REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire
Présenté pour obtenir le diplôme de Master
En sciences Agronomique
Spécialité : Phytopathologie
Thème

Etude de l'activité antifongique de *sauge* (*Salvia Officinalis* L.) sur quelques champignons phytopathogènes (in vitro)

Présenté par :

-BOUKHELKHAL NESRINE **Soutenue le : 11/09/2019**

-BELMILIANI HOURIA

Devant le jury composé de :

Dr. Chaouch A.	Grade : M.C.B	U. Médéa président
Dr. Nabi F.	Grade : M.C.B	U. Médéa Examinateur
Mm chaouati K.	Grade : M.A.B	U. Médéa Examinateur
Mm Dif S.	Grade : M.A.B	U. Médéa Encadreur

Année universitaire
2018/2019

Remerciements

Dans un premier lieu, j'exprime ma profonde gratitude à DIEU pour m'avoir permis de réaliser ce travail et pour m'avoir guidé tout au long de mon trajet.

Je désire exprimer mes profonds remerciements à mon encadreur Mme **DIF.S** pour avoir acceptée de m'encadrer pour sa patience et ses précieux conseils.

Je remercie également l'ensemble des enseignants et des enseignantes qui ont veillé à notre formation durant notre parcours universitaire.

Nous remercions les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger notre travail.

Nous remercions tous les membres de l'équipe de laboratoires de la **INPV** El Harrach

Pour leurs aides, leurs conseils et leurs encouragements.

Nous remercions Mr **Brada. K** pour l'opportunité de travailler à laboratoire de chimie 2

De L'université de **KHEMISSE MILIANA**

Nous remercions également Mr **Licir M**, Mme **Chaouati K** et Mlle **Radia** pour l'aide et leur soutien

Enfin je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

DÉDICACES

JE DÉDIE MON TRAVAIL À :

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE, ET MON ADORABLE PÈRE, QUI MA BIEN ÉLEVÉS ET BIEN ÉDUQUÉS ET POUR LEURS SOUTIENS INCONDITIONNELS GRÂCE AUQUEL, J'AI EU LA CHANCE DE RÉALISER MES ÉTUDES.

MES CHERS FRÈRES : MOHAMED ET HOUSSEM
MA SEULE ET UNIQUE SŒUR : FARAH
A MON ANGE : KHALED

À MES TRÈS CHÈRES AMIES : HANANE, ALLAA ET HOURIA, AKILA,SARAH, ABDOU,BOUBA ,HAMZA,ISHAK
À TOUS CEUX QUI SONT PROCHES DE MON CŒUR.
ET DONT JE N'AI PAS CITÉ LES NOMS

A MES CHÈRES COUSINS ET COUSINS SPÉCIALEMENT

SARAH, KOUATHERE, SOUMIA ET MANEL

NESRINE

DÉDICACES

Je dédie ce travail à Mes très chers parents pour :

Leurs soutiens, leurs amours, leurs compréhensions, leurs patiences, leurs sagesses, et leurs tendresses qui sont toujours pour moi sans limite.

A mon cher frère Brahim et sa fille Dania Wissal

À Mes belles-sœurs :

Hadjer, Nana, Malika, mimi, joujou, et ma petit sœur Fadia fofa.

Pour leurs soutiens infinis et leurs aides incessantes, à qui je souhaite un

Meilleur avenir.

À ma grande famille, À mes très chers amis(es) :

Esma, Meriem, Yasmine, Fella, Asmaa, Soumia, Lamia, llhame, Imane, Fouzia, Fatiha, faiza, Abdou,Bouba,Ishak,Hamza,Houssem,Loukman.

Et bien sûr à mon très cher et précieux ami Nesrine

Tous ceux qui sont proches de mon cœur.

À tous ceux que j'aime et qui je respecte.

Et dont je n'ai pas cité les noms.

Sans oublie tous les professeurs que ce soit ceux du primaire, du moyen, du

Secondaire, ou de l'enseignement supérieure.

Je dédie ce modeste travail.

Houria

دراسة النشاط المضاد *salvia officinalis* على بعض الفطريات المسببة لأمراض النباتات (في المخبر)

ملخص

من أجل البحث عن الجزيئات الطبيعية التي لها تأثير على الفطريات، هذا العمل ركز على دراسة نشاط مضاد

للزيت الأساسي والمستخلص الإيثانول تم الحصول عليه من نبات عطري وطبي من الثروة النباتية الجزائرية *Salviaofficinalis*

المتحصل عليها بتقنية التقطير بالبخار بالنسبة للزيت الاساسي وطريقة الموجات فوق الصوتية مستخلص الإيثانولي ضد ثلاثة فطريات ممرضة للنبات *Fusarium sp, Fusarium solani ، Rhizoctonia solani*

تم اختبار نشاط مضاد للفطريات بواسطة طريقة الاتصال المباشر في المختبر وباستعمال تراكيز مختلفة للزيت الاساسي والمستخلص الإيثانول حول النمو الفطري ومعدل تثبيط الفطريات. الزيت الاساسي تم استخلاصه بطريقة التقطير بنسبة 0.27% و11.98% للمستخلص الاثانولي

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان انخفاض نمو الفطر يرتبط بزيادة تركيز المستخلص والزيوت الاساسية

فكلما زاد تركيز المستخلص زاد معدل التثبيط. والاختبارات التي قمنا بها اظهرت الحساسية العالية للسلالات تجاه التراكيز

والتي سجلت معدل تثبيط يقدر 92.94%الى 77.25 %بالنسبة للمستخلص الإيثانول. و 92.94% الو 30.58 %

بالنسبة للزيت الأساسي مع حساسية أكبر *Fusarium sp*

الكلمات المفتاحية/ الزيوت الأساسية. المستخلص الإيثانولي

Fusarium sp, Fusarium solani et Rhizoctonia solani.

Etude de l'activité antifongique de *Salvia Officinalis* sur quelques champignons phytopathogènes (in vitro)

Résumé

Dans le but de rechercher des molécules naturelles à effet fongicide, ce travail a porté sur l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique d'une plante aromatique et médicinale de la flore algérienne *salvia officinalis.*

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation, elle a donné un rendement de 0.27%, alors que l'extrait éthanolique a été obtenu par Ultrason avec un rendement de 11.98%.

L'activité antifongique a été testée in vitro, vis-à-vis de trois champignons phytopathogènes : *Fusarium sp, Fusarium solani et Rhizoctonia solani* par la méthode de contact direct, en utilisant différentes concentrations de l'huile essentielle et l'extrait.

Les résultats obtenus montrent que la diminution de la croissance mycélienne synchronise avec l'augmentation de la concentration de l'extrait et l'huile essentielle, plus la concentration augmente plus l'effet inhibiteur augmente. Nous avons trouvé que les souches testées présentent une sensibilité importante vis-à-vis les concentrations, se traduisant par un pourcentage d'inhibition variant de 77.25 % à 92.94% pour l'extrait éthanolique et de 30.58 % à 92.94% pour l'huile essentielle, avec plus de sensibilité chez la souche de *Fusarium sp.*

Mots clés : l'huile essentielle, extrait éthanolique, *Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia solani,* activité antifongique.

Study of the antifungal activity *salvia officinalis on some phytopathoginique fungi (in vitro)*

abstract

In order to search of natural fungicide molecules, this work focused on the study of the antifungal activity of essential oils and the ethanoic extract of aromatic and medicinal plants of the Algerian flora *salvia officinalis*. The essential oil was obtained by hydrodistillation and it was 0.27%and the Extraction by Ultrasound for the extract give us 11.98%. against three phytopathogenic fungi: *Fusarium sp, Fusarium solani and Rhizoctonia solani*. withe direct contact method, using different oil and extract concentrations.

The results obtained showed that the decrease in mycelial growth synchronizes with the increase of the extract's and essential oil concentrations.

We find that the test showed a high sensitivity towards the concentrations, resulting in a percentage inhibition ranging from 77.25% to 92.94% for the ethanolic extract, and from 30.58% to 92.94) for the essential oil, with more sensitivity for the *Fusarium sp*.

Key words: essential oil, ethanolic extract, *Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia solani,* antifungal activity.

Lexique des abréviations

C ° : degré Celsius**.**

CMI : concentration minimal inhibitrice

Cm : centimètre.

g : gramme.

H.E : huile essentielle.

ml : millilitre.

mm : millimètre

Pdt : pomme de terre.

PDA : Potato Dextrose Agar

RHE : Rendement en huile essentielle

Sp : Sous espèce

Ti% : taux d'inhibition de la croissance mycélienne

ul : micro litre

% : pourcentage.

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique de l'huile essentielle de *salvia officinalis*……..…….4

Tableau II : Origine des agents pathogènes utilisés…….….21

Tableau III : Caractères de l'extrait éthanolique de la plante étudiée……..32

Tableau VI : Rendement de l'extrait éthanolique……...….…32

Tableau V : Caractères organoleptique de l'huile essentielle…….…33

Tableau VI : Rendement de l'huile essentielle…….….33

Liste de figure

Figure 1: Répartition géographique du genre Salvia dans le monde 1
Figure 2 : Arbrisseau de Salvia officinalis (originale**).**..... 2
Figure 3: Feuille de Salvia officinalis(Originale) 3
Figure 4:La fleur de salvia officinalis. 3
Figure 5 : Cycle infectieux du Fusarium sp…….....**.....**11
Figure 6 :les symptômes de *Fusarium solani*……**...**13
Figure7 *:* caractère morphologique *de R. Solani* ... ……15
Figure 8: cycle des affections causées par Rhizoctonia solani……..…16
Figure 9 : Symptomologie du chancre des tiges et du Rhizoctonia solani…….**...**17
Figure 10 : Matériel végétal après séchage …….…….20
Figure 11:. Les espèce fongique 21
Figure 12 : Protocole d'extraction et évaporation du solvant …… ……23
Figure 13 : protocole expérimental des extractions éthanoliques……24
Figure14 : Extraction des huiles essentielles par hydrosistillation ... …….**.....**26
Figure 15 : Protocole d'évaluation de l'effet antifongique (in vitro) …… 30
Figure16 : Effet « in vitro » des différentes doses de l'extrait sur l'isolat de *F sp* ……37
Figure 17 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium sp*…….. 38
Figure18 : Effet des différentes doses de l'extrait sur l'isolat de Fusarium solani……..39
Figure 19 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium solani*……..**.**39
Figure 20 : Effet des différentes doses de l'extrait sur l'isolat de Rhizoctonia solani…..40
Figure 21 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani*……**...**41
Figure 22 : Effet des différentes doses de l'huile essentielle sur l'isolat de *F. sp*……..42
Figure 23 : Evaluation de croissance mycélienne de *F. sp* on présence de H.E …….43
Figure 24 : Taux d'inhibition de croissance mycélienne de *F. sp* sous l'effet HE……..44
Figure 25 : Effet des différentes doses de l'huile essentielle sur l'isolat de *F. solani*....45
Figure 26 : Evaluation de croissance mycélienne de *F. solani* on présence de H.E…….45
Figure 27 : Taux d'inhibition de croissance mycélienne de *F. solani* sous l'effet HE…46
Figure 25 : Effet des différentes doses de l'huile essentielle sur l'isolat de *R. solani*...47
Figure 26 : Evaluation de croissance mycélienne de *R. solani* on présence de H.E……47
Figure 27 : Taux d'inhibition de croissance mycélienne de *R. solani* sous l'effet HE….48

Table de matières

Remerciement

Dédicaces

ملخص

Résumé

Abstract

Lexique des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figure

Introduction

I. Présentation de la plante……...…1

I.1.Généralités sur la plante *Salvia officinalis*…….....1

I.2.Répartition géographique…….....2

I.3.Descripyion botanique……...…3

I.4.Classification Taxonomique…….…..…4

I.5.composition chimique……5

I.6.Activité biologique ……..……..6

II. Les champignons phytopathogènes……...…8

II.1. Généralités……...8

II.2. Fusariose……..9

II.3. Rhizoctonia brun ……...….14

II.4. Les moyens de Lutte …….……18

II.4.1. Lutte culturale et préventive……18

Partie Expérimentale
Chapitre III : Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes

I.1.Matériel……20

I.2.Méthodes ……....22
I.2.1. Préparation de l'extraction éthanolique…….....25
I.2.2. Extraction de l'huile essentielle…….....26
I.2.3. Etude macro et microscopique des isolats…….....…27
I.2.4. Evaluation de l'activité antifongique (in vitro) des extrait…….....…27
I.2.5. Analyse statistique……..…….....31
II. Résultats et Discussion…….....….32
II.1. Résultats de l'extraction ……..….....…32
II.2. Etude Macroscopique et microscopique ……..….....…32
I.2.3.1. Etude macroscopique des isolats…….…....32
I.2.3.2. Etude microscopique des isolats…….....32
II.3. Etude de l'activité antifongique des extrait (in vitro) ……..……...…42
II.3.1. Etude de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique……..42
II.3.1. Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle……...……43
II.4. Discussion…….……...…49
Conclusion…….…….....54
Référence
Annexe

Introduction

L'agriculture constitue la base de l'économie. Malheureusement celle-ci est soumise à plusieurs contraintes, essentiellement d'ordres abiotique et biotique. Les producteurs sont confrontés à diverses maladies qui s'attaquent aux cultures. De nombreuses cultures vivrières et de rente sont ravagées par des parasites, dont les plus notoires sont les champignons phytopathogènes.

La lutte contre les champignons phytopathogènes, repose plus particulièrement sur L'utilisation des produits chimiques. Cependant, beaucoup d'effets non intentionnels ont été associés à l'emploi intensif et non raisonné de ces produits, suite à une contamination de la biosphère ou même de la chaine alimentaire. Pour résoudre ce problème, une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et plus respectueuses à l'environnement **(Prapagdee et *al* ., 2008)**. C'est pourquoi les scientifiques sont à la recherche d'alternatives moins dangereuses. Ils se sont alors orientés vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antifongiques qui peuvent constituer une alternative aux produits chimiques. Telle que les biopesticide d'origine végétal **(GRAINGE et AHMED., 1988).**

Sur le plan économique, le genre *Fusarium* est *Rhizoctonia solani sont des* espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies chez de nombreuses plantes. Ils s'attaquent aux cultures telles que les légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers, le blé **(Lauzon et *al* ., 2007)**) et la tomate, **(Hibar et *al* ., 2007)**

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément **(Laib., 2013)**.

Salvia Officinalis est une plante annuelle d'origine méditerranéenne de la famille des lamiacées , Connue pour ses activités antimicrobienne , antifongique et **(DJERROUMI., 2004)**.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer in vitro le pouvoir antifongique des différents extraits de *Salvia Officinalis* sur la régression de trois espèces fongiques *Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia solani,* dans le but de les utiliser comme substance naturelles de biocontrôle (biopesticides), alternatives à la lutte chimique utilisée en agriculture.

Pour cela nous avons réalisé les étapes suivantes :

- Extraction de la concrète éthanolique de *salvia officinalis* par la méthode d'ultrason.
- Extraction de l'huile essentielle de *salvia officinalis* par hydrodistilation.
- Evaluation de leur effet antifongique par la méthode de contact direct.

