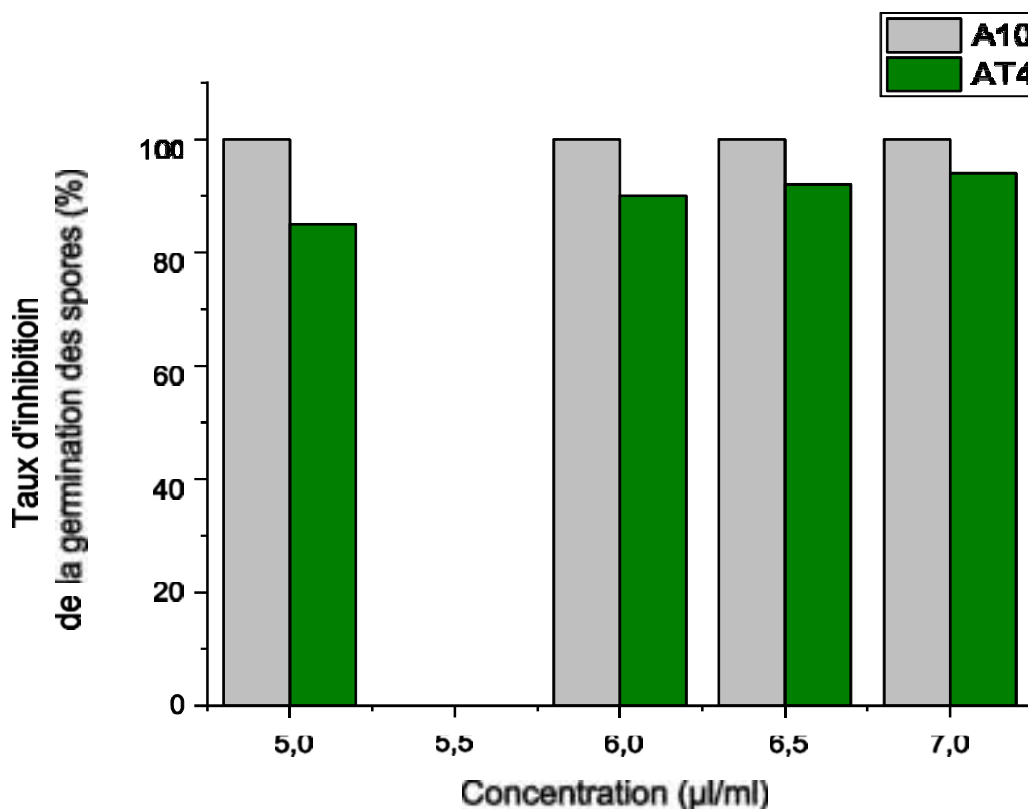


Figure 43 : Taux d'inhibition de la germination des spores de l'HE de *R.graveolens* L.

#### b.Cas d'HE de *T. algeriensis*

Le résultat représenté dans la **figure 44** montre l'efficacité de l'HE de *T.algeriensis*. Une inhibition totale (100%) de la germination des spores a été observée chez la souche AT4 à la concentration de 4 µL/mL. cependant, la germination des spores de la souche A10, n'est pas été inhibée totalement aux concentrations testées (0.5 µL/mL, 1 µL/mL, 2µL/mL 4 µL/mL).

L'étude menée par **Abd-Alla et al., (2006)** a montré que toutes les concentrations de l'HEs du thym ont un effet inhibiteur sur le pourcentage de germination des spores d'*A.niger* ; l'effet inhibiteur augmente avec l'augmentation des concentrations des HEs testées.

L'HE de *T.algeriensis* peut réduire le taux de la germination des spores des souches A10 et AT4 soit en inhibant de la production d'un tube germinatif (figure 47 -a-), soit en influençant sur la longueur des tubes germinatifs (taille inférieur au diamètre le plus petit de la spore) (figure 47-b-).

Ces observations sont d'accord avec ceux obtenus par **Jeum et al., (2015)** qui ont montré que l'HE de tymus est très efficace pour supprimer la germination conidienne de *Colletotrichum gloeosporioides*.

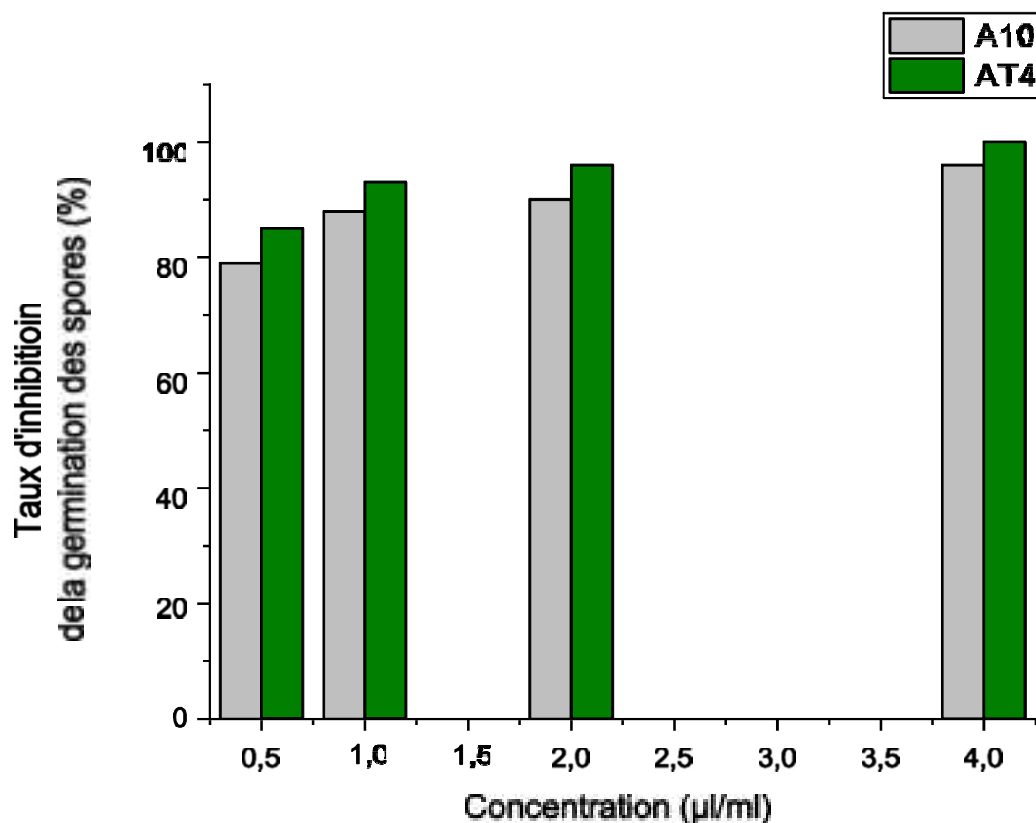


Figure 44 Taux d'inhibition de la germination des spores de l'HE de *T.algeriensis*.

D'après ces résultats, on a pu conclure que les deux HEs *T.algeriensis* et *R.graveolens* L. sont des bons inhibiteurs de la croissance mycélienne et de la germination des spores, l'huile essentielle de *T.algeriensis* a révélé une activité antifongique plus importante par rapport à celle de *R.graveolens* L. en effet cette huile a donné une inhibition totale (100 %) de la croissance mycélienne à faible concentration.

