

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Salhi Ahmed –Naâma-



Institut des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de
Master Académique en sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de
Pulicaria mauritanica et *Micromeria debilis* contre quelques
champignons phytopathogènes du genre *Alternaria sp***

Présenté par :

M^{me} BENATTA Fatima Zahra

M^{me} DJELILATE Yosra

Soutenu le : 01 Juillet 2018

Jury :

Président :	M. MERIOUA SIDI MOHAMMED	M.C.B
Encadreur :	M. GHERIB MOHAMMED	M.C.A
Examineurs :	M. AMROUCHE ABDELILAH	M.C.A
	M ^{me} YAKOUBI MERYEM	M.A.B

Année Universitaire 2018/2019

Remercîment

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH Miséricordieux le tout puissant qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Tous d'abord nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre promoteur,

Mr GHERIB Mohammed. Maitre de conférences Au département de SNV, Faculté des sciences et technologie, Centre Universitaire Salhi Ahmed de Naama, pour nous avoir fait l'honneur de diriger ce travail. Nous voudrions qu'il trouve ici toute notre reconnaissance pour ses encouragements, ses conseils, ses recommandations, le temps qu'il nous a consacré et sa bienveillance.

Nous adressons nos sincère remerciements à Mr **MERIOUA Sidi Mohammed** Maitre de conférence B au C.U. Naama d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire .Les remarques et suggestions seront d'une grande valeur pour l'enrichissement de ce travail.

Nous remercions profondément **Mr AMROUCHE Abdelillah** Maitre de Conférences A au C.U.Naama pour sa disponibilité et ses encouragements pour l'accomplissement de ce travail. Qu'il trouve ici notre profonde reconnaissance. Nous le remercions aussi d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous voudrions remercier très sincèrement notre Co-promoteur et notre examinatrice M^{me} YAKOUBI Meryem maitre assistante B au C.U.Naama .Nous la remercions, du fond du cœur pour l' esprit scientifique et humain de grande qualité.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance à M^r Maarouf Abderezzak professeur au C.U.Naama pour son aide pour l'identification des plantes médicinales étudiées.

A M^{me} BENHAMZA Messaouda, pour le soutien moral, les encouragements, les conseils et la disponibilité ; qu'elle trouve ici notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoires dans lesquels ce travail a été réalisé, pour la sympathie qu'ils nous ont témoignée ainsi qu'à toute, les personnes qui, de près ou de loin, nous ont aidé pour achever ce travail.



Dédicace

Je dédie ce travail

A mon père pour ses encouragements et son soutien tout au long de mes études et aussi pour ses innombrables sacrifices.

A ma mère que Dieu le tout-puissant la protège et lui donne la force pour qu'elle continue à couronner notre vie.

A mes sœurs : Amina et Khadidja.

A mes frères : Boubeker, Omar et Othman.

A mes nièces et mes neveux.

A toute ma famille.

A mes amis : Siham, Yakout et Farouk



Fatima Zahra

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma mère qui m'a donné la vie

A mon père qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite.

A mes frères, mes sœurs et ma petite Chaimaa

A tous les membres de ma famille, petite et grande

A ceux, qui me sont chers.



ملخص

تهتم هذه الدراسة بالتقييم المخبري للمفعول المضاد للفطريات لدى الزيوت الطيارة المستخلصة من نبتتين عطريتين من منطقة النعامة وهما: "بوليكاريا موريتانিকা" و "ميكريميريا دبليس" وذلك بهدف تثبيط عشرة سلالات فطرية من نوع "التارناريا" المسببة للأمراض الفطرية لنبته الطماطم

استندنا في معرفة العزلات الفطرية على الصفات المورفولوجية . السلالات التي تم تحديدها تنتمي إلى " التارناريا الترناتا"، "التارناريا تنوسيم"، "التارناريا سولاني" و " التارناريا طوماطوفيللا " .
مردودية الزيت العطري الناتج عن الاستخلاص بواسطة التقطير البخار كانت 0.30 % و 0.045 % ل: "بوليكاريا موريتانিকা" و "ميكريميريا دبليس" على التوالي.

كشفت دراسة النشاط المضاد للفطريات لهذه الزيوت بواسطة طريقة التلامس المباشر عن نشاط مهم تجاه السلالات التي تم اختبارها. وبالتالي فإن فعالية هذه الزيوت تم من خلال تحديد قيم التراكيز المثبطة لنمو السلالات الفطرية وكذا تشكيل الابواغ أين أعطانا تثبيط معظم الفطريات قيم التركيز منخفض مثبط ما بين 0.95 إلى 1.1 ميكرو لتر / مل. في الختام، يمكن اعتبار هذه الزيوت حلا بديلا و فعالا لمبيدات الفطريات الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: بوليكاريا موريتانিকা ، ميكريميريا دبليس ، التارناريا، التقطير البخار، زيت طيار، نشاط مضاد للفطريات

Abstract

This study aimed to evaluate *in vitro* the antifungal activity of the essential oils of two aromatic plants growing in Naama: *Pulicaria mauritanica* and *Micromeria debilis* against ten fungal strains belonging *Alternaria sp* responsible of the fungal diseases that infect tomatoes..

The identification of fungal isolates was based on cultural traits and morphological characters. The results showed that the identified strains belong to the following species: *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria solani* and *Alternaria tomatophila*.

While, the yield of essential oil resulting from a hydrodistillation extraction was of the order of 0.30% and 0.045% for *P.mauritanica* and *M.debilis* respectively. The study of the antifungal activity of these oils by the direct contact method revealed an important activity to some strains tested.

The effectiveness of each EO is estimated by determining the inhibition rate of mycelial growth and the rate of inhibition of sporulation, where the total inhibition of the majority of strains gave us MIC mean value ranging between 0.95 to 1.1 μ l / ml.

Finally, these oils can be considered as a potential alternative to synthetic fungicides.

Key words: *Pulicaria mauritanica*, *Micromeria debilis*, *Alternaria sp*, Hydrodistillation, Essential oil, Antifungal activity.

Résumé

Le but de ce travail était d'évaluer l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la région de Naama : *Pulicaria mauritanica* et *Micromeria debilis* vis-à-vis de dix souches fongiques du genre *Alternaria sp* responsables de l'alternariose de la plante de tomate.

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

Le rendement en huile essentielle issu d'une extraction par hydrodistillation était de l'ordre de 0.30% et 0.045% pour *P.mauritanica* et *M.debilis* respectivement. L'étude de l'activité antifongique de ces huiles par la méthode de contact direct a révélé une importante activité vis-à-vis des souches testées.

L'efficacité de chaque HE est estimée par la détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne et le taux d'inhibition de la sporulation, d'où l'inhibition total de la majorité des souches nous a donné des valeurs de CMI comprises entre 0.95 à 1.1µl/ml.

En conclusion, ces huiles peuvent être considérées comme une alternative potentielle aux fongicides synthétiques.

Mots clés : *Pulicaria mauritanica* ,*Micromeria debilis* ,*Alternaria sp*, Hydrodistillation ,Huile essentielle, Activité antifongique.

Glossaire

Chlamydospore : une spore à grande paroi épaisse, une spore de repos, de plusieurs types de champignons

Conidies: Spore issue de la multiplication asexuée formée à l'extrémité d'un conidiophore.

Conidiophore: Hyphe aérien spécialisé qui produit à son extrémité plusieurs conidies.

Dictyospore : une spore multicellulaire de certains champignons qui a des cloisons transversales et longitudinales

Floraison : Phase du cycle vital des phanérogames qui marque le début de la période reproductive

Fragrance : odeur agréablement parfumé émise par les plantes

Hyphe : Filament dépourvu de chlorophylle constituant le thalle des champignons.

Isolat: Matériel biologique prélevé sur un organisme vivant, en vue de son étude ou de sa culture in vitro.

Mycélium: Appareil végétatif d'un champignon constitué d'un ensemble d'hyphes.

Pathogène : organisme susceptible de causer une maladie.

Phytopathogène : Qui cause une maladie chez les plantes.

Piriforme : en forme de poire

Plante hôte: Espèce de plante dont dépend le développement d'un organisme (source nutritive).

Pubescent : qui est couvert d'un duvet de poils fins et courts

Rampant : en botanique, qualifie certains organes d'une plante croissant parallèlement au sol

Rendement : la grandeur qui exprime la production généralement en poids.

Sédatif : une substance qui a une action dépressive sur le système nerveux.

Spore : Spore issue de la multiplication sexué et asexuée.

Sporulation ; aptitude d'un champignon à produire des spores.

Liste des figures

Figure 1	Différents organes de la tomate a : Les feuilles b : la fleur c : Le fruit	P5
Figure 2	Chaîne des conidies	P9
Figure 3	<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 septa longitudinaux et transversaux	P10
Figure 4	<i>A.tenuissima</i> , (a)colonie sur PCA après 6 jours, (b) sporulation à courte chaîne, (c) chaînes conidiales et conidies	P11
Figure 5	<i>A. arborescens</i> , (a) colonie sur PCA après 6 jours, (b) modèle de sporulation à long conidiophore primaire, (c) conidies avec des décorations de surface.	P11
Figure 6	<i>A.solani</i> , colonie sur PCA après 6 jours et les conidies	P12
Figure 7	Conidies et conidiophores de la souche <i>A. tomatophila</i> représentative	P12
Figure 8	Symptômes de l'aternariose sur la foliole	P13
Figure 9	Symptômes de l'aternariose sur fruit	P13
Figure 10	Lésions provoquées par <i>Alternaria tomatophila</i> et <i>A.alternata</i> ; A sur tige, B sur collet	P14
Figure 11	Développement et symptômes de maladies causées par <i>Alternaria spp</i>	P16
Figure 12	Formule chimique de l'isoprène méthyl-2-buta-1,3-diène	P18
Figure 13	Méthodes d'extraction des HE	P20
Figure 14	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation	P20
Figure 15	Photo de <i>Pulicaria mauritanica</i>	P23
Figure 16	Photo de <i>Micromeria debilis</i>	P25
Figure 17	Photos représentant les étapes de l'induction de la sporulation	P29
Figure 18	Photos représentant la méthode de microculture	P30
Figure 19	Situation géographique des lieux des prélèvements	P31
Figure 20	Montage de type Clevenger	P32
Figure 21	Protocole expérimental de l'activité antifongique	P34
Figure 22	Photo représente la détermination du taux d'inhibition de la sporulation	P35
Figure 23	Aspect macroscopique des colonies (revers et avers) des espèces d' <i>Alternaria</i> à petite spores sur milieu PDA	P38

Figure 24	Aspect macroscopique des colonies (revers et avers) des espèces d' <i>Alternaria</i> à grosses spores sur milieu PDA	P38
Figure 25	Aspect macroscopique des colonies des espèces d' <i>Alternaria</i> à petites spores sur milieu PCA après induction de la sporulation	P39
Figure 26	Aspect macroscopique des colonies des espèces d' <i>Alternaria</i> à grosse spores sur milieu PCA après induction de la sporulation	P39
Figure 27	Aspect microscopique des espèces d' <i>Alternaria</i> à petites spores .	P40
Figure 28	Aspect microscopique des espèces d' <i>Alternaria</i> à grosses spores	P41
Figure 29	Huile essentielle de <i>P. mauritanica</i>	P40
Figure 30	Huile essentielle de <i>M. debilis</i>	P40
Figure 31	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A01 et A10) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>P. mauritanica</i>	P43
Figure 32	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A18 et A37 et A42) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>P. mauritanica</i>	P44
Figure 33	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A45, A51 et A57) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>P. mauritanica</i>	P45
Figure 34	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (AT01 et AT04) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>P.mauritanica</i>	P46
Figure 35	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A01 et A10) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>M.debilis</i>	P47
Figure 36	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A18, A37et A42) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>M.debilis</i> .	P48
Figure 37	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (A45, A51et A57) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de <i>M.debilis</i> .	P49
Figure 38	Cinétique de croissance des souches d' <i>Alternaria</i> (AT01 et AT04) en fonction de temps et concentration de l'huile essentielles de <i>M.debilis</i>	P50

Figure 39	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE <i>P.mauritanica</i> .	P51
Figure 40	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE <i>M.debilis</i> .	P51
Figure 41	Taux d'inhibition de la sporulation de l'HE de <i>P.mauritanica</i>	P53
Figure 42	Taux d'inhibition de la sporulation de l'HE de <i>P.mauritanica</i>	P53
Figure 43	Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de <i>P.mauritanica</i> après 10 jours d'incubation.	P54
Figure 44	Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de <i>P.mauritanica</i> après 10 jours d'incubation.	P55
Figure 45	Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de <i>M.debilis</i> après 10 jours d'incubation.	P56
Figure 46	Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de <i>M.debilis</i> après 10 jours d'incubation	P57
Figure 47	Vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différentes concentrations en HE de <i>P.mauritanica</i>	P58
Figure 48	Vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différente concentration en HE de <i>M.debilis</i>	P59

Liste des tableaux

Tableau 1	Principaux pays producteur de la tomate	P6
Tableau 2	Origine des isolats d' <i>Alternaria sp.</i>	P28
Tableau3	Caractères culturaux des isolats d' <i>Alternaria sp</i> sur milieu PDA	P37
Tableau 4	Caractéristiques des huiles essentielles	P41
Tableau 5	Rendement calculé en (%) pour les deux espèces étudiées	P42

Remerciement

Dédicace



ملخص

Abstract

Résumé



Glossaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Table des matières



Introduction générale 1



Partie bibliographique 2

Chapitre I : La plante hôte 4

I.1 Généralité sur la tomate 4

I.2 Historique 4

I.3 Nomenclature et classification 4

I.4 Description botanique 5

I.5 Production de la tomate 5

I.5.1 Dans le monde 5

I.5.2 En Algérie 6

I.6 Importance nutritionnelle 6

Chapitre II: Le pathogène 7

II.1 Généralités sur *Alternaria* 7

II.2 Historique 7

II.3 Classification 8

II.4 Caractéristiques du genre 8



II .4.1 Caractères culturaux	8
II .4.2 Caractères morphologiques.....	9
II .5 <i>Alternaria</i> pathogène des tomates.....	9
II .5 .1 <i>Alternaria</i> à petite spore.....	9
II .5 .1.1 <i>Alternaria Alternata</i>	9
II .5 .1.2 <i>Alternaria Tenuissima</i>	10
II .5 .1.3 <i>Alternaria arborecsence</i>	11
II .5 .2 <i>Alternaria</i> à grosse spore	11
II .5 .2.1 <i>Alternaria solani</i>	11
II .5 .2.2 <i>Alternaria tomatophila</i>	12
II .6. Alternariose	12
II.6.1 Symptômes.....	13
II.6.1.1 Sur feuilles.....	13
II.6.1.2 Sur fruits.....	13
II .6.1.3 Sur tiges et collets	14
II .7 Cycle infectieux	14
II .7. 1 Conservation, source d'inoculum.....	14
II .7. 2 Pénétration et invasion.....	14
II .7. 3 Sporulation et dissémination	15
Chapitre III les huiles essentielles	17
III.1. Aromathérapie	17
III.2. Généralités sur les huiles essentielles	17
III.3 Chimie des huiles essentielles	18
III.3.1 Terpènes et Terpénoides	18
III.3.2 Composés aromatiques	19
III.4 Caractéristiques et propriétés physiques	19
III.5. Méthodes d'extraction	19

III.5.1 Méthodes conventionnelles	20
III.5.1.1 Hydrodistillation.....	20
III.5.1.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	21
III.5.1.3 Pressage à froid	21
III.5.1.4 Enfleurage.....	21
III.5.1.5 Extraction par solvant organique	21
III.5.2 Méthodes innovantes	21
III.5.2.1 Extraction par micro-onde	21
III.5.2.2 Extraction par les ultrasons.....	21
III.6 Analyses des huiles essentielles.....	22
III.7.Rendement.....	22
III.8 Conservation des huiles essentielles	22
III.9 Action des huiles essentielles contre les champignons.....	22
III.10 Plantes étudiées	23
III.10.1 <i>Pulicaria mauritanica</i>	23
III.10.1.1 Description botanique.....	24
III.10.1.2 composition chimique	24
III.10.1.3 Propriétés thérapeutiques	24
III.10.2 <i>Micromeria debilis</i>	25
III.10.2.1 Description botanique.....	25
III.10.2.2 composition chimique	26
III.10.2.3 Propriétés thérapeutiques.....	26
Partie expérimentale	27
Chapitre I : Matériels et méthodes	28
I.1 Matériel fongique	28
I.1.1 Choix des souches.....	28
I.1.2 Origine des souches	28

I.1.3 Repiquage des souches.....	28
I.1.4 Induction de la sporulation.....	29
I.1.5 Conservation des isolats.....	29
I.1.6 Identification des isolats.....	29
I.1.6.1 Etude macroscopique.....	29
I.1.6.2 Etude microscopiques.....	30
I.2 Matériel végétal.....	31
I.2.1 Récolte de matériel végétal.....	31
I.2.2 Identification botanique.....	31
I.2.3 Préparation des échantillons.....	31
I.2.4 Extraction de l'huile essentielle.....	32
I.2.5 Calcul du rendement en huile essentielle.....	32
I.3 Activité antifongique.....	30
I.3.1 Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne.....	30
I.3.2 Évaluation de l'indice antifongique.....	34
I.3.3 Effet des huiles essentielle sur la sporulation.....	35
I.3.4. Détermination de la vitesse de la croissance mycélienne.....	35
Chapitre II : Résultats et Interprétations.....	36
II.1 Matériel fongique.....	36
II.1.1 Identification des isolats.....	36
II.1.1.1 Etude macroscopique.....	36
II.1.1.2 Etude microscopique.....	40
II.2 Caractéristiques des huiles essentielles.....	41
II.3 Rendement des huiles essentielles.....	42
II.4 Activité antifongique.....	42
II.4.1 Cinétique de la croissance mycélienne.....	42
II.4.1.1 Cas de l'HE de <i>P. mauritanica</i>	42

Table des matières

II .4.1.2 Cas de l'HE de <i>M.debilis</i>	47
II .3 .3 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne	50
II .3 .4 Taux d'inhibition de la sporulation	52
II .3 .4 Détermination de la vitesse de la croissance mycélienne	58
<hr/>	
Conclusion générale	62
<hr/>	
Références bibliographiques	65
Annexes	

*« LE DON D'UNE PLANTE UTILE ME PARAÎT
PLUS PRÉCIEUX QUE LA DÉCOUVERTE D'UNE MINE
D'OR ET D'UN MONUMENT PLUS DURABLE QU'UNE
PYRAMIDE »*

BERNARDIN DE SAINT-PIERRE.



INTRODUCTION

Les champignons sont les principaux agents infectieux des plantes, responsables des altérations au cours des stades de développement, et sont les principaux micro-organismes responsables de pertes en agriculture (**kacemi et al, 2017**).

Les espèces du genre *Alternaria* sont répandues à grande échelle. Une partie considérable des espèces sont cosmopolites. Selon le style de vie saprophytes ils se développent sur les parties mortes des plantes. Une partie d'entre eux jouent un mode de vie parasite necrotrophes et une qui cause des graves maladies, ces espèces sont considérées comme un véritable organisme nuisible spécifique de l'hôte.

Les symptômes causés par ces pathogènes se présentent généralement sous forme des taches brunes à noirâtre sur les solanacées. Les dégâts causés par les principaux agents de l'alternariose se traduisent par des brûlures au niveau des feuilles, des tiges, des collets et des fruits (**Ranc, 2010**).

Cette maladie est contrôlée souvent par des fongicides. Or, ces derniers constituent un véritable danger pour la santé humaine et l'environnement (**kacemi et al., 2017**).

Le traitement des mycoses reste difficile d'une part du fait du nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé et d'autre part lié à l'émergence de souches résistantes à certains antimycosiques usuels (**El Mansouri, 2013**).

Ces différentes difficultés ont suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs à trouver d'autres substances fongitoxiques inoffensives et non polluantes, pouvant être une solution alternative aux médicaments actuels.

Les plantes aromatiques et médicinales de part leur utilisation ancestrale nous offrent un terrain important d'investigation (**El Haci, 2015**).

Différentes espèces de végétaux sont connues depuis longtemps par leurs effets antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents 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 représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes (**Remmal et al., 1993**), elles ont un spectre d'activité très large due principalement à leur grande affinité

grâce a leur natures, pour cela, les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux (**Bouzouita et al., 2008**).

La région Sud-Ouest de notre pays même si elle est dotée d'un climat sec renferme des régions qui possèdent des variétés de plantes surprenantes par leur aspect et par leur capacité d'adaptation.

Le présent travail constitue l'ébauche d'un projet de recherche dans le but de valoriser la flore locale visant à étudier l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Pulicaria mauritanica* et *Micromeria debilis* de la wilaya de Naama sur dix (10) souches de champignons du genre *Alternaria* responsables des taches brunes de la tomate.

Nous avons organisé notre travail en trois grandes parties:

- La 1^{ère} partie consiste une étude bibliographique sur la plante hôte, le pathogène et la lutte biologique par les huiles essentielles de deux plantes aromatiques : *Pulicaria mauritanica* et *Micromeria debilis*.
- La 2^{ème} partie représente la partie expérimentale qui consiste à l'identification des espèces d'*Alternaria* , l'extraction des huiles essentielles de *Pulicaria mauritanica* et *Micromeria debilis* et l'étude du pouvoir antifongique de ces deux plantes sur les espèces d'*Alternaria sp.*
- La 3^{ème} partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.
- Enfin, notre travail est clôturé par une conclusion générale pour restituer les principaux résultats obtenus, les limites de notre travail et les perspectives voulues pour pouvoir compléter et améliorer cette étude.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I : La plante hôte

I.1 Généralité sur la tomate

La tomate (*Solanum lycopersicum*), est l'un des plus populaires légumes dans le monde entier et le deuxième produit le plus précieux après la pomme de terre, fraîches ou après transformation (Kumar et al., 2008) avec une production de 170,8 millions de tonnes en 2013 (FAO, 2013).

I.2 Historique

La tomate est originaire de l'Amérique de Sud, dans la région montagneuse des Andes (Equateur, Pérou, Chili), la tomate fut domestiquée au Mexique, avant d'être importé en Europe au XVI siècle par les conquistadores (Peratla et al., 2006).

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 puis, 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 remplacé ce nom par *Lycopersicom esculentum*. Bien que les taxonomistes aient récemment réintroduits son nom original *Solanum lycopersicum* (Milet, 2017).

La tomate fait partie de 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 alimentaires comme la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), et bien sûr 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 qui signifie qu'elle peut vivre plusieurs années, elle est cultivée dans les régions à climat chaud, mais peut également être plantée dans une serre en hiver (**Possada, 2016**), c'est une plante aux tiges ramifiées et port rampant. La tige est pubescente, épaisse aux entre-nœuds. Les feuilles sont composées (5 à 7 folioles), alternées et persistantes. Les fruits sont des baies formées de 2 à 3 loges, à graines très nombreuses, et dont la taille, la forme et la couleur varient avec les différentes variétés. Elle a une température optimale de croissance de l'ordre de 25°C et un thermo-périodisme journalier de 10°C, conditions qu'elle a retenues de son origine montagnarde (**Bessadat, 2014**).

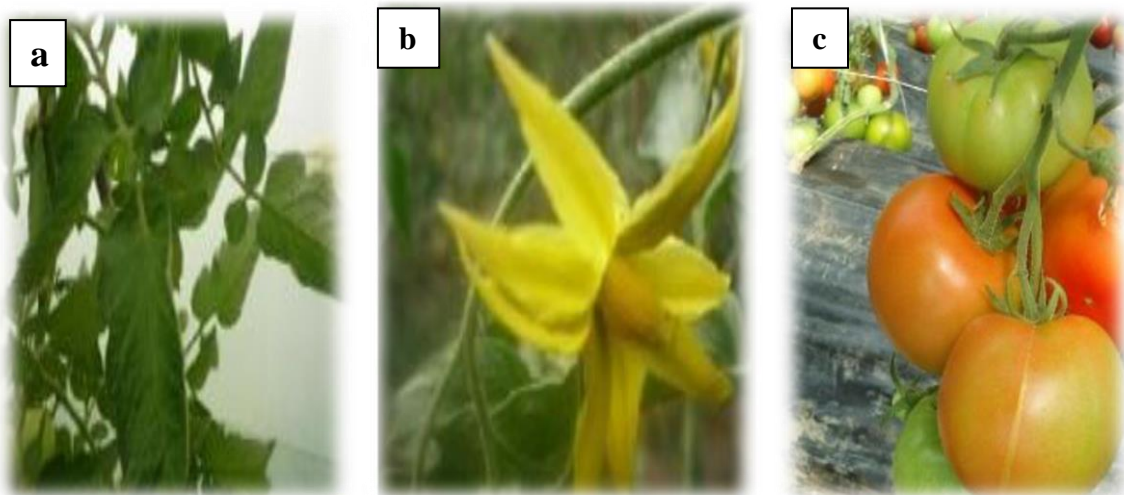


Figure 1: Différents organes de la tomate **a:** Les feuilles **b :** la fleur **c:** Le fruit
(**Oukala, 2014**).

I.5 Production de la tomate

I.5.1 Dans le monde

Les principaux pays producteurs sont la Chine, les USA, l'Inde, la Turquie, l'Égypte, l'Italie, l'Iran, le Brésil et l'Espagne.

La tomate représente 8,2% de la surface totale assignée pour l'agriculture et les récoltes industrielles (**MADR, 2013**)

La production de la tomate a progressé régulièrement, elle est passée de 48 millions de tonnes en 1978 à 159 millions de tonnes en 2011 (**Blancard et al., 2009**)

Le tableau 1 montre les principaux pays producteurs de la tomate en 2013.

Tableau 1: Principaux pays producteur de la tomate (FAOSTAT, 2013)

Classement	Pays	Production*
01	Chine	52.6
02	Inde	18.8
03	Etats-Unis	14.5
04	Turquie	11.9
05	Egypte	8.3
06	Iran	6.0
07	Italie	5.6
08	Espagne	4.9

* : Millions de tonnes

I.5.2 En Algérie

La tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher en Algérie. Elle est considérée comme une espèce prioritaire et classée en troisième lieu après la pomme de terre et l'oignon. La production moyenne en 2011 est de 790 mille tonnes avec un rendement moyen de 336 Qx / ha (Snoussi, 2010).