Première partie

Synthèse Bibliographique

I. Présentation de la plante

I. 1. Généralités sur la plante *Salvia officinalis*

Salvia officinalis est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées **(Khirddine., 2013)**. Le genre *Salvia* (Sauge) fait partie des genres les plus importants, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* qui ont été déterminées par **(Quezel., 1963)** ainsi plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon **Ibn Beytar**, les andalous la nomment ‘’essalma’ ’, il ajoute qu'elle est appelée ’’Salbia ‘’par les botanistes en Espagne. **El djzairi** indique l'expression ‘’ souekennbi ‘’ comme synonyme de Saleme. **(MADI., 2010).**

I.2.Répartition géographique

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranées orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croit de manière spontanée et en culture de long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu' à la Turquie, et dans le dans le nord de l'Afrique **(Khirddine., 2013**) . Espèce Euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée), elle est parmi Les plantes médicinales et aromatiques les plus demandées en Algérie selon le **Ministre de l'agriculture, 2015. (Voir annexe).**

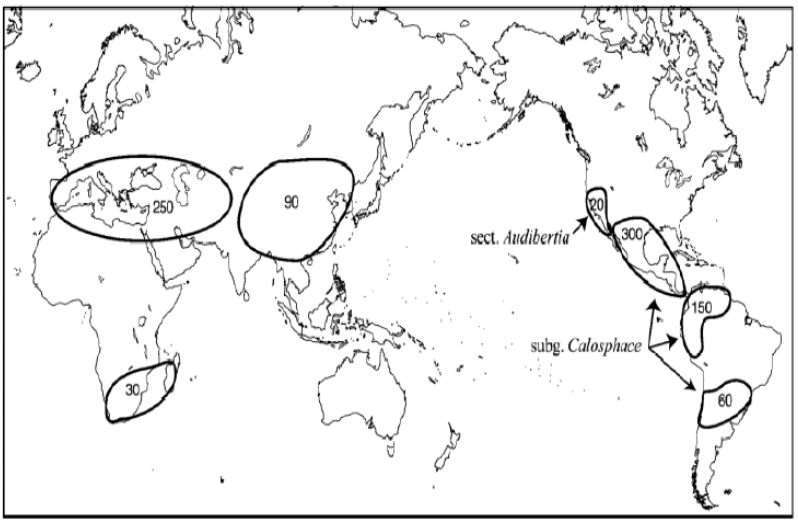


Figure 1: Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde, ***(Walkeret al.,2004)***

I.3. Description botanique

C’est une plante annuelle et vivace qui appartient à la famille de Labiées **(GOUTIER., 2009)**, Elle forme un petit sous arbrisseau de 50 cm à 80 cm de haut à racine ligneuse, brunâtre, et fibreuse **(AUG., 1833)**.



Figure 2 : Arbrisseau de *Salvia officinalis* (originale,2019**).**

La tige est ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 60 cm, rameaux vert blanchâtre quadrangulaire, et velue **(VERBOIS., 2003)**

Les feuilles sont opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, ovales, rugueuses, épaisses, À bord dentelé, réticulées, pubescentes-grisâtres ou vertes, à dessus blanchâtre, finement crénelées. Elles persistent l’hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège **(HANS., 2007)**



Figure 3: Feuille de *Salvia officinalis*(Originale.,2019)

Les fleurs de la *sauge officinale* sont bleu-violacé en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés et visibles de mai à aout. Elles sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures **(BUSSER., 1997).**

Le fruit en forme de tétrakènes brunâtre, c'est-à-dire qu'il se compose de quatre petites coques indéhiscentes, renferment chacune une graine, et environnées par le calice persistant **(cuiver et *al*., 1835)** .

Figure 4:La fleur de salvia officinalis ***(BUSSER., 1997)***

I.4. Classification taxonomique

La sauge suit la classification suivante (HIPPOLYTE., 1993)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Embranchement	Spermatophyta
Famille	Lamiaceae
Genre	*Salvia*
Espèce	***Salvia officinalisL*** (HIPPOLYTE., 1993)

I.5.Composition chimique

La *sauge* contient 5% de tanins, 5,5% de résine, 6% de gomme du mucilage, des acides phosphoriques oxaliques, des nitrates, 9% de pétouane, des traces d'aparagone et de 1,5 à 2,5 % d'huiles essentielles dite huile de *sauge*, renfermant de la thuyone, du cinéol, du camphre, des terpènes **(Rydberg M., 1991).**

La sauge officinale est riche en huile essentielle de 1.2 à 1.5% de son poids sec selon Gildemeiter. Elle est constituée principalement de monoterpènes. Selon Guenther la sauge Dalmatie est de 1.5 à 1.7% de sesquiterpènes, dont du viridiflorol, du caryophyllène en pleine floraison. Elle a une huile dextrogyre **(BOUGROW., 2009).**

Les groupes de principes actifs à effet thérapeutique sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau II : Composition chimique de l'huile essentielle de *salvia officinalis.*

Cétones	**Pourcentage**
Campher	4.1 à 27.4 %
α–thuyone	1.5 à 44.2%
β–thuyone	1 à 36.7%
Hydrocarbures terpénique	**Pourcentage**
Myrcène	0.3 à 3 %
Limonène	Trace à 7.6%
Humulène	Trace à 18.
a-pinène	1.7 à 13.1 %
b-pinène	0.5 à 17.90%
Champhène	1.1 à 10.30 %
b-cymène	Trace à 1.1 %
Ester	**Pourcentage**
Acétate de bornyle	0.1 à 3.5%
Oxydes terpénique	**Pourcentage**
1.8-cinéole	0.7 à 20.8%
Alcools	**Pourcentage**
Linalol	Trace à 1.8%
Bornéol	0.7 à 6.2%
Viridiflorol	0 à 9.9%

I.6. Activité biologique de la plante

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens **(Bandoniene *et al*., 2000).**

La *sauge* contient essentiellement de nombreux polyphénols : flavonoïdes et acides-phénols (acide caféique, acide chlorogénique, acide rosmarinique, etc.). Elle contient également un acide diterpénique (la salvine) qui lui donne ses vertus bactéricides, (la

picrosalvine), une huile essentielle contenant une cétone terpénique (la thuyone) **(GILLY., 2005).**

I.5.1. Activité antioxydant

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir **(Richard., 1998)**. Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation (**Multon, 2002).** En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (Madhavi et al., 1996).

Parmi les chercheures qui ont travaillé sur l'activité antioxydante de ***salvia officinalis*** **(Dragan et *al*., 2011),** dans le but de faire une comparaison entre les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits obtenus de la ***Salvia officinalis.***

I.5.2. Activité antibactériennes

Les l'huile essentielle les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae : **sauge**, origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à HE riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autre préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et, alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries. *E-coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Clostridium* spp, *Helicobacter pylori* **(Pauli, 2001).**

I.5.3. Activité antifongique

Les huiles essentielles sont les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques et antibactérienne appartiennent à la famille des Labiatae : ***sauge***, thym,

origan, lavande, menthe, romarin. Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques **(Voukou et *al*., 1988).**

Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique : Phénols> Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actifs Hydrocarbures **(De Billerbeck ., 2007)**

Les résultats de **(RGUEZ et *al* ., 2013)** ont montré que l'huile essentielle de *S. officinalis* est efficace contre deux agents phytopathogènes (*B. cinerea et Fusarium. sambucinum*) et que l'inhibition de la croissance enregistrée est proportionnelle à la dose utilisée, ce qui prouve leur activité antifongique.

Ces composés ont un effet antimicrobien aussi contre un large spectre de bactéries. *E-coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Clostridium* sp, *Helicobacter pylori***(Pauli, 2001).**

En Algérie Djahra **(2015)**ont fait des études qui portaient principalement sur l'activité antibactérienne de *Salvia officinalis* récoltés au niveau du Parc National d'El-Kala au nord-est algérien, cette étude prouve que les huiles essentielles obtenues ont un pouvoir antibactérien.

Chapitre II

II. Les champignons phytopatogène

II.1. Les champignons phytopathogènes

Les champignons sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées **(Jim Deacon., 2014)**. On estime entre dix mille et quinze mille espèces le nombre d'organismes du type champignons ou pseudo-champignons susceptibles d'infecter les plantes **(Francisco et *al*., 2014)**. Les pertes économiques annuelles dues aux maladies fongiques dans l'agriculture mondiale, avant et après la récolte, étaient estimées en 2003 à plus de 200 milliards d'euros **(Dilip K. Arora., 2003).** L'infection des plantes par un champignon phytopatogène se déroule selon un processus, appelé « cycle de la maladie », dont la complexité varie selon les espèces, mais qui comprend toujours un certain nombre d'étapes obligatoires (inoculation, adhérence, germination, pénétration et invasion) **(Francisco et *al*., 2014)**

II.2. La fusariose

Parmi les champignons agents de maladie vasculaires, ceux appartenant au genre *Fusarium* sont les plus fréquents et les plus dommageables pour les cultures **(Nelson et *al*., 1981).**Les infections dues aux *Fusarium sp* sont collectivement regroupées sous le terme de « ***fusariose*** ». Les *fusarioses* sont des maladies redoutables, le champignon qui se présent dans le sol peut pénétrer très tôt dans la plante et provoquer des fontes de semis, si la plantule résiste, il envahit les vaisseaux et finit par provoquer la mort de la plante suite à la production des mycotoxines **(Merouane et Hammou, 2005).**Le nom donné de *fusariose* est relié à l'allure fusiforme de ses spores **(Pageau D., 2009)**.

II.2.1. Généralité sur *Fusarium sp* :

D'après Galinas (1995), le nom *Fusarium* vient de « fusus » qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiforme et cloisonnées. Ce sont des champignons cosmopolites, on distingue près de 40 espèces largement répondues dans la nature et vivants en saprophytes. Certains sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) **(Chabasse et *al* ., 2002).**

Le genre *Fusarium* appartient à la classe des *Deutéromycètes* (champignons imparfaits), car la plupart des espèces étaient d'abord décrites sur la base de caractères morphologiques et sur le fait que la reproduction sexuée n'a pas été observée. Ces formes imparfaites sont caractérisées par un mycélium septé et la production des microconidies généralement unicellulaires sur des conidiophores libres, elles sont classées dans le groupe des Moniliales **(LEPOIVRE P., 2003)**, maintenant des formes sexuées (téléomorphes) ont été observées pour certaines espèces de *Fusarium*. Elle font partie des Ascomycetes, de la famille des *Nectriaceae*et notamment des genres *Gibberella*et *Nectria* **(Zhang et *al*., 2006).**

II.2.2. Classification

Les Fusarium sont les formes asexuées de plusieurs espèces d'Ascomycètes. Leur position systémique est :

Règne……Fungi

Division……Ascomycota

Subdivision……. Pezizomycotina

Classe ……. ……Sordariomycetes

Sous classe ……Hypocreales

Ordre……. Nectriaceae

Genre ……. ***Fusarium***

Le classement actuel utilisé pour le genre *Fusarium*, dérive de celui d**e (Nelson et *al*., 1981)**, lesquels regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. Ce classement a été corrigé par **(Burgess et *al*, 1994)**, puis par d'autres chercheurs grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire **(Leslie, 2006)**.

II.2.3. Cycle biologique de *Fusarium* :

Le *Fusarium* est responsable d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte, il est transmis essentiellement par les semences récoltées de plantes infectées, mais peut aussi provenir du sol. Le *Fusarium* est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique où il croît sur des débris de plantes ou il survit en forme de chlamydospores, il est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables **(Haware et *al*., 1978);** (**Beckman., 1987**)).

L'infection des plantes se fait au moyen des chlamydospores qui restent dormantes jusqu'́à la stimulation de leur germination par des substrats organiques ou des exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'́un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies (**(Beckman etRoberts, 1995)**;**(Agrios., 2005**)). En présence d'une plante hôte, le mycélium envahit tout d'abord les racines suite à la pénétration de l'́épiderme dans la zone d'élongation ou par des blessures **(Agrios., 2005)**; **(Beckman etRoberts, 1995)**).

Le tube germinatif qui s'introduit à travers l'épiderme du système radiculaire envahit les vaisseaux conducteurs, dans lesquels les microconidies sont transportées de façon passive par le flux du xylème et peuvent ainsi infecter des parties aériennes. La plante présente un stress hydrique qui provient soit des vaisseaux qui se bouchent ,soit de toxines produites par le champignon, comme l'acide fusarique, soit de ces causes combinées (**(Toyoda et *al*., 1988);** (**KleinK etCorrell, 2001**).

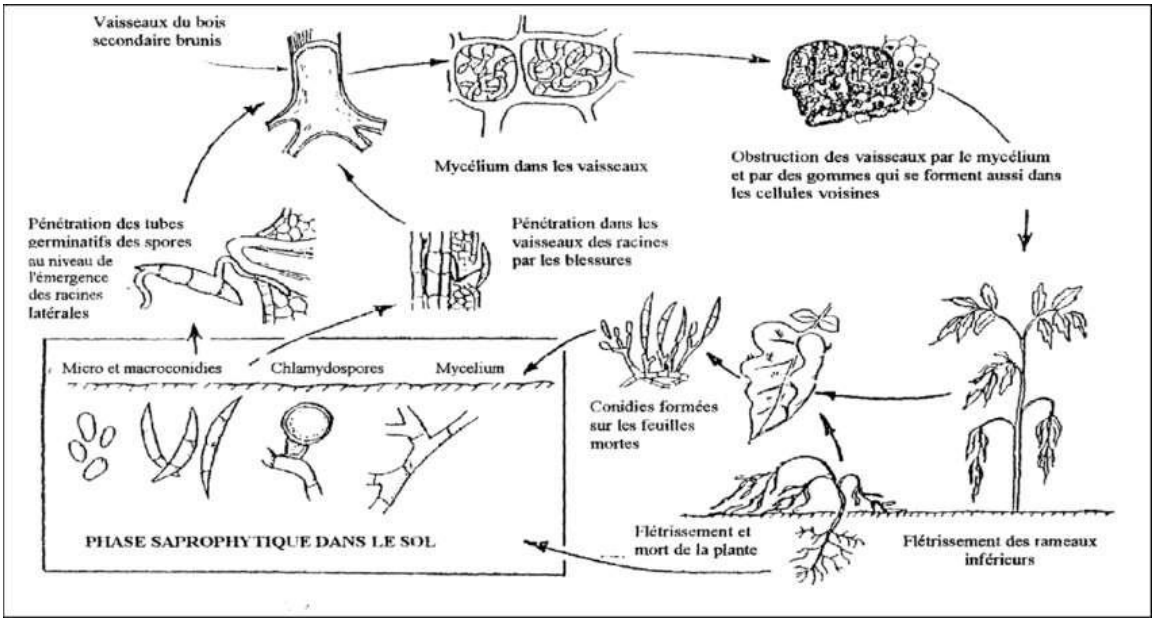


Figure 5 : Cycle infectieux du Fusarium sp **(Raynal, 1988).**

II.2.4. Les symptômes et dégât de Fusarium :

La maladie se manifeste uniformément dans toutes les catégories du sol. Les dégâts les plus importants sont observés sur des sols lourds, mal drainés et peu profonds. De plus, la maladie est favorisée par l'acidité du sol ainsi que par une fumure ammoniacale excessive et par tout facteur provoquant des blessures au niveau du collet ou des racines **(Bebderet *al* ., 1982).**

Les lésions causées par *Fusarium* apparaissent souvent à la base de la tige, dans la gaine des feuilles, une propagation qui se manifeste par la présence de longues stries brunes à la base de la tige. Le symptôme le plus fréquent est la coloration brune foncé des nœuds inférieurs. Sur les plants plus anciens, l'infection par *Fusarium* peut générer un véritable pourridié, la base de la tige devient alors brune et pourrie, ce qui entraîne une verse et la formation d'épis argentés.

Les épillets perdent leur chlorophylle commencent à se décolorer et finissent par donner à l'épi une couleur blanchâtre. Ce symptôme observé aux premiers stades de floraison. **(BASF, 2015).**

Fusarium solani est un champignon du sol qui provoque selon la plante infestée un dépérissement racinaire, la formation de chancres mous brun foncé à noirs sur les tiges, soit au niveau des nœuds soit aux niveaux de plaies. Une section transversale de la tige montre au cœur une tâche noire qui peut s'étendre sur une grande longueur. A des stades avancés, il peut apparaître sur les zones de chancre de minuscules structures orangées ou brun clair : les périthèces (fructifications du champignon) ou un mycélium blanc.

Ces chancres au niveau des tiges perturbent la circulation de la sève et entraînent le flétrissement des organes touchés ou le flétrissement complet de l'individu.

Sur fruits, les symptômes peuvent être la présence au niveau du calice de tâches aqueuses noires ou bien le développement de mycéliums dans le fruit.

Figure 6 : Les symptôme de *Fusarium solani.*

(A) Brunissement diffus des tiges, (B) Nœud brun violacé,(C) Attaque superficielle de la tige, (D) Tache brune sous forme de trait de plume, (E) Brunissement diffus de la gaine.**(Avaris., 2015) .**

II.3. Rhizoctonia brun

II.3.1. Généralité sur Rhizoctonia brun :

Cette maladie est causée par *Rhizoctonia solani* (Kühn), constitue une menace assez sérieuse sur la récolte de pomme de terre **(AIT OUADA., 2008)**. Ce champignon infecte les tubercules, les tiges et les stolons, causant des lésions brunâtres ou noires qui cernent souvent la partie infectée et entraînent des pertes de rendements. Les sclérotes noirs qui se forment sur la peau des tubercules peuvent également réduire la qualité de la récolte. L'infection peut provoquer un rosissement des feuilles, un rabougrissement des plants, une chlorose, un enroulement de l'extrémité des feuilles, Le rhizoctone brun peut aussi provoquer la malformation et la fissuration des tubercules.