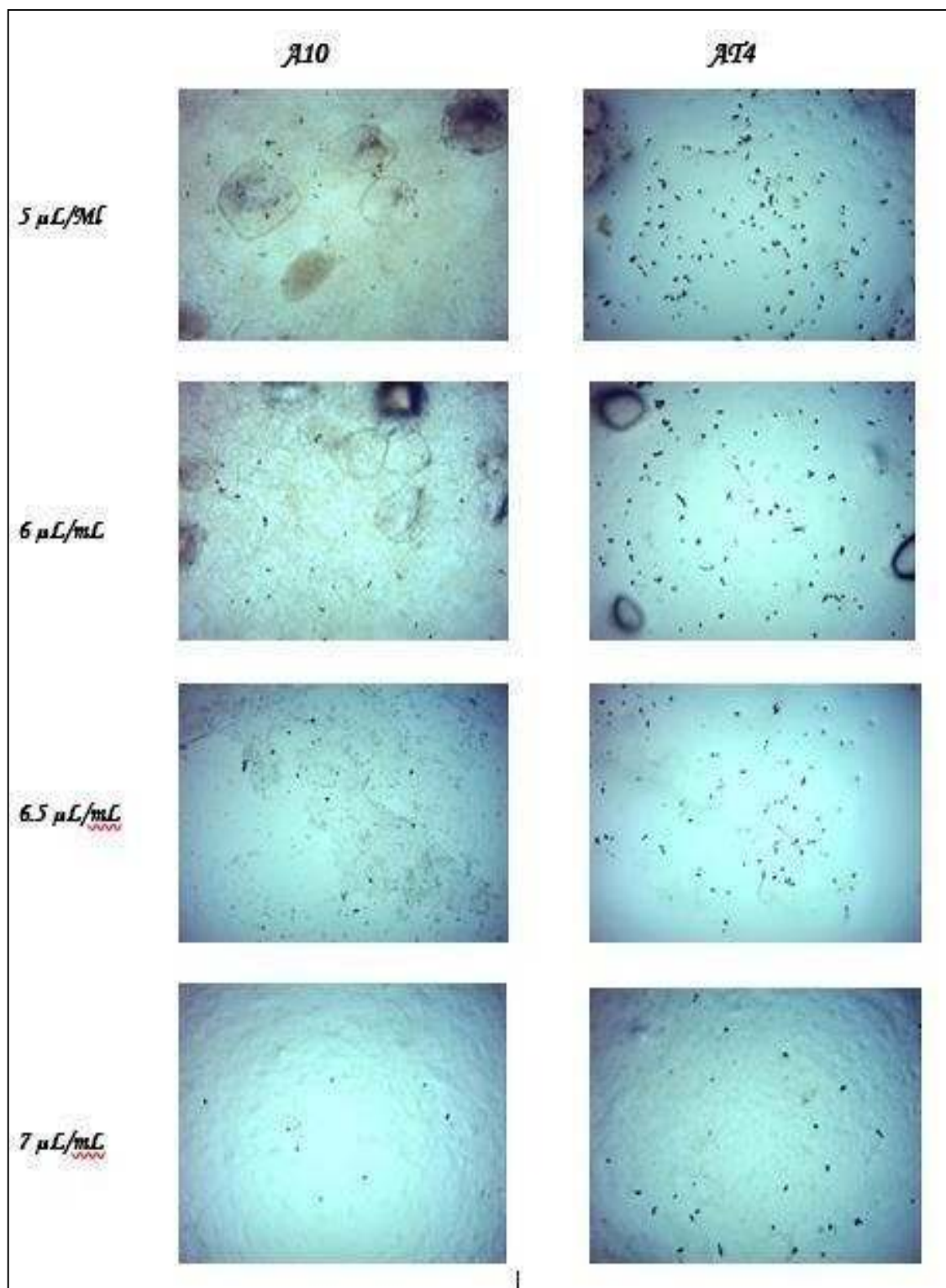
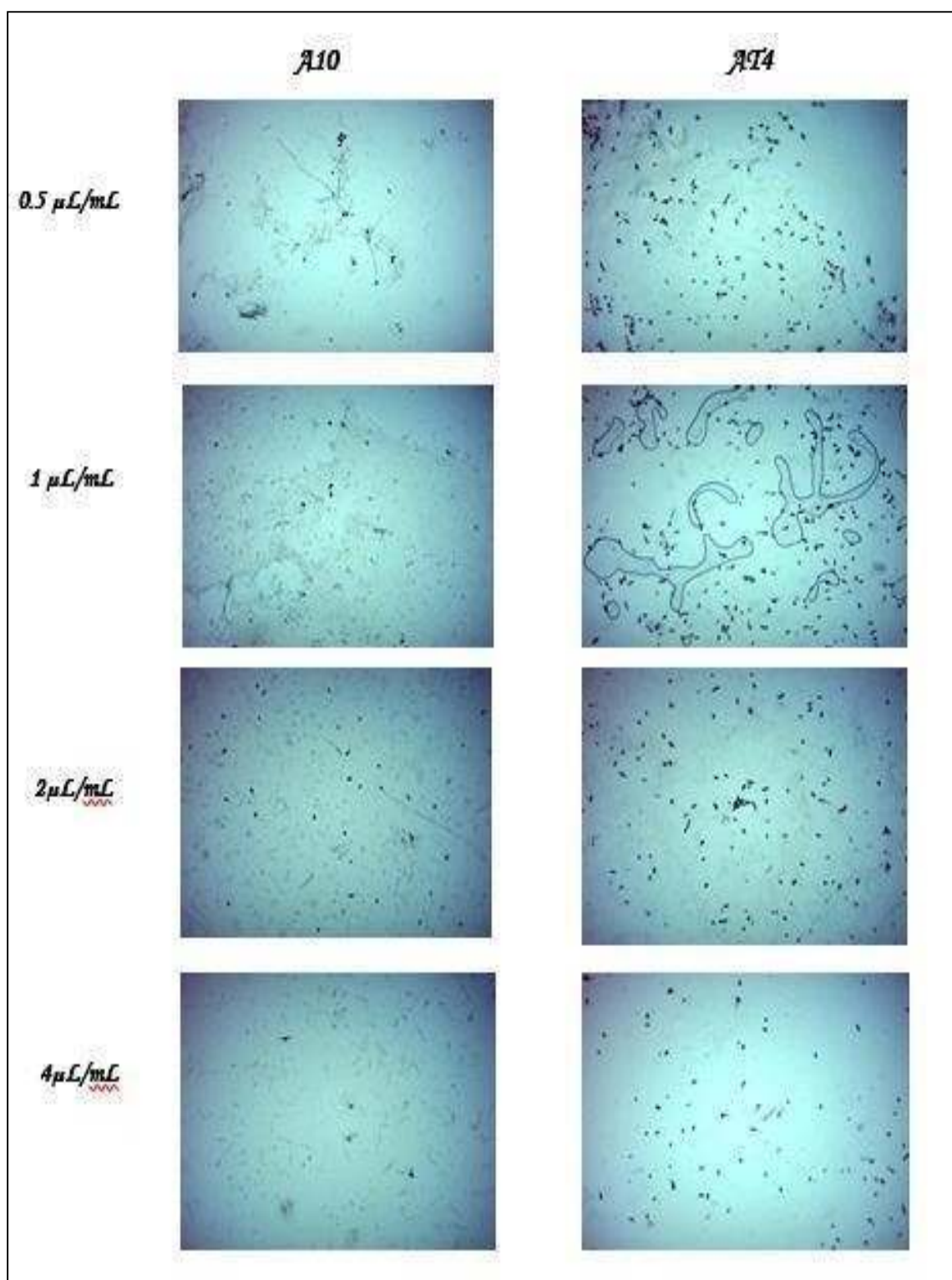
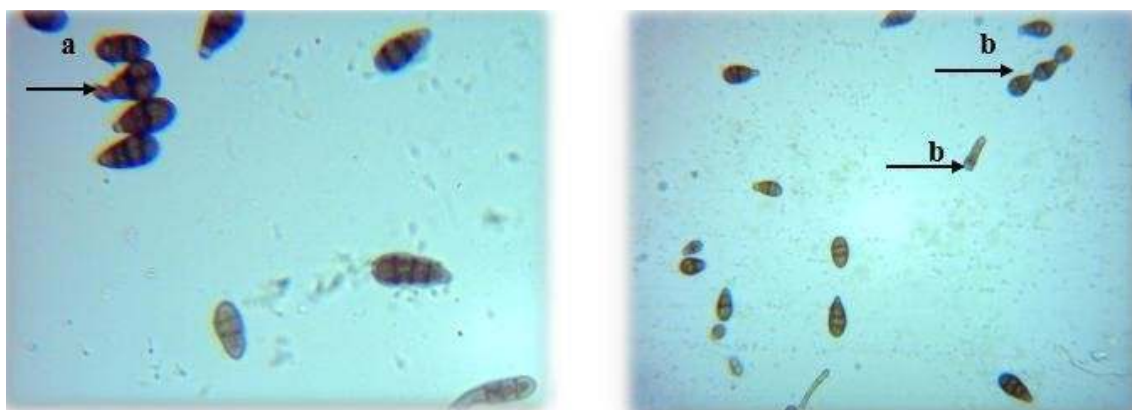


Figure 45 Aspect microscopique des spores germées et non germées après le teste par différentes concentrations de l'HE.de *R.graveolens* L. sur la germination des spores (Gross x10)



**Figure 46** Aspect microscopique des spores germées et non germées après le teste par différentes concentrations de l'HE de *T.algeriensis* sur la germination des spores (Gross x10)



**Figure 47** : Aspect microscopique des spores des espèces *d'Alternaria* à petites spores (A10 et AT4) par Gross x (40) , (a) :Spore non germée, (b) : Spore germée

L'activité antifongique des deux huiles essentielles est liée principalement à leurs compositions chimiques variées.

Certains chercheurs ont signalé que l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est liée aux composés chimiques les plus abondants dans l'huile essentielle testée. (Delaquis *et al.*, 2002; Dorman et Deans., 2000). En outre, il est bien connu que les composants phénoliques des huiles essentielles ont montré l'activité antimicrobienne importante (Burt, 2004).

(Zakarya *et al.*, 1993) ont également rapporté que l'activité de l'huile essentielle est liés soit aux constituants mineurs présent dans cette huile, soit leurs synergie avec les composants majeurs.

Les huiles du genre *Ruta* sont généralement caractérisées par un mélange de **2-Cétones**, qui peut atteindre 84% de l'huile (Verzera *et al.*, 2000), le **2-cétone** représente 81,08% dans l'huiles essentielle de *R.graveolens* L., le composé principal est le **2-Undecanone**. (Donadu *et al.*, 2021 ), Dans leurs étude, ils sont démontré que l'HE de *Ruta graveolens* L. avait une activité antifongique satisfaisante contre *Candida tropicalis* et *Candida albicans* associés à la candidose orale. Des études préliminaires ont démontré que l'activité antifongique de cette huile est due aux principaux composants **2-nonanol** et **2-undecanone**, qui ont montré un meilleur effet antifongique (Peralta-Ruiz *et al.*, 2020)

Des recherche publiées par Jianu *et al.*, (2021), ont révèle que l'HE extraite des parties aériennes de *R.graveolens* L. est riche en composés cétoniques, principalement **2-Undecanone** et **2-Nonanone**. Et que cette huile présente un effet antifongique et antibactérien à large spectre. De plus, Attia *et al.*, (2018) ont constaté une activité

## Résultats et discussions

---

antifongique contre *Candida albicans* *Candida glabrata* traduite par des changements morphologiques telle que, la déformation de la surface cellulaire, la perturbation de la formation et la prévention du tube germinatif.