I.6 Importance nutritionnelle

La tomate est très prisée pour son intérêt alimentaire et sa valeur nutritive. Le fruit de tomate est très riche en vitamine A, C et K, sa composition en vitamine, en acide organique, potassium et en lycopène le rend un légume anticancéreux. (Possada, 2016)

Sa richesse en nutriment, leur peau fine et leurs tissus mous rend les tomates facilement infectées et susceptibles à une pénétration et une croissance rapides des différents types d'espèces d'*Alternaria*. (Vaquera et al., 2014)

Chapitre II: Le pathogène

II .1 Généralités sur *Alternaria*

Alternaria est un genre fongique omniprésent qui comprend près de 275 espèces (Simmons, 2007) mésophile, leurs activités prédominantes disparaissent lorsque la température s'élève (Botton et al., 1990) , avec des modes de vies saprophytes endophytes et phytopathogènes (Saharan et al., 2016), qui peuvent affecter les cultures sur champ ou les produits végétaux pendant la récolte et post-récolte (Logrieco et al., 2009).

En général, les espèces du genre *Alternaria* provoquent une destruction relativement lente des tissus hôtes par la réduction du potentiel photosynthétique. Les tissus affaiblis par le stress, la sénescence ou les blessures sont plus susceptibles à l'infection par *Alternaria sp.* (Vaquera et al., 2014) . Ce genre peut pousser sur plusieurs substrats y compris les graines, les feuilles et les fruits des plantes, cultures, sol et air (Kokaeva et al., 2015).

Les spores sont de couleur brune foncée et naissent en chaînes simples ou ramifiées à l'extrémité de conidiophores simples et sombres ; elles sont divisées en plusieurs cellules par des parois transversales et verticales. Les nouvelles spores sont produites par extrusion à l'extrémité de la spore précédente, par le biais d'un pore de la paroi. Elles sont communément isolées à partir de la décomposition des matières végétales, mais causent aussi des maladies des plantes. 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 responsables de la détérioration des produits agricoles, capables de produire des métabolites secondaires potentiellement affectant la santé humaine (Siciliano, 2017) voire des pertes économiques, les aliments végétaux infectés par *Alternaria* peuvent introduire 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.2 Historique

En 1816, Nees décrit pour la première fois un champignon qu'il a nommé *Alternaria tenuis*. Parmi les caractéristiques de ce genre ; la production des chaînes de

conidies de couleur foncé avec des septa transversales et longitudinales ; il a cité cette espèce comme un synonyme de *Torula alternata*.

En 1832 Fries a établi un nouveau genre *Macrosporium*, comprend des espèces ayant les mêmes caractéristiques avec *Alternaria* et qui ont aujourd'hui reconnus comme des espèces d'*Alternaria*. Pendant une bonne période, de nombreuses espèces d'*Alternaria* ont été décrites. Deux autre genres ont été établi : *Stemphylium* et *Ulocladium* avec les mêmes caractéristiques, ces genres compliquent la résolution taxonomique. Kiessler (1912) a mis le synonyme à la fois *A.tenuis* et *Torula alternata* avec *A. alternata* Kiessel. Wiltshire (1933,1938) a proposé des critères pour les genres *Alternaria* et *Stemphylium*, *Ulocladium* n'a pas été officiellement reconnus. En 1964 Joly a proposé que ces espèces atypiques classées comme *Alternaria*. Plusieurs descriptions et critères morphologiques révisés de ces genres, données lieu à un nombre croissant de nouvelles espèces qui ont été résumés dans Simmons (2007), dans lequel 275 espèces d'*Alternaria* ont été reconnues.

II .3 Classification

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

Le genre *Alternaria* appartient à la classification suivante :

- **Phylum:** Ascomycota
- **Subdivision:** Pezizomycotina
- **Classe:** Dothediomycetes,
- **Ordre:** Pleosporales
- **Famille:** Pleosporaceae.
- **Genre :** *Alternaria*

Alternaria appartient à la division Deuteromycota avec plusieurs espèces. (Mamgain, 2013).

II .4 Caractéristiques du genre

II .4.1 Caractères cultureux

Les colonies sont de croissance rapide sur milieu Sabouraud à 25-30°C. La croissance est habituellement inhibée à 37°C, comme en présence de cycloheximide. 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).

II .4.2 Caractères morphologique

Les hyphes, septés, sont ramifiés et tardivement certains filaments sont pigmentés en brun. Les conidiophores sont cloisonnés, bruns, septés, simples ou ramifiés, plus ou moins droits ou flexueux (géniculés) (**Chabasse, 2002**) .

Les conidies sont de couleur brune également, très caractéristique du genre, organisées en chaînette. Ce sont des dictyospores : conidies piriformes, à la base élargie avec des septa transversaux, obliques et longitudinaux en nombre variable. Leur extrémité est constituée 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 2 : Chaînes des conidies

II .5 *Alternaria* pathogène des tomates

Alternaria est signalé depuis plusieurs décennies comme pathogène des Solanacées surtout l'espèce *A.solani* et a longtemps été décrit comme affectant la tomate, l'aubergine, la pomme de terre, ainsi que plusieurs membres de cette famille botanique (**Blancard et al., 2012**). Ainsi, plusieurs espèces d'*Alternaria* seraient inféodées à plus d'une soixantaine de Solanacées (**Bessadat, 2012**).

II .5 .1 *Alternaria* à petite spore

II .5 .1.1 *Alternaria Alternata*

A. Alternata est un champignon filamenteux cosmopolite ubiquiste. Communément isolé à partir de plantes, de sols, de nourriture corrompue ainsi qu'à partir de l'air. Elle présente des colonies veloutées parfois à centre cotonné de couleur vert olivâtre à vert foncé.

Les hyphes sont septées, les conidiophores sont bruns, septés et elles ont souvent l'aspect de «zigzags». Ils portent des conidies simples ou ramifiées. Les conidies présentent des cloisonnements transversaux (1à8) et longitudinaux (0à3) avec une taille de 6,5-59,8×4,2-16,5 µm. (Bessadat et al., 2014)

A. alternata a été considéré comme l'espèce principal productrice de mycotoxine, les autres membres du genre tels que : *A. solani*, *A. arborescence*, *A. tenuissima* capable aussi de produire ces contaminants toxiques dans leur hôte.

A. alternata produit plusieurs toxines, dont la plus importante est l'acide tenazonique (TA). (Logrieco et al., 2003)

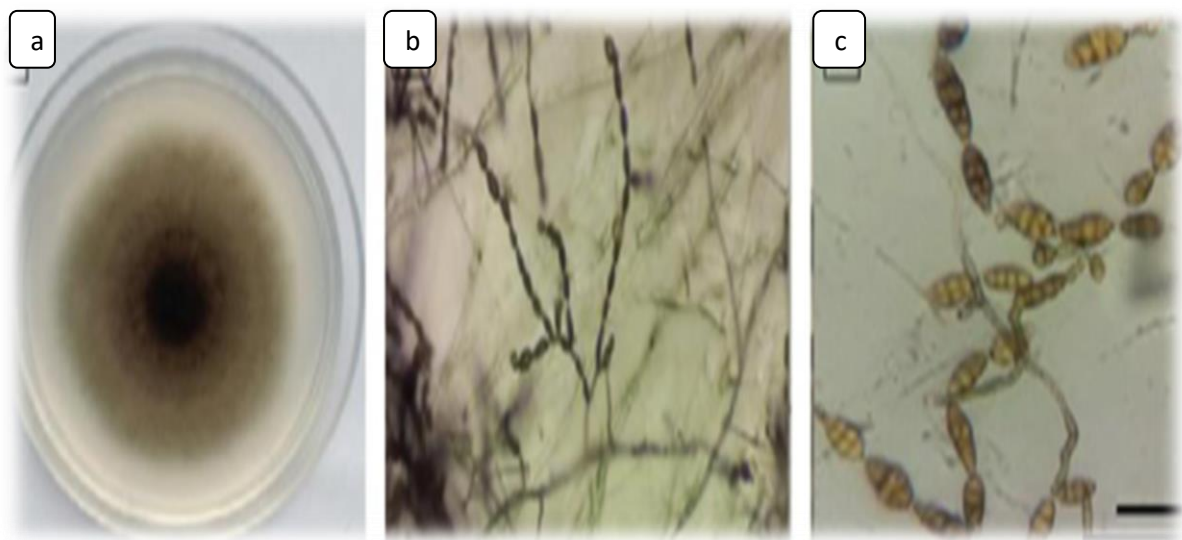


Figure 3: *A. alternata*, (a) colonie sur gélose pomme de terre carotte (PCA) après 6 jours, (b) modèle de sporulation à long chaînes, (c) conidies dans une chaîne avec septa longitudinaux et transversaux (Ramezani et al., 2019).

II .5 .1.2 *Alternaria tenuissima*

A. tenuissima, a des conidiophores solitaires ou dans des groupes, simples, bruns, lisse et septés. Les conidies ont été solitaires ou dans des chaînes courtes, la longueur des conidies est habituellement plus courte avec une couleur brune à brune doré, Les conidies présentent des cloisonnements transversaux (4à9) et longitudinaux (0à4) avec une taille de 9,8-60,20 × 8,6-15,5 µm. (Bessadat et al ,2014)

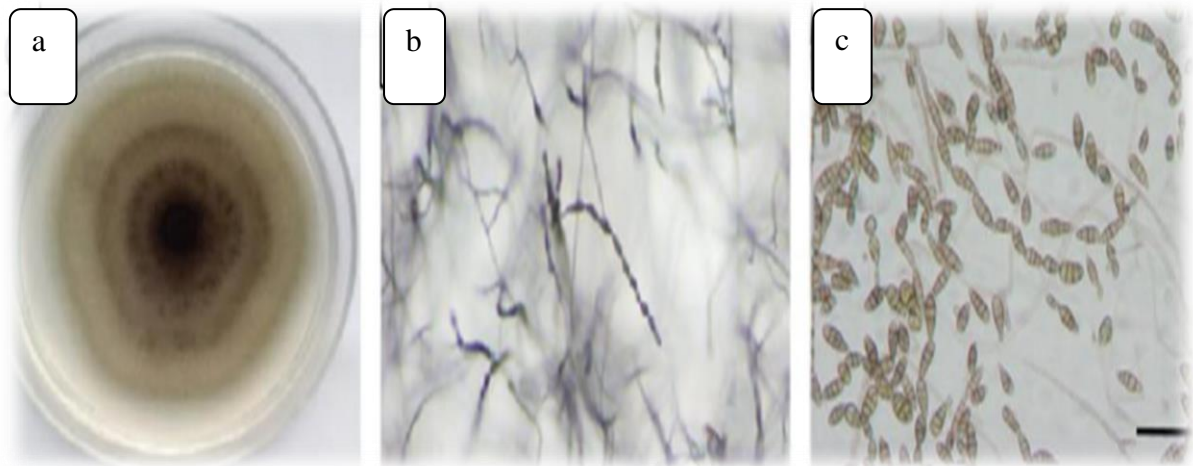


Figure 4: *A. tenuissima*, (a) colonie sur PCA après 6 jours, (b) sporulation à courte chaîne, (c) chaînes conidiales et conidies (**Ramezani et al., 2019**).

II .5 .1.3 *Aletrnaria arborescens*

A. arborescens appartient au groupe d'espèces à petites spores au sein du genre *Alternaria* avec de couleur de spore brune et de taille de $8,6-38,4 \times 3,2-12,8 \mu\text{m}$; les conidies présentent des septa transversals varient de 1-6 et longitudinal ou oblique varient de 0-3, la chaîne de conidies est apparue comme faible touffes de branches bien ramifiées. (**Bessadat et al ,2014**)

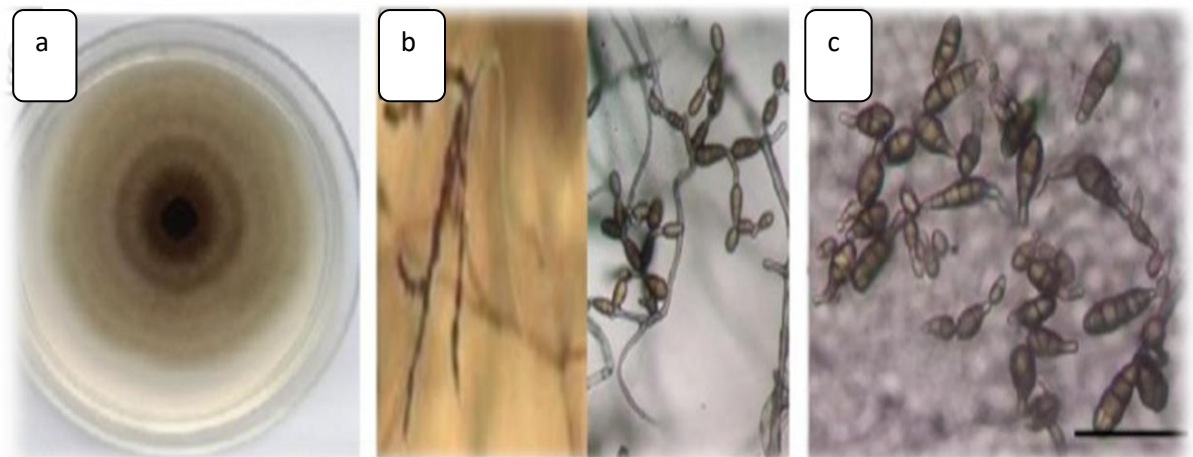


Figure 5 : *A. arborescens*, (a) colonie sur PCA après 6 jours, (b) modèle de sporulation à long conidiophore primaire, (c) conidies avec des décorations de surface.

II .5 .2 *Alternaria a grosse spore*

II .5 .2.1 *Alternaria solani*

A. solani appartient au groupe d'espèces à grosses spores au sein du genre *Alternaria*, les conidies solitaires, supportées individuellement ou rarement en chaîne de

deux, sur des conidiophores simples et séptés (Neergaard, 1945) elles mesurent entre 150 et 200 μm de long (de la base à l'extrémité du bec) (Simmons, 2007).

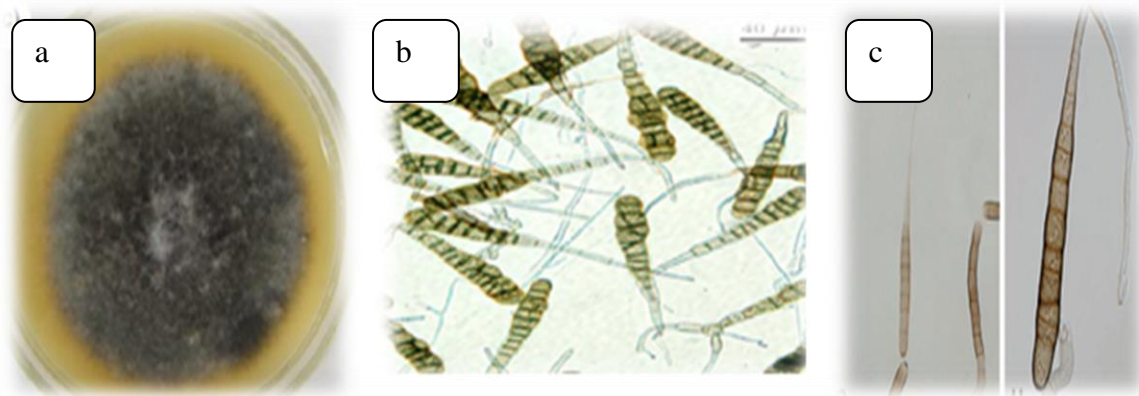


Figure 6: *A. solani* , (a) colonie sur PCA après 6 jours, (b et c) les conidies (Zheng et al. , 2015)

II .5 .2.2 *Alternaria tomatophila*

A. tomatophila comme *A. solani*, appartient aux espèces à grosse spores. Elle dispose d'un mycélium cloisonné se mélanisant progressivement avec l'âge, elle produit de courts conidiophores bruns sur lesquels ne se forme souvent qu'une seule conidie (Simmons, 2000). Les conidies sont brunes, pluricellulaires et très allongées. Elles possèdent un long appendice hyalin (bec) (Figure 7), parfois bifurqué et plus long que le corps de la spore, qui mesure entre 120 et 300 μm de long.

A. tomatophila est le pathogène le plus commun lié à la brûlure foliaire de la tomate.

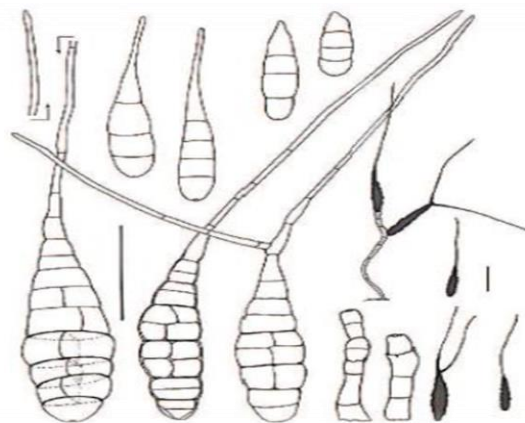


Figure 7: Conidies et conidiophores de la souche *A. tomatophila* . (Simmons, 2007)

II .6. Alternariose

L'Alternariose de la tomate, causée par les espèces d'*Alternaria*, est une des principales maladies de la tomate pouvant affecter toutes les parties de la plantes et tous les stades de développement.

Elle est caractérisée par l'apparition des tâches noires arrondies à la surface des feuilles, des tiges et des fruits. Ces tâches sont caractérisées par une croissance en anneaux concentriques, donnant aux lésions une forme de cible. Le pathogène passe la mauvaise saison sur les débris de culture. Les infections sont dues à la projection des spores sur la plante par le vent, la pluie où directement par contact entre les feuilles et le sol (**Edouard, 2010**).

II .6.1 Symptômes

II .6.1.1 Sur feuille

L'alternariose apparaît sous forme des taches concentriques brunes foncés et bien délimitées 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 (**Michel, 1991**).



Figure 8 : Symptômes de l'alternariose sur la foliole

II .6.1.2 Sur fruit

Les taches sur le fruit se produisent d'abord à son forme de zones creuses avec des anneaux concentriques (Figure 9). De cette zone, le champignon se propage et éventuellement, la pourriture couvre la moitié supérieure du fruit. (**Glasscock, 1944**; **Jones et al., 1997**).



Figure 9 : Symptômes de l'alternariose sur fruit

II .6.1.3 Sur tiges et collets

Les tiges attaquées par l'*Alternaria* présentent des plages superficiellement colorées en brun, qui s'agrandissent avec le développement de la maladie, puis le dessèchement de la tige peut entraîner sa mort ou celle de toute la plante .

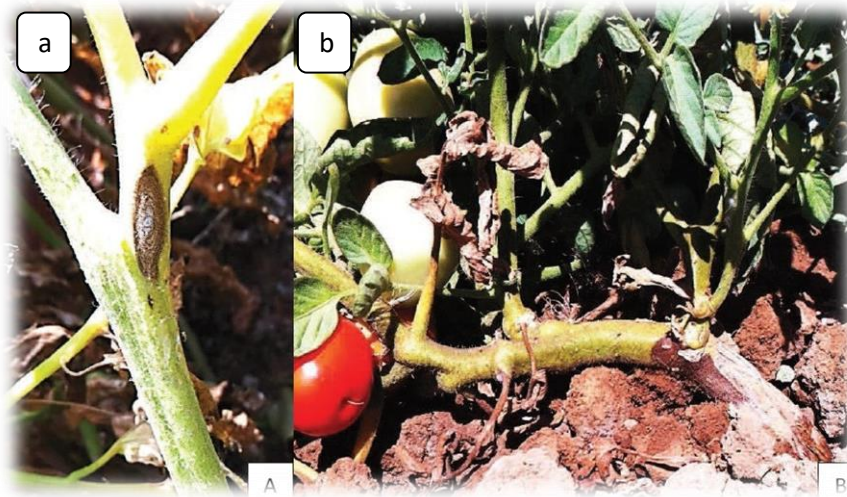


Figure 10 : Lésions provoquées par *A. tomatophila* et *A.alternata*; **a** sur tige, **b** sur collet (Bessadat, 2014)

II .7 Cycle infectieux

L'alternariose est favorisé par un cycle infectieux similaire pour toutes les espèces d'*Alternaria*, responsable de cette maladie (Farrar et al., 2004). Ce cycle est divisé en plusieurs stades : conservation, pénétration et invasion, sporulation puis dissémination. (Figure 11)

II .7. 1 Conservation, source d'inoculum

L'*Alternaria* peut se conserver dans les résidus de culture, les sols contaminés et les tubercules infectés durant plusieurs années (Christine, 2000). Les chlamydospores peuvent également servir de structure de survie (Basu, 1974). Elle serait aussi capable 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).

II .7. 2 Pénétration et invasion

Une fois les spores d'*Alternaria* sont en contact avec les cellules végétales, elles sont capables de germer et produisent un ou plusieurs tubes germinatifs, la pénétration dans les tissus végétaux se fait soit directement à travers les stomates ou les blessures (Agrios, 2005) ou soit par pénétration enzymatique, cette stratégie est la plus évidente chez les *Alternaria*. La colonisation de l'hôte est facilitée par des enzymes (cellulase,

pectinase,....etc). La pénétration peut se produire à des températures entre 10°C et 25°C (Sherf et MacNab, 1986).

II .7. 3 Sporulation et dissémination

Sur des tissus colonisés, quand les conditions climatiques sont favorable, *Alternaria* ne perde pas à produire des conidiophores, Les spores sont disséminées par le vent, la pluie et les insectes ; les conidies produites assurent des contaminations secondaires et par la suite plusieurs cycles parasitaires peuvent avoir lieu dans la culture (Messiaen, 1991)

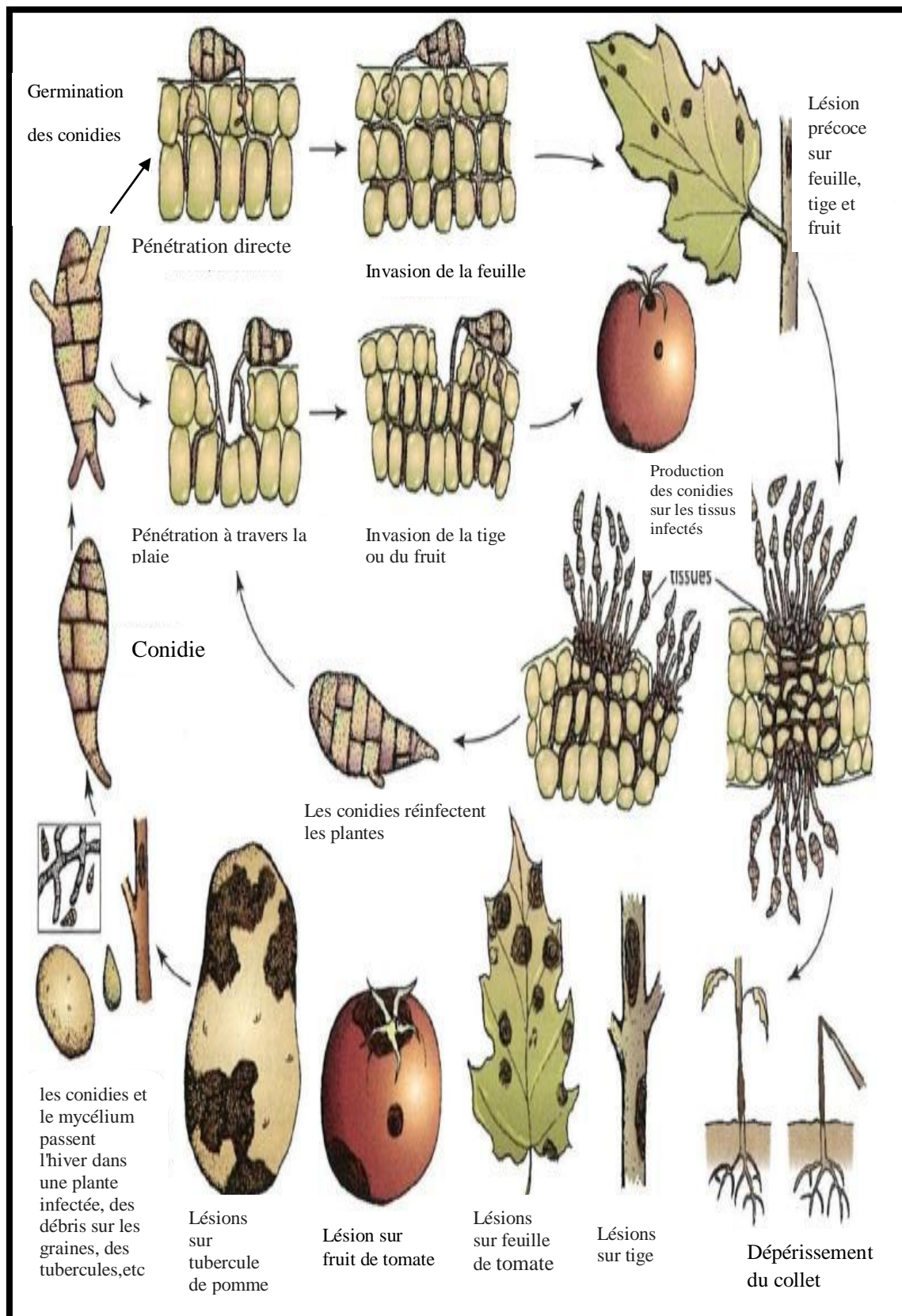


Figure 11 : Développement et symptômes de maladies causées par *Alternaria* sp. (Agrios, 2005)

Chapitre III : les huiles essentielles

III.1.Aromathérapie

L'aromathérapie est l'utilisation médicale des extraits aromatiques des plantes. Ce terme a été inventé par René Maurice Gattefossé, pharmacien français dans les années 1910. Ce mot vient du latin « *aroma* » signifiant odeur et du grec « *therapeia* » signifiant traitement. Il s'agit donc de soigner par les huiles essentielles (**Pierron, 2014**).

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel (**Mohammedi, 2013**).

Nous citerons ci-dessous un groupe important considéré comme une source de molécules biologiquement actives.

III.2.Généralités sur les huiles essentielles

Les HE sont des substances volatiles non grasses sécrétées par des plantes aromatiques. (**Gherib, 2009**). Le terme "huile" vient de leur caractère hydrophobe et de leur propriété de se solubiliser dans les graisses, alors que le terme "essentielle" fait référence à l'odeur dégagée par la plante productrice. (**El Mansouri, 2013**). Elles peuvent être extraites de différentes parties d'un végétal : les feuilles (ex : l'eucalyptus), les fleurs (ex : la camomille), l'écorce (ex : la cannelle), le bois (ex : le cèdre), le zeste (ex : le citron) et bien d'autres encore : les graines, les baies, les fruits, le bulbe... (**Pierron, 2014**) obtenu par entraînement à la vapeur ou par hydrodistillation. (**El Haci, 2015**)

Les huiles essentielles (HE) ont été utilisées depuis des millénaires pour leurs vertus thérapeutiques (antiseptique, antibactérienne, antivirale, analgésique, sédatif, anti-inflammatoire ...) et ont été largement utilisées en tant que fragrance et le sont toujours. (**El Haci, 2015**)

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

Une HE est un Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (**Filatre, 2011**). La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. (**Pierron, 2014**)

Dans la nature, les HE semblent jouer un rôle dans la protection des végétaux contre les agressions extérieures causées par les microorganismes, contre les insectes et même les animaux herbivores (**Bakkali et al., 2008**). Elles ont aussi un rôle dans l'attraction des insectes pour la dispersion des grains de pollen et des graines de certaines plantes (**El Haci, 2015**). les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes, et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. (**Mohammedi, 2013**).