II.3.2. La Position systématique de *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani est classé comme suit :

Règne……Fungi.

Division……..……Basidiomycota .

Classe……Basidiomycetes.

Sous-classe……Agaricomycetidae.

Ordre……Cantharellales.

Famille……Ceratobasidiaceae

Genre……..…*Rhizoctonia*

Espèce……..…..……***Rhizoctonia sp***

II.3.3. Le genre *Rhizoctonia* :

Rhizoctonia solani est omniprésents avec une large gamme d'hôtes **((Sneh., 1991),**ils survivent en formant des structures de repos qui restent libres ou intégrés dans les débris végétaux (**Shlevin et *al*., 2003).** Mycélium développées à partir de sclérotes initie une infection causant un dumping off **(Bedendo, 1995 ; Rivera et *al*., 2013).**

II.3.4. Caractères morphologiques :

Thalle blanc à marron foncé de croissance rapide, de segments 100-250 µm x 7-12 µm, mycélium sclérotique et moniliforme de diamètre 30 µm. On trouve de fréquentes constrictions au niveau des septa, et des ramifications. Les ramifications forment des angles de 45° à 90°, et sont souvent coenocytiques.

Rhizoctonia est un genre de champignons anamorphes de l'ordre des Cantharellales. Ces espèces ne produisent pas de spores, mais sont constituées d'hyphes et de sclérotes Parmeter et Whitney (1970) ont défini un certain nombre de critères morphologiques pour déterminer ***R. solani.*** Cette forme végétative stérile correspond à un basidiomycète *Thanatephorus cucumeris* (Frank-Donk). Les souches qui lui sont rattaché, possèdent plus de deux noyaux par article mycélien **(Camporota et *al*., 1984).**

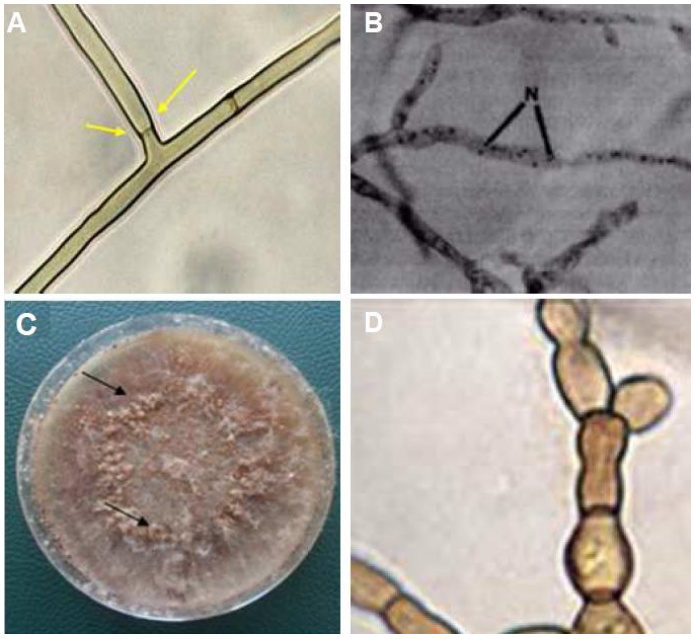


Figure7 *:* caractères morphologiques *de R. Solani* ***(Tredway, 2001)***.

A :Mycélium cloisonné montrant une ramification selon un angle droit avec une constriction suivre par une cloison transversale (flèche).B : compartiment mycélien montrant plusieurs noyaux**(Sneh., 1991)**C : culture âgées de couleur marron montrant des sclérotes D :cellule moniloides **(Tredway, 2001)**.

II.3.5. Le Cycle biologique Rhizoctonia solani :

Le cycle biologique des affections causé par ***R. solani*** est illustré par la figure 8. Une humidité élevée et des températures du sol de 15 et 18c° sont les conditions optimales à l'initiation des infections de *R. solani* **(Werner., 2008)** Les infections sont initiées quand un hyphe issu de germination d'un sclérote présent dans le sol ou sur tubercule infecté un mycélium qui gagne d'abord les germe ensuite les racine et les premières stolon **(Jegeret *al*., 1996)** .a la surface de ces organes, les mycéliums développe une masse de cellule renflé appelée manche, cette structure sera à l'origine des lésions sur les germe, les tiges et les stolons **(Hofman., 1988)** Enfin de cycle végétatif de la pomme de terre, le champignon forme des sclérotes à la surface des tubercules se semence peuvent servir d'inoculum initial pour la saison suivant **(Frank., 1980)** et Lorsque les conditions sont favorable, le téléomorphe se développe à la base des tige. Le rôle de celui-ci dans le développement de la maladie n'est pas très bien compris. Cependant, lorsque 'il est observé, les lésions deviennent plus importantes sur les organes souterrains **(Gosselin., 2009)**.

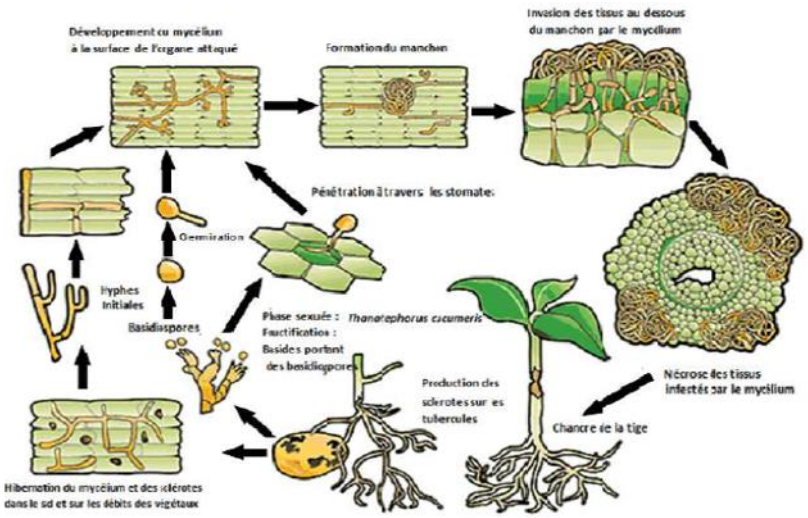


Figure8 : cycle des affections causées par Rhizoctonia solani sur pdt
(www.bayercropscience.com.mX).

II.3.6. Les symptômes causés par Rhizoctonia brun :

Les premiers symptômes se manifestent sur les germe qui montrent des lésions de couleur marron –rougeâtre a noir et des taches incolores déprimée. Ces lésions provoquent

le plus souvent la mort des extrémités des germes . **(Banville., 1989)**Les germes ainsi perdus seront compensée par la plante qui développe avant l'émergence, de nouveaux germe qui seront plus vulnérable aux attaque de R. solani **(ElBakali., 2006)**Ces attaque provoquent un retard de l'émergence des plants se traduisant par une levée irrégulière **(Wharton et *al*.,2007**)

Par ailleurs, le symptôme le plus caractéristique des affections de la pomme de terre par *R. solani* consiste en la formation de sclérotes sur la surface des tubercules fil**(Banville.,1989**) Ces sclérote de dimension variable se présentent sou forme de taches plus ou moins grandes ou sous forme de nodules saillants fortement adhérés à la surface du tubercule**(Wharton et *al*., 2007**)

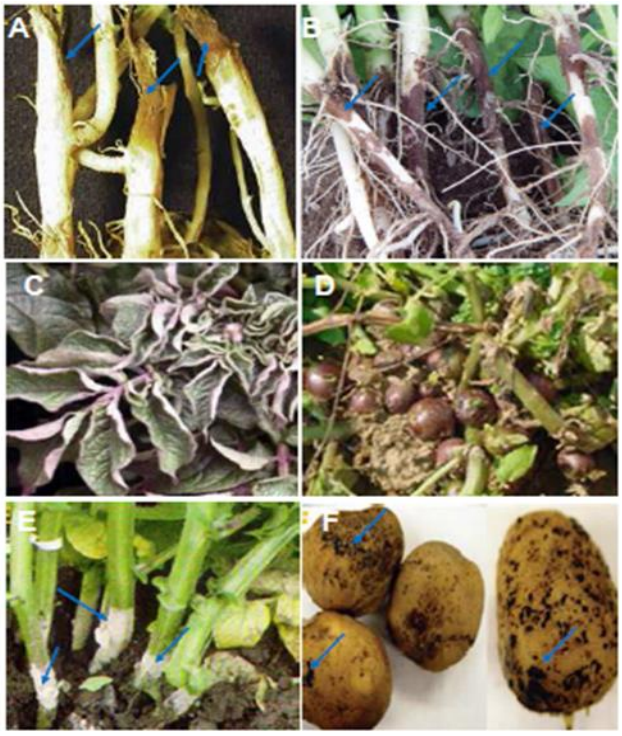


Figure 9 : Symptomologie du chancre des tiges et du Rhizoctonia solani de pomme de terre (**Wharton et*al*.,2007)**.

A :Mort des extrémité des germe(flèche)avant leur émergence du sol, B :Tige montrant des chancres(flèche) C :Bouquettes foliaire terminal dont les feuille de coloration rougeâtre a violacée au voisinage de la surface de sol ,E :stade sexuée de Solani se forment à la base des tige, (flèche), F :Tubercules montrant des sclérotes de couleur foncé***(*Wharton et *al*., 2007*).***

II.4. Les Moyen de Lutte

II.4.1. Lutte culturales et préventive :

- Il est conseiller d'éliminer les plants malades et ceux à proximité.
- Maîtriser au maximum le climat afin d'éviter les excès d'humidité et de température.
- L'irrigation des plants sera optimale. Elle ne devra pas être excessive et permettra un bon ressuyage du substrat.
- Parmi les pratiques culturales utilisé contre les affections peut citer la rotation qui vis à la réduction de la densité d'inoculum dans le sol **(ashref., 2011)**
- La plantation à faible profondeur et dans des sole sec et chaud pour réduire la durée de contacts entre les jeune organe et pathogène ainsi que la récolte rapide des tubercule fille une fois mure pour empêche la formation de sclérotes**(Wharton et*al*., 2007**)
- Une fertilisation raisonnée peut réduire l'incidence des affections.

II.4.2. Lutte génétique :

- La création de variétés résistantes semble la méthode la plus économique et la plus favorable pour la protection de l'environnement.
- La recherche de telle résistance fait depuis longtemps l'objet de plusieurs travaux. Mais étant donné que l'action parasitaire de l'agent pathogène est peu spécifique il ne faut pas s'attendre à l'obtention de variétés complètement résistantes (résistance verticale) mais plutôt à des variétés à résistance variables (résistance horizontale).

II.4.3. Lutte chimique :

- Il existe un large éventail de fongicide appartenant à diverses familles chimiques qui ont démontré leur efficacité on traitement de semences, de sol et on post-récolte, très répandue car elle s'est révélée efficace de 50 à 70% dans la réduction de la maladie une fois appliqué aux temps appropriés.
- Parmi les matière active largement utilisé on peut citer : le pencycuron, le flutolanil, fludioxonil, le thiophanate –méthyle, l'azoxystrobine, chlorothalonil, lethiabendazole, l'inprodione, le moncozebe, le tolclofos-méthyle.
- Parmi les fongicides utilisés contre la fusariose du blé on peut citer : fludioxonilbenomyl, le tubuconazole, l'azoxystrobine et le mancozeb, il se peut que le tubuconazole et l'azoxystrobin pourraient augmenter la production de

mycotoxines (DON) ce qui représente l'inconvénient de l'utilisation de ces fongicides **(Dammer et *al*., 2011).**

II.4.4. Lutte biologique :

La lutte biologique connaît ces dernières années une popularité due en partie à un certain échec de la lutte chimique qui constitue un danger sur l'environnement et sur l'homme. En fait, l'utilisation des moyens de lutte biologique contre les agents phytopathogènes antagonistes a connu un essor considérable durant les deux dernières décades **(MOURIA et *al*., 2013)**. Selon l'OILB, la lutte biologique utilise un ensemble de méthodes satisfaisant les exigences à la fois économiques, écologiques et toxicologiques, en réservant la priorité à la mise en œuvre délibérée des éléments naturels de limitation et en respectant les seuils de tolérance.

- Lutte biologique par l'utilisation des champignons antagonistes En fait, Plusieurs genres de champignons appartenant à différents groupes sont antagonistes de champignons phytopathogènes. En phytopathologie, l'antagonisme se réfère à l'action d'un organisme vivant qui supprime la croissance normale et l'activité d'un agent phytopathogènes des plantes ou même interfère avec celle-ci. Ce phénomène se manifeste généralement soit par une compétition, un mycoparasitisme, ou une antibiose **(SOUFIANE, 1998).**

- La définition adoptée par l'organisation internationale de lutte biologique (OILB) est : « utilisation par l'homme d'ennemis naturels tels que des prédateurs, des parasitoïdes ou des agents pathogènes pour contrôler des populations d'espèces nuisibles et les maintenir en dessous d'un seuil de nuisibilité » **(Suty., 2010).**
- Bio pesticides : Ce sont des préparations contenant les agents de lutte biologique, agissent en réduisant l'inoculum et /ou interférant avec une ou plusieurs étapes du cycle infectieux du phytopathogènes **(Jijakly., 2003).**

Matériel et Méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie 1 du Halle technologique de l'université de Médéa YAHIA FARES, et du laboratoire de mycologie de l'Institut National de Protection des Végétaux **(I.N.P.V)** à El Harrach Alger. Depuis le mois de Janvier 2019 jusqu'au mois de Juin 2019.

I. Matériel et méthodes :

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par la partie aérienne (feuilles et tiges) de ***Salvia officinalis*** (Figure10). Il a été récolté, durant le mois de janvier 2019 avant la période de floraison, au niveau de la région de Médéa : une ville de montagne de l'Atlas tellien, située dans une dépression entre le massif de l'Ouarsenis au sud et l'Atlas blidéen au nord s'étend sur une superficie de 8866 km. (Voir annexe3).

La partie aérienne récoltée a été séchée pendant 15 jours à l'abri de la lumière et l'humidité.

- Une partie a été broyée en poudre fine par un mixeur à hélice et criblée à l'aide d'un tamis, pour la préparation de l'extrait alcoolique.

-Une autre partie coupée en petits morceaux de 4 cm, pour l'extraction de l'huile essentielle.

-Le tout a été conservé dans des sacs en papiers jusqu'à leur utilisation.

Figure 10: Matériel végétal après séchage (originale 2019).

I.1.2. Espèces fongiques :

Les espèces fongiques sont représentée par trois isolats fongiques **(Figure 4)**, provenant de la mycothèque du laboratoire de mycologie de l'Institut National de la Protection des Végétaux **(I.N.P.V)** El Harrach Alger. Leur identification a été basée sur la caractérisation culturale et morphologique de cultures monospores purifiées. Cette identification nous a été communiquée par Mme K. BOUAKAZ et Y. OUSSAID du laboratoire de mycologie de l'INPV.

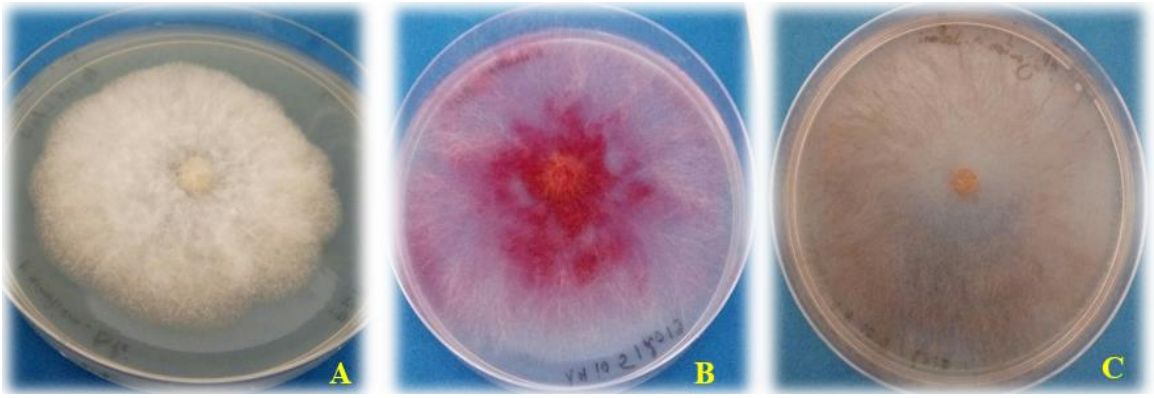


Figure 11 : Les espèce fongique(Originale,2019).