(Chemat *et al.*, 2012) a révélé que l'huile essentielle de *T.algeriensis* présente une forte inhibition contre l'agent *Candida albicans*. Ce résultat s'explique par la faite que le **thymol** est responsable de l'altération des mitochondries et de la rupture des membranes plasmiques.

D'autre études sur des huiles essentielles des espèces de thymus, ont indiqué que leurs activité antifongique est liée à leurs teneurs élevé en composées phénoliques ( **thymol** et **carvacrol**). D'ailleurs, Ces huiles essentielles ont montré une activité antifongique contre *Aspergillus spp* (Wang, 2018; Pinto, 2013 ; Zouari, 2011 ; Jahani, 2020; López-Meneses, 2015), *Penicillium spp* . ;*Botrytis cinerea* (Wang, 2018 ; Boubaker, 2016 ; Nikkhah, 2017)., *Fusarium solani* (Zouari, 2011)

Elshafie *et al.*, (2015) ont conclu que le **carvacrol** et **thymol** montre une inhibition de la maladie de la pourriture brune des pêches causée par *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola* et *Monilinia fructigena*. L'effet antifongique est principalement attribué à l'inhibition de la germination des spores .

Trombetta *et al.*, (2005) et Satrani *et al.*, (2007) ont suggéré que ces composés sont responsables de l'inactivation des enzymes responsables de la production d'énergie et de la synthèse de la structure. Chouhan *et al.*, (2017). Ont également rapporté que ces composons sont capable d'altérer la fluidité de la membrane plasmique par inhibition de la synthèse de l'ergostérol.

La comparaison entre la composition chimique de notre plante récolté dans la région de Ain safra (Djbel Aissa), et celle de la région de Media, on remarque que l'HE de *T.algeriensis* de la région de Media possède de **linalol** comme un composant majeur, qui a présente une activité antifongique remarquable vis-à-vis *Fusarium oxysporum* *Fusarium. ssp. albedinis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*, testées par Dob *et al.*, (2006) avec une valeur de CMI de 1µg/mL, donc on peut dire que notre huile essentielle de la région de Ain safra qui contient le **thymol** comme composant majeur est plus efficace que l'huile de la région de Media qui contient le **linalol** comme composant majeur.

Dans la région de Chrea (Wilaya de Blida) et région El-Asnam (Wilaya de Bouira), Hazzit *et al.*, (2009) ont trouvés que l'huile essentielle de *T.algeriensis*, contient le **Terpinyl acetate** comme composant dominant qui a une activité antifongique contre *Candida albicans*.

## *Résultats et discussions*

---

Cette variation dans la composition chimique de la plante *T.algeriensis* dépend à la région d'origine de la plante, les condition climatique de chaque région (l'humidité, la séchasse...), la maturation de la plante et la partie de la plante soumise à l'extraction (**Martinez *et al.*, 2006**).



## *Conclusion*



### Conclusion

Les espèces d'*Alternaria* sont connus comme des agents saprophytes ou pathogènes de diverses cultures agricoles qui causent des pertes de récolte de la tomate sur une large gamme de cultures considérables chaque année.

Les traitements chimique de ces cultures agricoles infectées par des agents phytopathogènes, présent une source de contaminer de l'environnement en raison de leur toxicité élevée, se retrouver sur les produits finis (fruits) et stimuler la résistance à long terme aux ces agents phytopathogènes et d'assurer à la fois la sécurité alimentaire et la prévention des maladies.

Dans le but de protéger notre culture de tomate contre les attaques des agents phytopathogènes (les infection fongiques) et afin de valoriser notre flore locale, nous nous sommes intéressés d'étudier l'activité antifongiques des huiles essentielle de la partie aérienne de *T.algeriensis* et *R.graveolens* L., contre les espèces d'*Alternaria* qui attaquent notre culture.

Une étude de la biologie de l'agent pathogène à été faite par l'étude macroscopique qui a révélé une variation morphologique au sein de notre collection et a permis d'identifier deux morphotypes : cotonneux, duveteux avec une variabilité de pigmentation et par l'étude microscopique qui a révélé deux types de conidies : les grosses spores qui sont représentées par *A. linariae* syn.*tomatophila* et *A. solani* , et les petites spores qui sont représentées par *A. alternata* et *A. tenuissima*

Les rendements obtenus par les deux plantes sont généralement différent, l'HE de *T.algeriensis* est de l'ordre de 2.68% et de 0.68% pour l'huile essentielle de *R.graveolens* L.

Les résultats de l'activité antifongique obtenue pour les deux huiles essentielles montre des effets inhibiteurs sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores de quatre souches d'*Alternaria* avec des taux d'inhibition variés.

L'HE de *T.algeriensis*, montre une inhibition totale de la croissance mycélienne à une concentration de 0.5µL/mL chez la majorité des souches testées avec un taux d'inhibition

## Conclusion

---

de la germination des spores très remarquable pour toutes les souches, par contre l'HE de *R.graveolens* L., a révélé une activité antifongique plus ou moins remarquable que l'huile de *T.algeriensis*, pour cela l'HE de *T.algeriensis* a un effet inhibiteur puissant sur les souches fongiques testées par rapport de l'HE de *R.graveolens* L.

Les résultats de l'évaluation de la nature de l'effet antifongique de deux HEs ont montré que l'HE de *T.algeriensis* a un effet fongistatique sur *A. tenuissima*, *A. solani* (A43) et un effet fongicide sur *A.alternata* (A10) à la concentration de 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$  et *A. linariae* (51) à la concentration de 0.5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Alors que l'HE de *R.graveolens* L. a présenté un effet fongicide sur *A. alernata* (A10) à la concentration de 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

En fin, Il serait intéressant de faire des recherches dans le proche avenir, dans le but de tester l'efficacité de ces huiles in vivo pour mieux étudiée l'effet des ces huiles.



*Références bibliographiques*



# Références bibliographiques

## A

- Achi N., 2017.** Etude de l'activité antibactérienne des extraits essentiels des deux plantes à caractère thérapeutique : *Nigella* sp et *Thymus algeriensis* vis-à-vis quelques bactéries pathogènes à l'hôpital Boufarik. Mémoire de Master, Université Blida-1, Algérie, 64 p.
- Adebayo C.O., Aderiye B.L.,2010.** Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods. Res. J. Microbiol. 5 : 1070-1082.
- AFNOR., 1980.** Huile essentielle, recueil des normes françaises. NFT 75-006. Paris: AFNOR.
- Almeida, Mariana Cruz, et Alexandra C. Brand.,2017.** « Thigmo Responses: The Fungal Sense of Touch ». Microbiology Spectrum 5 (2).
- AMADIOHA A.C., 2003.** Evaluation of some plant extracts against *Colletotrichum lindemthianum* in cowpea. Acta. Phytopathol. Entomol. Hung., 38, 259, 265.
- Amrutha Chacko., Priscilla Helen Christy., Kavya KS.,2015.** Study on larvicidal activity of crude extracts of *Ruta graveolens* against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. International Journal of Mosquito Research 2(4): 01-06. ISSN: 2348-5906
- Aouar L, Sylvain L , Ammar O , Abderrahmane B & Carole B .,2012.**Taxonomic identification of *rhizospheric actinobacteria* isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens.« Canadian Journal of plant Pathology » .165-176.
- Armitage A.D., 2013.** *Alternaria alternata* leaf spot pathogens: genetics, evolutionary history and diagnostics.phd thesis, University of Warwick. 276 p.
- <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0040-2016>.
- Asgarpanah, J.,2012.** Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. Journal of Medicinal Plants Research [En ligne]. Vol. 6(23), pp.3942-3949.  
<http://www.academicjournals.org/JMPR>
- Attia, E.Z.; Abd El-Baky, R.M.; Desoukey, S.Y.; El Hakeem Mohamed, M.A.; Bishr, M.M.; Kamel, M.S., 2018.** Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of *Ruta graveolens* plants treated with salicylic acid under drought stress conditions. Futur. J. Pharm. Sci, 4, 254–264.
- Attou A.,2017.** Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. Algérie, 9 p.

**Auday., Anbagi., Mahdawi., Mustafa.,2021.**The Effect of Some Nanoparticles Fertilizer on the Chemical Characteristics of Growing *Ruta graveolens* L. Plant in in vivo.

## B

**Baka Z.A., Rashad Y.M.,2016.** Alternative control of early blight disease of tomato using the plant extracts of *Acacia nilotica*, *Achillea fragrantissima* and *Calotropis procera*. *Phytopathol. Mediterr.* 55:121-129.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem Toxicol* 46: pp. 446-475.

**Basu. PK., 1974.** Measuring early blight, its progress and influence on fruit losses in nine cultivars. *Can plant Dis Surv.* 54 :45-51.