III.3 Chimie des huiles essentielles

Les HE sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpènes et des terpénoïdes représentant la classe la plus importante d'une part et celui des composés aromatiques dérivés de phenylpropane, beaucoup moins fréquent, d'autre part (**Brunton, 2009**).

III.3.1 Terpènes et Terpénoïdes

Les terpènes représentent un groupe d'un intérêt chimique considérable, les terpènes ont un caractère commun, ils sont tous formés par la réunion d'unité isoprénique figure (12)

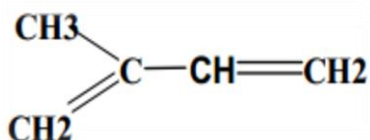


Figure 12: Formule chimique de l'isoprène méthyl-2-butène-1,3-diène (**Benayad, 2008**)

On définit alors les monoterpènes (2 unités : C₁₀), les sesquiterpènes (3 unités : C₁₅), les diterpènes (4 unités : C₂₀), les triterpènes (6 unités : C₃₀),...etc, Le terpène qui possède un oxygène est un terpénoïde.

III.3.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques des HE sont principalement des dérivés du phénylpropane C6-C3 ont une biogenèse différente de celle des terpènes, On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), le carvacrol (HE d'origan), qui sont les principaux membres de cette famille.

Les acides organiques, les cétones de faible poids moléculaire et les coumarines volatiles entrent également en faible proportion dans la constitution des HE (El Mansouri, 2013).

III.4 Caractéristiques et propriétés physiques

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante, les HE se volatilisent quand elles sont exposées à l'air. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (Bouguerra, 2012).

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser des traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante. (Bouguerra, 2012)

Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tendent à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Benayad, 2008).

III.5.Méthodes d'extraction

L'obtention des HE se fait actuellement par plusieurs méthodes d'extraction. Certains auteurs les classifient en deux groupes : les méthodes conventionnelles, dites classiques ; hydrodistillation, entraînement à la vapeur, expression, enfleurage ,et les méthodes innovantes assisté par micro-onde ou par ultra sons (Ouis, 2015)

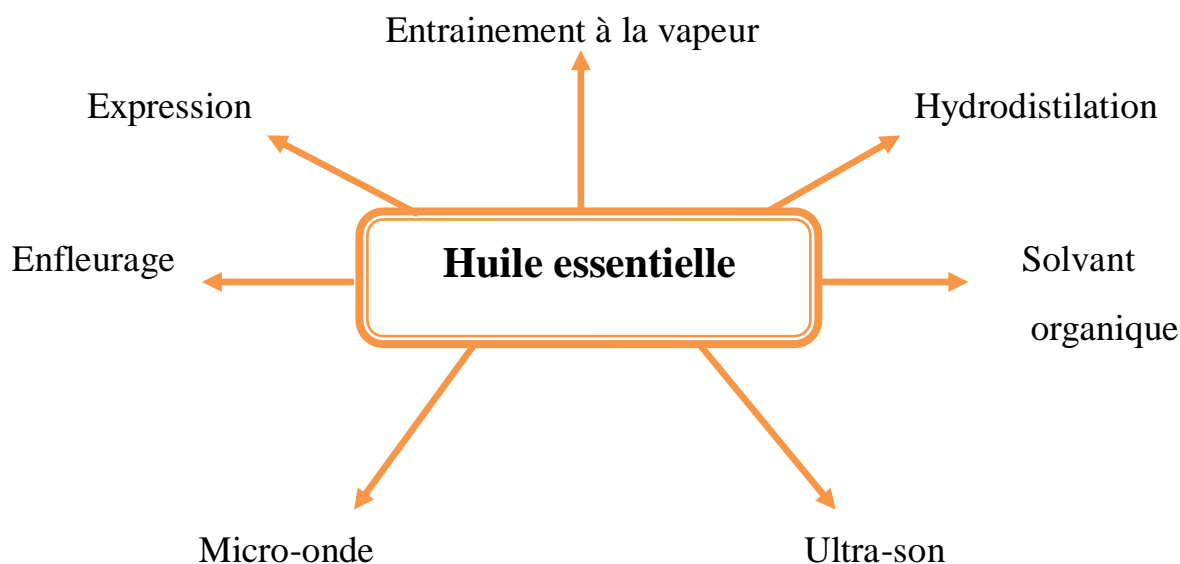


Figure 13 : Méthodes d'extraction des HE

III.5.1 Méthodes conventionnelles

III.5.1.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et la plus ancienne, utilisée depuis des siècles pour l'extraction des HE. Historiquement, Avicenne (980-1037) a été le premier à développer l'extraction à travers l'alambic. Il a extrait la première HE pure de la rose (**El Hacı, 2015**). La plante est mise en contact avec de l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (**Gherib, 2009**).

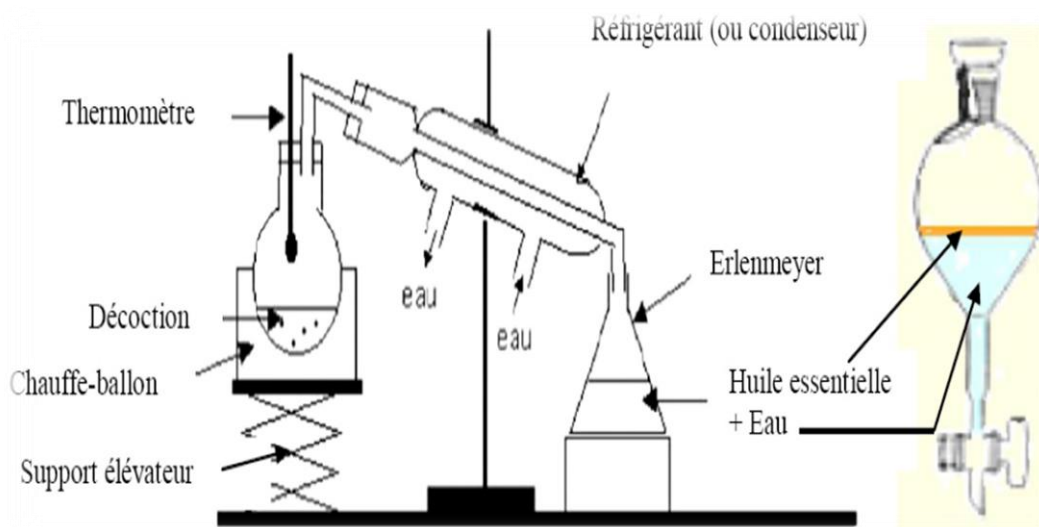


Figure 14: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation (**Lagunez, 2006**).

III.5.1.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Cette méthode est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'obtention des HE. Son Principe est le même que celui de l'hydrodistillation sauf qu'il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau (Masango, 2005).

III.5.1.3 Pressage à froid

Le pressage à froid est une méthode traditionnelle, essentiellement, utilisée pour extraire les HE à partir des agrumes. L'expression à froid consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce de fruit. Les HE sont obtenues mécaniquement par pression à froid qui donne une émulsion aqueuse. L'HE est ensuite récupérée par centrifugation (Ferhat *et al.*, 2007).

III.5.1.4 Enfleurage

L'enfleurage est une ancienne méthode utilisée pour l'extraction des plantes aromatiques destinées surtout à la parfumerie. Le principe consiste à placer les fleurs odorantes dans la graisse, afin de laisser les arômes y pénétrer. Une fois saturée, celle-ci est ensuite lavée à l'alcool pour extraire les composés odorants. L'alcool obtenu est ensuite évaporé pour donner l'absolue. Cette méthode est peu utilisée de nos jours à cause de l'utilisation de la graisse animale et du coût de production élevé. Elle a été remplacée par l'extraction aux solvants (Mnayer, 2014)

III.5.1.5 Extraction par solvant organique

Certaines HE ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être utilisé dans ce cas. Le principe consiste à faire macérer la plante dans le solvant afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant (Ouis, 2015).

III.5.2 Méthodes innovantes

III.5.2.1 Extraction par micro-onde

Extraction par micro-onde consiste à chauffer l'extractant (eau ou solvant organique) mis en contact avec le matériel végétal sous l'énergie micro-onde ce qui permet un chauffage homogène. Ce nouveau procédé permet des gains considérables de temps et d'énergie (Ericsson *et al.*, 2000).

III.5.2.2 Extraction par les ultrasons

Le matériel végétal est mis en contact avec le solvant (eau ou solvant organique) et en même temps soumis à l'action des ondes ultrasoniques, ces derniers induisent des

vibrations mécaniques au niveau des membranes des poches sécrétrices induisant une libération rapide des gouttelettes d'HE (Romanik *et al.*, 2007) .

III.6 Analyses des huiles essentielles

Deux types d'analyse qui ont pour but d'identifier les différents constituants d'une huile essentielle afin d'en connaître la composition chimique: la chromatographie en phase gazeuse GC et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS.

La chromatographie en phase gazeuse GC est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative. La GC et la GC/MS permettent, en plus de connaître très exactement la composition chimique, la recherche d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (Renata *et al.*, 2006) .

III.7.Rendement

Le rendement de la distillation est donc limité: de plusieurs kilogrammes à plusieurs tonnes d'organes producteurs sont nécessaires pour obtenir un kilogramme d'HE. Le volume de matériel à récolter est souvent important, ce qui explique les coûts élevés de certaines HE, notamment la rose de Damas ou le néroli bigaradier (Pierron, 2014).

III.8 Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur (une température de 4°C) et de la lumière (Valnet, 2000).

III.9 Action des huiles essentielles contre les champignons

Plusieurs huiles essentielles offrent un espoir illimité et grand potentiel à l'égard des problèmes de la résistance des micro-organismes aux antibiotiques, connu de façon empirique depuis des siècles, leurs efficacités anti-infectieuses a été scientifiquement démontré *in vitro* (Oussalah *et al.*, 2007) et *in vivo* (Chami *et al.*, 2004).

L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des HE vis-à-vis des champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux. L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique (Gherib, 2009). Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions

antifongiques sont les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Buert, 2004).

III.10 Plantes étudiées

III.10.1 *Pulicaria mauritanica*

P. mauritanica est une plante aromatique et endémique qui pousse à l'état sauvage dans le sud-est du Maroc et en Algérie.

Selon Hussein et al., 2017, le genre *Pulicaria* comprend 100 espèces largement diffusées en Europe, l'Afrique du nord et en Asie. *Pulicaria* est un genre qui regroupe les plantes à fleurs de la famille des Asteraceae.

- **Nom scientifique :** *Pulicaria mauritanica*
- **Nom vernaculaire :** مريوة سفايرية



Figure 16: Photo de *Pulicaria mauritanica* (Gherib, 2014)

D'après Quezel et Santa (1963) et Dupont (2004) la classification qu'occupe *Pulicaria mauritanica* est la suivante :

- **Embranchement:** Phanérogames ou Spermaphytes.
- **Sous-embranchement:** Angiospermes.
- **Classe:** Eudicots.
- **Sous classe:** Asteridées
- **Ordre:** Asterales.
- **Famille:** Astéracées.
- **Genre:** *Pulicaria*.
- **Espèce:** *Pulicaria mauritanica*.

III.10.1.1 Description botanique

Pulicaria mauritanica est une espèce endémique au Maroc et en Algérie, c'est une espèce très odorante à odeur camphrée, elle est velue ou laineuse avec des feuilles radiales plus petites (5-6 cm) les tiges sont dressées et rameuses, portant des feuilles à bord ondulé, les capitules solitaires sont fixés par de longs pédoncules épaissis au sommet. Les akènes sont oblongs, orangés, brillants et à cotes blanches et marquées (**Gherib, 2014**).

III.10.1.2 Composition chimique

Les études phytochimiques du genre *Pulicaria* ont fait l'objet de plusieurs travaux rapportés par **Liu et al.** en 2010. Ces auteurs révèlent que les espèces de *Pulicaria* contiennent une grande variété de composés, tel que les dérivés phénoliques, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes, les stéroïdes et les flavonoïdes.

La caractérisation des huiles essentielles du genre *Pulicaria* a fait l'objet de plusieurs travaux, permettant l'existence d'une variabilité chimique de cette huile essentielle (**wayertahel et al., 1998, Hambali et al., 2005 ; El Kamali et al., 2009 ; El Abed et al., 2010 ; Ravendach et al., 2011 ; Gristofari et al., 2011**)

En revanche la caractérisation de l'HE de *P. mauritanica* a fait l'objet de très peu d'étude. **Gattefossé et Igolen** en 1945 ont rapporté que le carvotanacétone et le composé majoritaire de l'HE de *P. mauritanica* avec un pourcentage de l'ordre de 81.0%, une deuxième étude a été réalisé par **Gristofari et al.** en 2011 sur l'huile essentielle de cette plante récoltée dans quatre stations différentes au Maroc, révèle également une grande richesse en carvotanacétone (79.99%, 92.13%), suivi de linalol (0.4%-2.1%) et de carvacrol (0.4%-1.2%). Ces auteurs ont étudié aussi l'activité antifongique de ces huiles vis-à-vis trois champignons phytopathogènes (**Znini et al., 2013**).

III.10.1.3 Propriétés thérapeutiques

Pulicaria mauritanica Coss. connue sous le nom vernaculaire de « mariwa sfayrya », elle est considérée comme une plante médicinale. Dans la région de Naama, elle est utilisée dans le traitement des troubles intestinaux, des maux de tête par fumigation aussi donnée aux femmes après l'accouchement (**Gherib, 2014**).

Au Maroc cette plante porte plusieurs noms vernaculaires "Bamghar" et "Ifenzi oudaden" la décoction et la macération de ses feuilles et de ses fleurs est utilisée pour traiter les troubles digestifs et circulatoires (**Hamadouch et al., 2018**).

III.10.2 *Micromeria debilis*

C'est une plante endémique en Algérie et en Maroc, appartient à la famille des Lamiaceae également connue comme *Satureja briquetii* Maire.

- **Nom scientifique :** *Micromeria debilis*
- **Nom vernaculaire:** نعناع الصيادة



Figure 17: Photo de *Micromeria debilis*

D'après **Quezel et Santa (1963)** la classification qu'occupe *Micromeria debilis* est la suivante:

- **Règne :** Plantae
- **Division :** Magnoliophyta
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** Lamiaceae
- **Genre :** *Micromeria*
- **Espèce :** *Micromeria debilis*

III.10.2.1 Description botanique

Le genre *Micromeria* contient environ soixante-dix(70) espèces avec trente-deux(32) sous-espèces. *M. debilis* est un petit buisson avec des tiges très étroites et des feuilles rhomboïdes généralement de couleur pourpre et de revers rougeâtre. Le calice est caractérisé par des très court dents triangulaires, hérissées, de poils appressés identique à celle du reste de la plante. (**Quezel et Santa, 1963**)

III.10.2.2 Composition chimique

La caractérisation de l'HE de *M. debilis* a fait l'objet de très peu d'étude. **Gherib et al.** en 2016 ont montrés que les monoterpènes sont les composants prédominants de l'HE de *M. debilis* avec un pourcentage de l'ordre de 54,6%, et sont principalement représentés par les β -pinène (19,3%). Géraniol (8,7%), linalol (6,5%) et Neral (5.4%).

III.10.2.3 Propriétés thérapeutiques

Les espèces de *Micromeria* ont généralement de nombreuses activités pharmacologiques, y compris anesthésique, antiseptique et antirhumatismal. Elles sont utilisées contre les maux de tête, les douleurs abdominales, les infections cutanées, et les problèmes de l'hypertension en raison des principaux constituants de son huile essentielles (**Gulluce et al., 2004**). L'HE et les extraits des espèces de *Micromeria* ont une activité biologique antibactérienne et antifongique (**Marin et al., 2015 ; Bakkour et al., 2012**).

PARTIE EXPERIMENTALE



Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1 Matériel fongique

I.1.1 Choix des souches

Les souches fongiques ont été choisies parce qu'elles ont été révélées fortement virulentes par Mme Yakoubi sur deux variétés de plante de tomate.

I.1.2 Origine des souches

Les isolats d'*Alternaria sp.* utilisées pour cette étude proviennent de différentes wilaya d'Algérie (Oran, Mostaganem, Relizane, et Ain Temouchent). Ces isolats ont été isolés au sein de laboratoire de microbiologie appliquée (université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella) par Mme Yakoubi M. à partir de différentes parties de la plante de tomate (tige, feuille et fruit) présentant les symptômes d'alternariose. Ces isolats sont représentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Origine des isolats d'*Alternaria sp.*

Code d'isolats	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Partie d'isolement
A1	18/03/2015	Mostaganem (Stidia)	Fruit
A10	18/03/2015	Mostaganem (Ouriah)	Fruit
A11	18/03/2015	Mostaganem(Stidia)	Fruit
A18	18/03/2015	Mostaganem (Ouriah)	Fruit
A37	25/03/2015	Oran (Sidi Maarouf)	Feuille
A42	25/03/2015	Oran (Sidi Maarouf)	Feuille
A45	24/04/2015	Oran (Bousfer)	Feuille
A51	10/04/2015	Ain Temouchent	Feuille
A57	24/04/2015	Oran (Bousfer)	Feuille
AT01	18/03/2015	Mostaganem (Stidia)	Tige
AT04	18/03/2015	Mostaganem(Ouriah)	Tige

I.1.3 Repiquage des souches

Afin d'obtenir des cultures fongiques jeunes ; des fragments mycéliens de 5mm² des isolats d'*Alternaria* sont découpés à l'anse à partir de la marge des colonies puis transférées sur une nouvelle boîte contenant le milieu PDA (Pomme Dextrose Agar), les boîtes sont ensuite incubées à 25±2 °C pendant 7 à 10 jours.

I.1.4 Induction de la sporulation

Dans le cas des espèces d'*Alternaria* qui présentent une faible sporulation ; les conidies sont obtenues après induction de la sporulation selon la méthode décrite par (Lyudmila et al., 2005) avec quelque modification : le mycélium des colonies (âgés de 10 à 14 jours) cultivé sur milieu PCA est blessé à l'aide d'un scalpel stérile, puis les boîtes de pétri sont placées au réfrigérateur (+5°C) pendant 12 heures puis exposées à la lumière du soleil pendant 120 min, elles sont ensuite transférées à 25±2°C sous l'obscurité continue pendant 48h.



Figure 17 : Photos représentant les étapes de l'induction de la sporulation

I.1.5 Conservation des isolats

La conservation des isolats d'*Alternaria* se fait dans des tubes à essai contenant le milieu PDA incliné, puis mis à incuber à 25±2°C, après 7 jours les isolats sont transférés à 4°C et ceci pour des utilisations ultérieures.

I.1.6 Identification des isolats

I.1.6.1 Etude macroscopique

L'étude macroscopique des isolats d'*Alternaria* se fait à l'œil nu, elle est basée sur la description morphologique des colonies cultivées sur milieu PDA et incubées à 25±2°C pendant 7 à 10 jours. Les critères morpho-cultureux retenus pour la caractérisation des colonies selon **Botton et al., 1990** sont :

- L'aspect du mycélium
- La vitesse de la croissance mycélienne
- La couleur des colonies (avers et revers)
- Les marges (couleur et forme)
- La pigmentation de milieu.

I.1.6.2 Etude microscopique

Cette étude se fait par l'observation des isolats au microscope optique aux différents grossissements (Gx10, Gx40, et par l'huile à immersion à (Gx100). Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycelium (absence ou présence de cloison, couleur, ...etc) et des spores (forme, couleur, taille, nombre de septa, formation des chaînes de spores)

Les préparations microscopiques ont été réalisées par deux méthodes :

✚ A l'état frais

La manipulation consiste à mettre un petit fragment mycelien sur la lame propre placée entre deux becs bunsen en présence d'une goutte de liquide de montage (lactophenol, bleu de méthylène), puis le recouvrir délicatement d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air des débordements.

✚ Par microculture (culture sur lame ou méthode de carré de gelose)

Cette technique consiste à ensemencer les spores des moisissures sur des petits carrés de PDA (15mmx15mm) de 2 mm d'épaisseur placés entre lames et lamelles. Les spores sont ensemencés sur les limites périphériques du milieu pour fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre humidifiée, et après 3 jours d'incubation à $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, les lamelles aux quelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophenol pour l'observation microscopique aux grossissements x10, x40 et x100.

Les observations sont comparées aux clés d'identification propre à chaque espèce (Simmons, 2007)

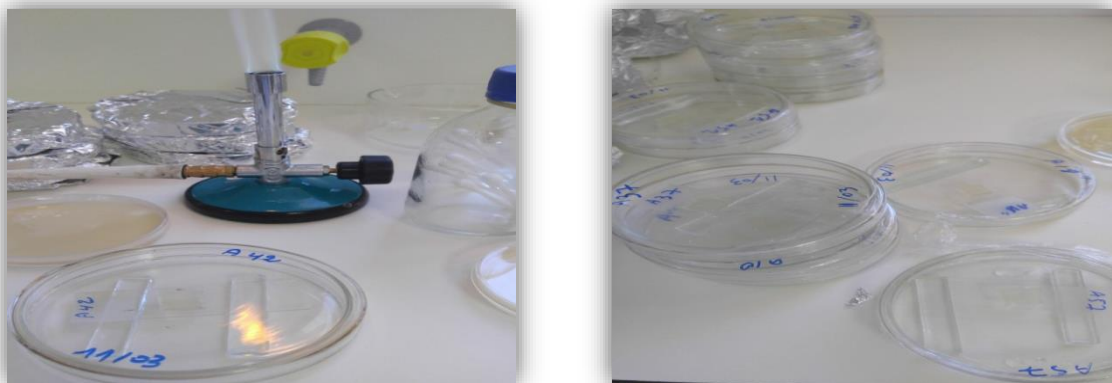


Figure 18 : Photos représentant la méthode de microculture

I.2 Matériel végétal

Nous avons utilisé la partie aérienne de *Pulicaria mauritanica* et *Micromeria debilis* pour extraire leurs huiles essentielles, et tester leurs activités antifongiques sur Dix (10) souches du genre *Alternaria*.

I.2.1 Récolte de matériel végétal

Le matériel végétal est récolté dans la wilaya de Naama le mois de Novembre 2018. et le mois de Février 2019 dans la région d'Ain Sefra : Djbel Mekter pour *Pulicaria mauritanica* et Mograr pour *Micromeria debilis*

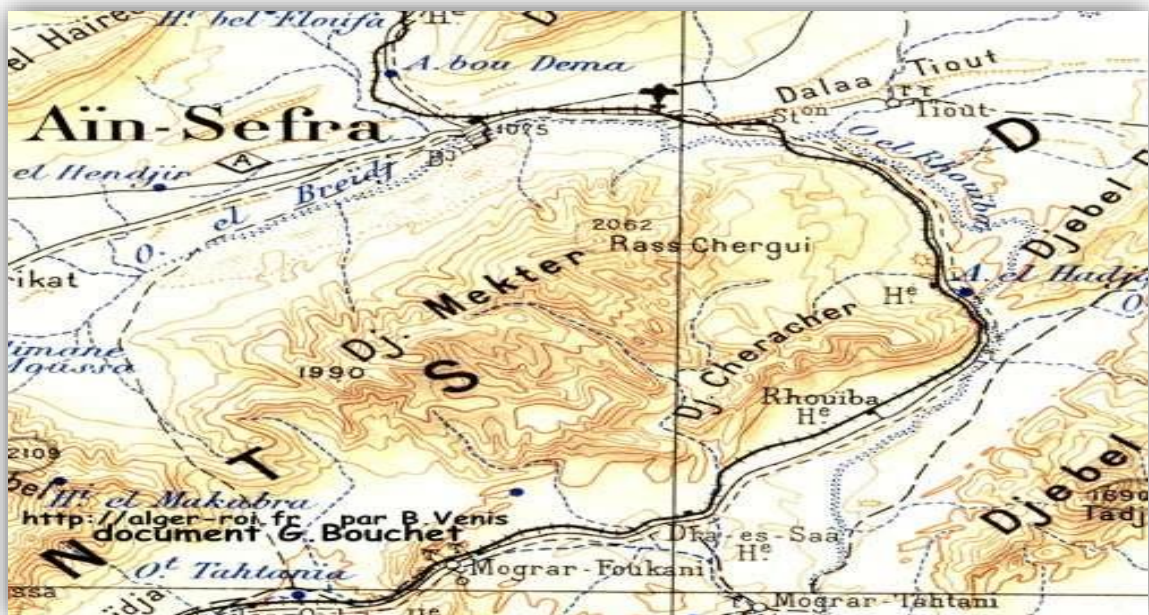


Figure 19 : Situation géographique des lieux des prélèvements

I.2.2 Identification botanique

Les deux espèces ont été identifiées au sein du centre universitaire Salhi Ahmed de Naama exactement dans le laboratoire de microbiologie N01 par M^r Maarouf A. (professeur au C.U.Naama).

I.2.3 Préparation des échantillons

Le matériel végétal récolté est ensuite séché à l'abri de la température et la lumière de soleil afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules pendant huit (08) jours en moyenne.

Après l'opération de séchage, les parties destinées particulièrement tiges, feuilles et fleurs sont ensuite conservées dans des sacs en papier.

I.2.4 Extraction de l'huile essentielle

La technique utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle est la technique conventionnelle par hydrodistillation (water distillation), l'extraction a été faite par un montage de type Clevenger. Le principe de cette méthode consiste à exploiter la volatilité des constituants de l'HE. Le matériel végétal est immergé directement dans l'eau distillée 50 g de matériel végétal sec (partie aérienne de la plante) est introduit dans un ballon de 01litres imprégné d'eau distillée, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau dégagée sont condensés au niveau d'un réfrigérant (Bettaieb R. et al. ,2017) et puis sont récupérées. Après décantation l'huile essentielle obtenue est conservé à une température de 4°C dans des tubes ombrés et bien scellés (Msaada et al., 2012)(Bettaieb R. et al. ,2017) .



Figure 20 : Montage de type Clevenger

I.2.5 Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé, le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

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

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) (Selvakumar et al., 2012).