A: ***Fusarium sp***

B*: Fusarium solani* C*: Rhizoctonia solani*.

Tableaux II : Origine des agents pathogènes utilisés. **(INPV.,2019)**

	L'espèce	L'isolat	Lieu de l'isolement	Partie de la plante isolée	La plante hôte
les agents pathogènes	*Rhizoctonia solani*	RS	Ourmess, El Oued	Tubercule	Pomme de terre (Spunta)
	Fusarium solani	FP	Ouled Moussa, Boumerdes	Tubercule	Pomme de terre
	Fusarium sp	FB	Hadjout, Tipaza	Tige	Blé

- **Culture et conservation des souches**

Les souches fongiques ont été cultivées sur le milieu nutritif PDA, incubées pendant 06 jours à l'étuve à une température de 24° C, puis conservées à + 4° C jusqu'à leur usage, et ceci conformément à la méthode décrite par**(Sasidharan et *al*., 2012)** qui signalent que le milieu PDA est le milieu adéquat pour tester les activités des extraits de plantes à l'égard des champignons.

I. 2. Méthodes

I.2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits présents dans les plantes, ces techniques peuvent être conventionnelles ou nouvelles, pour la présente étude nous avons adopté la méthode d'extraction par **ultrason** pour la préparation de l'extrait :

- **Principe :**

Les ondes sonores génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu **(Benamor., 2008).**

Plusieurs facteurs gouvernent l'action des ultrasons comme la fréquence, la pression, la température et le temps de sonication. Il faut prendre en considération les caractéristiques de la plante comme l'humidité, les dimensions des particules et les solvants utilisés pour avoir un bon rendement **(Wang et *al*., 2006).**

➢ Mode Opératoire :

Le protocole utilisé est décrit par **(Veličković et *al*., 2011)**

-10 g de matière végétale est mélangée avec 100 ml du solvant (éthanol aqueux à 70 % v/v) dans un erlenmeyer de 250 ml.

-Une sonication a été effectuée à l'aide d'un bain de nettoyage à ultrasons (ultra-turrax)(230 v~ ; 50/60 HZ ; 500 W ; température : 60 °C) pendant 60min. (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total de poudre).

-L'extrait liquide obtenu a été filtré par papier filtre Wathman (N°1) plusieurs fois.

-Le filtrat a été placé dans un évaporateur rotatif à une température de 75 °C, jusqu'à évaporation complète du solvant et récupération du résidu.

-L'extrait obtenue a été conservé à 4 c°. **(Figure 13).**

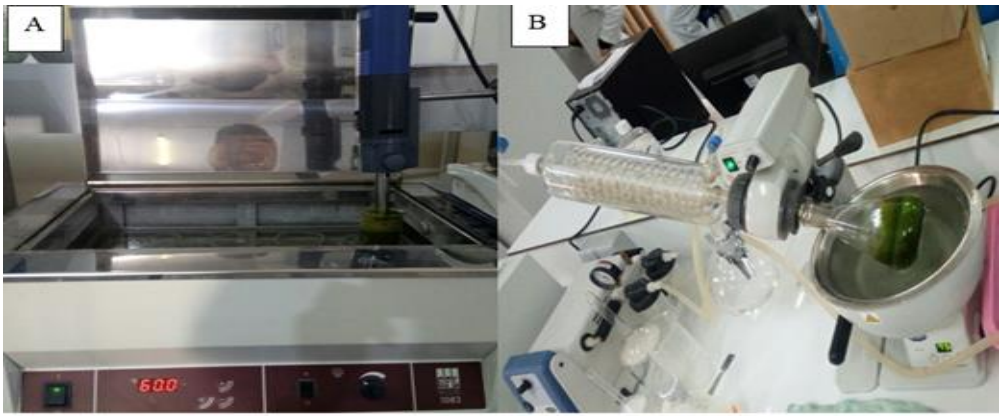


Figure 12 : Protocole d'extraction et évaporation du solvant. (Originale 2019).

A : extraction par ultrason, **B** : récupération du résidu.

➢ Calcul du rendement

Selon **(Clémence et Dongmo ., 2009),** Le rendement est exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ, il est déterminé selon la formule suivante :

$$R\ (\%) = (M_{ext})\ x\ 100/M_{éch}$$

R : Rendement (en %)

M_{ext} : est la masse de l'extrait en g.

$M_{éch}$: est la masse de l'échantillon végétal en g.

L'extrait éthanolique de ***Salvia officinalis*** a été préservé aseptiquement dans un flacon opaque et conservé à 4°C, jusqu'au moment de son utilisation.

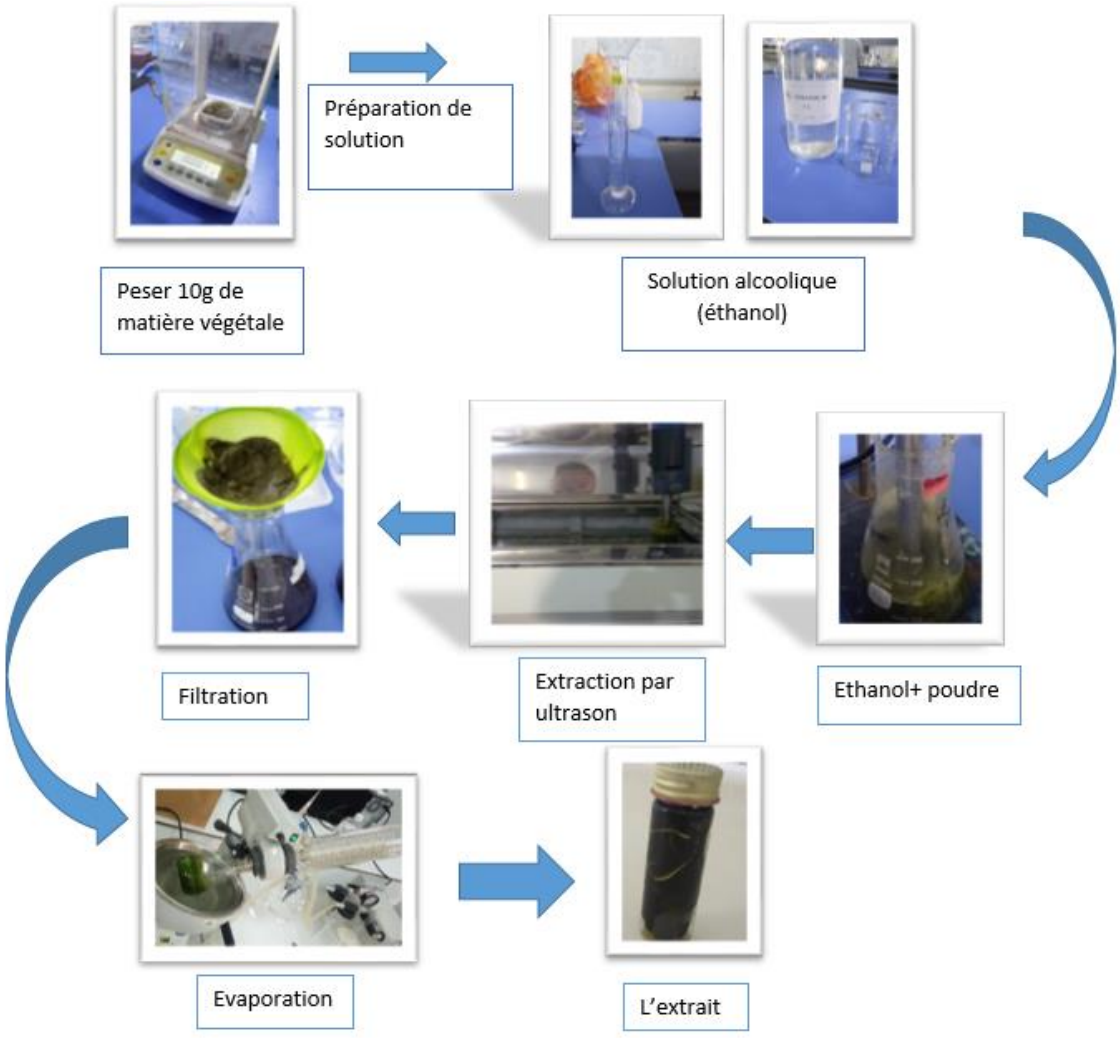


Figure 13 : protocole expérimental des extractions éthanoliques.

I.2.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation. L'opération s'accomplit grâce à un appareil de type **Clevenger**. Cette méthode est parmi les procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques, les plus anciennes, apportées par les arabes au IXème siècle **(Sutour S, 2011)**.**Laghchimi et *al*** en 2014**,** signale que cette méthode est décrite par la pharmacopée européenne.

➢ Principe

Cette méthode consiste en une distillation classique réalisée avec un Clevenger (**Figure 15**), dans le quelle la matière végétale est plongée dans de l'eau, et l'ensemble est porté à ébullition. La vapeur d'eau chargée de substances volatiles se condense à l'intérieur d'un réfrigérant. Les essences, moins denses que l'eau, sont recueillies par simple décantation à la surface de celle-ci **(Camara B., 2010)**. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants **(Nedjai I., 2017).**

➢ Mode Opératoire

- Mélanger 50 g de matériel végétal avec500 ml d'eau distillée.

- Immerger directement dans un ballon en verre d'un litre, surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur, reliée à un réfrigérant. L'eau distillée est portée à l'ébullition durant trois heures.

- On remarque que deux phases franches caractérisent le distillat, l'une est organique (huile essentielle) chargée de constituants volatils contenus dans la plante et l'autre est aqueuse (ou hydrolat) ayant une densité plus élevée.

- A la fin de la distillation, et après quelques minutes de repos, le volume de l'huile essentielle obtenu est récupéré et stocké à une température de 4°C à l'abri de la lumière dans un flacon en verre, sombre jusqu'au moment de son usage. (**Figure 14)**

Figure 14 : Extraction des huiles essentielles par hydrosistillation (Originale2019).

➢ Détermination du rendement :

Le rendement en huile essentielle a été déterminé, et exprimé en pourcentage, selon la formule ci-dessous décrite par **(Laib., 2012)** et **(Adjou., 2012).**

RHE (%) = (m_h / m_v) X 100

Où :

RHE : Rendement en huile essentielle (%).

m_h : Masse de l'huile essentielle (g).

m_v : Masse de la matière végétale sèche (g).

I.2.3. Etude macroscopique et microscopique des isolats fongiques

Les méthodes d'identification des champignons utilisées en routine sont essentiellement basées sur l'analyse des caractéristiques morphologiques macroscopiques et microscopiques.

- **Analyse macroscopique**

Lors de l'analyse macroscopique des colonies obtenues après culture des champignons, plusieurs aspects de l'appareil végétatif sont observés :

- L'aspect : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre.
- Le relief : plat, plissé ou cérébriforme.
- La taille : petite, étendue ou envahissante.
- La couleur : blanche, crème ou colorée (verte, brune, orangée, violette, grises…).

La présence d'un pigment diffusant dans la gélose ainsi que certains paramètres telle la Vitesse de la pousse des colonies ou la température de développement peuvent être de bonsindicateurs pour l'identification d'une moisissure.

- **Analyse microscopique**

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores :

- Le thalle végétatif : septé (diamètre étroit et régulier de 2 à 5 µm) ou siphonné (filaments peu ou pas ramifiés, diamètre large et irrégulier de 5 à 15 µm), paroi pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline).
- Les organes de fructifications : présence ou non d'organes protecteurs des conidies, modes de formation des conidies, modes d'implantation des cellules conidiogènes (indifférenciée ou peu indifférenciée, différenciées sur le filament végétatif, porté sur les conidiophores dispersés ou groupés).
- Les spores : endogènes (endospores) ou exogènes (conidiospores ou conidies), l'aspect des spores [amérospores (unicellulaires et de petite taille), didymospores (bicellulaires), phragmospsores (pluricellulaires à cloisons transversales), dictyospores (pluricellulaires à Cloisons transversales et longitudinales), scolécospores (étroites et effilées)], présence ou non de chlamydospores.

I.2.4. Evaluation de l'activité antifongique in vitro des extraits de *Salvia officinalis*

L'étude du pouvoir antifongique de l'extrait et l'huile essentielle a été évaluée in vitro, par la méthode de **contacte directe** sur milieu P.D.A, vis-à-vis de trois isolats fongiques ***Fusarium sp, Fusarium solani et Rhizoctonia solani.***

➢ Principe

Cette méthode est l'une des plus utilisées dans la détermination du taux d'inhibition d'un agent antifongique et antimicrobien**(Wiegand et *al* ., 2008).** Quand ce dernier est soluble, il est mélangé et dilué dans de l'agar, puis le champignon est inoculé sur ce milieu. Si l'agent est insoluble ou faiblement soluble, il est mis sur l'agar et une suspension de spores du champignon étudié est pulvérisée.

➢ Préparation des dilutions de l'extrait éthanolique

Différentes dilutions de l'extrait éthanolique de ***Salvia officinalis*** ont été préparées afin de pouvoir tester leur effet antifongique. En se basant sur des essais préalables, on a choisi une gamme de concentration qui varie de 5mg/ml à 25mg/ml.

Dose	mg/ml
D1	5mg/ml
D2	10mg/ml
D3	25mg/ml

➢ Préparation des concentrations de l'huile essentielle

On a choisi trois différents volumes d'huile essentielle correspondant à différentes concentrations, (le choix des volumes était en fonction de la quantité initiale de l'huile essentielle)

Concentration	mg/ml	Volume(ul)	(ul)
C1	0.67mg/ml	V1	10 ul
C2	1.67mg/ml	V2	20 ul
C3	3.34mg/ml	V3	50 ul

➢ Protocole

- Chaque dilution de l'extrait éthanolique ou (l'huile essentielle) est ajouté aseptiquement à 15 ml de milieu de culture P.D.A.

-Les boîtes de Pétri ainsi préparées ont été légèrement agitées pour assurer l'homogénéisation du milieu avec les extraits.

-Les cultures témoins ont été préparées avec 15 ml de milieu PDA seulement pour l'évaluation de l'effet de HE, et 15 ml milieu PDA additionné d'éthanol pour l'évaluation de l'effet d'extrait.

-Après solidification, à l'aide d'une pipette pasteur stérile le repiquage a été fait par dépôt d'un disque mycélien de 6 mm de diamètre de chaque isolat fongique étudié, issu du périphérique des cultures jeunes développées sur milieu PDA.

- Les boites de Pétri préparées ont été scellées par du para film et incubées à l'obscurité pendant 6 jours dans une étuve réglée à 24 °C.

- Pour chaque concentration trois répétitions ont été effectuées. (**Figure 15**).