**Bazylko A. et Strzelecka H., 2007.** A HPTLC densitometry determination of lutéoline in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia.*, 78 : 391-395.

**Bekhechi, C., abdelouahid, D.,2010.** les huiles essentielles. Office des publications universitaires Bouhaddouda N. 2016. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Univ Badji Mokhtar, Annaba.

**Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair, département de chimie, faculté des sciences de rabat

**BENTON., 2007 .**Tomato Plant Culture In the Field, Greenhouse, and Home Garden, Second Edition By J. Benton Jones, Jr. Copyright Year .

**Bessadat N., 2014a.** Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria* spp. responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. 199 p.

**Bessadat N., Benichou S., Kihal M. et Henni D., 2014b.** Aggressiveness and morphological variability of small spore *Alternaria* species isolated from Algeria. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 2(2S) 2320 – 8694.

**Bettaieb R., Bourgo S., Saidani Tounsi M., Fauconnier M.L. et Ksouri R., 2017.** Phytochemical composition and antioxidant activity of *La vandula dentate* extracts In *journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 39(2) 2096-2105.

**Bianchi, A., Zambonelli, A., D'Aulerio, A.Z. and Bellesia, F., 1997.** Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi in vitro. *Plant Diseases* 81, 1241–1246.

**Billerbeck, V.G., Roques, C.G., Bessie ´re, J.-M., Fonvielle, J.-L. and Dargent, R., 2001.** Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Can J Microbiol* 47, 9–17

**Blaise K., Couture L., Dostaler D., Berner L., 2001.** Variabilité phénétique du *Colletotrichum graminicola* du sorgho. *Can. J. Plant Pathol.* 23.

**Blancard D., Laterrot H., Marchoux, G. et Candresse T., 2012.** A colour handbook Tomato Diseases : identification, biology and control. Manson Publishing Ltd. 688 pp.

**Botton B., Bertron A., Fevere M., Cauthier S., Guoh.D., Larpent J.P, Raymond P., Sanglier JJ, Vaysser Y. et Veau S., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2eme ED Masson collection biotechnologies : 5-10.

**Boubaker, H.; Karim, H.; El Hamdaoui, A.; Msanda, F.; Leach, D.; Bombarda, I.; Vanloot, P.; Abbad, A.; Boudyach, E.H.; Aoumar, A.A.B., 2016.** Chemical characterization and antifungal activities of four *Thymus* species essential oils against postharvest fungal pathogens of citrus. Ind. Crops Prod, 86, 95–101.

**BOUKHATEM, M. N., FERHAT, A., & KAMELI, A., 2019.** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. Une, 3, 4.

**Boulos L., 1983.** Medicinal Plants of North Africa. Reference Publications, Algonac, 110.

**Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., 2007.** Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil extracted from the leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) of Morocco. Afr. Sci. Rev. Int. Sci. Technol. 3 (2) : 232-242.

**Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N., 2017b.** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Phytothérapie, 1-11.

**Bouzabata A., 2015.** Contribution a l'étude d'une plante médicinale et aromatique *myrtus communis* l.Faculté de Médecine, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.

**Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 4<sup>ème</sup> édition, Paris.

**Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L., 2000.** Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, MA, 1367

**Burt S., 2004.** Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods – a review. Int J Food Microbiol ;94:223–53.

## C

**Caldas, E.; Jones, A.D.; Ward, B.; Winter, C.K.; Gilchrist, D.G., 1994.** Structural characterization of three new AAL toxins produced by *Alternaria alternata* f. sp. lycopersici. J. Agric. Food Chem., 42, 327–333.

**Calmes B., 2011.** Réponses adaptatives d'*Alternaria brassicicola* au stress oxydatif lors de l'interaction avec les Brassicacées. Thèse de doctorat, Ecole Doctorale VENAM, 202p.

**Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L., Brun S et Penn P., 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, France. Laboratoire d'analyses de biologie médicale. 159p.

**Chaerani, R.; Voorrips, R.E., 2006.** Tomato early blight (*Alternaria solani*): The pathogen, genetics, and breeding for resistance. J. Gen. Plant Pathol., 72, 335–347.

**Chemat Smain , Ratiba Cherfouh , Brahim Y. Meklati & K.Belanteur.,2012.**Composition and microbial activity of thyme (*Thymusalgeriensisgenuinus*) essential oil, Journal ofEssential Oil Research, 5-11, 8-9.

**Chikhoun A., 2007.** huiles essentielles de thym et d'origan étude de la composition chimique , de l'activité antioxydante et antimicrobienne . institut National Agronomique El Harrach- Alger.

**Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S.,2017.** Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. Medicines, 4(3), 58.

**Christine J., 2000.** Maladies, insectes nuisibles et utiles de la pomme de terre. Edition IRDA sainte-foy Québec. p16.

## D

**Darvishi, E., Omid, M., Bushehri, A. A., Golshani, A., & Smith, M. L., 2013.** Thymol antifungal mode of action involves telomerase inhibition. Medical mycology, 51(, 826-834.

**Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G.,2002.** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology,74, 101–109.

**Dob, T.; Dahmane, D.; Benabdelkader, T.; Chelghoum, C., 2006.** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss et Reut. Int J Aromather., 16: 95-100.

**Donadu, M.G.; Peralta Ruiz, Y.; Usai, D.; Maggio, F.; Molina-Hernandez, J.B.; Rizzo, D.; Bussu, F.; Rubino, S.; Zanetti, S.; Paparella, A.; et al.,2021.** Colombian Essential Oil of *Ruta graveolens* against Nosocomial Antifungal Resistant Candida Strains. J. Fungi . 338, 13.

**Dorman H.J, Deans S.G., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88:308-316.

**Drbalah, A.; Shenashen, M.; Hamza, A.; Mohamed, A.; El Safty, S., 2018.** Antifungal activity of fabricated mesoporous silica nanoparticles against early blight of tomato. Egypt. J. Basic Appl. Sci. 5, 145–150.

## E

**El Haci I., 2015.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques de Sud d'Algerie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. Thèse de doctorat en Biologie, Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen, 188p.

**Ellis MB., Gibson IAS., 1975.** *Alternaria solani* no. 45 set 48. Common welth Mycologyca l institut, kew, Surrey, UK.

**El Kalamouni C., 2010.** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse.

**EL Mansouri K., 2013.** Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèses de Doctorat en médecine, Université Cadi Ayyad. 107p.

**Essawi T., Srour M., 2000.** Screening of some Palestinian plants for antibacterial activity. J.Ethnopharmacol. 70: 343-349.

## F

**Fabrocini V.C., 2007.** Comment se soigner avec L'AROMATHERAPIE et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos, migraines, palpitations, etc. Ed. de vecchi.4-17.

**Fandohan, P. Gbenou, JD. Gnonlonfin, B. Hell, K. Marasas, WFO. Wingfield, MJ., 2004.** Effect of essential oils on the growth of *fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in corn. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52 : 6824-6829.

**FAO., 2010.** Disponible sur : <http://faostate.fao.org> et <http://ecocrop.fao.org> .P4-5

**Faostat, 2017.** <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Tomate-page4.html>

**Farah Haddouchi , Tarik Mohammed Chaouche , Yosr Zaouali , Riadh Ksouri , Amina Attou , Abdelhafid Benmansour,,2013.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria, Food Chemistry 141, 253-258 p (256- 257).

**Ferhat, M.A., Meklati, B.Y. et Chemat, F., 2007.** Comparison of different isolation methods of essential oil from citrus fruits: cold pressing: hydrodistillation and microwave dry distillation, *Flavour Fragr J*, 22,494-504.

**Fiori, A.C.G., Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Vida, J.B., Scapim, C.A., Cruz, M.E.S. and Pascholati, S.F., 2000.** Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. *J Phytopathol* 148, 483–487.

## G

**GALLAGHER K. A., FENICAL W AND JENSEN P. R., 2010.** Hybrid isoprenoid secondary metabolite production in terrestrial and marine actinomycetes. *Current Opinion in Biotechnology* 21: 794-800.

**Grum-Grzhimaylo A. A., Georgieva M. L., Bondarenko S. A., Debets A. J. M., Bilanenko E.N.,2015.** On the diversity of fungi from soda soils. *Fungal Divers* 76, 27–74.

## H

**Hans W. K.(2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition,p. 54.  
Integrated Taxonomic Information System- Report; Rutaceae of North America update; database.; 2011.

**Hu Y., Zhang J., Kong W., Zhao G., Yang M., 2007.** Mechanisms of antifungal and ant aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food Chem.* 220 :1–8.

## I

**Ivanovaa A. , Kostovaa I. , Navasb H.R. , Villegas c .J .,2003 .** Volatile Components of Some Rutaceae *Species* . *Z. Naturforsch .* , 59c : p 169-173.

## J

**Jahani, M.; Pira, M.; Aminifard, M.H.0., 2020.** Antifungal effects of essential oils against *Aspergillus niger* *in vitro* and *in vivo* on pomegranate (*Punica granatum*) fruits. *Sci. Horti.*, 264, 109188.

**Jazet Dongmo P.M., Tatsadjieu L.N., Tchinda Sonwa E., Kuate J., Amvam Zollo P.H., Menut C., 2009.** Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *Afr. J. Agric. Res.* 4(4): 354-358.