I .3 Activité antifongique

I .3.1 Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne

L'effet antifongique des huiles essentielles sur les isolats d'*Alternaria*, est évalué selon la méthode de contact directe sur gélose décrite par **Fandoham (2004)**. Différentes concentrations en huile essentielles 0.8 µL/mL, 0.95 µL/mL , 1.1 µL/mL sont obtenues par addition de 12, 14.25 et 16.5 µL d'huile essentielle à 15 mL de milieu PDA en surfusion à 45⁰C contenant Tween 20 (Sigma 0,5%, v/v). Le mélange (huile essentielle+PDA+ Tween 20) est ensuite homogénéisé au vortex puis coulée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre.

Deux concentrations ont été utilisées pour l'HE de *M.debilis* (0.95 µL/mL, 1.1 µL/mL).

Des disques mycéliens de 6 mm de diamètre prélevés à partir de la périphérie des colonies fongiques âgées de 10 jours, sont déposés aseptiquement au centre des boîtes de pétri contenant le milieu PDA additionné à différentes concentrations d'huile essentielle avec trois répétitions pour chaque isolat et chaque concentration. Les boîtes de pétri témoins contiennent 15 ml de milieu PDA additionné au Tween 20 (sans huile essentielle). Les souches testées sont ensuite incubées à 25⁰C pendant 10 jours.

La mesure de la croissance mycélienne est effectuée chaque jour à partir du 3^{ème} jusqu'au 10^{ème} jour d'incubation par mesure des deux diamètres perpendiculaires des colonies.

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

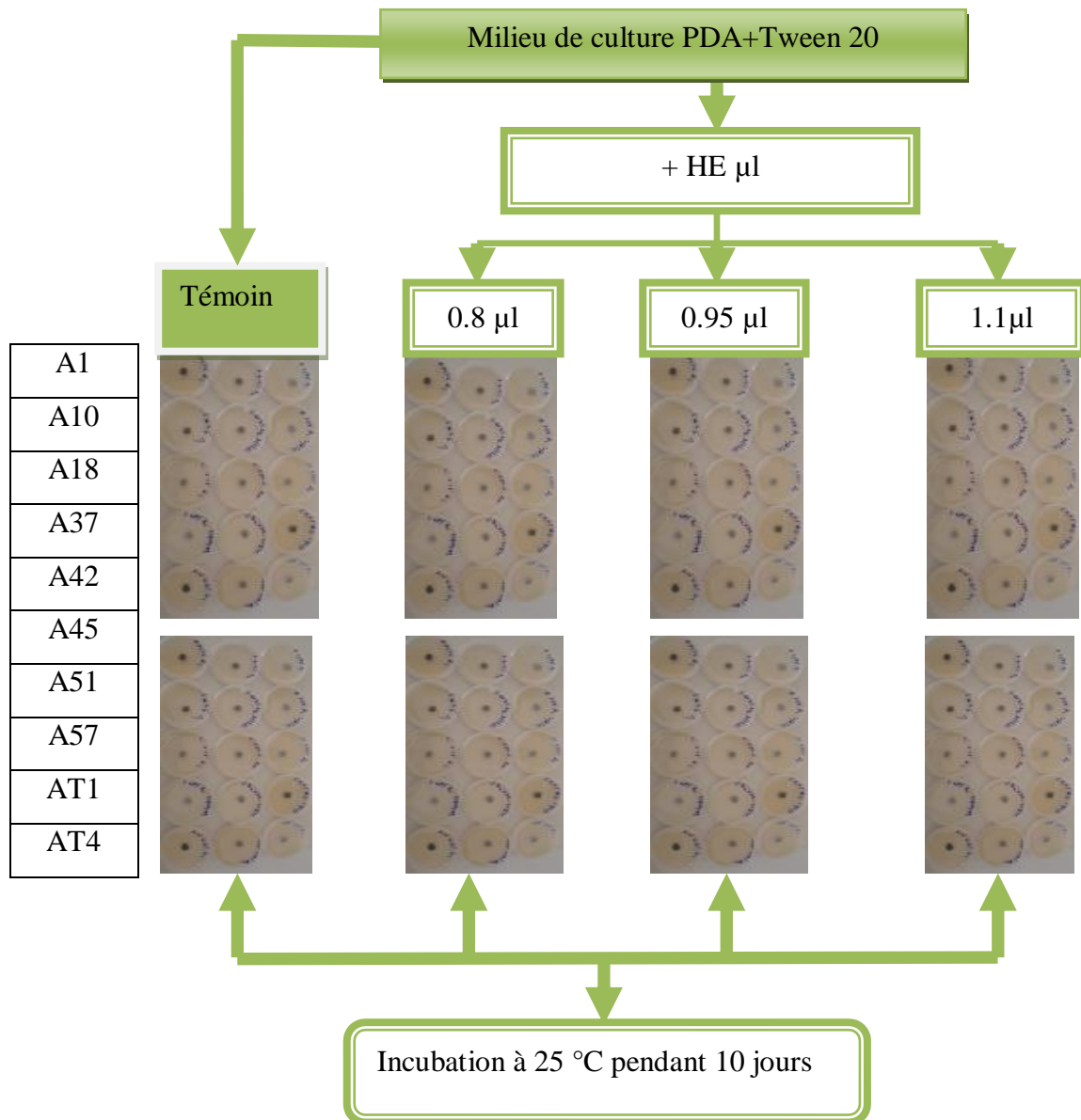


Figure 21 : Protocole expérimental de l'activité antifongique

I .3.2 Évaluation de l'indice antifongique

L'indice antifongique (pourcentage d'inhibition) est déterminé par la formule suivante (**Kasmi *et al.*, 2018**) :

$$\mathbf{IAF(\%)} = [(X - X_i) / X] \times 100$$

Avec :

X : Estimation de la croissance mycélienne ou de la sporulation chez le témoin – diamètre de disque initial (en absence d'huile essentielle).

X_i : Estimation de la croissance mycélienne ou de la sporulation chez l'essai - diamètre de disque initial (en présence d'huile essentielle)

I.3.3 Effet des huiles essentielles sur la sporulation

Les colonies fongiques âgées de 10 jours, ayant servi pour l'estimation de la croissance mycélienne ont été utilisées pour l'évaluation du taux de la sporulation (Mebarki, 2015).

Les spores d'*Alternaria*.sp. sont récupérées aseptiquement à la surface des colonies à l'aide d'une pipette pasteur recourbée par addition de 5 ml d'eau distillée stérile; après agitation au vortex / 30 seconde, la suspension sporale est filtrée à travers une double mousline stérile puis récupérée dans des tubes stériles. Le taux des spores est déterminé à l'aide d'une cellule malassez.

Les résultats sont exprimés en nombre de spore/ ml de suspension sporale.

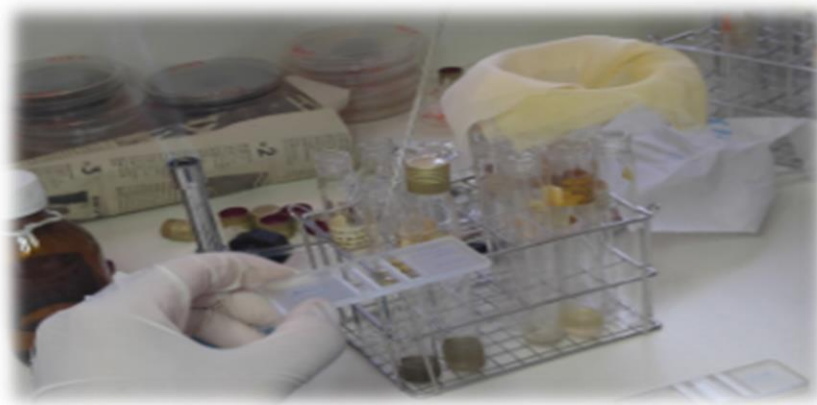


Figure 22: Photo représente la détermination du taux d'inhibition de la sporulation

I.3.4 Détermination de la vitesse de la croissance mycélienne

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

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

D = Diamètre de la zone de croissance du chaque jour (mm).

Te = Temps d'incubation (heure).

Chapitre II : Résultats et discussions

II .1 Matériel fongique

II .1.1 Identification des isolats

L'identification des espèces d'*Alternaria* a été réalisé selon les clés de détermination de (Simmons, 2007 ; Rodrigues et al., 2010 et Mirkarimi et al ,2013) en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, les marges,etc) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des spores (forme des spores, enchainement des spores, la couleur, la tailleetc.)

II .1.1.1 Etude macroscopique

L'étude macroscopique des 10 isolats d'*Alternaria sp* sur milieu PDA après sept (7) jours d'incubation à 25°C, a révélé une variabilité considérable entre les caractères morphologiques des isolats (tableau 3). Les isolats présentent une couleur de colonie varie du clair au foncé avec une teinte vert olive à grisâtre, la majorité des colonies ont un aspect duveteux ou cotonneux avec des bordures régulières ou irrégulières.

Ces observations sont en accord avec ceux obtenus par (Mirkarimi et al., 2013) qui avaient reporté que la couleur des colonies d'*A.tenuissima* est vert olive. De même (Zheng et al., 2015) ont observé un aspect cotonneux pour *A.tenuissima* avec une couleur vert grisâtre a verdâtre, aussi (Kumari et al., 2009) ont observé différents isolats d'*A .alternata*, les colonies avaient une texture cotonneuse à compacte et dense avec une couleur clair à noir foncé.

Parmi les isolats à petites spores, aucune pigmentation n'a été observée dans le milieu PDA, tandis que les isolats à grosses spores ont présenté une pigmentation varie entre jaune et orange. (Virender et al., 2008) ont reporté que la pigmentation d'*A.solani* dans le milieu PDA varie entre jaune, marron, brunâtre à noir, les mêmes observations ont été signalés par (Kumar et al. 2008).

Tableau 3 : Caractères cultureux des isolats d'*Alternaria sp* sur milieu PDA

Code d'isolats	Espèce	Aspect du mycélien	Couleur de la colonie	Couleur de l'inverse de la colonie	Pigmentation	Marge	Forme de la colonie
A1	<i>A.tenuissima</i>	Cotonneux	Vert olive	Vert olive	Aucune	Blanche	Régulière
A10	<i>A.alternata</i>	Duveteux à Cotonneux	Vert foncé	Vert foncé	Aucune	Blanche	Régulière
A18	<i>A.tenuissima</i>	Cotonneux	Vert olive	Vert olive	Aucune	Blanche	Régulière
A37	<i>A.solani</i>	Duveteux	Gris	Gris à noir	Jaune	Brune	Régulière
A42	<i>A.tomatophila</i>	Cotonneux	Gris foncé	Noir	Très forte de couleur orange	Aucune	Régulière
A45	<i>A.tomatophila</i>	Duveteux	Vert avec un fond grisâtre	Vert olivâtre	Faible de couleur jaune	Blanche	Irrégulière
A51	<i>A.solani</i>	Cotonneux	Gris	Gris à noir	Jaune à orange	Aucune	Régulière
A57	<i>A.tenuissima</i>	Cotonneux	Vert olive avec un fond grisâtre	Vert olive	Aucune	Blanche	Régulière
AT1	<i>A.tomatophila</i>	Duveteux	Gris clair	Marron	Orange	Blanche	Irrégulière
AT4	<i>A.alternata</i>	Cotonneux	Gris	Gris foncé	Aucune	Blanche	Régulière

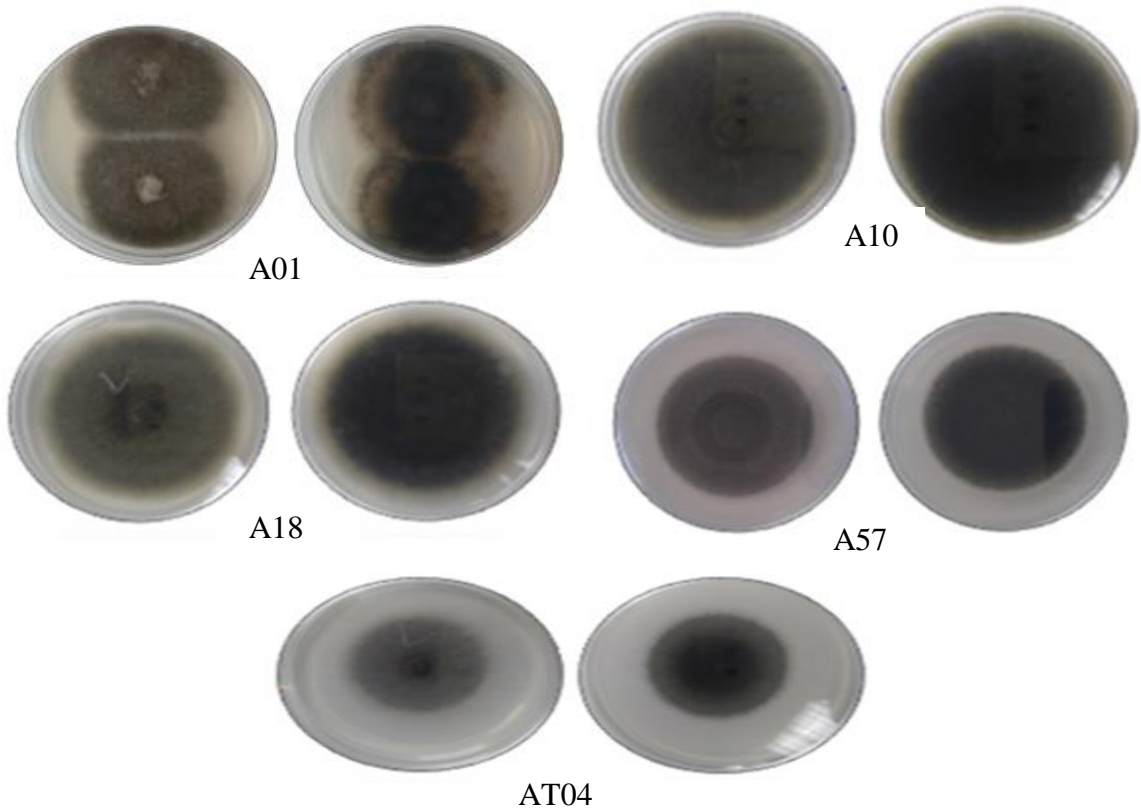


Figure 23 : Aspect macroscopique des colonies (revers et avers) des espèces d'*Alternaria* à petite spores sur milieu PDA

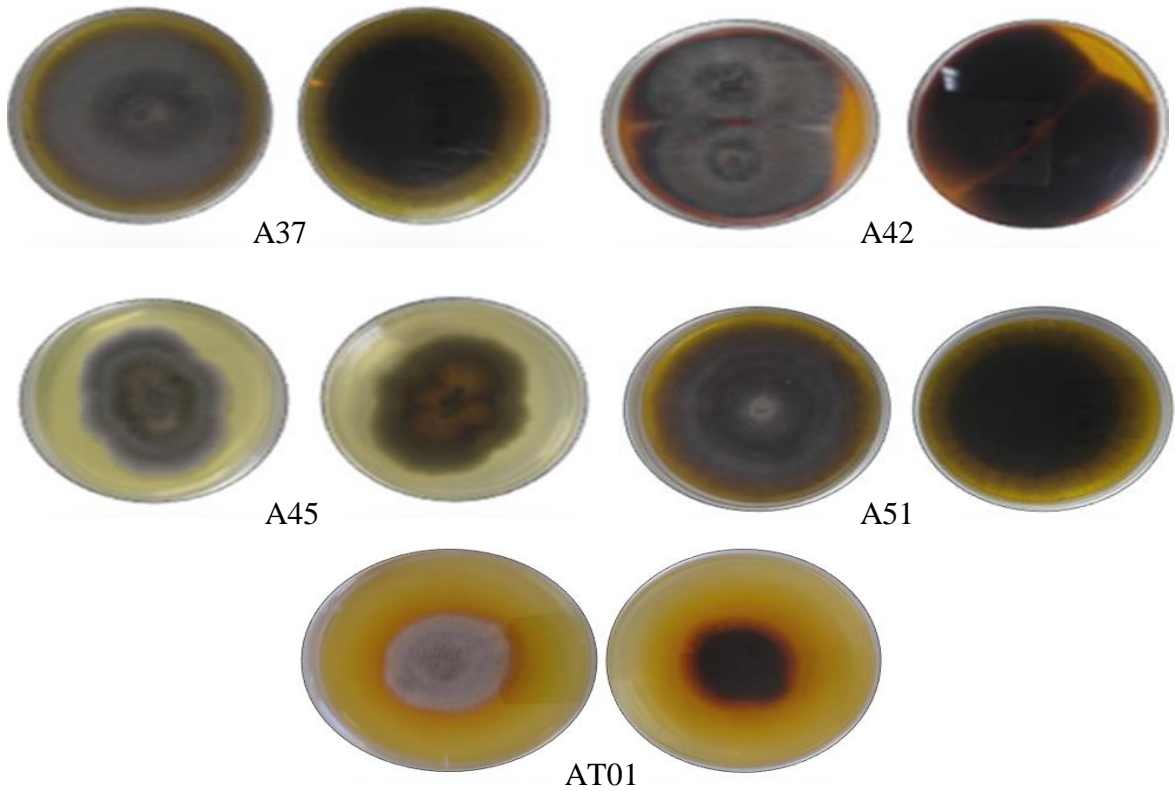


Figure 24 : Aspect macroscopique des colonies (revers et avers) des espèces d'*Alternaria* à grosses spores sur milieu PDA

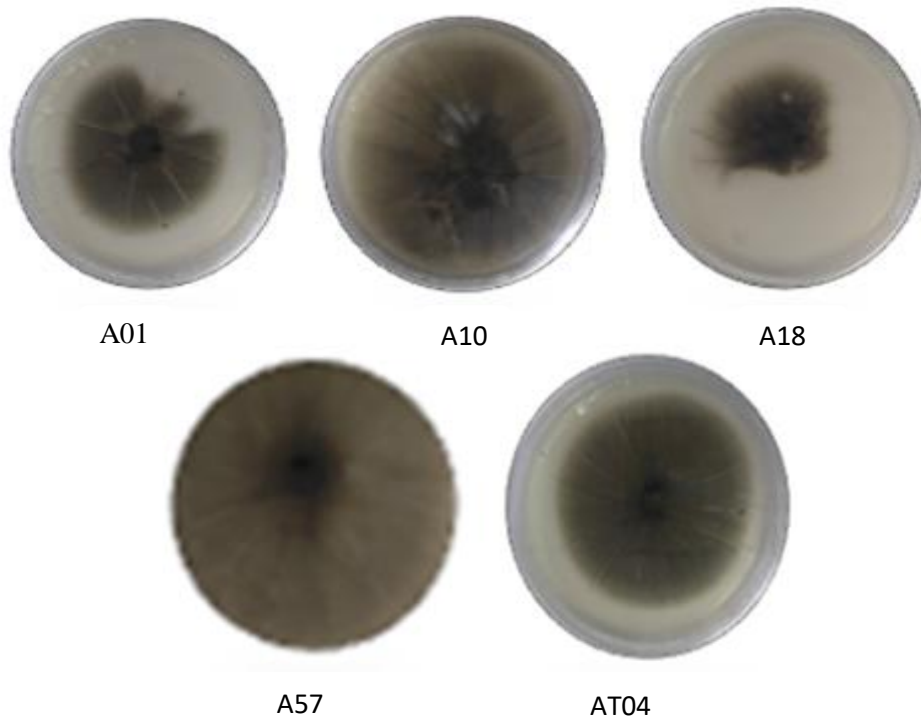


Figure 25 : Aspect macroscopique des colonies des espèces d'*Alternaria* à petites spores sur milieu PCA après induction de la sporulation

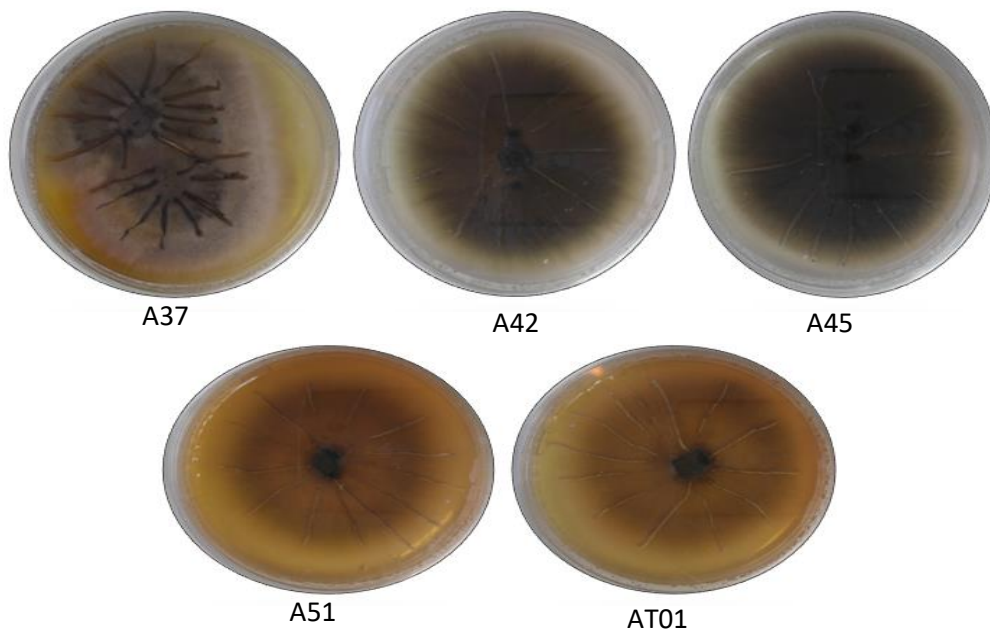


Figure 26 : Aspect macroscopique des colonies des espèces d'*Alternaria* à grosses spores sur milieu PCA après induction de la sporulation

II .1.1.2 Etude microscopique

L'observation microscopique des dix (10) isolats d'*Alternaria sp* a révélé deux types des conidies: les petites spores et les grosses spores.

Les souches à petites spores sont caractérisées par des spores de forme ellipsoïde et ovoïde, et une couleur varie entre brun et jaune avec des cloisons transversaux et longitudinaux.

En revanche les souches à grosses spores présentent des conidies avec forme de massue, de couleur varie entre brun et jaune. Les isolats d'*A. tomatophila* différent d'*A.solani* par la taille, la forme des conidies et le nombre des cloisons et aussi les spores d'*A.tomatophila* caractérisés par un long bec. Ces résultats sont similaires à ceux cités par (Rodrigues et al. 2010) qui avaient reporté qu'*A.tomatophila* présente un long bec par rapport à *A.solani* parfois bifurqué et plus long que le corps de la spore.

Bien que les caractéristiques microscopiques des conidies et conidiophores fournissent souvent les principaux critères taxonomiques pour l'identification des espèces fongiques, une identification moléculaire reste nécessaire afin de confirmer ces espèces.

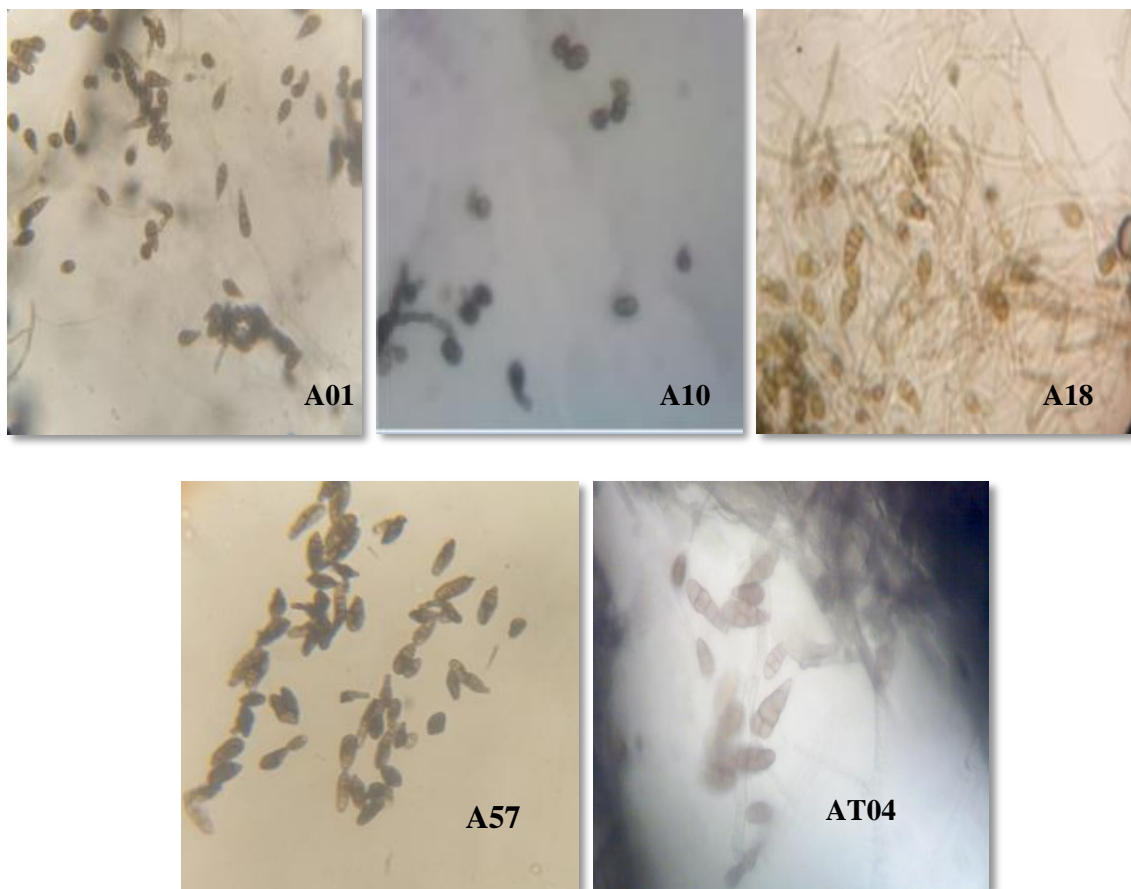


Figure 27 : Aspect microscopique des espèces d'*Alternaria* à petites spores (Gx40) .