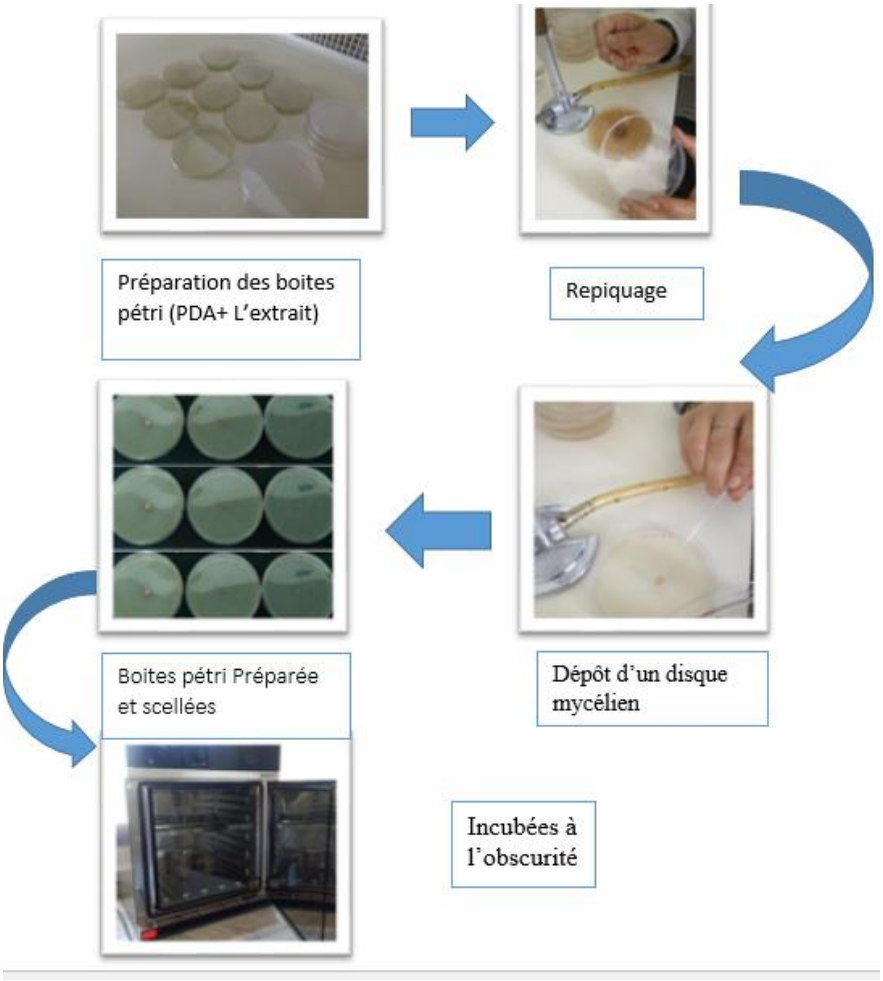


Figure 15 : Protocole d'évaluation de l'effet antifongique (in vitro).

➢ Lecture des resultants

La lecture des résultats est basée sur la mesure de diamètre de croissance

Radiale mycélienne on fonction de temps afin de calculer le taux d'inhibition.

➢ Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Le taux d'inhibition de la croissance est évalué par le calcul du pourcentage de réduction de la croissance mycélienne, par rapport au témoin, **(Doumbouyaet *al.*, 2012)**selon la formule suivante:

TI% = [(DT – D) / DT] x 100

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

DT : diamètre moyenne de la croissance mycélienne du champignon (en cm) dans la boite de Pétri (témoin).

D : diamètre moyenne de la croissance mycélienne du champignon dans la boite Pétri qui contient l'extrait.

I.2.5. Analyse statistique

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des extraits de ***salvia officinalis***, vis-à-vis des isolats étudiés de ***Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia Solani***, et de comparer leur pouvoir antifongique *in vitro* sur les différents paramètres biologiques de l'agent pathogène à savoir, la croissance mycélienne, tout en considérant les isolats fongiques étudiés et les deux extraits de ***sauge officinalis***. Les analyses statistiques ont été effectuées au moyen du l'application du modèle **SYSTAT 12**

II. Résultats et Discussion

II.1. Résultat de l'extraction

- **L'extrait éthanolique de *salvia officinalis* :**

La préparation de l'extrait éthanolique à partir des parties aériennes de la plante étudiée a été effectuée par une extraction à ultrason. La couleur, l'aspect de l'extrait sont représentés dans le tableau ci-dessous. (La détermination des caractères a été fait à l'aide de notre encadreur Mm **Dif S**.)

Tableau III : Caractères de l'extrait éthanolique de la plante étudiée.

L'extrait éthanolique de ***Salvia officinalis***	La couleur	L'aspect
	Vert noirâtre	Visqueux

L'extraction par ultrason des parties aériennes de ***salvia officinalis*** a donné un rendement de 11.98% (13.18 g) à partir d'un poids initial de 110g de plante sèche, ce résultat est proche de celui trouvé par **(Dragan T et *al.*, 2011),** à partir de la ***sauge officinale*** de Serbie (2011), avec les mêmes conditions expérimentales. Une autre étude entreprise par **(Kanyonga et *al.*, 2011)**réalisé sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Salvia officinalis* récoltée en Maroc a donné un rendement de 39,2%.Ce pourcentage nettement supérieur au nôtre.

Tableau VI : Rendement de l'extrait éthanolique.

Quantité de Matière végétale sèche en poudre (g)	**Quantité d'extrait en(g)**	**Rendement (%)**
110g	13.18 g	11.98 %

D'une manière générale, les rendements en extraits varient non seulement d'une Plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide notamment : la température, le solvant d'extraction, la taille des

particules et le coefficient de diffusion de solvant**((Penchev.**, **2010**) **; (Michel., 2011)).**

La méthode d'extraction est une opération importante qu'il faut mener avec soin. Par ailleurs, la collecte, le séchage, le stockage-tributaires à l'extraction influencent largement sur le rendement ainsi que la qualité des extraits **(Benjilali., 2005).**

➢ Huile essentielle de *salvia officinalis*

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles de ***Salvia officinalis*** obtenu par hydrodistillation sont présentés dans le **tableau V** (les caractères de notre l'huile essentielle déterminée par notre encadreur Mm **Dif S)**

Tableau V : Caractères organoleptique de l'huile essentielle

Caractéristiques	**Aspect**	**Couleur**	**Odeur**
H.E de *Salvia Officinalis*	**Liquide**	**Jaune claire**	**Camphrée, un peu épicée**
AFNOR 2000	**Liquide**	**Incolore à jaune**	**Camphrée, un peu épicée**

Les paramètres organoleptiques de notre échantillon d'HE du *salvia officinalis* sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes **(AFNOR., 2000)** .

Tableau V : Rendement de l'huile essentielle.

Quantité de Matière végétale sèche en (g)	**Quantité de le H.E (g)**	**Rendement(%)**
600g	**1.6g**	**0.27%**

Le rendement d'huile essentielle de ***salvia officinalis*** à partir des (feuille et tige) est de 0.27%.Ce rendement est inférieur à celui de **(AMIROUCHE et BELKOLAI ., 2013)** , qui ont travaillé sur deux régions algériennes Amizour et Ghardaïa . Ils ont trouvé un rendement de 0.98% et 0,52 % respectivement.

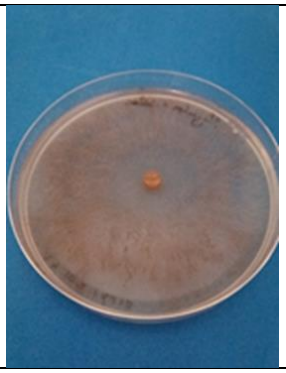
Ce rendement est aussi inferieur par rapport à ceux trouvés dans plusieurs régions dans le monde notamment celui de **(FELLAH et *al* ., 2006) ,** qui a travaillé sur deux régions Tunisiennes : Marsa et Djebel et **(Chalchat et *al* ., 1998)** qui ont travaillé sur la sauge officinale originaire de France , Hongrie, Portugal , Roumanie avec des rendements(2.05%), (2.50%), (2.90%), (2.30%)respectivement.

Cette variation dans le rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la technique d'extraction mais également à la période de la cueillette de la matière végétale. En effet, dans cette étude, la sauge a été cueillie au mois de janvier alors que celle utilisée par exemple par **(FELLAH et *al* ., 2006)** a été réalisée au mois de Mars. Dans d'autres études la technique d'extraction et le cycle végétatif, influe sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle **(Fellah., 2001)**.

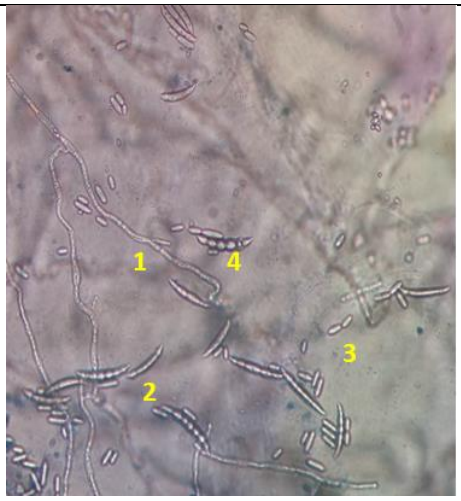
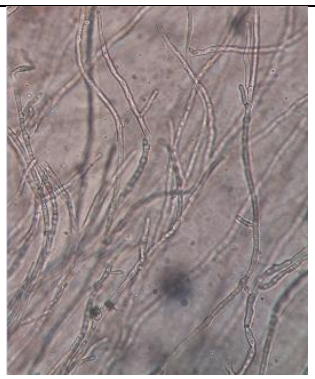
II.2. Etude macroscopique et microscopique des isolats

Notre étude macroscopique et microscopique des isolats a été réalisée à l'aide de l'ingénieure de laboratoire de mycologie de l'INPV **(Goumghar H).**

II.2.1. Etude macroscopique des isolats

LES CHAMPIGNON	Observation macroscopiques	Caractères macroscopiques
Fusarium solani **de pomme de terre**		-Colonie des *Fusarium solani en* culture sur milieu PDA ont un aspect laineux, blanche à bordure rose. -Revers rose.
Fusarium sp **de blé**		-Colonie des Fusarium en culture sur milieu PDA ont un aspect laineuse d'une couleur blanchâtre. -Revers blanc à centre jaune.
Rhizoctonia solani		-Colonie des *Rhisoctonia Solani* sur le milieux PDA est de couleur brune, à croissance rapide.

II.2.2. L'étude microscopique des isolats

Les champignon	observation microscopique	Caractères microscopiques
Fusarium solani **De pomme de terre**		L'observation microscopique nous a montré la présence de : - D'hyphes mycéliens cloisonnés, ramifiés, Les conidiophores portent des courtes phialides. -Les phalides portent à leurs extrémités des macroconidies et des microconidies pluricellulaire en forme croissant. -Des chlamédospore arrondies entourées d'une paroi épaisse plus ou moins pigmentée.
Fusarium sp **de blé**		L'observation microscopique nous a montré la présence de : -Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou sur des conidiophores courts et densément branchés. -Les macroconidies falciformes, avec plusieurs septa transverses. Les microconidies sont ellipsoïdes, ovoïdes, généralement unicellulaires. -Des chlamydospores, sont présentes, sont hyalines ou pâles, intercalaires ou terminales et possèdent une paroi épaisse
Rhizoctonia Solani		-L'observation microscopique laisse apparaitre un mycélium abondant, de couleur brunâtre à brun foncé. Il est constitué d'hyphes de couleur grisâtre relativement épais

- Les légendes :

1.Le mycélium 3. Les microconidies

2.Les macroconidies 4. Les chlamydospores

II.3. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *salvia officinalis*

II.3.1. Evaluation de l'activité antifongique d'extrait éthanolique

L'activité antifongique se traduit par le diamètre radical de la zone d'inhibition, dans les boites pétries qui contient le milieux PDA mélangée avec l'extrait, ces diamètres sont différenciés selon les doses utilisées et l'espèce fongique étudiée.

L'activité antifongique a été calculée en une moyenne de trois répétitions, pour chaque Dose.

II.3.1.1. L'activité antifongique de *Fusarium sp*

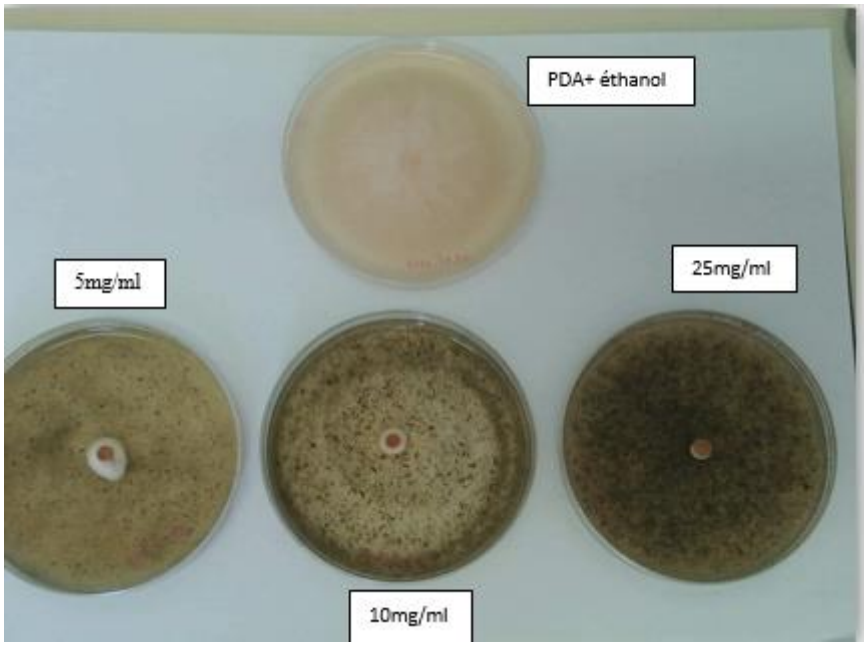


Figure 17 : Effet « in vitro » des différentes doses de l'extrait sur l'isolat de *Fusarium* sp.

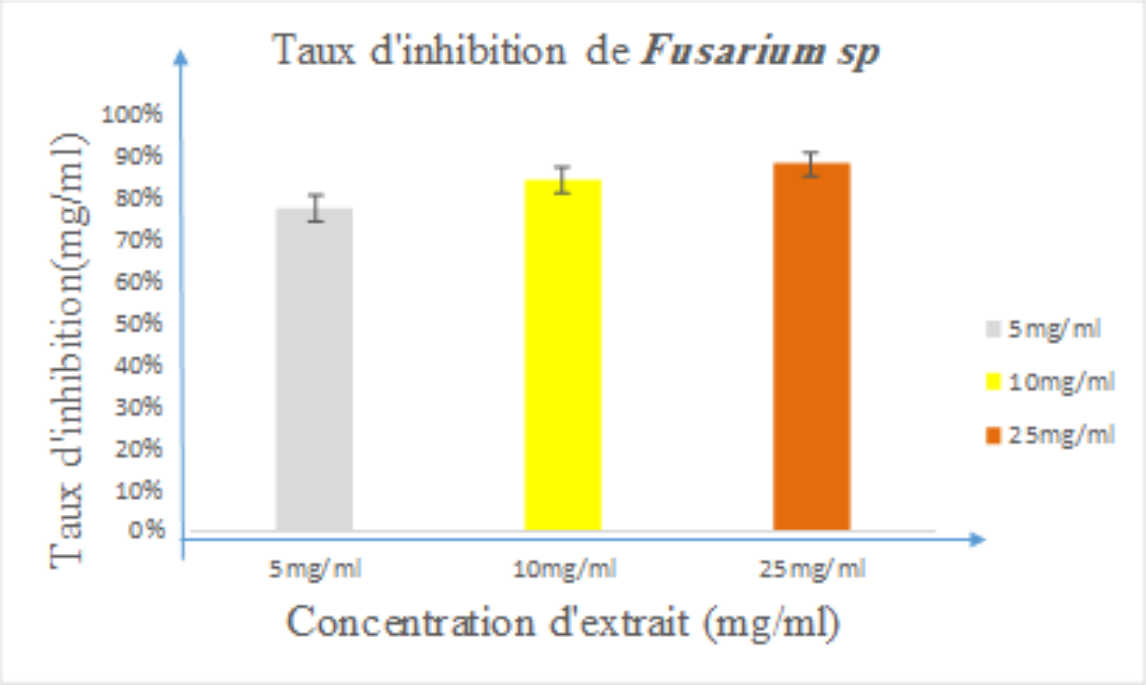


Figure18 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium sp* sous l'effet des différentes doses de l'extrait de *Salvia officinalis*.

Les résultats représentés dans la **figure 17** et **18** démontrent que la croissance mycélienne de ***Fusarium sp*** diminue avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de sauge, on a obtenu des taux d'inhibition de 82.38% ,85.72%,91.42.83% pour les différentes concentrations : 5mg/ml,10mg/ml,25mg/ml respectivement.