**Jianu, C.; Golet, I.; Stoin, D.; Cocan, I.; Bujanc ă, G.; Mis, c ă, C.; Mioc, M.; Mioc, A.; S, oica, C.; Lukinich-Gruia, A.T.; et al.,2021.** Chemical Profile of *Ruta graveolens*, Evaluation of the Antioxidant and Antibacterial Potential of Its Essential Oil, and Molecular Docking Simulations. Appl. Sci., 11, 11753.

**Jihad M et al.,2015.** The chemical composition and Antibacterial Properties of *Ruta graveoles*L. Essential oil in Grown in Northern Jordan volume 8P139-143.

**Joanna, H.,2012.** Le guide des huiles essentielles et leurs applications thérapeutiques. Le courrier du livre, paris.

## K

**Kaloustian J., et Hadji-Minaglou F., 2012.** La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Springer- verlag, Paris-France : 17-160.

**Kasmi m., aourach m., el boukari m., barrijal s.et essalmani h., 2018.**efficacité des extraits aqueux des plantes aromatiques et médicinales contre la pourriture grise de la tomate au maroc. Comptes rendus -biologies. 340(8):386- 393.

**Khled khoudja N., Boulekbache-Makhlouf L., Madani K., 2014.** Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. Industrial Crops and Products, 52, 177-182.

**Knobloch, K., Pauli, P., Iberl, B., Weigand, H. and Weiss, N.,1989.** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J Essential Oil Res 1, 119–128.

**Kumar A., Shukla R., Singh P., Prasad C.S., Dubey NK., 2008.** Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post-harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 9: 575–580.

**Kuzovkina I. , Al - terman I. , Schneider B. ,2004.** Specific accumulation and revised structures of acridone alkaloid glucosides in the tips of transformed roots of *Ruta graveolens* . Phytochemistry : 65 p1095-1100.

## ℒ

**Labiod R., et Aouadi S., 2016.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide.

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en biochimie, option biochimie appliquée, Département de Biochimie, Université Badji Mokhtar-Annaba : 128 p.

**Lagunez R., 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.

**Lang G., Buchbauer G., 2012.** A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr. J.* 27 : 13–39.

**LARDRY JM., HABERKORN V., 2007.** Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation. *Kinesitherapy Reviews.* 61: 18-23.

**Latigui A., 1984.** Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse de Doctorat en Science Agronomique. INA EL-Harrach. Alger, 162p.

**Laurent J. 2017.** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Université Toulouse III-Paul Sabatier.

**Lawrence D.P., Gannibal P.B., Dugan F.M., Pryor B.M. 2014.** Characterization of *Alternaria* isolates from the infectoria species group and a new taxon from *Arrhenatherum*, *Pseudoalternaria arrhenatheria* sp. nov. *Mycol.Prog.* 13:257–276

**Lawrence D.P., Gannibal P.B., Peever T.L., Pryor B.M. 2013.** The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia* 105(3) : 530–546.

**Leon R. H. O., 2005.** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.

**Logreico A. Moretti, A. Solfrizzo, M., 2009.** *Alternaria* toxins and plant diseases : an overview of origin, occurrence and risks. World Mycotoxin Journal., 2 (2), 129-140.

**López-Meneses, A.K.; Plascencia-Jatomea, M.; Lizardi-Mendoza, J.; Rosas-Burgos, E.C.; Luque-Alcaraz, A.G.; Cortez-Rocha, M.O., 2015.** Antifungal and antimycotoxigenic activity of essential oils from *Eucalyptus globulus*, *Thymus capitatus* and *Schinus molle*. Food Sci. Technol., 35, 664–671.

**Lucchesi M.E., 2006.** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles Thèse de Doctorat, Décembre, p. 16-59.

## M

**MADR. 2010.** Statistiques du Ministère de l'Agriculture et du développement rural.

**Magina M.D.A., Dalmarco E.M., Wisniewski A., Simionatto E.L., Dalmarco J.B., Pizzolatti M.G., Brighente I.M.C. 2009.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. J. Nat. Med. 63: 345-350.

**Mahmoud., Eman A., Hosam O., Elansary., Diaa O., El Ansary et Fahed A., Al Mana., 2020.** Elevated Bioactivity of *Ruta graveolens* against Cancer Cells and Microbes Using Seaweeds. 15p

**Mamgain A., Roychowdhury R. et Tah J., 2013.** *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. Research Journal of Biology, 1: 01-09

**Mancuso G, Borgonovo G, Scaglioni L, Bassoli A., 2015.** Phytochemicals from *Ruta graveolens* activate TAS2R bitter taste receptors and TRP channels involved in gustation and nociception. Molecules. Oct;20(10):18907-22.

**MAOUNI. A, A. LAMARTI, A. DOUIRA, A. BADOUC., 2001.** Effect of calcium derivatives on the colonization of stored pear by fungic species. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux., 140, 79, 88.

**Marrouf A , Tremblin G., 2009.** Abrégé de biochimie appliquée, EDP sciences.

**Marouf, A., and G. Tremblin. 2009.** "Abrégé de biochimie appliquée. Ed." EDP Sciences, Grenoble, France .

**Masango, P., 2005.** Cleaner production of essential oils by steam distillation, J Clean Prod, 13 : 833-839.

**Mecheri, F., Akdif, N., 2017.** Contribution à l'étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance de quelques microorganismes pathogènes. [en ligne]. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de master II : Biotechnologie Microbienne . Boumerdes : Faculté des sciences de la nature et de la vie, département des sciences biologique, 42p.

**Meena, M., Swapnil, P., Upadhyay, R.S., 2017.** Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria* mycotoxins (TeA, AOH and AME) in different *Alternaria* species from various regions of India. *Sci Rep*, 7, 8777.

**Mejri J., Abderrabbab M. 2010.** Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L :Influence of drying, hydro-distillation duration and parts. *Industrial Cops and Products* , 32: 671-673.

**Messiaen, CM. Blancard, D. Rouxel, F. Lafon, R., 1991.** Les maladies des plantes maraichères, INRA Paris, 1991, 552pp.

**Michel M., 1991.** Maladies et ravageurs de la pomme de terre. Edition TH. Mann. Gelsenkirchen-buer ISBN3-7862-0090-4. Verlagth-mann-nordring 10 D 4650 gelsenkirchen-buer. Page : 21-22-23.

**Millet A., 2017.** Isolement de microorganismes à partir du sol des régions arides et sélection d'isolats à effet antagoniste sur l'agent de l'Alternariose. Thèse de Doctorat. Université de Constantine1, 122p.

**Modzelewska A., Sur S., Kumar KS., et Khan SR., 2005.** Sesquiterpenes : Natural products that decrease cancer growth. *Current. Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*. N° 5: 477-499

**Moënné-Loccoz Y., Powell J., Higgins P., McCarthy J., and O'Gara F. 1998.** An investigation of the impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* F113 on the growth of sugarbeet and the performance of subsequent clover-*Rhizobium symbiosis*. *Applied Soil Ecology*, 7(3), 225-237.

**Moore C.W., Valle R.D., Koy J.M., Pramanik A., Gordon R.E.1992.** Lesions and preferential initial localization of [s-methyl-H3] bleomycin A2 on *Saccharomyces cerevisiae* cell walls and membranes. *Antimicrob Agents Chemother.* 36: 2497–505.

**Morales R. 2002.** The history, botany and taxonomy of genus *Thymus*. In: *Thyme – the genus Thyme*, Stahl-Biskup E. & Sàez F., 2002, Taylor and Francis, London, 331p.

**Mustapha El Ajjouri , Mohamed Ghanmi , Badr Satrani , Fatiha Amarti , Mohamed Rahouti , Abderrahman Aafi , My Rachid Ismaili & Abdellah Farah, 2010.** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294.

## N

**Nagendra Prasad M.N., Shankara Bhat S., Sreenivasa M.Y.,2010.** Antifungal activity of essential oils against *Phomopsis azadirachtae*: the causative agent of dieback disease of neem. *J. Agric. Technol.* 6 :127-133.

**Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, VD .,2017.** Huiles essentielles et activité antifongique. *Pharmaceuticals* , 10 (4), 86.

**Neergaard, P., 1945.** Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*: taxonomy, parasitism, economic significance. Oxford University Press, London. 2- à- 287. Ness, VonEsenbeck, GG.(1817). *System der Pilze UridSchwamme*, Wurzburg. p234

**Nikkhah, M.; Hashemi, M.; Najafi, M.B.H.; Farhoosh, R.,2017.** Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit. *Int. J. Food Microbiol.* 257, 285–294.

## O

**Ouis N., 2014.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat en sciences. Université d'Oran 1-239p.

**Ouis, N.,2015.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. Diss. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger.

## P

**Pathak S , Multani A.S. , Banerji P. , Banerji P.,2003.** Ruta selectively induces cell death in brain cancer cells but proliferation in normal peripheral blood lymphocytes : A novel treatment for human brain cancer . Int . J. Oncol . , 23 : 975-982 .