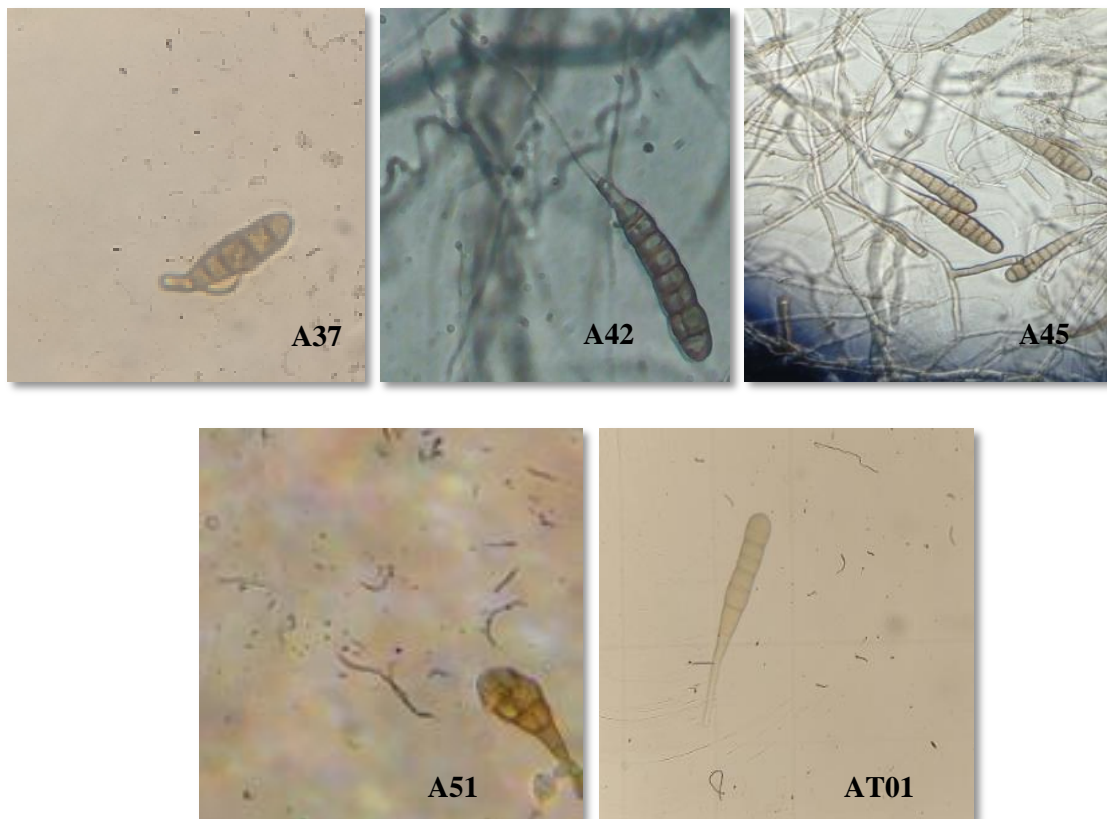


Figure 28: Aspect microscopique des espèces *d'Alternaria* à grosses spores(Gx100)

II .2 Caractéristiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles des espèces étudiées obtenues après une hydrodistillation, présentent des caractéristiques regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Caractéristiques des huiles essentielles

Espèce	Couleur	Odeur	Aspect
<i>P.mauritanica</i>	Jaune foncé	Forte odeur	Liquide
<i>M. debilis</i>	Vert clair	Forte odeur	Liquide

Ces caractéristiques diffèrent d'une plante à une autre aussi de la partie soumise à l'extraction (Gherib, 2014).



Figure 29: Huile essentielle de *P. mauritanica*



Figure 30: Huile essentielle de *M. debilis*

II .3 Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle des deux espèces est exprimé en pourcentage massique par rapport à la matière végétal sèche, représenté dans le tableau 5

Tableau 5 : Rendement calculé en (%) pour les deux espèces étudiées

Espèce	Quantité de la biomasse(g)	Quantité d'huile (g)	Rendement (%)
<i>P. mauritanica</i>	50	0.15	$(0.15/50) \times 100=0.30$
<i>M.debilis</i>	400	0.18	$(0.18/400)\times 100=0.045$

Le rendement d'extraction que nous avons obtenu de l'HE de *P.mauritanica* est de l'ordre de 0.30%, cette valeur est inférieure à celle obtenue par (Gherib, 2014) en période de floraison (1.17 %) et à la fin de floraison (0.70 %). En parallèle, on a obtenu un rendement de l'ordre de 0.045% de l'HE de *M.debilis*, et qui est inférieur à ceux obtenus par (Gherib et al., 2016) dans les deux périodes de floraison : Mai 0.07% et Novembre 0.12%.

Divers facteurs peuvent influencer le rendement en HE tels que, la période de récolte de la plante, l'âge, la partie soumise à la distillation, conditions de stockage de la plante et la méthode d'extraction utilisée.

II .4 Activité antifongique

II .4.1 Cinétique de croissance mycélienne

II .4.1.1 Cas d'HE de *P.mauritanica*

Les figures 31,32, 33 et 34 représentent les résultats enregistrés sur la cinétique de croissance des souches d'*Alternaria sp* en fonction de temps (jours) et la concentration de l'HE de *P. mauritanica*.

On a observé que la croissance mycélienne dans la plupart des souches testées est lente par rapport au témoin et l'augmentation de la concentration exerce un retard de croissance voire inexistant à une concentration de 1.1µl/ml des souches A18, A37 , A57 ,AT1 et AT4, ce qui explique que l'HE de *P. mauritanica* a un effet sur la croissance des souches fongiques.

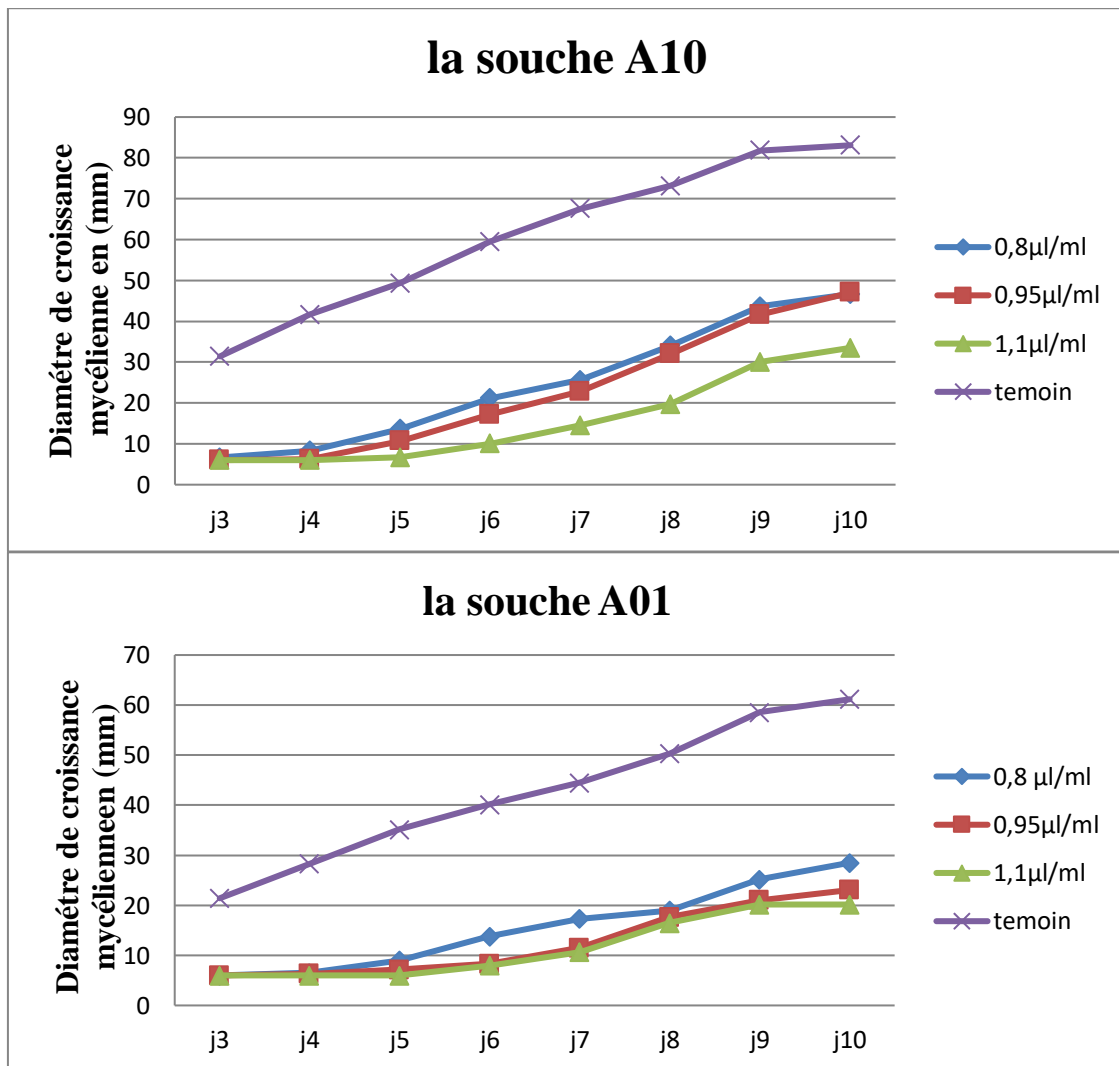


Figure 31: Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (A01 et A10) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *P. mauritanica*

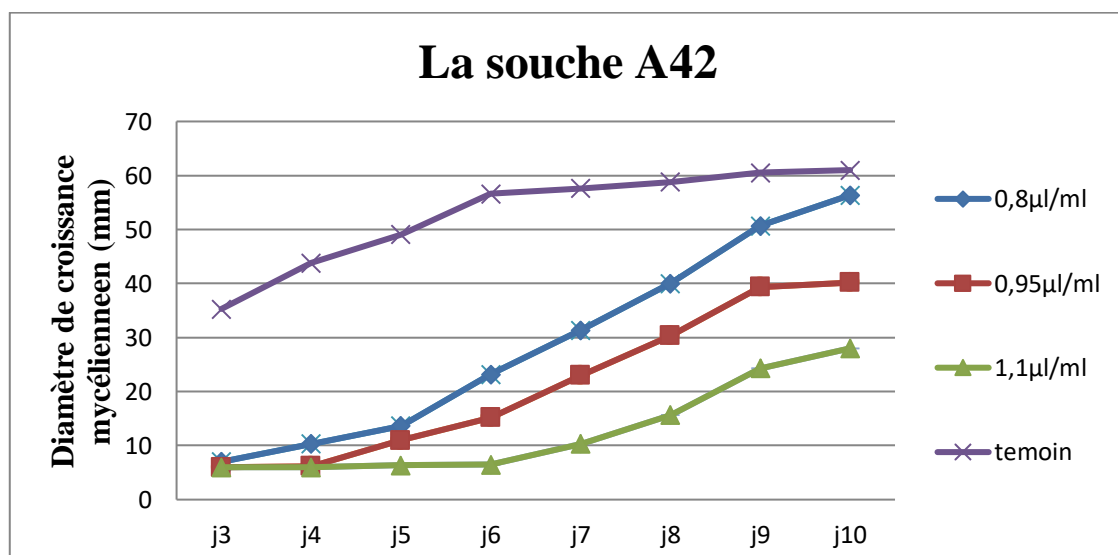
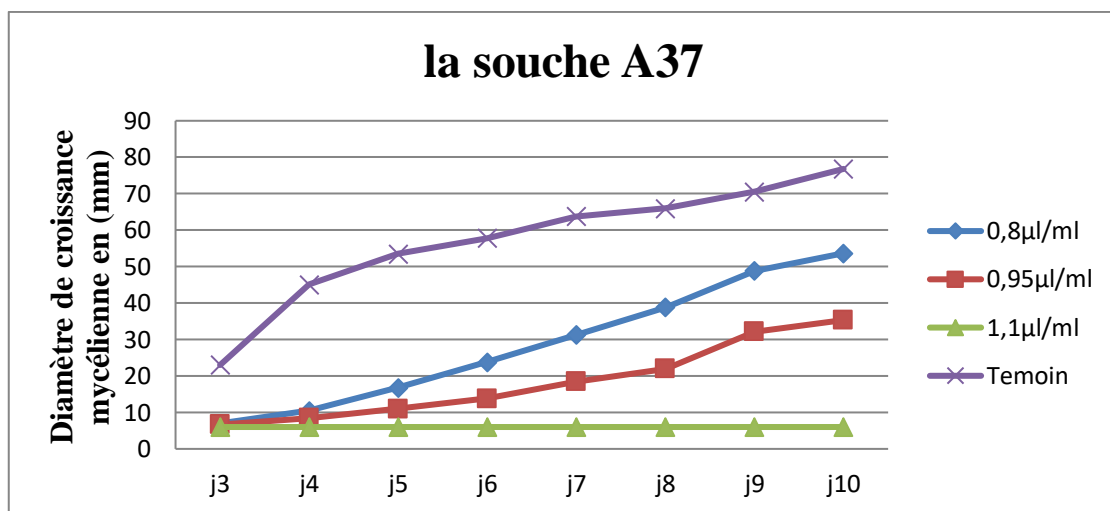
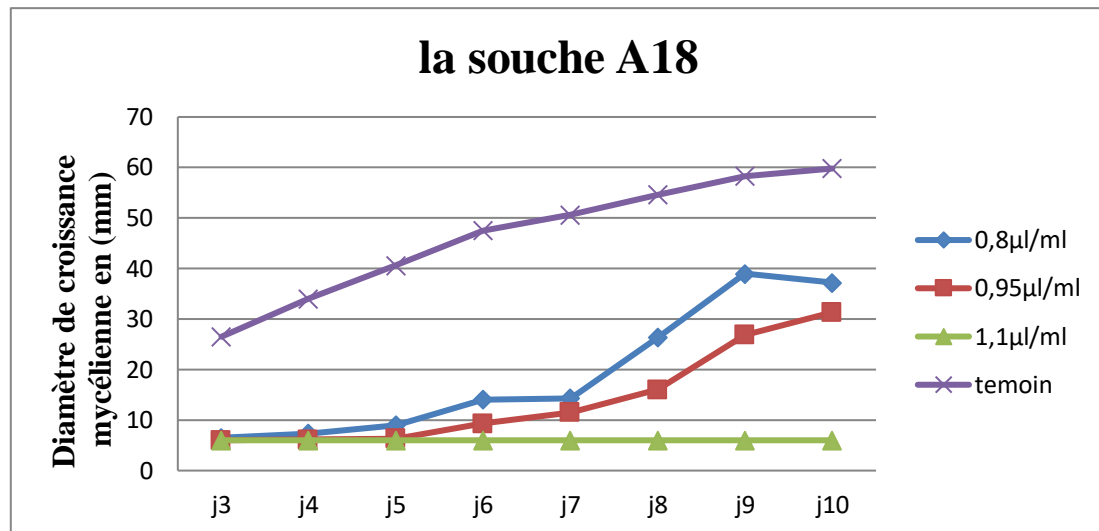


Figure 32: Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria*(A18 et A37 et A42) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *P. mauritanica*

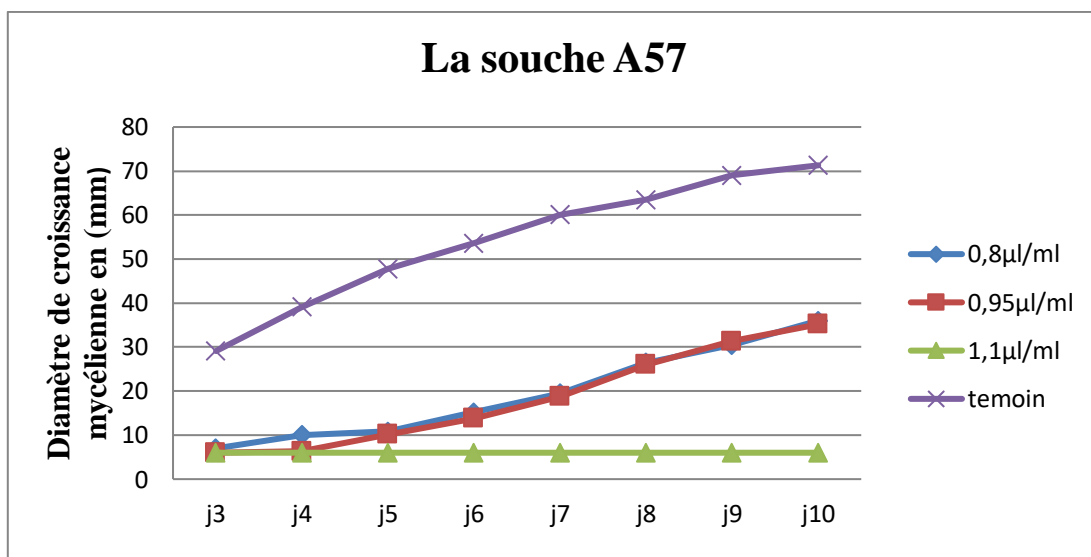
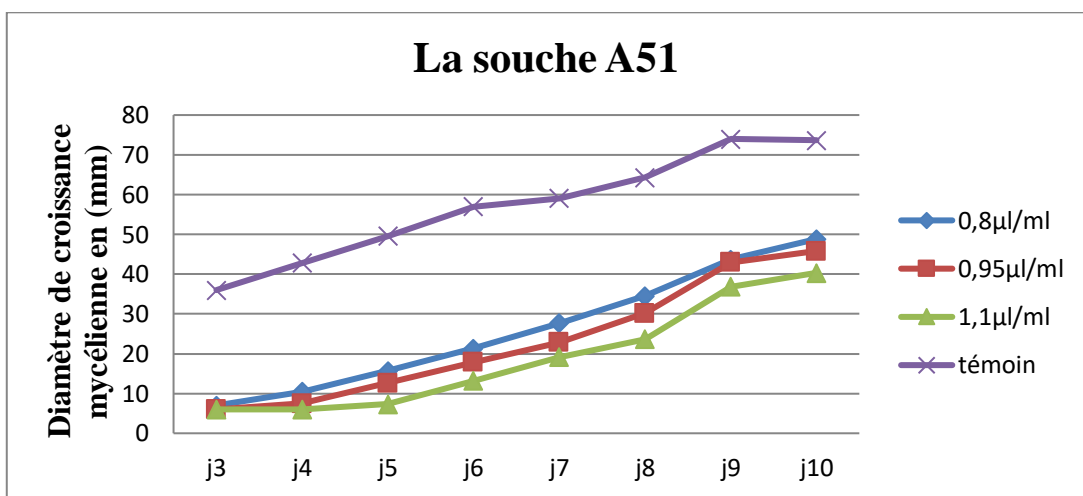
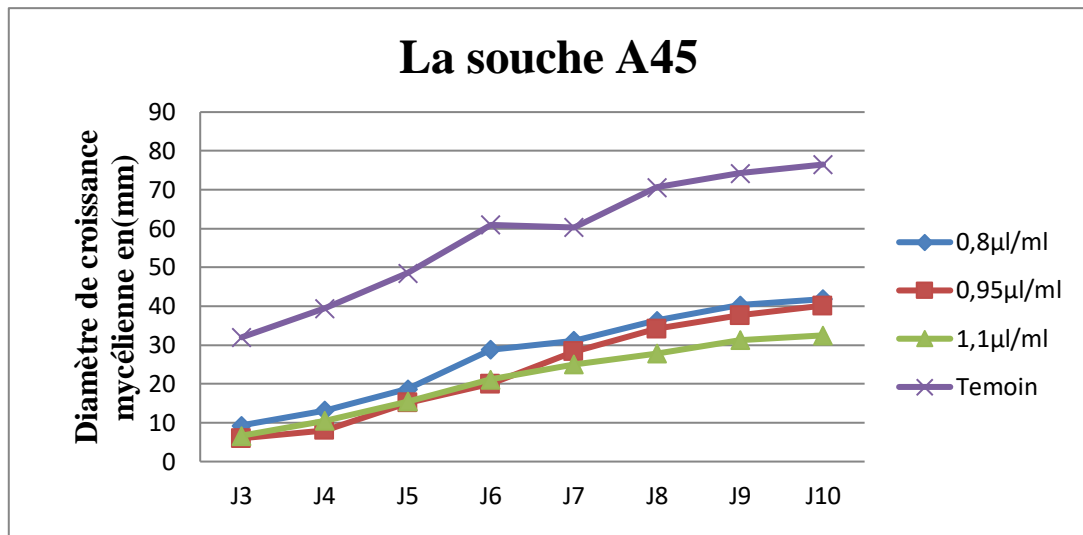


Figure 33: Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (A45, A51 et A57) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *P. mauritanica*

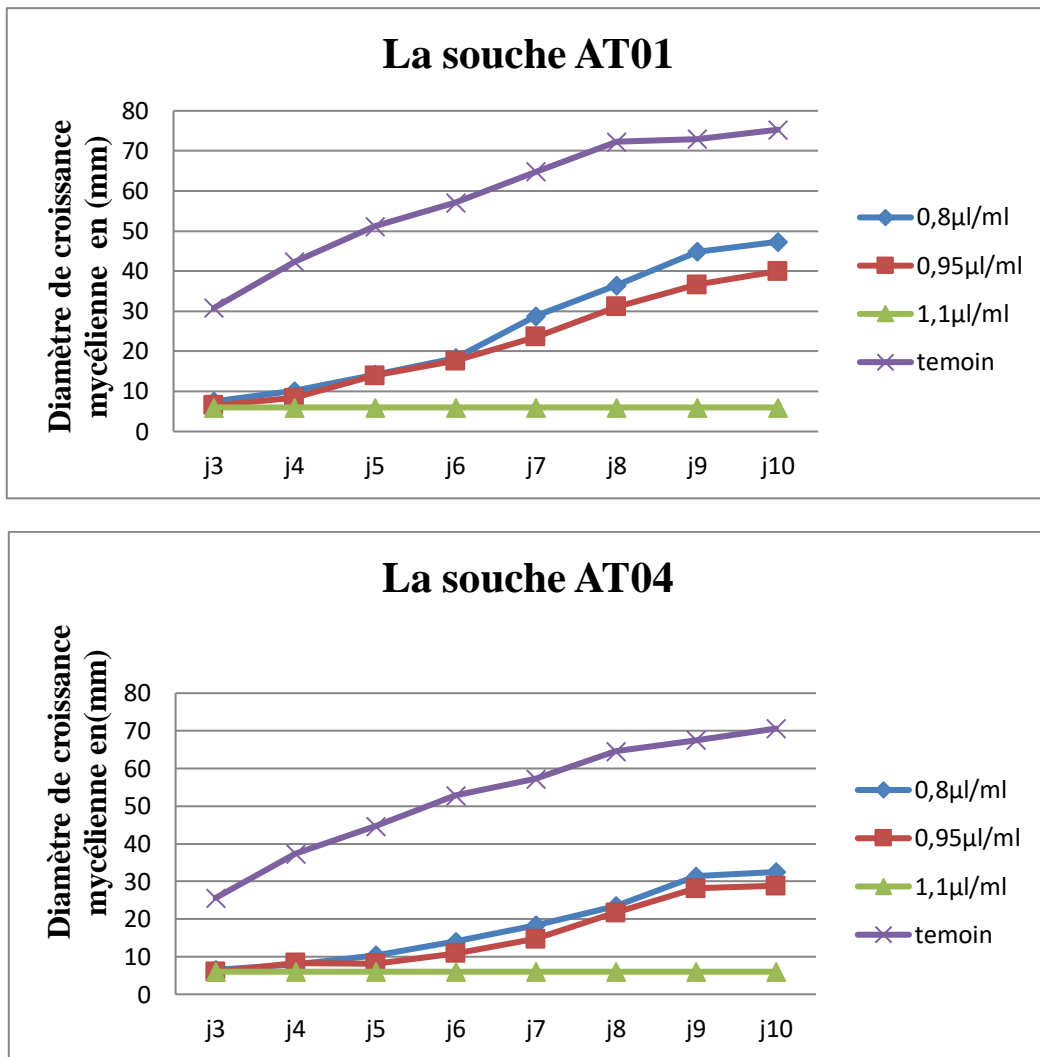


Figure 34 : Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (AT01 et AT04) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *P.mauritanica*

II .4.1.2 Cas d'HE de *M. debilis*

Les figures 35, 36 , 37 et 38 représentent les résultats enregistrés sur la cinétique de la croissance des souches d'*Alternaria* en fonction de temps (jours) et les concentrations de l'HE *M. debilis* .