II.3.1.2. L'activité sur *Fusarium solani* de pdt

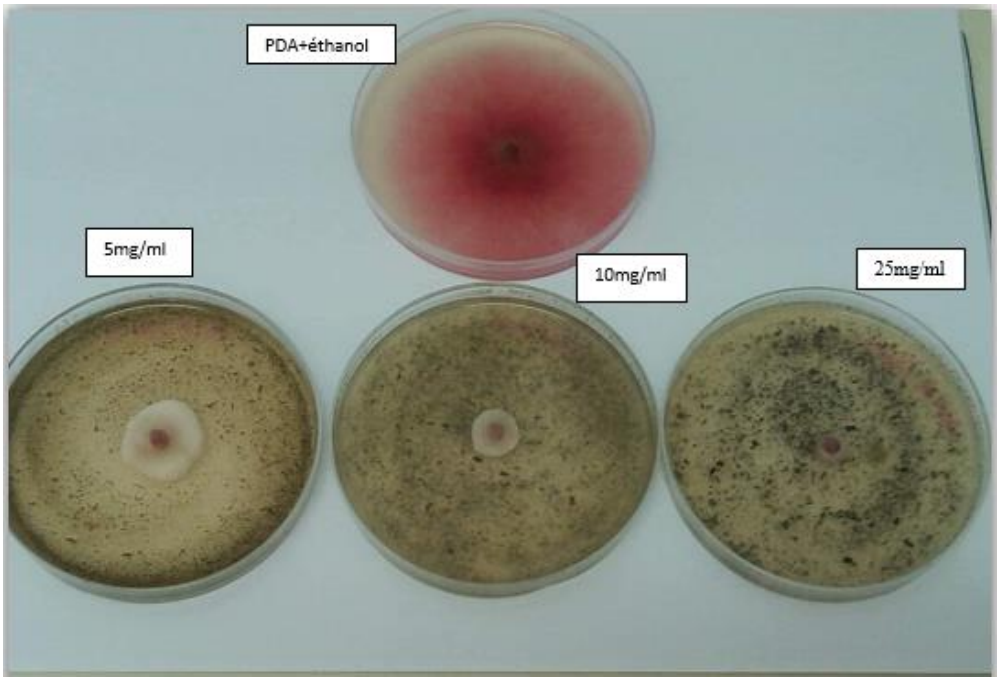


Figure 18 : Effet « in vitro » des différentes doses d'extrait sur *Fusarium solani*.

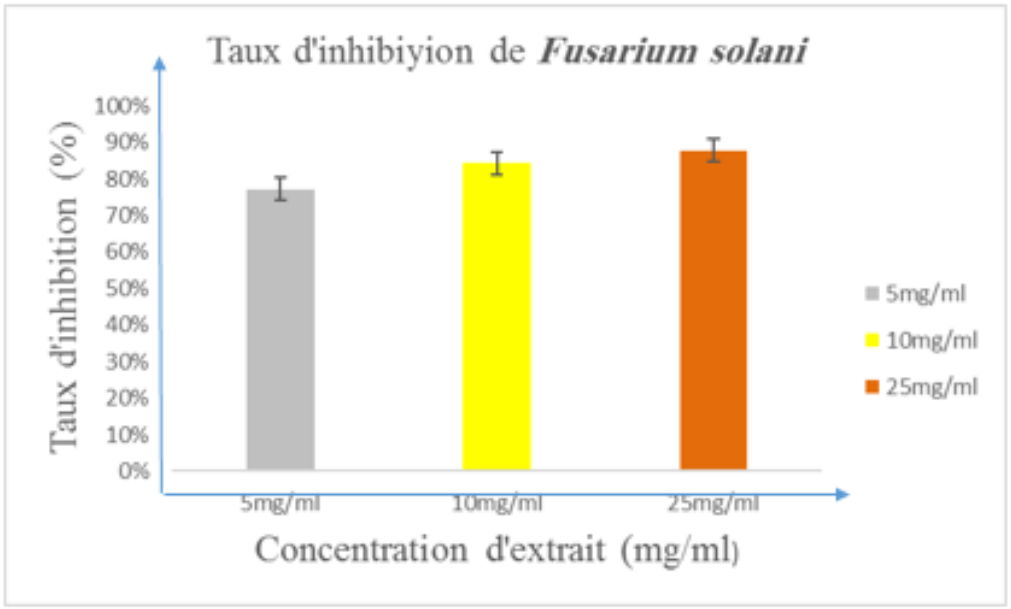


Figure19 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium solani* sous l'effet des différentes Dose de l'extrait de *Salvia officinalis.*

Les résultats de l'effet de l'extrait sur la croissance mycélienne de *Fusarium solani* de pomme de terre après 6 jours d'incubation sont représentés sur les **figures 18** et **19.** Ces derniers démontrent la capacité de l'extrait éthanolique de la sauge à inhiber La croissance du pathogène. En effet, l'extrait de *salvia officinalis* exerce une réduction importante de la croissance, ce qui est proportionnelle avec la concentration. On note également que les taux d'inhibition sont élevés et convergents 77.25%, 84.30%, 87.83%.

II.3.1.3. L'activité sur l'isolat de *Rhizoctonia Solani*



Figure 20 : Effet « in vitro » des différentes doses d'extrait sur *Fusarium solani*.

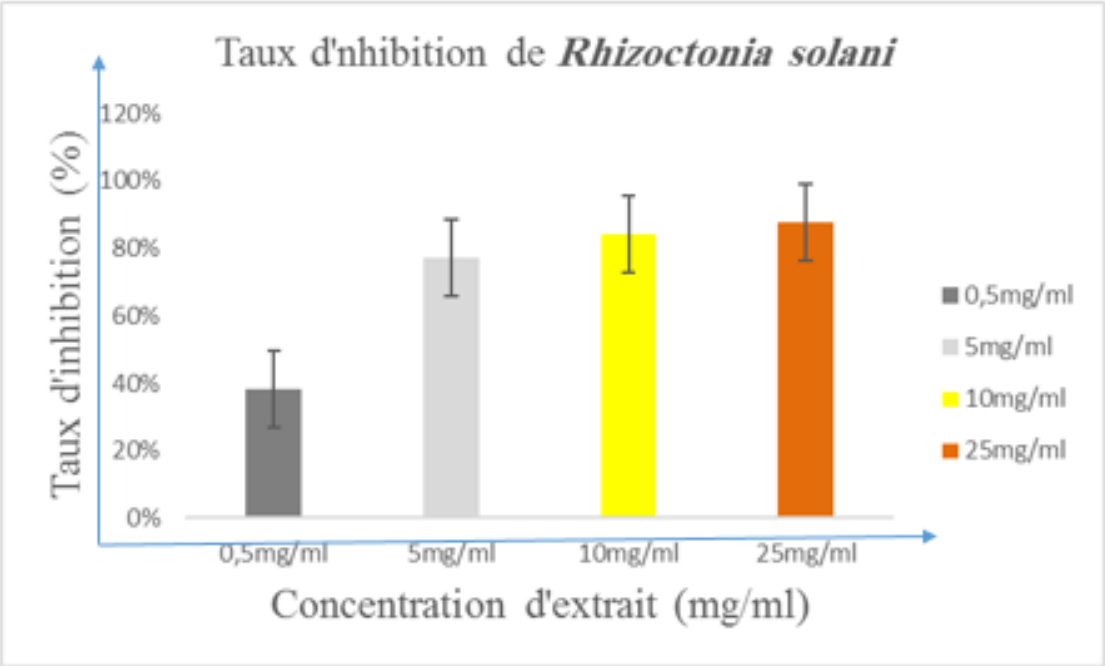


Figure 21 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani* sous l'effet des différentes Dose de l'extrait de *Salvia officinalis*.

Les résultats obtenus pour le test *in vitro* de l'activité de l'extrait étudiée sur la Croissance mycélienne de *Rhizoctonia Solani* ***(*Figure 20),** montrent que l'effet de l'extrait testé sur la croissance mycélienne du champignon, varie considérablement en fonction de la concentration d'extrait, il est clair que le développement mycélien du champignon ralentit, lorsque les concentrations de l'extrait augmentent, D'autre part on remarque que, comparativement au témoin cet extrait a démontré une réelle efficacité sur le développement mycélien.

La **figure 21**, illustre les taux d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis* vis-à-vis la souche de *Rhizoctonia solani*. Elle démontre clairement que l'extrait réussi à inhiber complètement la croissance mycélienne (92.94%) pour les trois concentrations, pour cela on a utilisé une 4eme concentration de 0.5mg/ml qui a donné un pourcentage d'inhibition de 38.42%.

II.3.2. Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle

II.3.2.1. L'activité antifongique sur l'isolat de *Fusarium sp* de blé :

Après 6 jours d'incubation le témoin de l'isolats de *Fusarium sp* de blé, montre une croissance mycélienne très importante par rapport aux autres isolats traités par H.E selon la technique de contact directe.

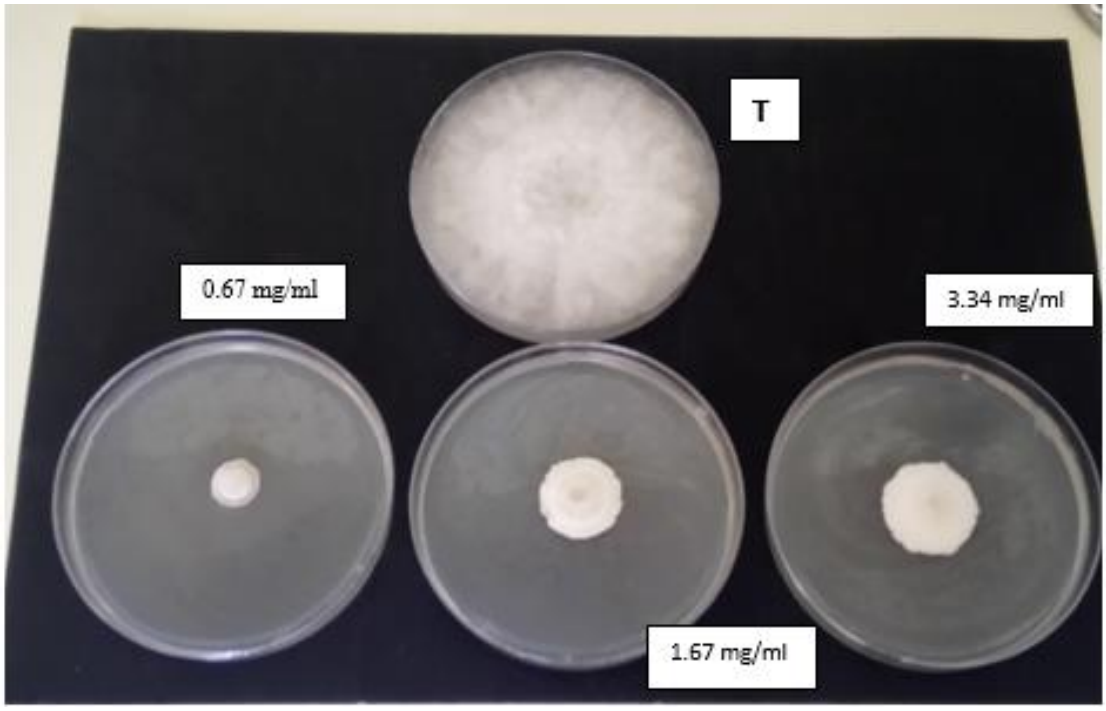


Figure22 : Effet « in vitro » des différentes doses de l'huile essentielle sur l'isolat de *Fusarium* sp. (Originale, 2019).

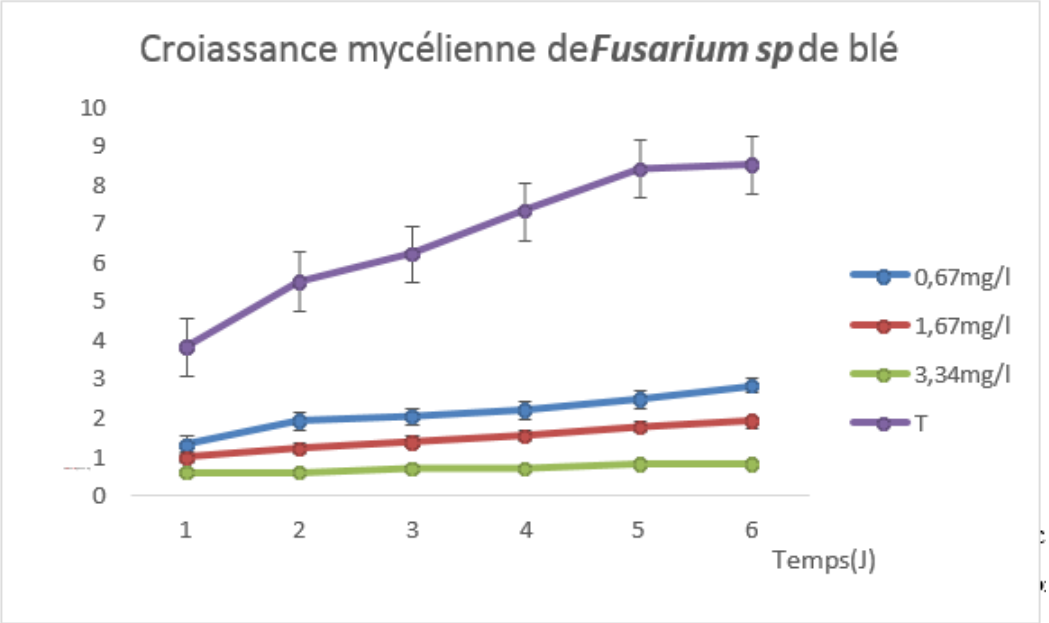


Figure 23 : Evaluation de croissance mycélienne de *Fusarium sp* on présence de l'huile essentielle de *salvia officinalis.*

Selon la **figure 23**, nous remarquons que le taux de la croissance mycélienne de *Fusarium sp* de blé est estimé à 8.5 cm au 6ème jour pour l'échantillon témoin. Après avoir ajouté une dose d'huile essentielle de 0.67mg/ml, la croissance mycélienne n'a pas dépassé 2.12 cm, nous constatons également que plus la dose augmente plus la croissance diminue, en effet elle est estimée à seulement 1.46cm et 0.7 cm respectivement avec les doses 1.67mg/l et 3.34mg/l. L'analyse des résultats a démontré l'effet significatif des doses et du temps sur la croissance mycélienne du champignon.

Les taux d'inhibition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sont consignés dans les Figure ci-dessous :

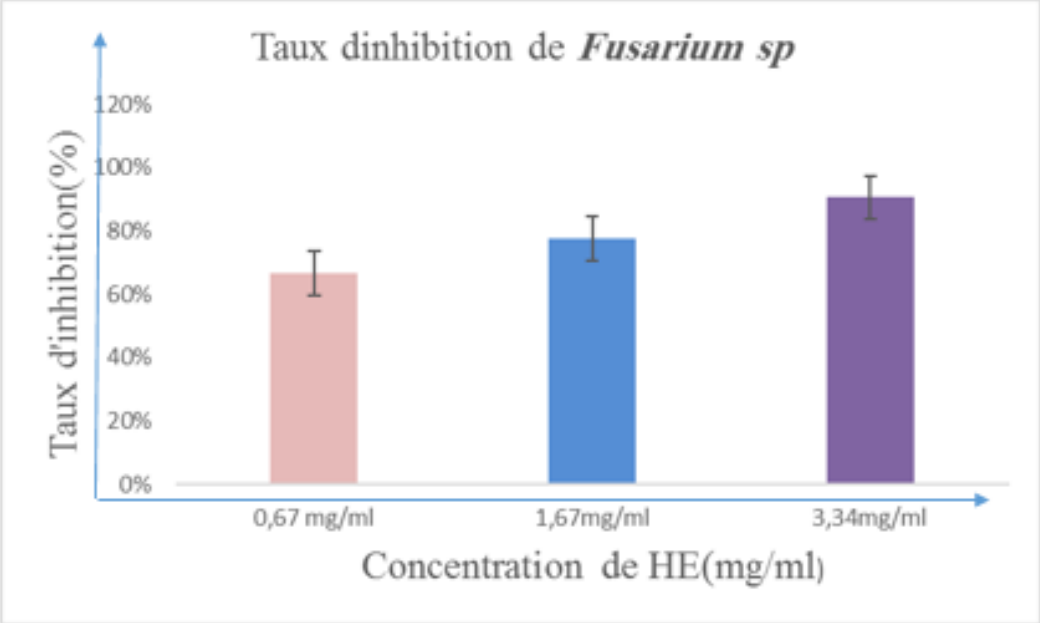


Figure 24 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium sp* sous l'effet des différentes Dose de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Les résultats des taux d'inhibition de l'huile essentielle de partie aérienne de *Salvia officinalis* vis-à-vis la souche fongique de *Fusarium sp* de blé sont illustrés dans La **figure 24**. Elle démontre clairement l'action inhibitrice de H.E sur la croissance de ce champignon avec un taux d'inhibitions dépassant les 60 % pour la plus faible concentration 0.67mg/ml, l'inhibition le plus élevée a été obtenue avec la concentration 3,34 mg/ml par un taux d'inhibition de 90.58%. On remarque aussi que la diminution du taux d'inhibition synchronise avec l'augmentation de la dose de l'huile essentielle.