**Peralta-Ruiz, Y.; Grande Tovar, C.; Sinning-Mangonez, A.; Bermont, D.; Pérez Cordero, A.; Paparella, A.; Chaves-López, C.,2020.** Colletotrichum gloesporioides inhibition using chitosan-*Ruta graveolens* L essential oil coatings: Studies *in vitro* and *in situ* on *Carica papaya* fruit. Int . J. Food Microbiol.326, 108649.

**Pinto, E.; Gonçalves, M.J.; Hrimpeng, K.; Pinto, J.; Vaz, S.; Vale-Silva, L.A.; Cavaleiro, C.; Salgueiro, L.,2013.** Antifungal activity of the essential oil of *Thymus villosus* subsp. lusitanicus against *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* and dermatophyte species. Ind. Crops Prod. 51, 93–99

**Pitt J.I. et Hocking A.D., 1997.** Fungi and Food Spoilage, 2nd Ed. Blackie Academic and Professional, London.

**Posada L., 2016.** Solanum lycopersicum a monograph. Agricultural Science. Colegio Bolivar 34p. Pryor B.M., Gilbertson R.L. 2000. Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. Mycol.Res. 104: 1312- 1321.

**Prusky, D.; Eshel, D.; Kobiler, I.; Yakoby, N.; Beno-Moualem, D.; Ackerman, M.; Zuthji, Y.; Ben Arie.,2001.** Postharvest chlorine treatments for the control of the persimmon black spot disease caused by *Alternaria alternata*. Postharvest Biol. Technol. 22, 271–277.

**Pryor, B. M., Michailides, T. J.,2002.** Morphological, Pathogenic, and Molecular Characterization of *Alternaria* Isolates Associated with *Alternaria* Late Blight of Pistachio. Phytopathology, 92: 406-416.

## Q

**Quezel P. and Santa S.,1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I et II, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1170.

## R

**Rahmani.A \***, **Bouanani. A**, **Kacemi. A**, **Baba Hamed. K.**, 2017. Contribution of g.i.s. for the survey and the management of water resources in the basin “benhandjir–tirkount” (ain sefra) – mounts of ksour - saharian atlas –algeria, *Fundam Appl Sci*, 9(2), 829-846.

**Ramezani Y.**, **Taheri P .et Mamarabadi M .**,2019. Identification of *Alternaria* spp. associated with tomato early blight in Iran and investigating some of their virulence factors. In *Journal of Plant Pathology*.

**Ranc N.**, 2010. Analyse du polymorphisme moléculaire de gènes de composantes de la qualité des fruits dans les ressources génétiques sauvages et cultivées de tomate ; recherche d’associations gènes/QTL. Thèse de Doctorat en Sciences, l’Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier. 261p.

**Rasooli, I.**, **Rezaei, M.B.** and **Allameh, A.**,2006. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-parlock*. *Food Control* 17, 359–364.

**Rassem, H. H.**, **Nour, A. H.**, & **Yunus, R. M.**,2016. Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117-127.

**Ratheesh M & Helen A.** Anti-inflammatory activity of *Ruta graveolens* Linn. on carrageenan induced paw oedema in waster male rats. *Indian African Journal of Biochemistry*. 1209-1211.

**Razak Nisreen j, and Abass mohammed h.**,2021. First report of *alternaria arborescens* causing early blight on tomato in Iraq. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*.230-232.p(230-231).

**Reddy Desam Nagarjuna & Al-Rajab Abdul Jabbar .**,2016. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of *Ruta graveolens* L. volatile oils, *Cogent Chemistry*,11,p (8).

**Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M. et Tantaoui-Elaraki , A., 1993.** ,  
Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar  
medium. Journal of Essential Oil Research. 5: 179-184.

**Righi N., Boumerfeg S., Fernandes P. A. R., Deghima A., Baali F., Coelho E., Cardoso  
S. M.,Coimbra M. A., Baghiani A., 2020.** *Thymus algeriensis* Bioass and Reut: Relationship  
of phenolic compound composition with in vitro/in vivo antioxidant and antibacterial  
activity. Food Research International, 136, 19500.

**Romagnoli, C., Bruni, R., Andreotti, E., Rai, M.K., Vicentini, C.B. and Mares, D.,  
2005.** Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild  
Indian Tagetes patula L. Protoplasma 225, 57–65.

**Romanik G., Gilgenast E., Przyjazny A. et Kaminski M., 2007.** Techniques of preparing  
plant material for chromatographic separation and analysis, J Biochem Biophys Methods, 70,  
253-261.

## S

**Saharan G.S., Mehta N., Meena P.D., Dayal P., 2016.** *Alternaria* diseases of crucifers:  
biology, ecology and disease management. Springer, Singapore.

**Satrani.B, Ghanmi.M, Farah.A, Aafi.A, Fougrach.H, Bourkhiss.B, Bousta.D and Talbi.  
M, ., 2007.** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle  
de *Cladanthus mixtus*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, 85–96.

**Schoch CL, et al., 2020.** NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources  
and tools. Database (Oxford): baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.

**Scimeca D., 2007.** Les plantes du bonheur, Ed. Alpen : 12-17.

**Sébastien DOERPER., 2008.** MODIFICATION DE LA SYNTHÈSE DES  
FUROCOUMARINES CHEZ *Ruta graveolens* L. PAR UNE APPROCHE DE GÉNIE  
METABOLIQUE. thèse de Doctorat En Sciences Agronomiques. Institut National  
Polytechnique de Lorraine, Français, 200p.(33).

**Selvakumar P., Edhaya Naveena .B et Prakash D.S., 2012.** Studies on the antidandruff activity of the essential oil of *coleus amboinicus* and *eucalyptus globules*, *asian pacific journal of tropical biomedicine*. pp 715-719.

**Shamal Badhusha , Rupesh Kumar, Angitha Ajay, Blainy Baby, Abhishek, Sanjay K Gowda, B Ramesh.,2020.** Traditional uses, Phytochemistry and Ethanopharmacology of *Ruta graveolens* Linn: A review. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*. Vol: 8, Issue: 3, 1-4. ISSN: 2348:8948

**Shankara Naika, Joep van Lidt de Jeude, Marja de Goffau, Martin Hilmi, Barbara van Dam., 2005.** La culture des tomates :production, transformation et commercialization. Wageningen : Fondation Agromisaet CTA.105.P(6).

**Siciliano I., Gilardi G., Giuseppe O., Ulrich G., Gullino, M. L. et Garibaldi A.,2017.** Identification and characterization of *Alternaria* species causing leaf spot on cabbage,  
**Simmons EG., 2007.***Alternaria*. An identification Manual :CBS biodiversity series N6.CBS Fungal biodiversity centre, Utrecht, the Netherlands.755p.

**Si Mohammed .A.,2010.** étude de la compatibilité végétative chez des populations de *Fusarium oxysporum* isolées dans l'ouest algérien. Mémoire de magister ; université d'Oran,74p.

**Smith, J.E.; Mengesha, B.; Tang, H.; Mengiste, T.; Bluhm, B.H., 2014.** Resistance to *Botrytis cinerea* in *Solanum lycopersicoides* involves widespread transcriptional reprogramming. *BMC Genom.* 2014, 15, 1–18.

**Snoussi S., 2010.** Rapport de mission : Etude de base sur la tomate en Algérie. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, Direction des statistiques. (MADR).

**Soleimani M. , Aberoomand - Azar P. , Saber - Tehrani M. , Rustaiyan A.,2009.** Volatile Composition of *Ruta graveolens* L. of North of Iran . *World Appl . Sci . J. , 7 ( 1 )* .D : 124-126T.

**Somma, S.; Pose, G.; Pardo, A.; Mulè, G.; Pinto, V.F.; Moretti, A.; Logrieco, A.F.,2011.** AFLP variability, toxinproduction, and pathogenicity of *Alternaria* species from Argentinean tomato fruits and puree. *Int. J.Food Microbiol.* 145, 414–419.

**Soylu, E.M., Tok, F.M., Soylu, S., Kaya, A.D. and Evrendilek, G.A.,2005b.** Antifungal activities of the essential oils on post-harvest disease agent *Penicillium digitatum*. Pak J Biol Sci 8, 25–29.

**Soylu, E.M., Soylu, S. and Kurt, S.,,2006.**Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. Mycopathologia 161, 119–128.

**Soylu, H. Yigitbas, E.M. Soylu and S.,,2007.** Kurt. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-507.

**Stammler, G.; Bohme, F.; Philippi, J.; Miessner, S.; Tegge, V.,2014.** Pathogenicity of *Alternaria* species on potatoes and tomatoes. Fourteenth Euroblight Workshop PPO Spec. Rep. 16, 85–96.

**Suelmassi A.,1991.**Les plantes médicinales du Maroc. Deuxième édition. Casablanca, Maroc  
**Sumonrat C., Suphitchaya C. and Tipparat H.,2008.** Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 30(1):125-131.

## *T*

**Taralova, EH. Schlecht, J. Kobus, B. Barry, MP.,2011.** Modelling and visualizing morphology in the fungus *Alternaria*. Fungal pathology. 115: 1163-1173.

**Teixeira B., Marques A., Ramos C.,2013.** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. Industrial Crops and Products. 43: 587-595.

**THOLL D.,2006.** Terpene synthases and the regulation, diversity and biological Roles of terpene metabolism. Current Opinion in Plant Biology 9: 297-304

**Touaibia M.,2012.** Composition chimique et activité anti-fongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. sur milieu de laboratoire et sur les fruits du fraisier. Nature & Technologie. 12 :66-72.