On a observé que la croissance mycélienne dans la plupart 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 *M. debilis* a un effet inhibiteur sur la croissance, mis appart la souche A42 ou elle a été inhibé par une concentration de 1.1µl/ml, et la souche A57 qu'elle a été inhibé par une concentration de 0.95µl/ml

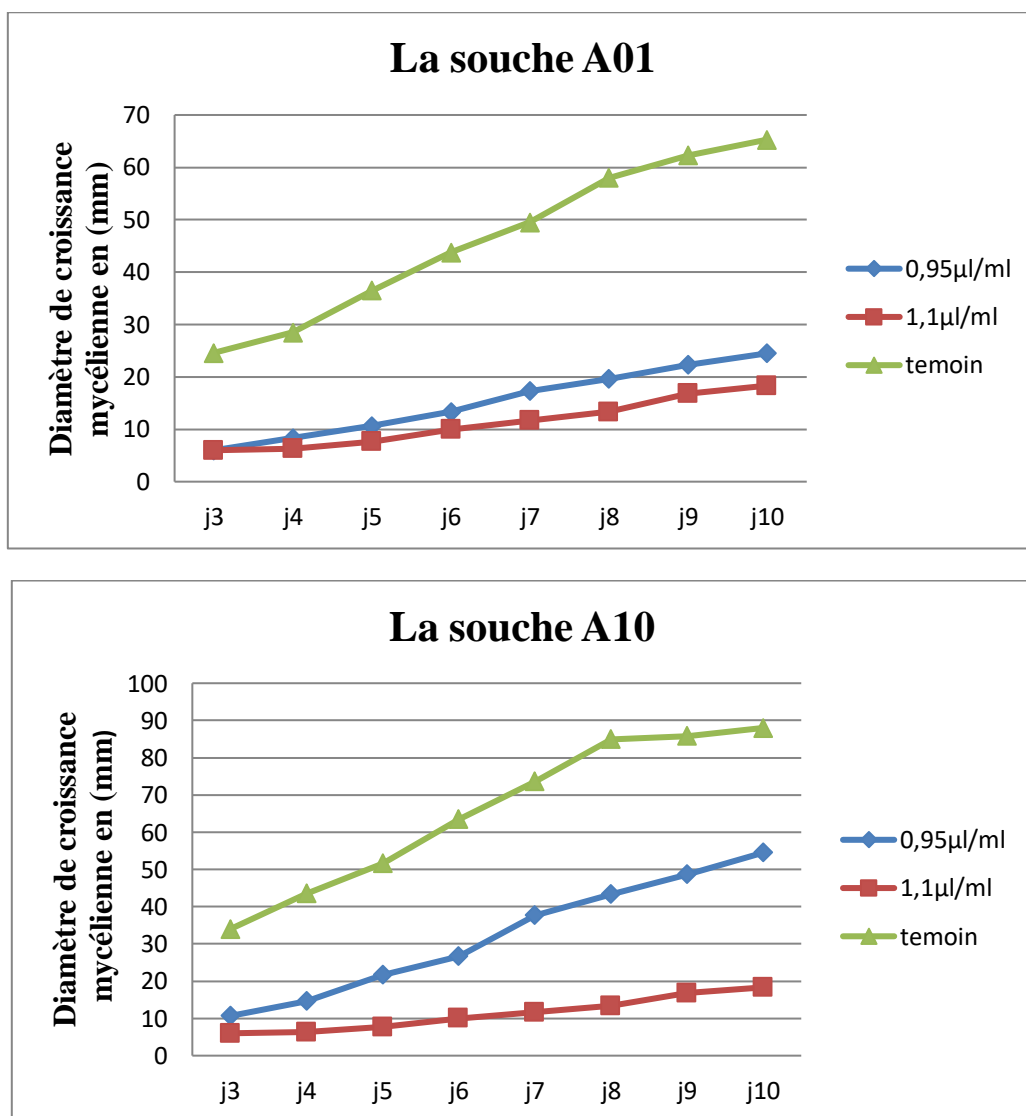


Figure 35 : Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (A01 et A10) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *M.debilis*

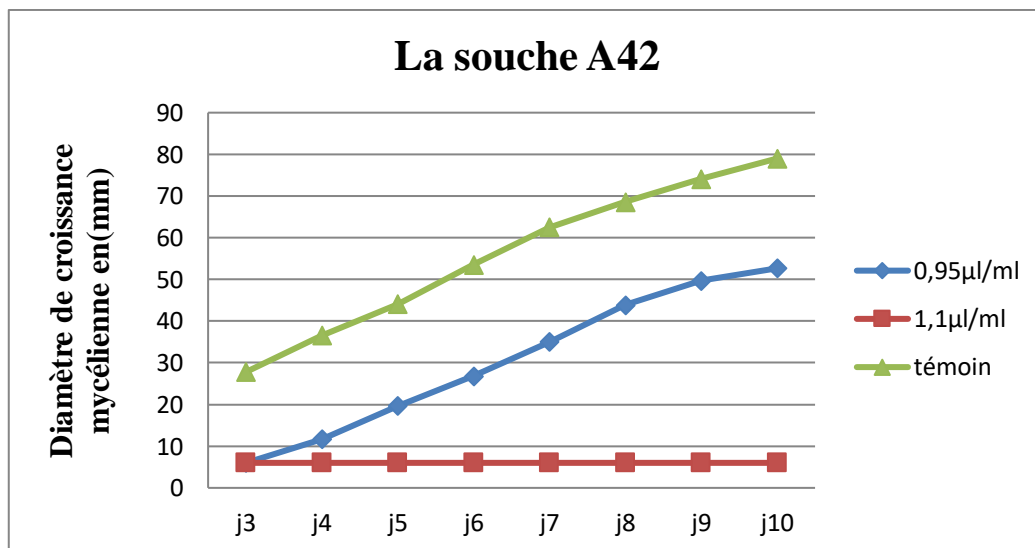
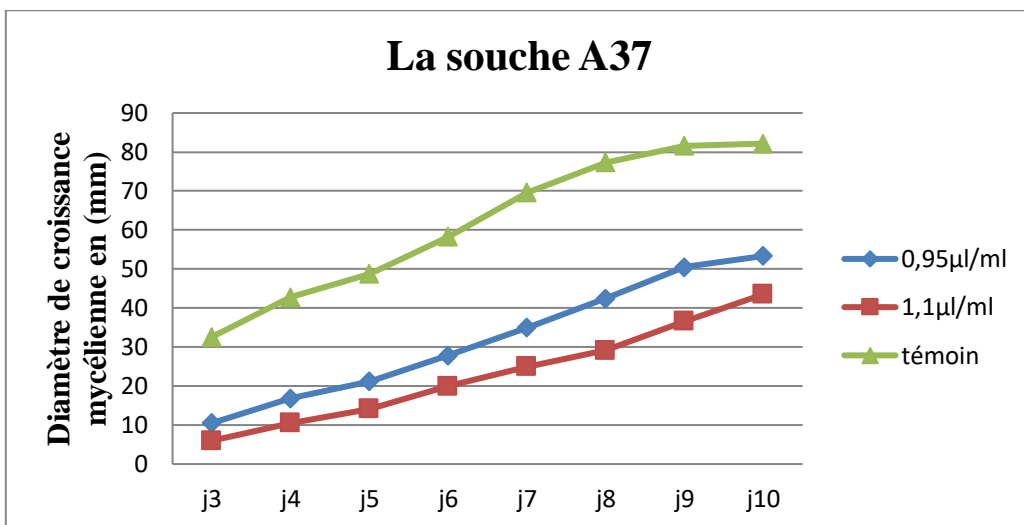
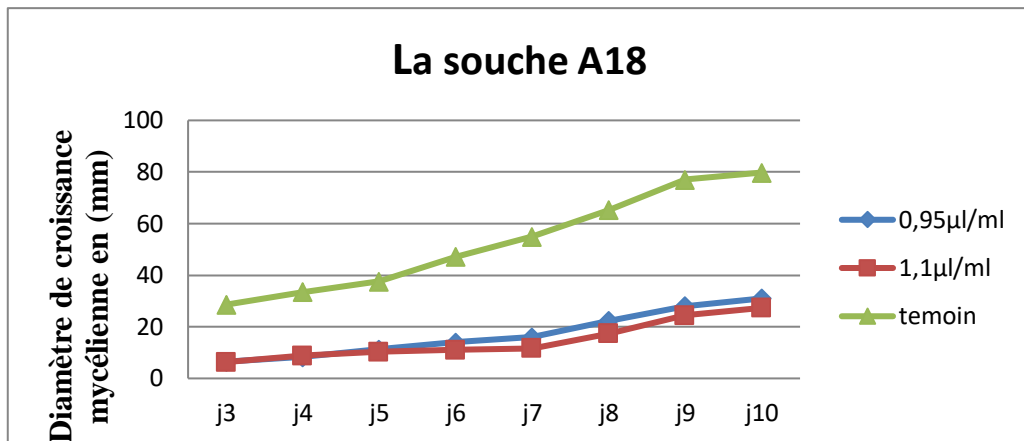


Figure 36 : Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (A18, A37et A42) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *M.debilis*.

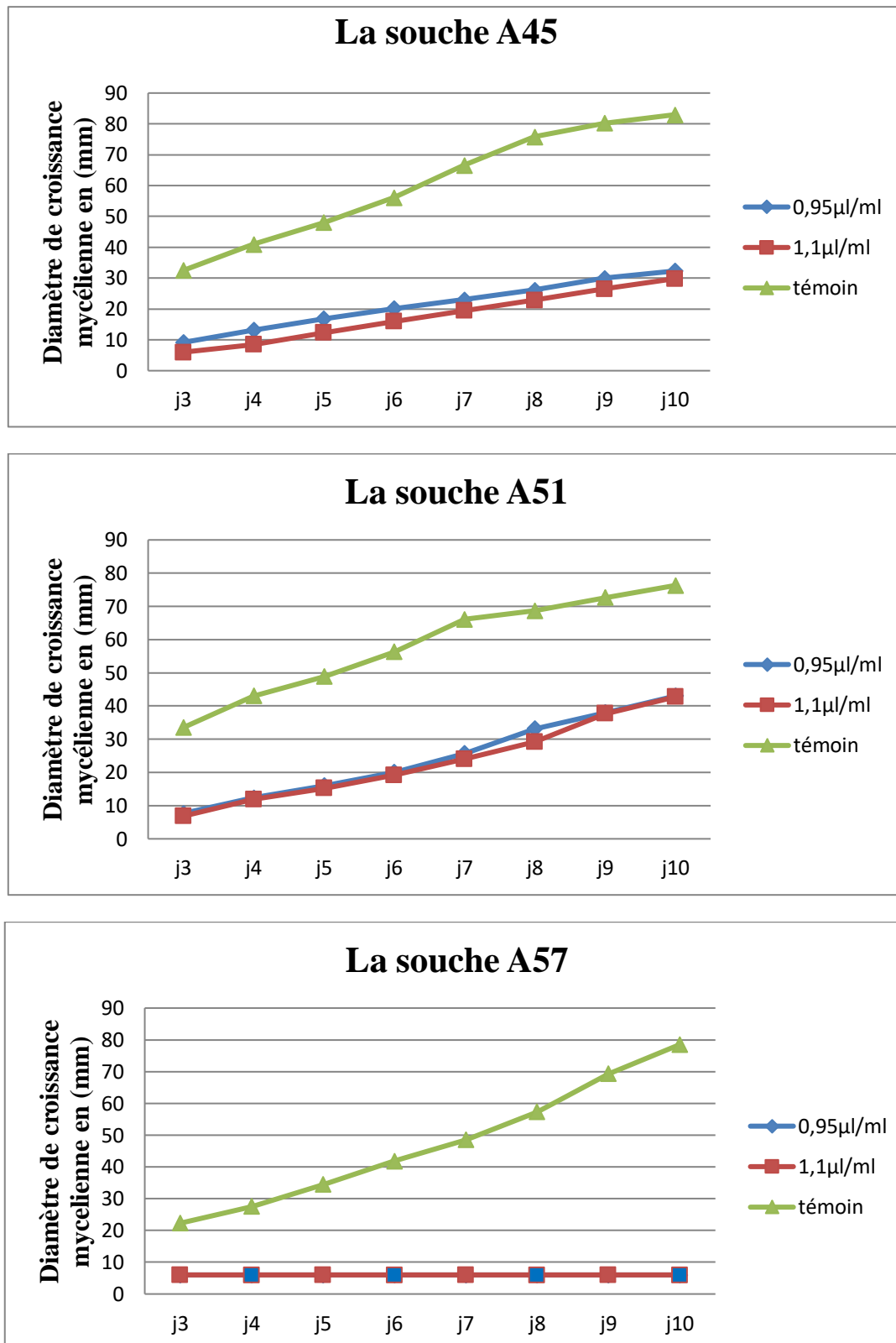


Figure 37: Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (A45, A51 et A57) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *M.debilis*.

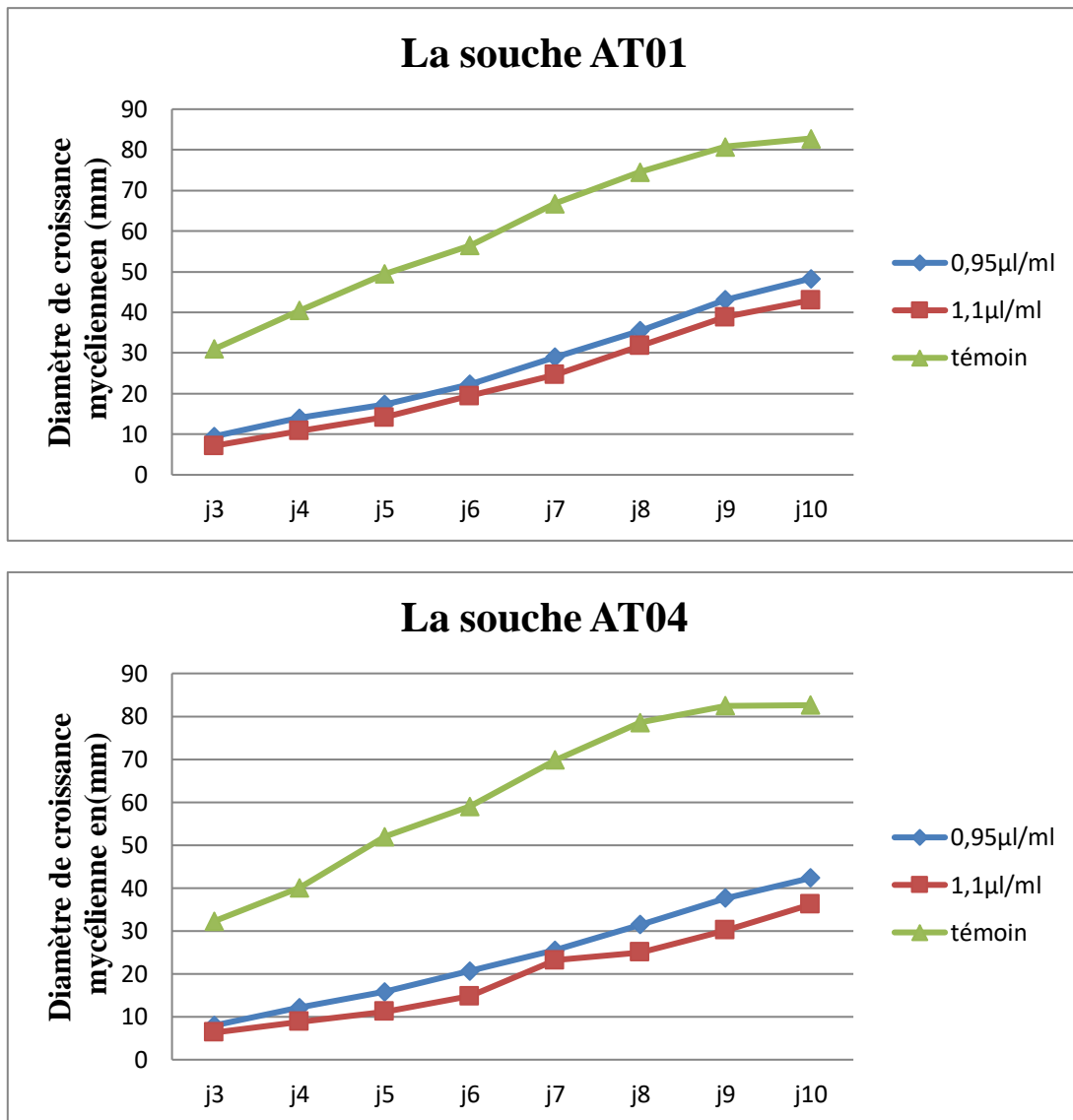


Figure 38 : Cinétique de croissance des souches d'*Alternaria* (AT01 et AT04) en fonction de temps (jours) et concentration de l'huile essentielles de *M.debilis*

II .3 .3 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats illustrés dans la figure 39 montrent le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de *P.mauritanica*.

On a observé que l'HE a des effets différents sur les souches d'*Alternaria sp.* L'inhibition totale (100%) a été remarquée à une concentration de 1.1µl/ml pour les souches A18, A37, A57, AT1, AT4

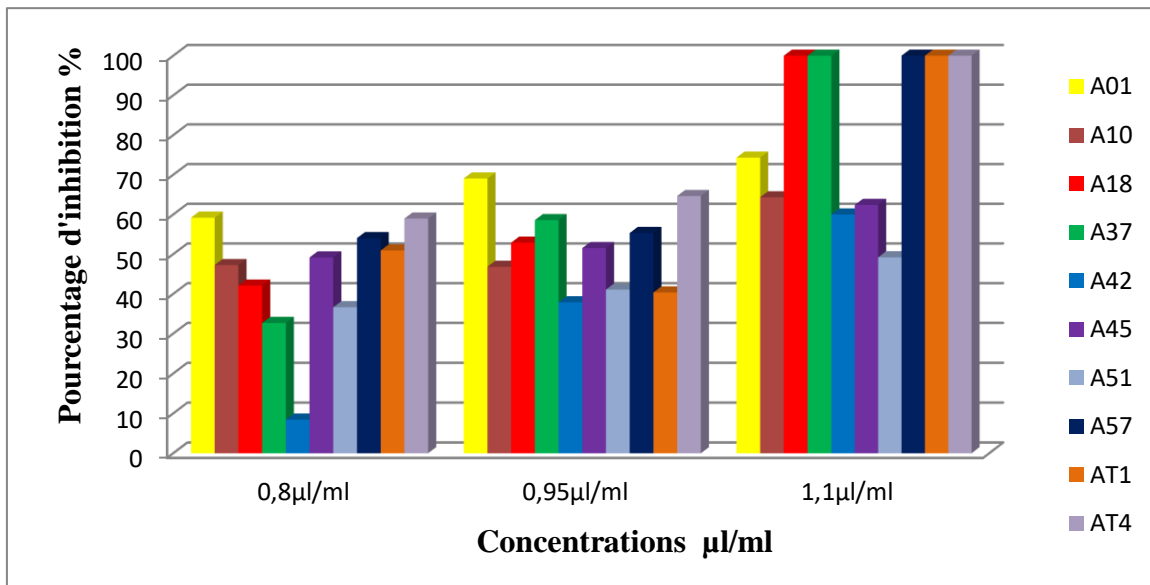


Figure 39 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de *P.mauritanica*.

Alors que la figure 40 démontre le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE de *M.debilis* avec des effets différents sur les souches d'*Alternaria sp.*, un taux d'inhibition totale (100%) a été remarqué a une concentration de 1.1µl/ml pour la souche A57 et la concentration 0.95 pour la souche A42.

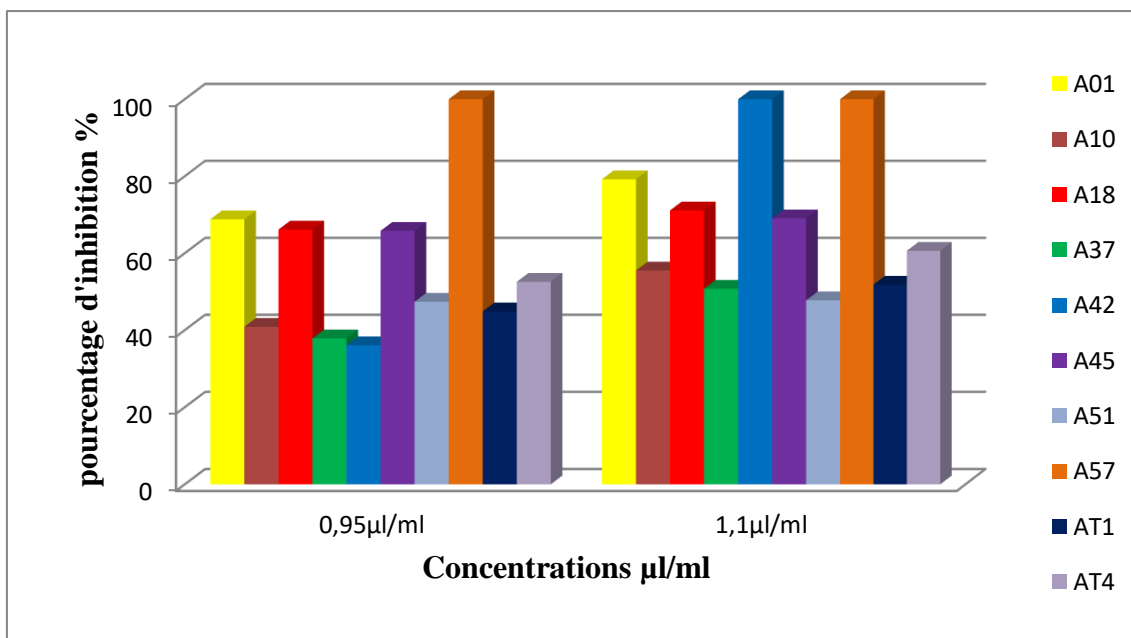


Figure 40 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'HE *M.debilis*.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré une activité antifongique considérable. L'HE de *P.mauritanica* renferme une intéressante activité sur les moisissures. En effet cinq souches sont inhibées à des concentrations minimales inhibitrices (CMI) entre 0.95µl/ml et 1.1µl/ml (A18, A37, A57, AT1, AT4) et la souche A42 par une CMI entre 1.1µl/ml et 1.2µl/ml. Nos résultats de CMI sont inférieurs par ceux obtenus par (Znini et al. 2013). Ces auteurs ont testé l'activité antifongique de l'HE de *P.mauritanica* vis-à-vis de trois souches fongiques phytopathogènes, à savoir : *Alternaria sp.*, *Penicillium expansum* et *Rhizopus stolonifer* par la méthode de contacte direct. Ils ont obtenu des CMI de l'ordre de 2µl/ml pour *Alternaria sp.* et *Penicillium expansum*.

On ce qui concerne l'HE de *M. debilis* qui a présenté une activité antifongique inhibitrice, deux souches ont été inhibées, l'une avec une CMI inférieure ou égale à 0.95 µl/ml et la deuxième avec une CMI entre 0.95 µl/ml et 1.1µl/ml.

Selon Gherib et al. 2016, les résultats ont montré que l'huile essentielle avait un large spectre d'activité antimicrobienne. La méthode de diffusion à la gélose a montré que l'huile était efficace contre *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* et *C. albicans* avec une CMI de 2µl/ml.

En générale, la variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et les huiles essentielles utilisées (Pattnaik et al., 1996).

II .3 .4 Taux d'inhibition de la sporulation

Le taux d'inhibition de la sporulation des souches fongiques de l'HE de *P.mauritanica* en fonction de trois concentrations (figure 41) montre des effets très remarquable sur presque toutes les souches d'*Alternaria sp.*

L'inhibition totale (100%) a été remarqué a une concentration de 1.1µl/ml pour les souches A01, A18, A51 et A57 et pour les autre souches, on a remarqué qu'il ya une inhibition importante supérieure à 60%.

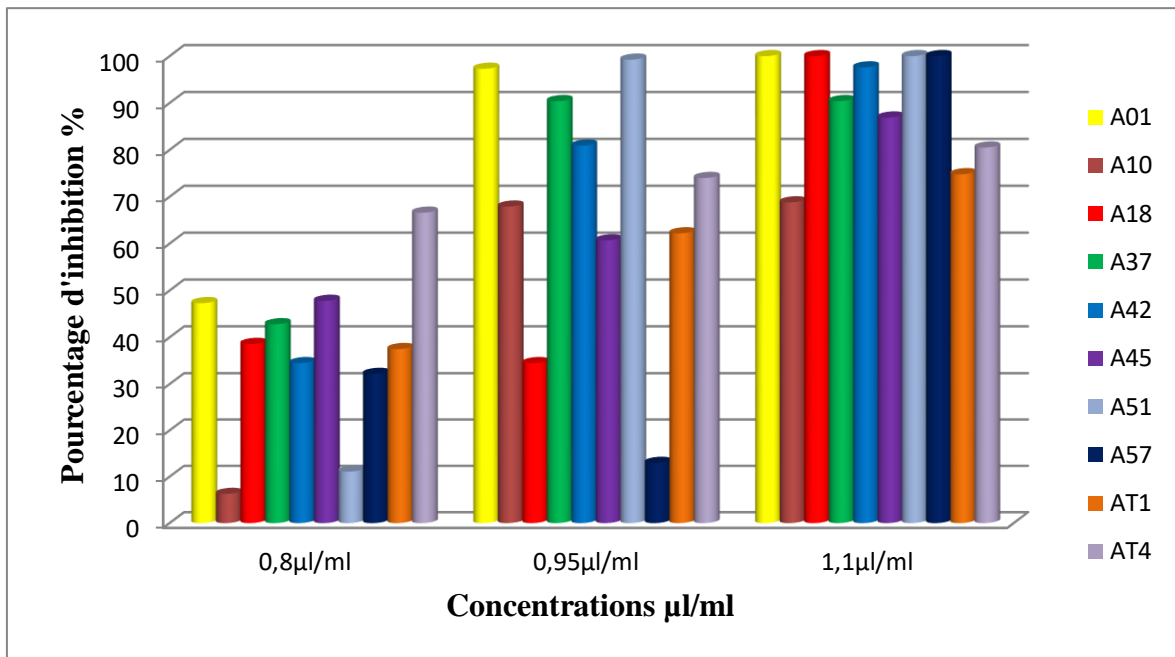


Figure 41 : Taux d'inhibition de la sporulation de l'HE de *P.mauritanica*

Les résultats illustrés dans la figure 42 montrent le taux d'inhibition de la sporulation de l'HE de *M.debilis*.

On a observé que l'HE a des effets différents sur les souches d'*Alternaria*. L'inhibition totale (100%) a été remarqué a une concentration de 1.1µl/ml pour les souches A01, A37, A42, A51, A57 et la souche AT4 et la concentration 0.95 µl/ml pour la souche A42.