II.3.2.2. L'activité antifongique sur l'isolat de *Fusarium solani* de pdt

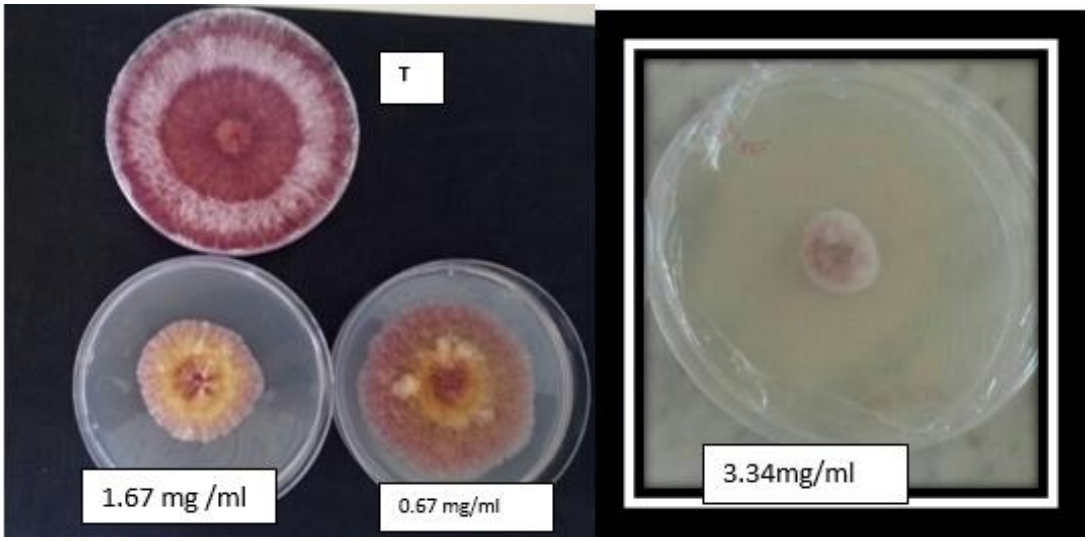


Figure 25 : Effet « in vitro » des différentes doses de l'huile essentielle sur l'isolat de *Fusarium solani*. (Originale, 2019).

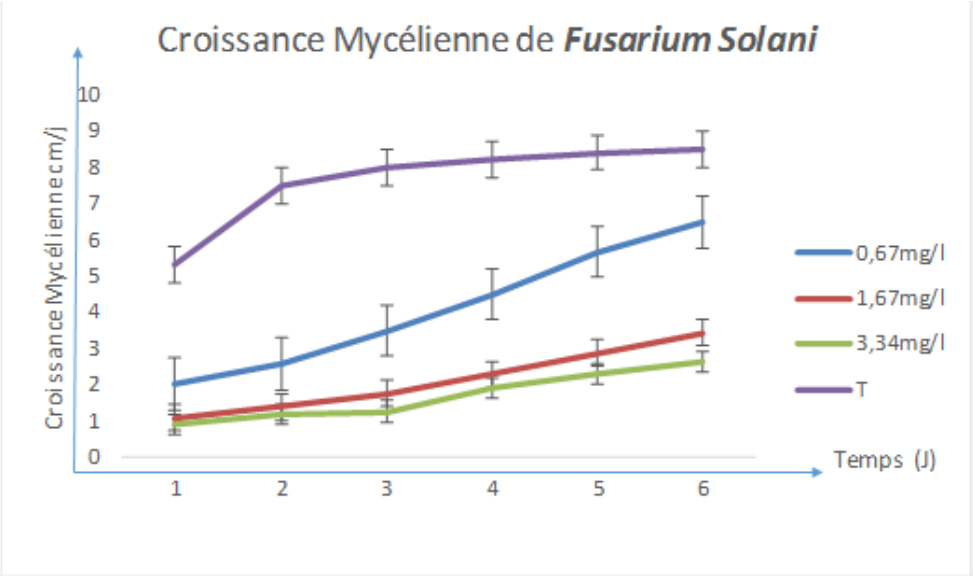


Figure 26 : Evaluation de croissance mycélienne de *Fusarium solani* on présence de l'huile essentielle de *salvia officinalis.*

La figure ci-dessus, représente l'effet des différentes doses de l'huile essentielle de sauge Sur la croissance mycélienne de *Fusarium solani*, on remarque que le témoin est significativement supérieur aux différents traitements, avec un diamètre de 8.5 cm au 6ème jour. Pour la concentration de 0.67mg/ml, nous remarquons que dès le troisième jour la croissance mycélienne augmente rapidement jusqu'à 6.5cm et s'approche de la courbe témoin. Pour les deux dernières concentrations 1.67mg/ml et 3.34mg/ml la croissance du champignon est assez moyenne vu qu'elle ne dépasse pas 3.43 cm et 2.30 cm respectivement.

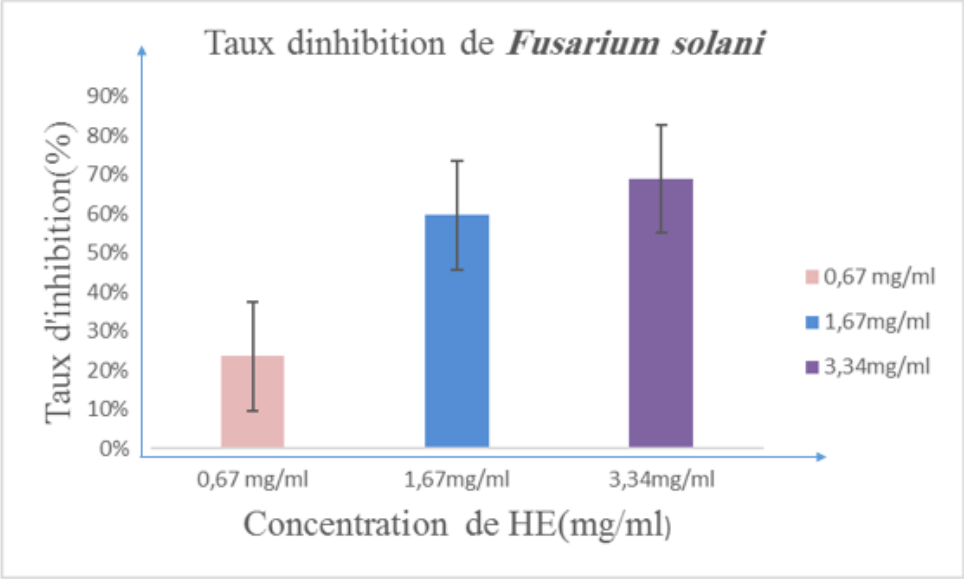


Figure 27 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium solani* sous l'effet des différentes Dose de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Les résultats des taux d'inhibitions de la croissance mycélienne de *Fusarium* solani, Sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sont présentés dans la figure 27. On remarque que le taux d'inhibition maximum soit 69.01% a été enregistré dans les boites contenant la concentration 3.34mg/ml, alors que la concentration 0.67mg/ml a engendré un taux beaucoup moins important23.52%.les taux

d'inhibition sont proportionnels à la concentration de HE, en effet, plus la concentration augmente plus l'effet d'inhibiteur augmente.

II.3.2.3. L'activité antifongique sur l'isolat *Rhizoctonia solani*



Figure 28 : Effet « in vitro » des différentes doses de l'huile essentielle sur l'isolat de *Rhizoctonia solani*. (Originale, 2019).

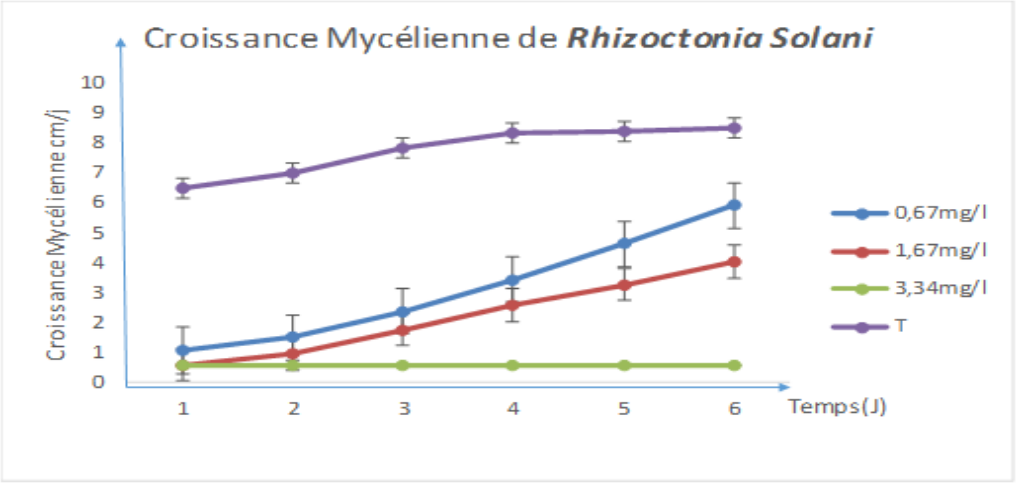


Figure 29 : Evaluation de croissance mycélienne de *Fusarium solani* on présence de l'huile essentielle de *salvia officinalis.*

Les résultats de la croissance mycélienne montrés dans la **figure 29**, en l'absence de l'huile essentielle on remarque un diamètre de croissance de 8.5 cm pour *Fusarium solani*. Pour les concentrations de 0.67mg/ml et 1.67mg/ml la croissance mycélienne commence après le deuxième jours d'incubation, cette croissance n'est pas totale car elle n'atteint que 5.4 cm et 4.03 cm. Concernant la concentration de 3.34mg/ml nous constatons une croissance quasiment stable mais très faible puisqu'elle ne dépasse pas 0.8 cm.

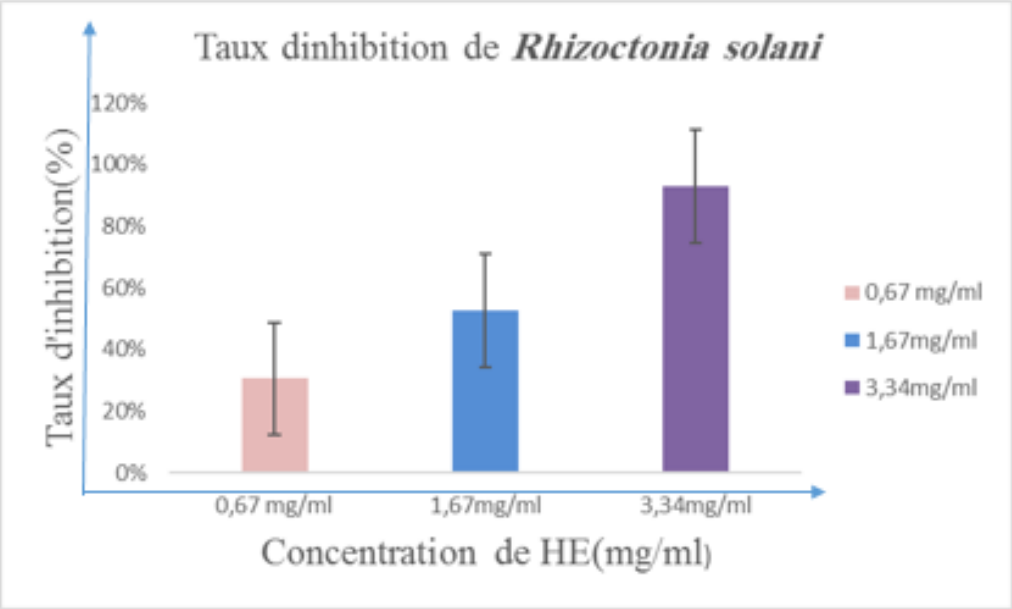


Figure 30 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani* sous l'effet des différentes doses de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Les taux d'inhibition de l'isolat de *Rhizoctonia solani* traité par des différentes concentrations de l'huile essentielle de *salvia officinalis* sont présentés dans la **figure 30**. On remarque que l'huile essentielle a démontré un effet inhibiteur important de la concentration 3.34 mg/ml sur la croissance mycélienne de champignon par un pourcentage égale à 92.94%, et un effet inhibiteur moyen pour les concentration 0.67mg/ml et 1.67mg/ml. Ces résultats confirment que plus la concentration augmente plus l'effet de l'inhibition augmente.

II.4. Discussion

L'étude de la croissance mycélienne des isolats fongiques testés (*Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia solani)* en présence de l'extrait éthanolique et l'huile essentielle de la partie aérienne de *Salvia officinalis*, montre une diminution de la croissance mycélienne synchronisée avec l'augmentation de la concentration des extraits avec une différence significative ($p<0.05$) entre les pourcentages engendrés par les trois doses utilisées aussi pour l'extrait que l'huile essentielle **figure 1(annexe 4)**

On remarque que sous l'effet de l'extrait plus la concentration augmente, l'inhibition est importante par rapports aux témoins. Ces résultats montrent clairement que les deux paramètres étudiés (la croissance mycélienne, taux d'inhibition) sont fortement influencés par l'ajout d'un extrait riche en substances actives dans le milieu de culture, en outre la croissance des trois isolats fongiques étudiés a était inhibée par les différents extraits testés avec plus de sensibilité chez la souche ***Fusarium sp*** qui a présenté un pourcentage d'inhibition moyen dépassant les 80% **figure 2(annexe 4)**

Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par**(BOULADJERAF.)** en 2017 qui a évalué l'effet antifongique de l'extrait méthanolique de la même plante *salvia officinalis* sur deux champignons phytopathogènes *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia solani.* D'autre travaux ont confirmés l'effet antifongique de *Salvia* comme celui fait par**(K FLITI ET MAMAD**) en 2018 par l'utilisation de l'extrait méthanolique sur deux espèce biologiques du *Fusarium sp,* agent de la pourriture sèche des agrumes.

Les résultats obtenus confirment également ceux présentés par **(GRAINGE et AHMED., 1988)**, qui ont montrés que les lamiacées possèdent une activité antifongique et antibactérienne grâce à la multitude de composés phénoliques qu'ils contiennent, d'après **(Cowan., 1999)**, la toxicité des composés phénoliques envers les champignons est basée sur l'inactivation des enzymes fongiques.

Donc d'une manière générale, le degré d'activité antifongique est proportionnel à la concentration de l'extrait. Les composés chimiques qui présente la plus grande efficacité et a plus large spectre sont les phénols **(DEANS ET DORMAN ., 2000).**

En effet, les phénols provoquent plusieurs dégâts sur la croissance des champignons tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries **(Arras et *al.*, 2001)** .

L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *salvia officinalis* par la méthode de contact direct (*in vitro*) vis à vis trois souches fongiques (*Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia solani*), montre que HE est efficace contre les trois agents phytopathogènes testés et que l'inhibition de la croissance enregistrée est proportionnelle à la dose utilisée. Une forte inhibition est enregistrée sur l'isolat de *Fusarium sp* et *Rhizoctonia solani* avec un pourcentage d'inhibitions de 90.58 % et 92.94% pour la concentration de 3.34mg/ml (50µl), et une inhibition moyenne pour les deux concentrations restantes.