**Touhami A., 2017.** Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 114p.

**Trombetta, F. Casteli, M. G. Sarpietro, V. Venuti, M. Cristani, C. Daniele, A. Saija, G. Mazzanti and G. Bisignano.,2005.** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrob. Agents Chemother, 49 (6), 2474–2478.

## V

**Vanachter A., Van Wembeke. and Van Assche C.,1983.** Potential danger for infection and spread of root disease in hydroponics. Acta Hort., 133, pp.119-127.

**Verzera, V., Mondello, L., Ragusa, S., & Dugo, G.,2000.** Essential oil from leaves of typical Mediterranean plants. Note II *Ruta chalepensis* L.. *Essenze e derivati agrumari*, 7, 207–210.

**Virginia E., Fernández P. et Andrea P.,2016.** *Alternaria* Species and Their Associated Mycotoxins In Mycotoxigenic Fungi.

## W

**Wang H.K., Zhang T.Y., Zhang M., 2001.** Application of sequencing of 5.8S rDNA, ITS1 and ITS2 on identification and classification of *Alternaria* at species level. *Mycosystema* 20(2): 168-173.

**Wang, H.; Yang, Z.; Ying, G.; Yang, M.; Nian, Y.; Wei, F.; Kong, W.,2018.** Antifungal evaluation of plant essential oils and their major components against toxigenic fungi. *Ind. Crops Prod.* 120, 180–186.

**Woudenberg J., Groenewald J., Binder M., Crous P., 2013.** *Alternaria* redefined. Stud. Mycol. 75:171–212

**Woudenberg J.H.C., Truter M., Groenewald J.Z., Crous P.W., 2014.** Large-spored *Alternaria* pathogens in section Porri disentangled. Stud. Mycol. 79: 1–47.

## Y

**Yaser Sharifi, Valiollah Ghasemi Omran, Toktam Sadat Tavabe Ghavami, Gorban Ali Nematzadeh Gharakhili<sup>4</sup>, Mohammad Ali Ebrahimzadeh., 2019.** Effect of Salicylic acid on Phenols and flavonoids content and DPPH scavenging activity in cell suspension culture of Iranian sodab (*Ruta graveolens*). Tabari Biomed Stu Res J. 1(4):18-21.

## Z

**Zaibet W., 2016 .** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD). UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF-1 UFAS (ALGERIE).

**Zakarya D, Fkih-Tetouani S, Hajji F., 1993.** Chemical composition antimicrobial activity relationships of Eucalyptus essential oils. *Plantes Méd Phytother*;26:319–31.

**ZAYYAD Nadia, FARAH Abdellah, BAHHOU Jamila. 2014.** Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. Bleicherianus*,

**Zhang Yuanyuan a,b, Yue Yu c , Ruifang Jia b , Lin Liu b , Jun Zhao., 2021.** Occurrence of *Alternaria* leaf blight of sunflower caused by two closely related species *Alternaria solani* and *A. tomatophila* in Inner Mongolia. *Oil Crop Science*.74-80.P(77).

**Znini M., Cristofari G., Majidi L. Paolini J., Desjobert J.M., Costa J., 2013.** Essential oil composition and antifungal activity of *Pulicaria mauritanica* Coss., against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Food Sci. Technol*. 54: 564-569

**Zouari, N., Fakhfakh, N., Zouari, S., Bougatef, A., Karray, A., Neffati, M., & Ayadi, M. A. ,2011.** Chemical composition, angiotensin I- converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss.etReut. (Lamiaceae). Food and bioproducts processing , 89(4), 257



*Annexes*



## Annexe1: Milieux de culture

### PDA : Pomme de terre Agar

- Pomme de terre 200 g
- Sucrose 10 g
- Agar 15 g
- Eau distillée 1000 ml

### PCA : Pomme de terre Carotte Agar

- Pomme de terre 40 g
- Carotte 40 g
- Agar 20 g
- Eau distillée 1000ml

## Annexe2 :

### Cinétique de la croissance mycélienne

- De la plante de *Ruta graveolens* L.

### Cinétique de la souche A10

A10	Témoin	5	6	6.5	7
3j	2.4±0	0	0	0	0
4j	2.8±0	0	0	0	0
5j	3.65±0	0	0	0	0
6j	4.15±0	0	0	0	0
7j	4.2±0	0	0	0	0
8j	5±0	0	0	0	0
9j	5.3±0	0	0	0	0
10j	5.4±0	0	0	0	0

### Cinétique de la souche AT4

AT4	Témoin	5	6	6.5	7
3j	3.4±0	0.9±0.14	0.45±0.64	0.4±0.57	0.2±0.49
4j	3.65±0	1.1±0.14	0.52±0.74	0.45±0.64	0.25±0.53
5j	4.6±0	1.45±0.35	1.27±0.39	1.1±0.42	0.4±0.57
6j	4.9±0	2.07±0.11	1.47±0.53	1.17±0.46	0.47±0.67
7j	5.05±0	2.57±0.11	1.72±0.81	1.52±0.88	0.6±0.85
8j	5.2±0	2.77±0.4	1.85±0.92	1.7±0.99	0.7±0.99
9j	5.3±0	2.9±0.14	1.92±0.95	1.87±0.95	0.82±1.17
10j	4.5±0	3.02±0.24	2.03±0.8	2±0.79	0.92±1.31

### Cinétique de la souche A43

A43	Témoin	5	6	6.5	7
3j	1.8±0	0.55±0.79	0±0	0±0	0±0
4j	2.05±0	1.17±0.11	0.45±0.64	0.4±0.57	0±0
5j	2.5±0	1.45±0.42	0.97±0.04	0.85±0.07	0±0
6j	2.75±0	1.77±0.71	1.1±0.14	0.92±0.11	0±0
7j	3.15±0	2.32±0.39	1.4±0.35	1.3±0.42	0.4±0.57
8j	3.3±0	2.37±0.39	1.95±0.35	1.55±0.57	0.57±0.81
9j	3.7±0	2.52±0.25	2.13±0.24	1.87±0.32	0.77±1.1
10j	3.8±0	3.1±0.25	2.38±0.74	1.96±0.34	0.92±1.3

### Cinétique de la souche A51

A51	Témoin	5	6	6.5	7
3j	3.2±0	0.45±0.64	0±0	0±0	0±0
4j	3.4±0	0.55±0.78	0.47±0.67	0±0	0±0
5j	4.5±0	0.85±1.2	0.75±1.06	0.4±0.57	0±0
6j	5.25±0	1.52±0.6	1.4±0.71	0.62±0.88	0±0
7j	6.35±0	1.82±0.6	1.57±0.71	1.4±0.78	0.35±0.49
8j	7±0	2.37±0.31	2.17±1.1	1.62±0.95	0.62±0.88
9j	7.5±0	3.07±0.75	2.65±0.78	2.12±1.03	0.71±1.00
10j	7.7±0	3.52±0.53	2.77±0.81	2.65±0.78	0.85±1.20

### ➤ De la plante de *Thymus algeriensis*

### Cinétique de la souche A10

A10	Témoin	0.5	1	2	4
3j	2.4±0	0.35±0.49	0	0	0
4j	2.8±0	0.7±0	0	0	0
5j	3.85±0	0.75±0.07	0	0	0
6j	4.15±0	0.8±0	0	0	0
7j	4.2±0	0.8±0.07	0	0	0
8j	5±0	0.85±0.07	0	0	0
9j	5.3±0	0.9±0	0	0	0
10j	5.4±0	0.95±0.07	0	0	0

### Cinétique de la souche AT4

AT4	Témoin	0.5	1	2	4
3j	2.5±0	0	0	0	0
4j	3.5±0	0	0	0	0
5j	4.6±0	0	0	0	0
6j	5.7±0	0	0	0	0
7j	6.3±0	0	0	0	0
8j	7.5±0	0	0	0	0
9j	7.8±0	0	0	0	0
10j	8.2±0	0	0	0	0

### Cinétique de la souche A43

A43	Témoin	0.5	1	2	4
3j	1±0	0	0	0	0
4j	1.3±0	0	0	0	0
5j	1.6±0	0	0	0	0
6j	1.9±0	0	0	0	0
7j	2.3±0	0	0	0	0
8j	2.85±0	0	0	0	0
9j	2.9±0	0	0	0	0
10j	3.3±0	0	0	0	0

### Cinétique de la souche A51

A51	Témoin	0.5	1	2	4
3j	1.3±0	0	0	0	0
4j	2.7±0	0	0	0	0
5j	3.6±0	0	0	0	0
6j	4.35±0	0	0	0	0
7j	5.2±0	0	0	0	0
8j	5.6±0	0	0	0	0
9j	6.1±0	0	0	0	0
10j	6.35±0	0	0	0	0

### Annexe3 :

#### Taux de la croissance mycélienne

##### ➤ De la plante de *Thymus algeriensis*

Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en cas d'HE de *T.algeriensis*.