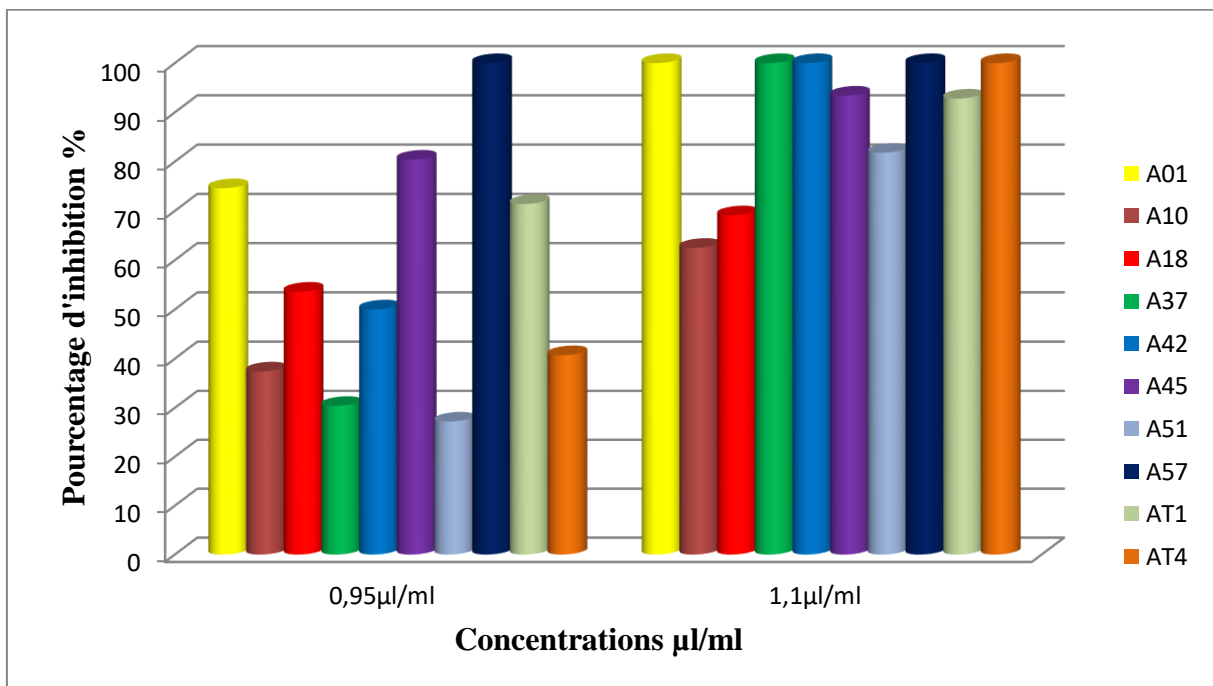


Figure 42 : Taux d'inhibition de la sporulation de l'HE de *P.mauritanica*

Les deux huiles sont des bons inhibiteurs de la croissance mycélienne et de la sporulation. L'activité la plus remarquable est constatée avec l'HE de *P.mauritanica*. Cette huile exerce une très bonne activité antifongique. En effet cette activité augmente par l'augmentation de la concentration

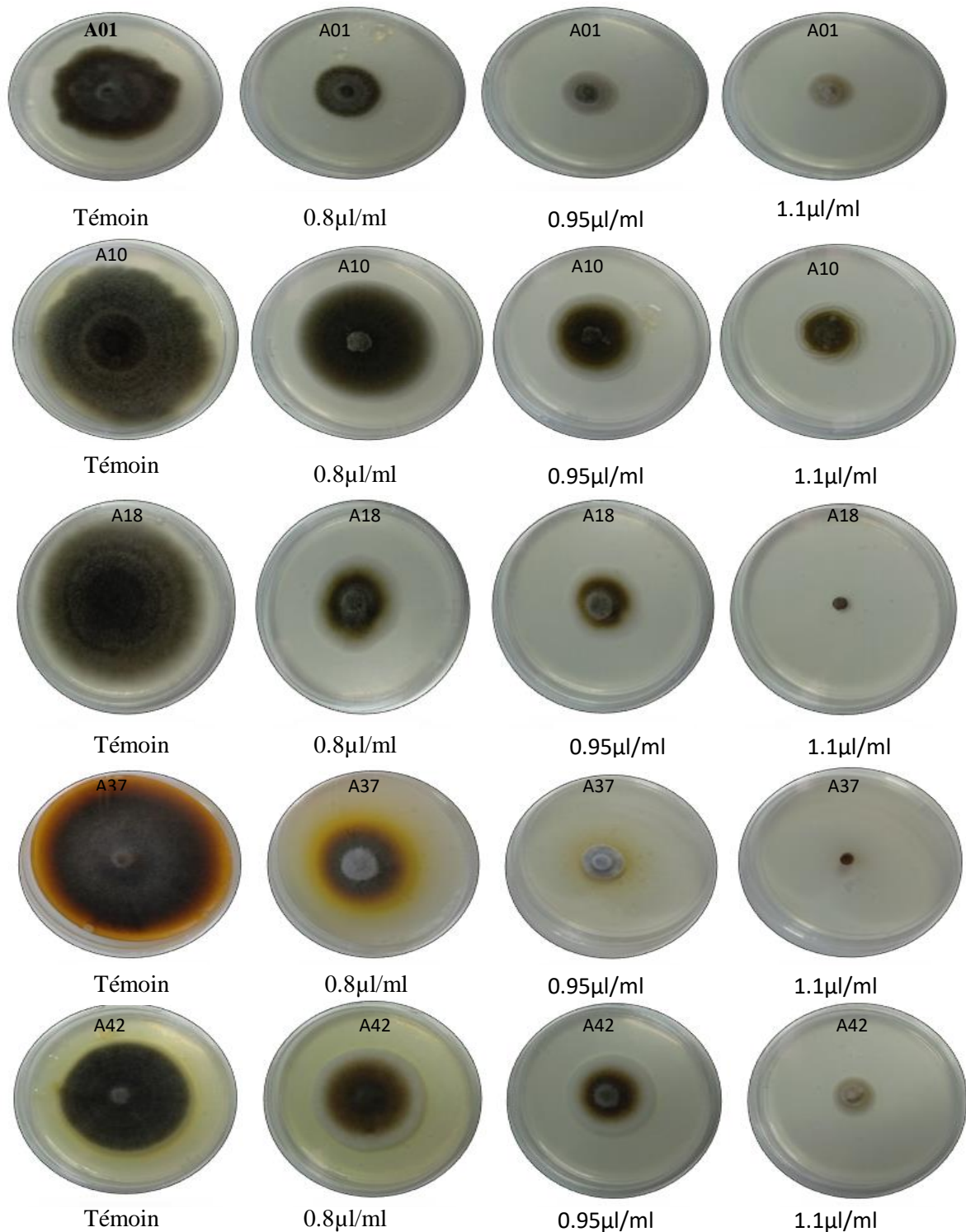


Figure 43 : Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de *P.mauritanica* après 10 jours d'incubation.

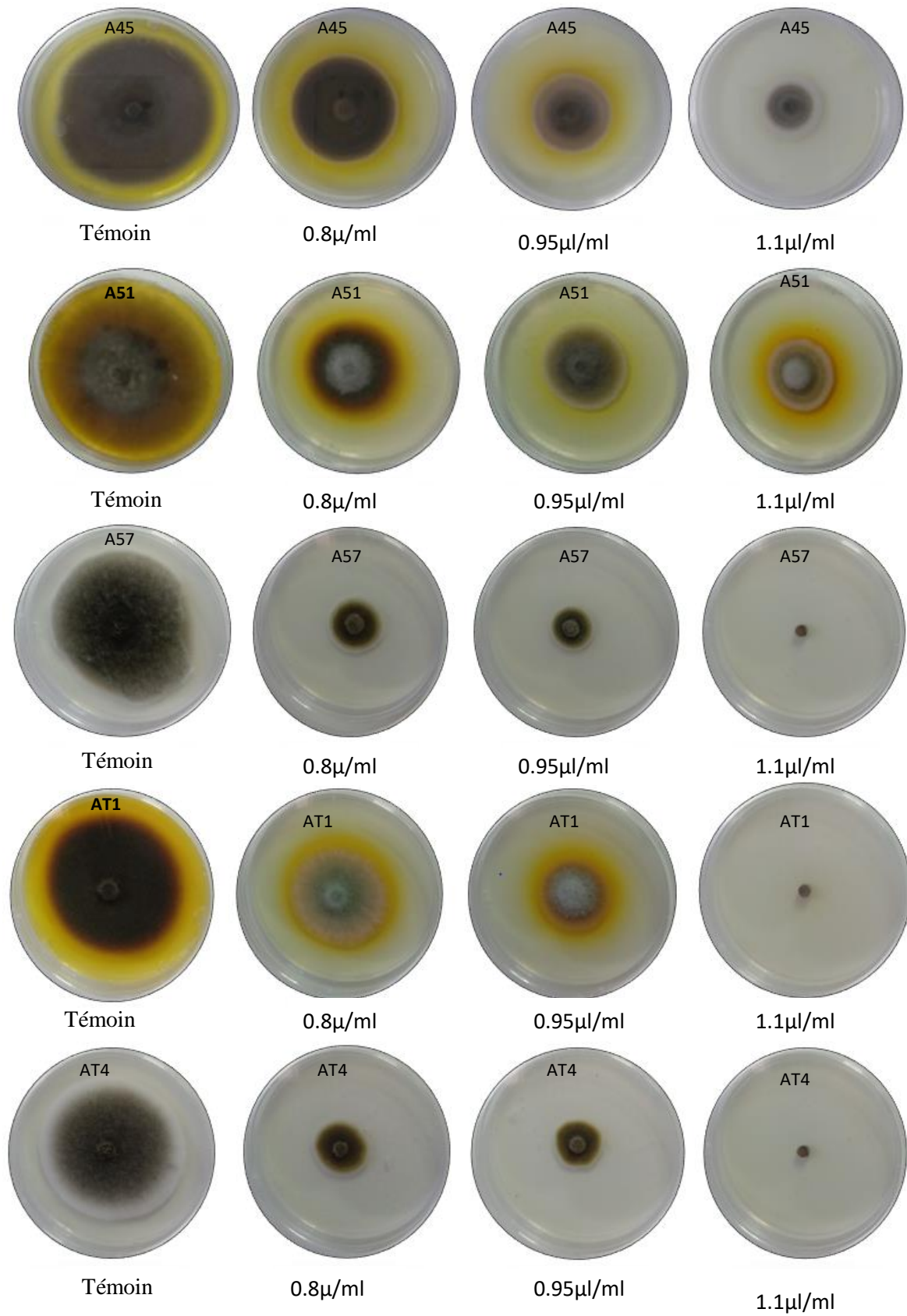


Figure 44: Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de *P.mauritanica* après 10 jours d'incubation.

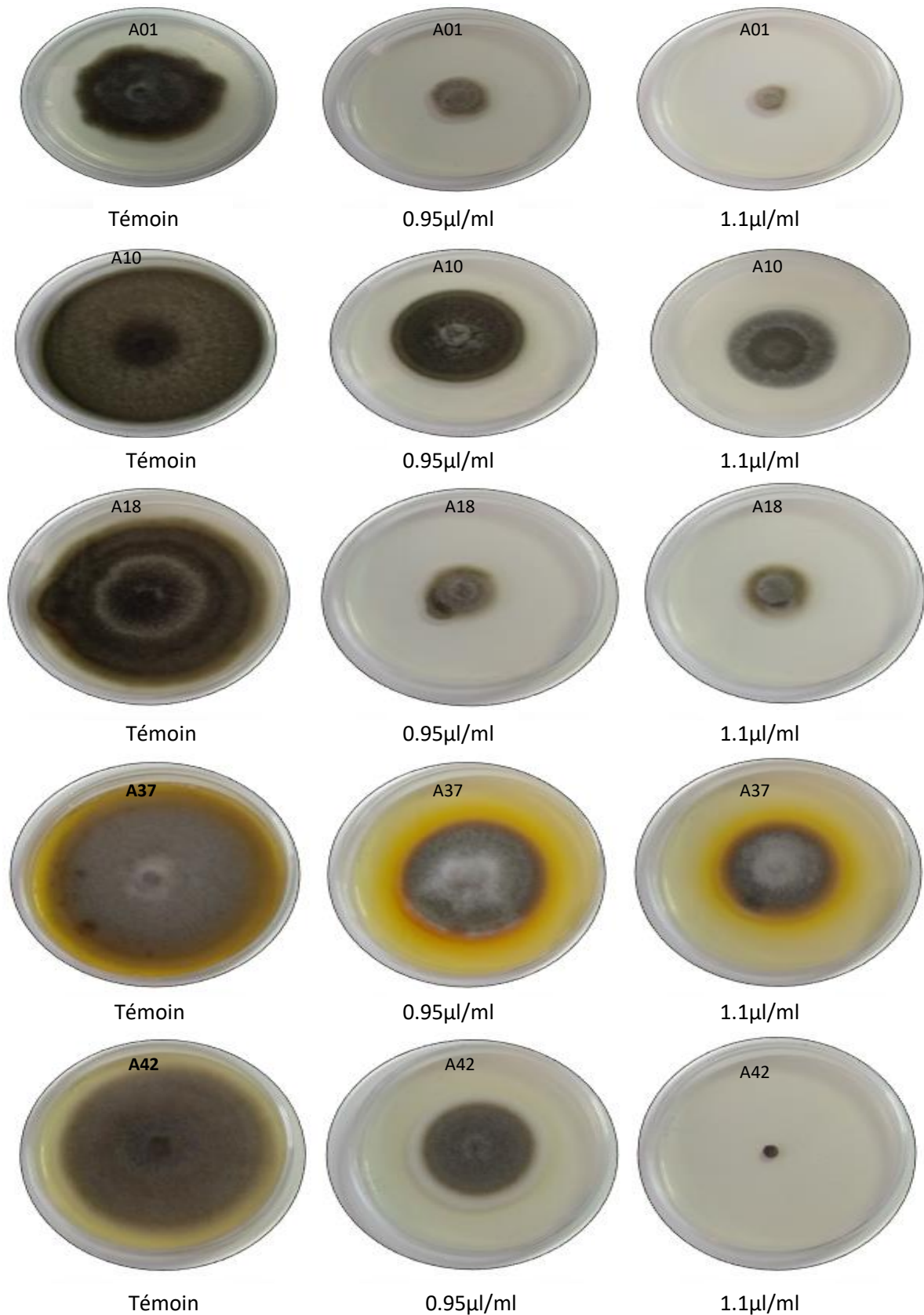


Figure 45: Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE.de *M.debilis* après 10 jours d'incubation..

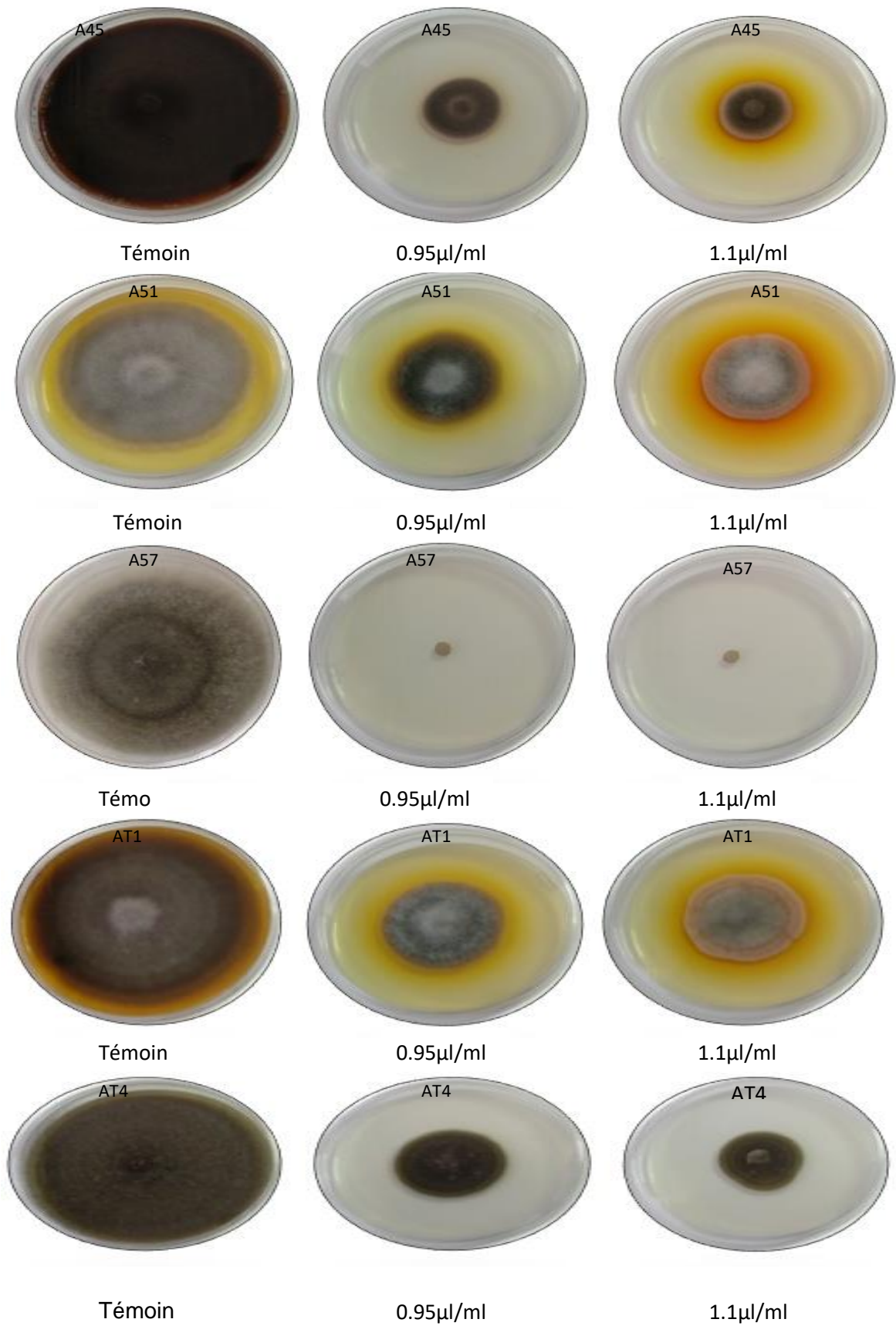


Figure 46: Aspect macroscopique des colonies testées par différentes concentrations d'HE de *M. debilis* après 10 jours d'incubation

II .3 .4 Détermination de la vitesse de la croissance mycélienne

La figure 47 représente la vitesse de la croissance mycélienne en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle de *P.mauritanica*.

On a remarqué que la vitesse la plus haute est celle du témoin dans les deux huiles, et qui se diffère d'une souche à une autre, aussi plus la concentrations de l'HE augmente plus la vitesse de la croissance mycélienne diminue, où elle a atteint la valeur la plus basse de 0.08mm/h à une concentration de 1.1µl/ml par les souches A18, A37, A57, AT01, AT4.

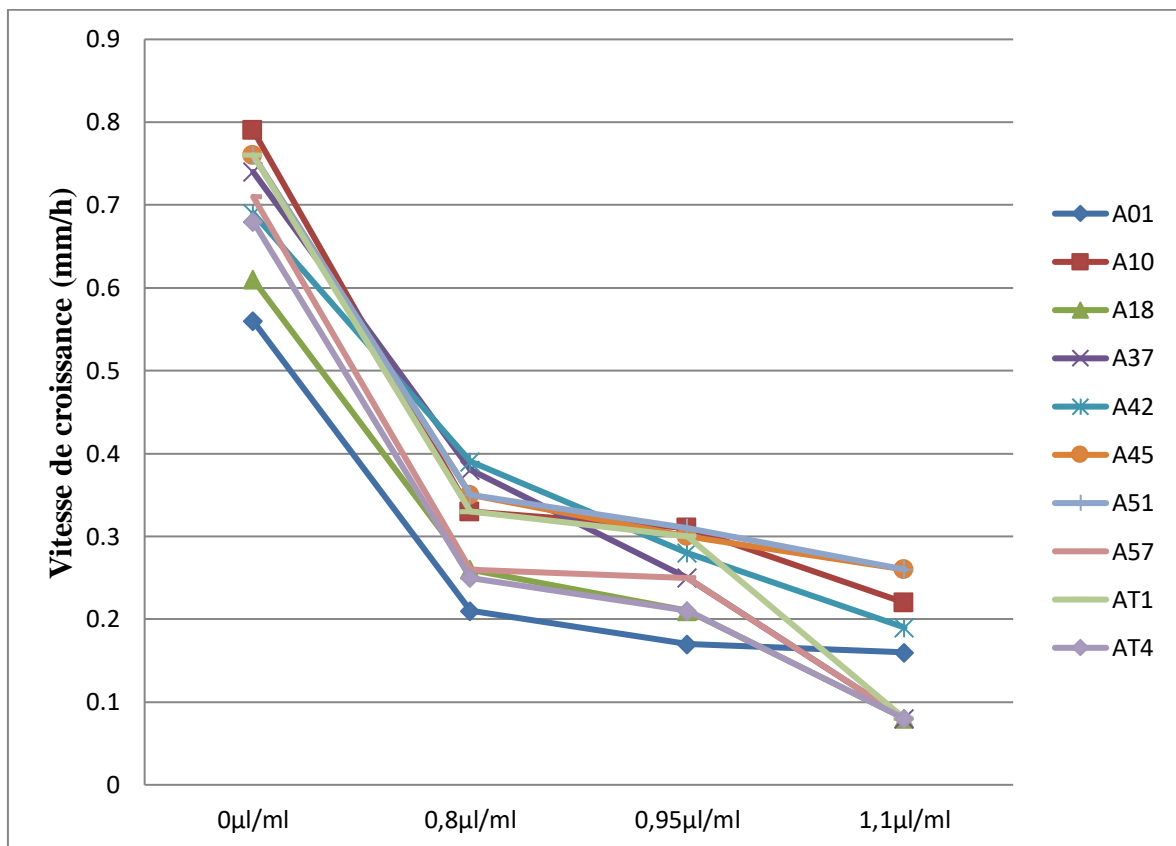


Figure 47 : Vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différentes concentrations en HE de *P.mauritanica*

La vitesse de la croissance mycélienne en présence de différentes concentrations de l'HE de *M.debilis* est illustrée dans la figure.48

La vitesse la plus haute est toujours du témoin, se diffère d'une souche à une autre, aussi plus la concentration de l' HE augmente plus la vitesse de la croissance mycélienne diminue, où elle a atteint la valeur la plus basse de 0.08mm/h à une concentration de

1.1µl/ml par la souche A42 qui a été inhibé par cette concentration et la souche A57 qui a présenté une vitesse stable dans les deux concentrations.

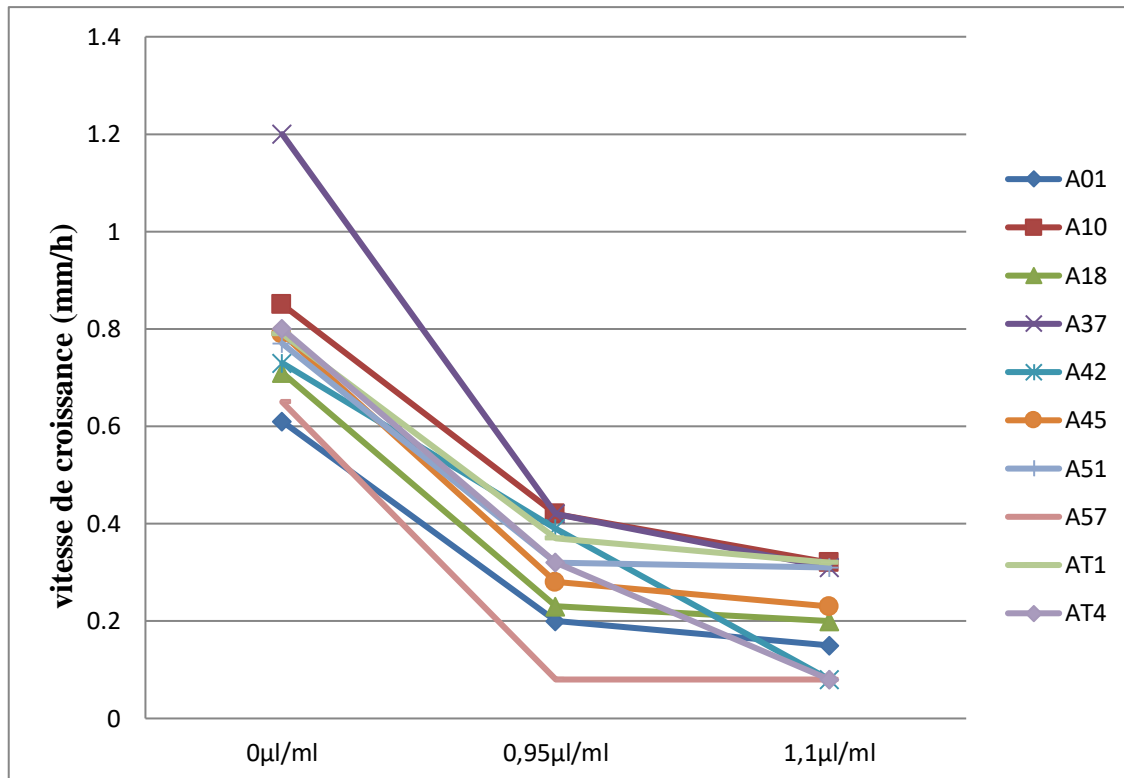


Figure 48 : Vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différente concentration en HE de *M.debilis*

La différence du pouvoir antifongique des huiles essentielles des deux plantes peut être liée à leurs compositions chimiques.

Selon ces observations, on peut spéculer que la forte activité antifongique observée chez les huile essentielles provient de l'efficacité de ses composants, comme elle peut être le résultat de synergie entre les différents constituants des huiles **El Ajjouri et al ., 2008.**

Gattefossé et Igolen en 1945 ont rapporté que le carvotanacétone et le composé majoritaire de l'HE de *P.mauritanica* avec un pourcentage de l'ordre de 81.0%,une deuxième étude a été réalisé par **Gristofari et al. (2011)** sur l'huile essentielle de cette plante récoltée dans quatre stations différentes au Maroc, révèle également une grande richesse en carvotanacétone (79.99%, 92.13%), suivi de linalol 0.4%-2.1% et de carvacrol(0.4%-1.2%).

Nasser et al.,2012 ont rapporté que l'HE de *P.undulata* prénte aussi un pourcentage élevé en carvotanacétone (91.4%)

Gherib et al. (2016) ont rapporté que les monoterpènes sont les composants les prédominants (54,6%) de l'HE de *M. debilis* et ont été présentés principalement représentés par β -pinène (19,3%), Géraniol (8,7%), linalol (6,5%).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Nos cultures sont souvent soumises à des niveaux variables de contamination microbienne, principalement dues à des champignons phytopathogènes, qui infectent généralement l'hôte.

L'application des huiles essentielles est récemment devenue une méthode très attrayante de lutte contre les maladies fongiques. On pense que la production d'huiles essentielles par les plantes est principalement un mécanisme de défense contre les agents pathogènes nuisibles, notamment parce qu'elles possèdent des propriétés antimicrobiennes et antifongiques.

Dans le but de protéger notre culture de tomate contre les prédateurs (infections fongiques) et afin de valoriser notre flore locale, nous nous sommes intéressés d'étudier l'activité biologique des huiles essentielles de la partie aérienne de *P.mauritanica* et *M.debilis*, en évaluant leurs pouvoir antifongique vis-à-vis les espèces d'*Alternaria sp* qui attaquent notre culture.

Premièrement, les souches isolées de différentes régions du Nord-Ouest d'Algérie, ont été identifiées par l'utilisation des critères culturaux (couleur, vitesse de croissance et aspect de mycélium) et des critères morphologiques (forme des spores, couleur,..), l'étude de ces caractéristiques révèle l'apparence de quatre espèces du genre *Alternaria* à savoir les espèces à petite spore représentés par *A.alternata* et *A.tenuissima*, et les espèces à grosse spore représenté par *A.tomatophila* et *A.solani*.

Les plantes utilisées possèdent des rendements divers qui sont de l'ordre de 0.30% et 0,045% respectivement pour *P.mauritanica* et *M.debilis*.

Dans un second temps, nous avons évalué *in vitro* l'activité antifongique des HE sur les espèces d'*Alternaria sp* par la méthode de contact direct. A la lumière des résultats parvenus par cette étude, on conclut que les deux HE présentent une inhibition totale de la croissance mycélienne de cinq souches à une concentration de 1.1µl/ml de l'HE de *P. mauritanica* et deux souches à des concentrations de 0.95µl/ml et 1.1µl/ml. Les deux huiles présentent aussi un taux d'inhibition de la sporulation très élevé pour la majorité des souches.

Point de vue comparatif, l'HE de *P.mauritanica* présente un effet mieux que l'HE de *M.debilis* vis-à-vis les CMI et les souches inhibées

En fin, et à l'essor de la présente étude, les résultats obtenus ne constituent qu'une première étape de recherche il serait intéressant de Poursuivre la recherche phytochimique, et mener une étude plus approfondie sur les huiles essentielles de

P.mauritanica et *M.debilis* afin d'isoler et d'identifier les composés ayant une activité antifongique et même d'autre métabolites.