<i>T.algeriensis</i>	<b>A10</b>	<b>AT4</b>	<b>A43</b>	<b>A51</b>
<b>0.5µl/ml</b>	92. 70	100	100	100
<b>1µl/ml</b>	100	100	100	100
<b>2µl/ml</b>	100	100	100	100
<b>4 µl/ml</b>	100	100	100	100

- De la plante de *Ruta graveolens* L.
- Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en cas d'HE de *R.graveolens* L.

<i>R.graveolens</i> L.	<b>A10</b>	<b>AT4</b>	<b>A43</b>	<b>A51</b>
<b>5µl/ml</b>	100	49.58	34.21	62.07
<b>6µl/ml</b>	100	70.20	53.42	71.81
<b>6.5µl/ml</b>	100	70.83	64.21	73.37
<b>7 µl/ml</b>	100	93.33	83.68	92.85

#### Annexe 4 :

#### Taux de la germination des spores

- De la plante de *Thymus algeriensis*

Le taux d'inhibition de la germination des spores (cas de *T.algeriensis*)

<i>T.algeriensis</i>	<b>A10</b>	<b>AT4</b>
<b>0.5µl/ml</b>	79	85
<b>1µl/ml</b>	88	93
<b>2µl/ml</b>	90	96
<b>4 µl/ml</b>	96	100

- De la plante de *Ruta graveolens* L.

Le taux d'inhibition de la germination des spores (cas de *R.graveolens* L.)

<i>R.graveolens</i> L.	<b>A10</b>	<b>AT4</b>
<b>5µl/ml</b>	100	85
<b>6µl/ml</b>	100	90
<b>6.5µl/ml</b>	100	92
<b>7µl/ml</b>	100	94

## Résumé

Dans le cadre de la recherche de substances naturelles antifongiques, nous avons testé l'effet antifongique in vitro des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la région de Nâama : *Thymus algeriensis* et *Ruta graveolens* L. Les huiles essentielles extraites du (*Thymus algeriensis*) et de (*Ruta graveolens* L.) ont été testées vis-à-vis de quatre souches fongiques des *Alternaria* spp responsables de l'alternariose de la tomate.

L'identification des souches à été basée sur les caractères cultureux et les caractères morphologiques. Les souches identifiées appartiennent au espèces *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* et *Alternaria solani*.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation qui nous a permis d'obtenir un rendement de 0.68 % et 2.68 % pour *Ruta graveolens* L. et *Thymus algeriensis* respectivement. L'étude de l'activité antifongique de ces huiles essentielles a révélé une importance activité sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores des souches testées.

L'huile essentielle de *Thymus algeriensis* possède une activité puissante à des faibles concentrations leur CMI était autour de 0.5µl/ml pour les trois souches (*Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* et *Alternaria solani*) et 1µl/ml pour la souche d'*Alternaria alternata*, alors que celle *Ruta graveolens* L. était de 5µl/ml contre *Alternaria alternata* et supérieur de 7µl/ml contre *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* et *Alternaria solani*.

Alors que pour la germination des spores, une inhibition totale (100%) a été enregistré pour l'huile essentielle de *Ruta graveolens* L. à la concentration de 5µl/ml pour la souche A10, par contre pour la souche AT4, on remarque qu'il y a une inhibition importante supérieure à 80% aux concentration (5µl/ml , 6µl/ml, 6.5µl/ml et 7µl/ml), bien que, pour l'huile essentielle de *T.algeriensis*, l'inhibition totale (100%) de la germination des spores a été obtenue chez la souche AT4 à la concentration de 4 µL/mL. Cependant, la germination des spores de la souche A10, n'est pas été inhibée totalement aux concentrations testées (0.5 µL/mL, 1 µL/mL, 2µL/mL et 4 µL/mL).

Les résultats obtenus montrent que lors de la mise en place d'une stratégie de lutte éventuel nous aurions la possibilité d'utiliser ces souches et ces huiles essentielles comme des bio-fongicides contre les champignons pathogènes de la tomate.

**Mots clés :** *Thymus algeriensis*, *Ruta graveolens* L., *Alternaria* spp., *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* , *Alternaria solani*, Huile essentielle, Activité antifongique.

## *Abstract*

As part of the search for natural antifungal substances, we tested the antifungal effect in vitro of the essential oils of two aromatic plants of the Nâama region: *Thymus algeriensis* and *Ruta graveolens* L. The essential oils extracted from (*Thymus algeriensis*) and (*Ruta graveolens* L.) have been tested against four fungal strains of *Alternaria* spp responsible for tomato alternariosis

The identification of strains was based on cultural and morphological traits. The identified strains belong to the species *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* and *Alternaria solani*.

The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation which allowed us to obtain a yield of 0.68% and 2.68% for *Ruta graveolens* L. *Thymus algeriensis* and respectively.

The study of the antifungal activity of these essential oils revealed an important activity on the mycelial growth and germination of the spores of the strains tested.

The essential oil of *Thymus algeriensis* has a powerful activity at low concentrations their MIC was around 0.5 µl/ml for the three strains (*Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* and *Alternaria solani*) and 1 µl/ml for the strain of *Alternaria alternata*, whereas *Ruta graveolens* L. was 5 µl/mL against *Alternaria alternata* and higher by 7 µl/mL against *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* and *Alternaria solani*.

Whereas for the germination of spores, a total inhibition (100%) was recorded for the essential oil of *Ruta graveolens* L. at the concentration of 5 µl/ml for strain A10, on the other hand for strain AT4, it is noted that there is a significant inhibition greater than 80% at the concentration (5 µl/mL, 6 µl/mL, 6.5 µl/mL and 7 µl/mL), although, for the essential oil of *T.algeriensis*, the total inhibition (100%) Spore germination was obtained in the AT4 strain at a concentration of 4 µL/mL. However, spore germination of the A10 was not completely inhibited at the concentrations tested (0.5 µL/mL, 1 µL/mL, 2 µL/mL and 4 µL/mL).

The results obtained show that during the implementation of a possible control strategy we would have the possibility to use these strains and these essential oils as bio-fungicides against the pathogenic mushrooms of the tomato.

Keywords: *Thymus algeriensis*, *Ruta graveolens* L., *Alternaria* spp., *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae*, *Alternaria solani*, Essential oil, Antifungal activity.

## ملخص

في إطار البحث عن المواد الطبيعية المضادة للفطريات، اختبرنا التأثير المضاد للفطريات في المختبر للزيوت الأساسية لنباتين عطريين في منطقة النعامة: تم اختبار الزيوت الأساسية المستخرجة من (*Thymus algeriensis*) و (*L. Ruta graveolens*) ضد أربع سلالات فطرية من spp *Alternaria* مسؤولة عن مرض الطماطم. استند تحديد السلالات إلى السمات الثقافية والمورفولوجية. تنتمي السلالات المحددة إلى الأنواع *Alternaria alternata* و *Alternaria tenuissima* و *Alternaria solani* و *Alternaria linariae*.

تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي الذي سمح لنا بالحصول على عائد بنسبة 0.68% و 2.68% *Thymus algeriensis* و *L. graveolens* بالترتيب.

كشفت دراسة النشاط المضاد للفطريات لهذه الزيوت الأساسية عن نشاط مهم ضد النمو الفطري و ضد تشكل الأبواغ على السلالات التي تم اختبارها. يتمتع زيت *Thymus algeriensis* الأساسي بنشاط قوي بتركيزات منخفضة، وكانت قيمة CMI حوالي 0.5 ميكرولترا مل ضد السلالات الثلاث (*Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* و *Alternaria solani*) و 1 ميكرولترا مل ضد سلالة *Alternaria alternata*، في حين أن *L. graveolens*. كان أقل أو يساوي 5 ميكرولترا مل ضد السلالة *Alternaria alternata* و أكثر من 7 ميكرولترا مل بالنسبة ل *Alternaria tenuissima*, *Alternaria linariae* و *Alternaria solani*.

بينما بالنسبة الى تشكل الأبواغ، تثبيط كلي (100%) تم تسجيله للزيت العطري *L. graveolens*. بتركيز 5 ميكرولترا مل للسلالة A10، على عكس السلالة AT4، يلاحظ أن هناك تثبيطًا كبيرًا أكبر من 80% عند التركيزات (5 ميكرولترا مل، 6 ميكرولترا مل، 6.5 ميكرولترا مل و 7 ميكرولترا مل، على الرغم من أنه بالنسبة للزيت الأساسي لـ *T. algeriensis*، فإن التثبيط الكلي لتشكيل الأبواغ (100%) تم الحصول عليه في سلالة AT4 بتركيز 4 ميكرولترا مل ومع ذلك، لم يتم تثبيط إنبات أبواغ A10 تمامًا عند التركيزات التي تم اختبارها (0.5 ميكرولترا مل، و 1 ميكرولترا مل، و 2 ميكرولترا مل و 4 ميكرولترا مل).

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أنه أثناء تنفيذ استراتيجية التحكم المحتملة سيكون لدينا إمكانية استخدام هذه السلالات وهذه الزيوت الأساسية كمبيدات فطرية حيوية ضد فطر الطماطم المسبب للأمراض.

الكلمات الرئيسية: *Alternaria solani*, *Alternaria linariae*, *Alternaria tenuissima*, *Thymus algeriensis*, *Ruta graveolens*, spp *Alternaria*, *Alternaria alternata*. الزيت الأساسي، النشاط المضاد للفطريات.