Les huiles essentielles des deux plantes étudiées, ont manifesté un bon effet antifongique à l'échelle du laboratoire ''*in vitro* '', pour assurer leurs utilisation comme alternative des produits chimiques pour la protection des cultures de tomates, une deuxième étude *in vivo* doit être réalisée pour mieux affiner l'effet des ces huiles.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelkader F., 2012.** Etude comparative de l'infection des sols par quelques champignons pathogènes en conditions de semis direct et de travail conventionnel. Thèse de magister. Université Ferhat Abbas Setif.89p.
- Agrios GN., 2005.** Plant pathologie. 5th .Ed. Elsevier, London. 922 :455.
- Amrouche A., 2012.** Etude in vitro de l'effet antifongique des huiles extraites de plantes médicinales et leurs effets chez des rats wistar contaminés par les mycotoxines. Thèse de doctorat Es-sciences, Université Abou-Bekr Belkaid -Tlemcen, 276p.
- Bakkali F., Averbek S., Averbek D. et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils - a review. Food Chem Toxicol **46**: pp. 446-475.
- Bakkour Y., Alwan S., Soufi H., El-Ashi N., Tabcheh M. et El Omar F., 2012.** Chemical composition of essential oil extracted from *Micromeria barbata* growing in Lebanon and their antimicrobial and antioxidant properties. J.Nat. Prod., **5**: 116–120 .
- Basu. PK., 1974.** Measuring early blight, its progress and influence on fruit losses in nine cultivars. Can plant Dis Surv. **54** :45-51.
- 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.
- Bessadat N., 2014.** Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 199p.
- Bessadat N., Benichou S., Kihal M. et Henni D., 2014.** 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., Bourgou S., Saidani Tounsi M., Fauconnier M.L. et Ksouri R., 2017.** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentate* extracts In journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 39(2) 2096-2105 .
- Blancard D., Laterrot H., Marchoux G. et Candresse T. 2009.** Les maladies de la tomate. INRA.

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, Reymond P.,Sanglier JJ, Vaysser Y.et Veau S.,1990. Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle.2eme ED Masson collection biotechnologies : 5-10.

Bouguerra A., 2012. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse de Magister en Sciences Alimentaires. Université Mentouri Constantine, 128p.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., et Chaabouni M. 2008. Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Journal de la Société Chimique de Tunisie. 10 : 119–125.

Brunton J., 2009. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Ed. Paris technique et Documentation,1289 p.

Burt S., 2004.Essential oils : their antibacterial properties and potential application in foodes a-review.Int.J.food microbial.94:223-253

Cahagnier B., Dragaci S., Frayssinet C., Frémy J.M., Hennebert G.L., Lesage – meessenL., Multon J.L., Richard-Molard D.et Roquebert M.F., 1998.Moisissures des aliments peu-hydratés. Tec & Doc Lavoisier, France.

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.,2002. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médical. Ed bio forma.159p

Chami N. , hami F., Bennis S., Trouillas J. et Remmal A., 2004. Antifungat treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosupressed rats. Brazilian J Infections Disease 8: 217-226

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

Dupont F., 2004. Botanique - Systématique Moléculaire. Ed Masson. 110-125.

- Edouard L., 2010.** Alternariose de la Tomate (*Alternaria solani*). Promété - Agro-Météo et Outils,p1
- El Abed N., Harzallah-Skhiri F. et Boughaleb N., 2010.** Chimical composition and antifungal activity of the essential oil of *Pulicaria arabica*(L) Coss. From Tunisia. Agrucultural segment, 1(2) AGS/1530.
- El Kamali HH.,youssef MO., Ahmed OI. Et Sabir SS., 2009.** Phytochemical analysis of the essentil oil from aerial parts of *Pulicaria undulata*(L) Kostel from Sudan. *Ethnobotanical leaflets*, **13** :467-471.
- El AjjouriM., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A.,Farah A., Rahouti M., Amarti F.et Aberchane M., 2008.** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. Et link contre les champignons de pourriture du bois d’oeuvre. biotechnol. agron. soc. environ. 12(4): 345-351.
- 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 Belkaiid –Tlemcen, 188p.
- 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.
- Ellis MB., Gibson IAS., 1975.***Alternaria solani* no. 45 set 48. Common welth Mycologyca l institut, kew, Surrey, UK.
- Ericsson M. et Colmjo A., 2000** .Journal of Microbiology.877.141.
- 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.
- 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.
- Ferrar JJ., Pryor BM., Davis RM., 2004.***Alternaria* diseases of carrot. Plant disease.**88**: 776-784.

- Fillatre Y., 2011.** Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers, p 267.
- Gherib M., 2009.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp.sahariensis; *Artemisiacampestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. Et Coll. Thèse de magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, 133p.
- Gherib, M. 2014.** Analyse des huiles essentielles de **Warionia saharae** Benth. & Hook. et de *Pulicaria mauritanica* Cos de l'Ouest Algérien (Nâama) par CPG(Ir), CC, CPG/SM et RMN 13C et étude de leur pouvoir antimicrobien. Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen, p 127.
- Gherib M., Bekhchi C., Paoli M., Atik Bekkara F., Bighelli A., Casanova J. et Tomi F., 2016.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Micromeria debilis* Pomel from Algeria. *In* Journal of essential oil research, **5** : 383–390
- Gulluce M., Sokmen M., Sahin F., Sokmen A., Adiguzel A. et Ozer H., 2004.** Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L) Druce ssp. serpyllifolia (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. *J. Sci. Food Agric.* **84**:735-741 .
- Hambali FE., Aksira M., Ezoubeiri A., Gadhi CE., Melouki F., Benherraf A., Blazquez AM. Et Boira H., 2005.**Chimical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L.J.*Ethnofarmacol*, **99**:399-401.
- Hamdouch A., A. Asdadi F., Achemchem B., Chebli M., El Hadek L.M. et Idrissi Hassani, 2018.** Phytochemical analysis, Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Pulicaria mauritanica* from South-East of Morocco *IN* Journal of Materials and Environmental Sciences, **9**: 1762-1770
- Hussein S. R., Marzouk M. M., Soltan M. M., Ahmed E. K., Said M. M. et Hamed A. R. 2017.** Phenolic constituents of *Pulicaria undulata* (L.) C. A. Mey. Sub sp. Undulata (Asteraceae): Antioxidant protective effets and chemosystematic significances. *Journal of Food and Drug Analysis*, **25**: 333-339.

- Joly P., 1964.** Le genre *Alternaria*. Encyclopedie mycologique, Ed.J.P.Lechebalier. Paris. 250p.
- 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.
- Kumar V, Haldar S, Pandey KK, Singh RP, Singh AK, Singh PC, 2008.** Cultural, morphological, pathogenic and molecular variability amongst tomato isolates of *Alternaria solani* In India. World J Microbiol Biotechnol 24:1003–1009
- 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.
- 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.
- 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.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mule, G, Moretti, A. and Perrone, G. 2003.** Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. Eur. J. Plant Pathol. **109**: 645–667.
- MADR. 2010.** Statistiques du Ministère de l'Agriculture et du développement rural.
- Mamgain A., Roychowdhury R.et Tah J., 2013.** *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. Research Journal of Biology, **1**: 01-09
- Marin M.A., Novaković M.M., Tešević V.V., Kolarević S.M. et Vuković-Gaćić B.S., 2015.** Antimicrobial activity of the essential oil of wild-growing *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch. J. BioSci Biotechnol., **4**, 29–31.
- Masango, P., 2005.** Cleaner production of essential oils by steam distillation, J Clean Prod, **13** : 833-839.

- Mebarki L., 2015.** Recherche d'activité biologique de molécules, végétales pour la lutte contre *Fusarium oxysporum* f. sp. albedinis. Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.191pp
- Messiaen CM., Blancard D., Rouxel F. et Lafon R. 1991.** Les plantes maraichères, INRA. Paris.552p.
- 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.
- Mirkarimi HR., Abasi moghadam A., Mozafari J. et Taheri Ardestani S., 2013.** *In vitro* and green house evaluation of phytopathogenic potential of fungal isolates *alternaria tenuissima* in Iran .In Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 2320 – 8694
- Mnayer D., 2014.** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de Doctorat en Sciences. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 157p.
- Mohammedi Z. , 2013.** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en Biologie, Université Abou-Bekr Belkaid –Tlemcen, 170p.
- Msaada K., Salem N., Tammar S., Hammami M., Jamal Saharkhiz M., Debiche N., Limam, F.et Marzouk B. 2012.** Essential oil composition of *Lavandula dentata*, L. stoechas and *L. multifida* cultivated in Tunisia. In Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15(6), 1030-1039.
- Nasser A., Awadh A., Farukh S., Sharopovb, M., Gabrielle M. H., Andrea P., Norbert A., William N., Setzerb J. S. , et Ludger W.,2012.** Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oil from *Pulicaria undulata* from Yemen. Natural Product Communications, 7 (2) 257 - 260

- Neergaard P., 1945.** Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*: taxonomy, parasitism, economic significance. Oxford University Press, London. 2-287.
- 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
- Oukala N., 2014.** Etat sanitaire des cultures de tomate sous serre et étude de l'impact des pratiques culturales sur le développement de la pathologie dominante. Thèse de magister. Université de Bejaia. 114p
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M., 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oil on the growth of four pathogenic bacteria : *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 18, 414-420
- Pattnaik, Subramanyam S., V.R. et Kole C. 1996.** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils in vitro. *microbios* .86 : 237-246.
- Peratla IE., et Knapp Spooner DM. 2006.** Nomenclature of wild and cultivated tomatos. Report of tomatogenetics cooperative. 56 :5-12.
- Pierron C., 2014.** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gérontologie et soins palliatifs. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine. 256p.
- 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
- Quezel P. et Santa S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Ed. CNRS. Paris.
- 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.

Ravandeh M., Valizadeh J., Noroozifar M. et Khorasani-Motlagh M., 2011. Screening of chemical composition of essential oil, mineral element and antioxidant activity in *Pulicaria undulate* (L) C.A. Mey from Iran. *J. of medicinal plants Research*, **5**: 2035-2040.

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.

Rodrigues T., Berbee M., Simmons E.G., Cardoso C.R, Reis A., Maffia L.A. et Mizubuti E.S.G., 2010. First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil. In *New Disease Reports*, **22**, 28

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.

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.

Sherf AF. et MacNab AS., 1986. *Vegetable disease and their control*. Wiley, New York.

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, cauliflower, wild and cultivated rocket by using molecular and morphological features and mycotoxin production. In *European Journal of Plant Pathology*. **2**:401-413.

Simmons EG., 1992. *Alternaria* taxonomy : curent status, viewpoint, change, in *Alternaria Biology, Plant disease and metabolites*, J. Chelkewski and A. visconti, Ed. Elsevier, Amsterdam. The Netherlands. 1-35.

Simmons EG., 2007. *Alternaria. An identification Manual* :CBS biodiversity series N6. CBS Fungal biodiversity centre, Utrecht, the Netherlands. 755p

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).

Vaquera S., Patriarca A. et Fernández Pinto A., 2014. Water activity and temperature effects on growth of *Alternaria arborescens* on tomato medium. International Journal of Food Microbiology, 136–139

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

Wayerstahl P., Marchal H., Weirach M., Thefeld K. et Surburg H., 1998. Constituents of the commercial Labdanum oil. Flavour fragr. J. **13**:295-318

Zheng H. H., 2015. Characterization of *Alternaria* species associated with potato foliar diseases in China. IN Plant Pathology. 64:425–433

Znini M., Cristofari G., Majidi L., Mazouz H., Tomi P., Paolini J., et Costa, J. 2011. Antifungal activity of essential oil from *Asteriscus graveolens* against postharvest phytopathogenic fungi in apples. Natural Product Communications, 6, 1763-1768.

ANNEXES

Annexe1: Milieux de culture**PDA : Ptatos Dextrose 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

LactophénoL:

- Glycérol 40g
- PhénoL 20g
- Acide lactique 20g

Annexe2 : Cinétique de la croissance➤ **De la plante de *Pulicaria mauritanica*****Cinétique de la souche A01**

A01	0,8 µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoIn
j3	6±0	6±0	6±0	21,4±0
j4	6,5±0,5	6,33±0,57	6±0	28,3±0
j5	9±1,5	7,16±2,02	6±0	35,16±0.1
j6	13,83±4,53	8,33±3,17	8±2,17	40,16±0.1
j7	17,33±1,75	11,5±2,64	10,66±2,75	44,5±0
j8	19±1,73	17,66±5,29	16,5±1,80	50,3±0.1
j9	25,16±3,54	21±2,29	20,16±2,51	58,6±0.2
j10	28,5±4,58	23,06±1,67	20,16±2,08	61,16±0.1

Cinétique de la souche A10

A10	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	6,66±1,15	6±0	6±0	31,4±0.1
j4	8,33±2,84	6,16±0,28	6±0	41,6±0.2
j5	13,66±4,61	10,66±0,28	6,66±1,15	49,3±0.1
j6	21,16±4,64	17,16±0,28	10±3,6	59,5±0.1
j7	25,66±7,0	22,83±0,28	14,5±5,07	67,6±0.2
j8	34±7,93	32±1	19,66±7,23	73,1±0.6
j9	43,66±11,11	41,66±1,6	30±7,54	81,8±0.5
j10	46,66±12,90	47±1,73	33,5±8,18	83,1±0.6

Cinétique de la souche A18

A18	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	Témoin
j3	6,5±0	6±0	6±0	26,5±0.1
j4	7,33±0,57	6,16±0,28	6±0	34±0.1
j5	9±3,46	6,33±0,57	6±0	40,6±0.1
j6	14,05±6,16	9,33±4,93	6±0	47,5±0.3
j7	14,33±6,21	11,5±6,24	6±0	50,6±0.8
j8	26,33±6,25	16±8,32	6±0	54,6±0.9
j9	39±15,17	26,83±6,02	6±0	58,3±1.3
j10	37,16±5,05	31,33±2,30	6±0	59,8±1.6

Cinétique de la souche A37

A37	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	Témoin
j3	7±1,73	6,66±1,15	6±0	23±0.1
j4	10,5±3,12	8,5±2,17	6±0	45,1±0.1
j5	16,83±4,31	11±4,58	6±0	53,5±0.3
j6	23,83±5,61	13,83±7,75	6±0	57,8±0.9
j7	31,33±3,75	18,5±10,33	6±0	63,8±1.2
j8	38,83±5,39	22±11,13	6±0	66±1.5
j9	48,83±4,01	32,16±11,23	6±0	70,5±1.3
j10	53,66±3,68	35,33±11,026	6±0	76,8±1

Cinétique de la souche A42

A42	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	temoin
j3	7±0,86	6±	6±	35,3±0
j4	10,33±2,88	6,16±0,28	6±	43,8±0
j5	13,66±4,72	11±0	6,33±0,57	49,1±0.2
j6	23,16±5,79	15,16±2,46	6,5±0,5	56,6±0.4
j7	31,33±6,78	23±2,64	10,33±1,44	57,6±0.6
j8	40±6,53	30,33±3,25	15,66±2,36	58,8±0.6
j9	50,66±6,65	39,33±2,36	24,33±5,05	60,5±0.6
j10	56,36±9,48	40,16±2,51	28±6,94	61±0.7

Cinétique de la souche A45

A45	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	Témoin
J3	9,33±3,51	6	6,66±0	32±0
J4	13,16±6,29	8,08±0,8	10,5±3,96	39,5±0
J5	18,66±4,53	15,16±1,25	15,5±4,92	48,5±0.1
J6	28,83±7,81	20±7	21,16±3,25	61±0.2
J7	31,16±6,21	28,33±1,44	25±4,33	60,3±0.1
J8	36,33±5,00	34,16±1,60	27,83±2,02	70,6±0.5
J9	40,33±7,97	37,66±3,61	31,33±2,51	74,3±0.5
J10	41,83±11,40	40,16±7,28	32,5±1,5	76,5±0.4

Cinétique de la souche A51

A51	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	7±0,86	6±0	6±0	36±0
j4	10,5±1,32	7,5±0,86	6±0	42,8±0.2
j5	15,66±1,44	12,66±1,52	7,33±0,57	49,6±0.3
j6	21,33±1,25	17,83±1,25	13,16±1,25	57±0.5
j7	27,66±2,02	22,83±1,52	19,16±1,25	59,1±0.8
j8	34,5±1,32	30,16±2,84	23,66±0,28	64,3±0.8
j9	43,66±2,51	43±2,17	36,83±2,56	74±1.5
j10	48,83±2,92	45,83±2,75	40,33±3,05	73,6±1.5

Cinétique de la souche A57

A57	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	Témoin
j3	7±0,86	6±0	6±0	29,1±0.4
j4	10±2,78	6,33±0,57	6±0	39,1±0.1
j5	10,83±2,02	10,16±1,25	6±0	47,8±0.1
j6	15,16±2,75	13,83±1,89	6±0	53,6±0.2
j7	19,5±3,04	18,73±2,13	6±0	60,1±0.5
j8	26,5±4,58	26±3,60	6±0	63,5±1
j9	30,5±3,96	31,33±3,17	6±0	69±1
j10	36±4,09	35,16±4,64	6±0	71,3±1

Cinétique de la souche AT1

AT1	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	Témoin
j3	7,5±1,5	6,5±0,86	6±0	30,8±0.5
j4	10,16±2,25	8,33±0,76	6±0	42,3±0.4
j5	14,16±2,25	14±3,46	6±0	51,2±0.5
j6	18,33±2,51	17,6±2,02	6±0	57,1±0.4
j7	28,83±2,46	23,66±9,56	6±0	64,8±0.4
j8	36,5±2,56	31,16±11,82	6±0	72,3±0.7
j9	44,83333±3,51	36,66±13,25	6±0	73±0.2
j10	47,33±3,12	40±13,01	6±0	75,3±0.2

Cinétique de la souche AT4

AT4	0,8µl/ml	0,95µl/ml	1,1µl/ml	Témoin
j3	6,5±0,5	6±0	6±0	25,6±0
j4	8±1,5	8,33±0,57	6±0	37,3±0
j5	10,33±2,08	8,16±2,02	6±0	44,6±0
j6	14±0,5	10,83±0,57	6±0	52,8±0
j7	18,33±2,51	14,66±3,75	6±0	57,2±0.2
j8	23,5±4,09	21,66±2,88	6±0	64,5±0.6
j9	31,33±3,17	28,16±2,02	6±0	67,5±0.9
j10	32,5±0,5	28,83±7,50	6±0	70,6±0.7

➤ De la plante de *Micromeria debilis***Cinétique de la souche A01**

A01	0,95µl/m	1,1µl/ml	témoin
j3	6±0	6±0	24,6±2.5
j4	8,33±0.5	6,33± 0.5	28,5±1.3
j5	10,66±0.5	7,66± 0.5	36,5±6.2
j6	13,33±0.5	10± 1	43,8±0.3
j7	17,33±0.5	11,66± 0.5	49,5±7.7
j8	19,66±0.5	13,3 ± 0.5	58±3.5
j9	22,33±0.7	16,83 ±1.5	62,3±2.2
j10	24,5±0.5	18,33± 1.5	65,3±2.5

Cinétique de la souche A10

A10	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	10,66± 2	8±1	34±1
j4	14,6± 1.5	11.66±1.5	43,5±1.3
j5	21,66± 2	14.66±2	51,6±2.7
j6	26,66±1.5	19.83±4.6	63,5±1.3
j7	37,66±1.1	26±6.2	73,6±2.2
j8	43,33±1.5	31.5±8.2	85±0
j9	48,66±1.7	36.83±8.8	85,8±0.5
j10	54,5± 1.3	42.5±9.1	88±1

Cinétique de la souche A18

A18	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	6,5±0.5	6,33±0.5	28,6±1.5
j4	8,33±0.7	8,83±1	33,5±1.5
j5	11,33±0.7	10,33±0.7	37,6±1.6
j6	14±1.3	11±1	47,1±4
j7	16±1.3	11,66±0.7	55±4.2
j8	22,33±1	17,33±3.7	65,3±2.5
j9	28±2.2	24,5±2.7	77,1±0.7
j10	31±2.2	27,33±.2	79,8±0.7

Cinétique de la souche A37

A37	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	10,5±0.5	6±0	32,6±3.4
j4	16,8±1	10,5±0.5	42,8±4
j5	21,1±0.2	14,16±0.7	48,8±3.8
j6	27,8±1.2	20±0.5	58,3±5.2
j7	35±1.3	25±1.7	69,6±6.6
j8	42,5±2.7	29,1±0.7	77,3±2.2
j9	50,5±3.2	36,6±0.7	81,6±1.6
j10	53,3±2	43,5±1.5	82,16±0.7

Cinétique de la souche A42

A42	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	6±0	6±0	27,8±0.2
j4	11,66±0.5	6±0	36,6±1
j5	19,66±1.2	6±0	44,1±1.2
j6	26,8±1.2	6±0	53,5±2
j7	35±1.8	6±0	62,5±2.7
j8	43,8±2	6±0	68,6±5.96
j9	49,6±2	6±0	74,1±3.3
j10	52,66±1.2	6±0	79±1.5

Cinétique de la souche A45

A45	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	9,16±0.7	6±0	32,5±1.6
j4	13,1±1.7	8,5±0.5	41±1.5
j5	16,8±1.6	12,3±1	48±2.5
j6	20,16±1.4	16±1.3	56,1±3.1
j7	23±1	19,5±0.8	66,6±2.7
j8	26,16±0.7	22,83±1.2	75,8±2.3
j9	30±0.5	26,5±0.8	80,3±0.2
j10	32,3±1.7	29,8±1.2	83±1.6

Cinétique de la souche A51

A51	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	7,66±0.7	6,8±0.2	33,5±2.7
j4	12,33±0.7	11,8±0.7	43±4.4
j5	16±1.8	15,1±1	48,8±3.6
j6	20±2.5	19,1±0.7	56,3±4.8
j7	25,66±2.7	24±1.3	66,1±9.3
j8	33,1±2	29,1±3.5	68,7±4.3
j9	38±1.8	37,66±4.4	72,6±2.9
j10	43±4.5	42,73±3.7	76,3±2.5

Cinétique de la souche A57

A57	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	6±0	6±0	22,3±4.8
j4	6±0	6±0	27,5±4
j5	6±0	6±0	34,5±4.3
j6	6±0	6±0	41,8±3.8
j7	6±0	6±0	48,5±5.7
j8	6±0	6±0	57,3±8.3
j9	6±0	6±0	69,3±6.8
j10	6±0	6±0	78,5±5.5

Cinétique de la souche AT1

AT1	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	9,5±0.5	7,1±0.2	31±0.5
j4	14±0.5	10,8±0.7	40,5±0.8
j5	17,3±1	14,1±1	49,5±1.3
j6	22,3±1.8	19,5±1.5	56,5±1.5
j7	29±3.6	24,6±2.3	66,8±2.4
j8	35,5±3.1	31,8±3.7	74,6±2.3
j9	43,1±2.9	38,8±5.2	80,8±1
j10	48,33±2.9	43±4	82,8±0.7

Cinétique de la souche AT4

AT4	0,95µl/ml	1,1µl/ml	témoin
j3	8±1	6,33±0.5	32,3±0.7
j4	12,16±0.7	8,8±0.28	40,1±2.3
j5	15,83±0.2	11,16±0.7	52±3.4
j6	20,6±1	14,8±0.2	59±1.5
j7	25,5±1.8	23,1±2.7	69,8±1.2
j8	31,5±0.5	25±1	78,6±3
j9	37,66±0.76	30,1±1	82,5±3.2
j10	42,3±1.2	36,16±2.2	82,6±2

Annexe 3: Taux d'inhibition de la croissance

➤ De la plante de *Pulicaria mauritanica*

<i>P.mauritanica</i>	A01	A10	A18	A37	A42	A45	A51	A57	AT1	AT4
0,8µl/ml	59,2	47,25	42,06	32,67	8,42	49,17	36,63	54,05	50,93	58,97
0,95µl/ml	69,05	46,82	52,91	58,56	37,87	51,53	41,07	55,33	40,35	64,65
1,1µl/ml	74,31	64,33	100	100	60	62,41	49,21	100	100	100

➤ De la plante de *Micomeria debilis*

<i>M.debilis</i>	A01	A10	A18	A37	A42	A45	A51	A57	AT1	AT4
0,95µl/ml	68,8	40,8	66,1	37,8	36,	65,8	47,3	100	44,8	52,5
1,1µl/ml	79,2	55,4	71	50,7	100	69	47,7	100	51,8	60,6

Annexe 4 : Taux d'inhibition de la sporulation

➤ De la plante de *Pulicaria mauritanica*

<i>P.mauritanica</i>	A01	A10	A18	A37	A42	A45	A51	A57	AT1	AT4
0,8µl/ml	47,3±0,6	6,3±3,7	38,6±1,6	42±1,3	34,5±0,7	47,8±0,3	11±0,5	47,2±3	37,5±0.1	66±3
0,95µl/ml	97,3±0,1	67,9±1,8	34,5±4,4	90±0,2	80,9±0,4	60,7±0,4	99±0,1	97,3±4	62,2±0.2	74±1,8
1,1µl/ml	100±0	68,8±3,8	100±0	90±0,2	97,6±0,1	86,9±0,3	100±0	100±0	74,8±0.1	80±1,2

➤ De la plante de *Micromeria debilis*

<i>M.debilis</i>	A01	A10	A18	A37	A42	A45	A51	A57	AT1	AT4
0,95µl/ml	74,6±0,3	37,4 ±1	53,6±0,7	30,±0,5	50±0,2	80,4±0,4	27,±0,1	100±0	71,4±0,1	40±0,3
1,1µl/ml	100 ±0	62,5±0,8	69,1±0,5	100 ±0	100±0	93,4±0,2	81,8±0,1	100±0	92,8±0,1	100 ±0

Annexe 5 : Vitesse de la croissance

➤ De la plante de *Pulicaria mauritanica*

<i>P.mauritanica</i>	A01	A10	A18	A3	A42	A45	A51	A57	AT1	AT4
0µl/ml	0,56	0,79	0,61	0,74	0,69	0,76	0,76	0,71	0,76	0,68
0,8µl/ml	0,21	0,33	0,26	0,38	0,39	0,35	0,35	0,26	0,33	0,25
0,95µl/ml	0,17	0,31	0,21	0,25	0,28	0,3	0,31	0,25	0,3	0,21
1,1µl/ml	0,16	0,22	0,08	0,08	0,19	0,26	0,26	0,08	0,08	0,08

➤ De la plante de *Micromeria debilis*

<i>M.debilis</i>	A01	A10	A18	A37	A42	A45	A51	A57	AT1	AT4
0µl/ml	0,61	0,85	0,71	1,2	0,73	0,79	0,77	0,65	0,79	0,8
0,95µl/ml	0,2	0,42	0,23	0,42	0,39	0,28	0,32	0,08	0,37	0,32
1,1µl/ml	0,15	0,32	0,2	0,31	0,08	0,23	0,31	0,08	0,32	0,08