Ce travail a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche similaires au notre comme celui de **(K FLITI ET MAMAD, 2018)**, qui trouve que cette huile s'est montrée très efficace à réduire la croissance mycélienne de l'isolat de *Fusarium sp* agent de la pourriture sèche des racines des agrumes, un autre travail publié en 2013 étudie la composition chimique et l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* à l'aide de la méthode de diffusion sur disques, les résultats trouvés ont démontré que cette huile est plus efficace à 10 µl à inhiber la croissance contre deux agents phytopathogènes *(B. cinerea* et *Fusarium. sambucinum*) et que l'inhibition de la croissance enregistrée est proportionnelle à la dose utilisée, ce qui prouve leur activité antifongique. **(RGUEZ et *al.*, 2013) .**

L'analyse statistique a montré une différence significative ($p<0.05$) entre l'effet antifongique de l'huile essentielle et celui de l'extrait éthanolique ; en effet l'huile essentielle donne un pourcentage d'inhibition global sur l'ensemble des souches testés plus important que celui de l'extrait éthanolique. **Figure 3 (annexe4).**

Les propriétés antifongiques des huiles essentielles sont étroitement liées à la nature de leurs constituants et des groupements ou fonctions chimiques qu'ils possèdent, l'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques :
Phénols >Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers>Hydrocarbures **(De Billerbeck ., 2007)**. Les propriétés biologiques des huiles essentielles sont associées à la prédominance des fonctions chimiques. Etant donné la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, et malgré de possibles synergies, certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile (**(Chaumont et Leger., 1989**) ; **De Billerbeck, 2007**).

Les résultats obtenus par **(Filipowiez et al., 2003)** qui ont montrés que Le 1,8-cinéole qui est un monoterpène oxygéné fortement concentré dans l'huile essentielle de sauge (5,79%) qui actif contre les souches de dermatophytes, de candidoses et d'aspergillose **(Dulger et Hacioglu .),** des chercheures relié la sensibilité des différentes espèces étudiées à la fraction des terpènes oxygénés. Certains autres auteurs, tel que **(Bouaziz et *al* ., 2009)** et (**Juven et *al*., 1994**).

L'huile essentielle de *sauge* parmi les plants les plus étudiées pour leurs propriétés antifongiques et anti bactérienne qui donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques **(Voukou et *al*., 1988)**

Les composés chimiques qui présente la plus grande efficacité et à plus large spectre sont les phénols (**(DORMAN et DEANS., 2000)**.

Selon (**Arras et *al*.,2001),** les phénols provoquent contre les champignons plusieurs dégâts tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries. **(BOULADJERAF., 2017)**.

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon, très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien les êtres humains.

Il est actuellement prouvé qu'environ 20% des espèces végétales poussant dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (agriculture, pharmacie, et cosmétologie etc.).

Le présent travail a été consacré à la détermination de rendement et de propriétés Antifongique de l'huile essentielle et de l'extraites éthanolique du plant *Salvia officinalis* Sur trois souche fongique (*Fusarium sp, Fusarium solani, Rhizoctonia solani*.).

L'extraction à ultrason de l'extrait éthanolique est de 11.89 %, est pour l'huile essentielle on a obtenu un rendement de 0.27% par hydrodistillation.

Les résultats obtenus à partir du test « in vitro » de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Salvia officinalis* sur la croissance mycélienne, montre une corrélation entre les doses de l'extrait et les taux d'inhibition, est nous enregistrons la sensibilité des trois souches fongique par des pourcentage d'inhibition dépassant les 60%.

Les résultats de test (in vitro) par la méthode de contact on direct de l'huile essentielle (*Salvia officinalis*) a montré une activité antifongique importante sur l'inhibition des trois souches, proportionnelle à la concentration. En effet, plus la dose de l'huile essentielle est élevée plus les taux d'inhibitions sont importants.

Ces résultats sont très encourageants quant à la possibilité d'utiliser ces composés comme moyen de lutte biologique contre ces champignons phytopathogènes, pour éviter le traitement par les pesticides chimiques dont l'utilisation présente des effets néfastes pour l'homme et l'environnement.

Né au moi ce travaille nécessite d'être complétée par d'autre travaux vivant on peut citer La détermination de l'effet fongistatique et fongicide et la concentration inhibitrice minimale (CMI). L'évaluation de l'activité antifongique (in vitro) du plant *salvia officinalis*, et testé l'activité antifongique de plant sur d'autres souches phytopathogènes. Testée d'autre activité de notre plante *salvia officinalis.*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Adams, T. Thomas, H. et Jenny K. Wieser, Jae-Hyuk Yu.,19** sporulation in *Aspergillus nidulans Microbiol.* Mol. Biol. Rev. 62, 35-54.
2. **Adjou, E.e., 2012.** Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxinogènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. Journal of Applied Biosciences 70 : 5555– 5566.
3. **Agrios, G., 2005.** Plant Pathology, 5th Edition, Elsevier Acad. Press, pp: 163 164.
4. **Ait ouada, B.Z., 2008.** Contribution a l'étude de trois ammendements organiq (fumier.,. Principaux ravageurs et maladies de la pomme de terre) : Agents responsables, dégâts, conditions de développement et méthodes de lutte. in Journée d'étude sur la filière de pomme de terresituation., 18 juin 2008. INA EL- HARRACH, Alger.
5. **Amirouche, F. et Belkolai, R., 2013.** Effet in vitro de l'association des huiles essentielles de *Salvia officinalis, Melaleuca alternifolia* et deux composés majoritaires sur les bactéries. Universite A. Mira de Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et la Vie:p:42.
6. **Arras ., 2001.** Improving the safety of fresh fruit and vegetables (livre*).*
7. **Azouaoui- Ait Kettout et. Bucenna, B. Amgoud, M. Rahmania,F., 2007.** Essai de lutte in vitro par le glyphosate contre des champignons telluriques phytopathogenes *Fusarium* et *Pythium* . Sciences & Technologie . 26 :75-80.
8. **Bachar, M., 2004.** Evaluations de la biomasse fongique du sol dans quelquesstations de la région de Ouargla. Thèse magistère. Agro. Université de Ouargla. P19.
9. **Banville, G., 1989.** Yield losses and dammage to potato olants caused by *Rhizoctonia solani KUHN* . American potatos journal 66:821-834
10. **BASF., 2015.** Parasite : *Fusarioses.* [En ligne] *(*http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/services_et_outils/outils/lexique_des_par asites/pest_information_detailpage_43657.html).

11. **Beckman, C., 1987.** The Nature of Wilt Diseases of Plants. . St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press).
12. **Beckman, C. et Roberts,E., 1995.** On the nature genetic basis for resistance tolerance of fungalwilt diseases. Advances in Botanical Research, 21: 35-77.
13. **Benjilali, B., 2005.** Le matériel végétal et l‟extraction. In : Huiles essentielles, de la plante à l‟extraction. Manuel pratique. Edition université de Québec à Chicoutimi, p 61-78.
14. **Benamor, B., 2008.** Maitrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétaledans les Opérations d'Extraction de Principes Actifs; Texturation par DétenteInstantanée Contrôlée DIC. Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle.
15. **Bouaziz, M. et Thabet,Y. Syadi, S . Dhouib,A., 2009.** Disinfectant activities of essential oils from *Salvia officinalis L* cultivated in Tunisia. Food and chemical Toxicology. 2009; 47: 2755-2760.
16. **Bouladjeraf, N., 2017.** Etude in vitro et in vivo l'efficacité de l'extrait phénolique de *Salvia officinalis* sur *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia solani*. Université de Mostaganem.Memoire De Fin D'etude De Master Academique.
17. **Burgess, LW.et Toussoun, TA. Nelson, PE. Fisher, NL., 1994 .** Laboratory manual for *Fusarium* research, 3nd ed.University of Sydney.Sydney, Australia.
18. **BUSSER, C., 1997.** Se soigner par les plantes du XIVème au XXème siècle,. Université de paris et Strasbourg, 210p.
19. **Camara B, D. E., 2010.** Lutte biologique contre *Deightoniella torulosa* (Syd.*)* Ellis, par l'application des huiles. Springer-Verlag France : 240.
20. **Catherin, C. Celimene, Jessie, A. Micales,Leslie Ferge. Raymond A. et Young., 1999.** Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. . Holzforschung. 1999; 53: 491-497.
21. **Chalchat , A . Michet B. Pasquier ., 1998.** Study of clones of *Salvi aofficinalis L*.Contents and chemical composition of essential oil.FlavourFrag J 13:68-70.
22. **Chaumont, J. et Leger, D., 1989.** Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure - activité. . Medecinal plant and Phytoterapy. 23(2):124-126.

23. **Clémence , R.et Dongmo, M., 2009.** Evaluation de l'activité Antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'acalyphamanniana (euphorbiacées) et tristemma hirtum (mélastomatacées). : Université de Dschang - Master en biochimie clinique et pharmacologie.

24. **Cowan, M., 1999.** *Plant products as antimicrobial agents.* . - Clin. Microbiol. Rev., 12(4),564-582.

25. **Davidson,F.et Sleeman,B-D et , Rayner , A.D et awford ,E.C and .K Ritz ., 1996.** Context dependent macroscopic patterns in growing and interacting mycelial networks.Proc. R. Soc. LondonSer. B 263:873–80.

26. **De Billerbeck, V., 2007.** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. .Phytothérapie 5:249-253.

27. **Dilip K. Arora., 2003**. *Fungal Biotechnology in Agricultural,*. CRC Press, 2003,.

28. **Djerroumi, A. E., 2004.** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.

29. **Dorman, S . et DEANS , H., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. .J. Appl. Microbiol., (88), P: 308-316.

30. **Doumbouya,M. et ABO Kouabenan , Lepengue A. Nicaise, Camara Brahima, Kanko ., 2012.** Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huile essentielle sur des champignons telluriques des cultures maraichères en Cote d'Ivoire.J.Appl.Biosc. P 3523-3530.

31. **Dragan T., Veličković1 Ivana T. Karabegović, Saša S. Stojičević, Miodrag L. Lazić , Valentina D. Marinković , Vlada B. Veljković ., 2011.** comparaison of antioxydant and antimicrobial activitise of extractes obtained frome *salvia glutnosai* and *salvia officinalis*.

32. **Dulger, B. et Hacioglu,N., 2008**. Antifungal activity of Endemic *Salvia tigrina* in Turkey.Tropical Journal of Pharmaceutical Research., 7: 1051-1054.

33. **Durrieu ,G., 2008.** (http://www.associationmycologiquetoulouse.ups-tlse.fr/spip.php?article23).

34. **ElBakali, A., 2006.** Black scurf of potato.Mycologist20 130-132.

35. **Encarta., 2005.** Microsoft corporation 1993-2004.

36. **Fellah , S.Rmdhane, M et Abderraba, M., 2006.** Extraction et etude des huiles essentielles de la *Salvia Officinalis. La* cellule dans deux régions différentes de la Tunisie.

37. **Fellah, S., 2001**. Valorisation de l'huile essentielle de la *salvia officinalis* de Tunis, extraction etétude physico-chimique et théorique. DEA en chimie organique Fac des Sciences de Tunise .

38. **Fliti, k., et Mamad, S., 2018.** Etude de l'effet de l'extrait méthanoïque et de l'huile essentielle *de Salvia officinalis* sur les deux séquences biologiques du *Fusarium sp*., agent de la pourriture sèche des agrumes.Université de Mostaganem.

39. **Filipowicz N1, Kamiński M, Kurlenda J, Asztemborska M, Ochocka JR ., 2003.** Antibacterial and antifungal activity of *Juniper berry* oil and its selected components. Phytotherapy research., 17:227-23.

40. **Francisco Javier Fernández Acero, * María Carbú, Mohamed Rabie El-Akhal, Carlos Garrido, Victoria E. González-Rodríguez, and Jesús M. Cantoral ., 2014.** *« Proteomic Advances in PhytopathogenicFungi », Current Proteomics, vol. 4, no2, 2014, p. 79-88 (ISSN ISSN : 1570-1646, DOI.*

41. **Frank, J. e., 1980.** Comparison of tuberborne inculums in the *Rhizoctonia solani* diseas of potatos phytopathologie 70-51-53.

42. **Gilly, G., 2005.** Les plantes aromatiques et huiles essentielles a grasseLes plantes aromatiques et huiles essentielles a grasseLes plantes aromatiques et huiles essentielles a grasse :Botanique culture,chimie production et marché, Edition l'Harmattan, 414p.

43. **Gosselin, B., 2009.** *la rhizoctonia*.Réseau d'avertissement phytosanitaire,bulletin dinformation n4.pmme de terre,4pp

44. **Goutier, J., 2009.** L'herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales. La Maison Rustique Flammarion,.
45. **Grainge, M. et Ahmed, S., 1988.** *Handbook of plants with pestcontrol.*
46. **Hans, D. K., 2007.** *1000 Plantes aromatiques et médicinales.*Terres Edition.
47. **Haware, M. P. Nene, Y. L ., 1978.** .Eradication of *F. oxysporumf. sp.ciceris* transmitted in *chickpea* seed. Phytopathology, 68:1364-1367.
48. **Hibar , K. Medja,D.Mehdjoub,E., 2007.** Effect of some chemical and biological fungicides on mycelial growth and disease severity of *Fusarium oxysporum F sp racidis lycopersici*.Tropicultura 25 (3) : 146 – 52.
49. **Hippolyte. I, A. P., 1993.** Variation de la teneur de certains composés de l'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis L.)* en fonction de divers états physiologiques.huile essentielle, biochimie, *salvia officinalis*, micropropagation, vitroplant, terpène. société botanique de France. Acta Bot. Gall. Bull. Soc. Bot. Fr (1904).Tome 140-Fascicule 2, p 225-225.
50. **Hofman, T. J., 1988.** Infection processe of *Rhizoctonia solani* on *Solanum tuberosumand* effects of granular nematicide.Neth.J.P.Path.94:243-252.
51. **Jeger,M. Geoffrey Hide ., 1996.** Pathology and control of soil-bome fugal pathogens of potatos.potato Research 39:437-4698.
52. **Jijakly, M., 2003.** La lutte biologique en phytopathologie, In : Phytopathology. Lepoivre P . Eds). De Boeck, Bruxelles.
53. **Jim Deacon. , 2014.** *« Chapter 14 : Fungi as plant pathogens»*. Blackwell Publishing, 2005 (consulté le 4 octobre2014).
54. **Juven BJ, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H., 1994.** Factors that can interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. Journal of Applied Bacteriology. 1994; 76: 626-631.
55. **Kanyonga, M.P , Faouzi ,M.A et Meddah, B et Mpona1, E. M. and Cherrah ., 2011**. Assessment of methanolicextract of Marrubiumvulgare for antiinflammatory, analgesic and anti-microbiologicactivities. Journal of Chemical and PharmaceuticalResearch, 3,199-204.
56. **Khirddine, H., 2013.** Comprimes de poudre de dattes comme support universel desprincipes actifs de quelques plantes médicinales d"Algérie.
57. **Klein,K., et Correll, K. a., 2001.** Vegetative compatibility group diversity.In:*Summerell BA,Leslie JF, Beckhouse D, Bryden WL, Burgess LW (eds)Fusarium.* . Paul E. Nelson MemorialSymposium. APS Press, St Paul, MN, pp 83–96.

58. **Laghchimi ,A et . Renucci,F. Znini,M., 2014.** Chemical composition and effect of liquid and vapor phase of *Lavandula multifida essential.J*. Mater. Environ. Sci. 5 (6).

59. **Laib, I., 2012.** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle desfleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. « Nature & Technologie », N° 07, 44-52.Revue.

60. **Laib, I., 2013.** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle desfleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. Revu « Nature & Technologie », N° 07, 44-52.

61. **Lauzon , M.Yves Dion, Sylvie Rioux ., 2007.** Fusariose del'épi chez le blé et l'orge. Québec (Canada). CEROM, Bulletin Technique, Phytopathologie N°2.01,..

62. **Lepoivre, P., 2003.** Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. les presses agronomiques de Gembloux.De Boek ed 1, Bruxelles, 427 p.

63. **Leslie, J. B., 2006.** The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing.

64. **Lopez-Malo, A. A., 2006.** *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. .International Journal of Microbiology. 2006; 99: 119-128.

65. **Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K.,1996.** Food Antioxidants. TechnologicalToxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.

66. **MADI, A., 2010.** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantesmédicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, . mémoirede magister, à l'Université Mentouri Constantine, 2010,116p.

67. **Michel, T., 2011.** méthodologies d‟extraction, de fractionnement et d‟identification. Application aux mol Thèse de doctorat en chimie Analytique Phytochimie.écules bioactives de L'argousier(Hippophaerhamnoides) . Thèse de doctorat en chimie Analytique Phytochimie. Université d‟Orléans.288p.

68. **Nedjai I, e. N., 2017.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire de. Département de microbiologie, Université A. MIRA – Bejaia, 12p et 34 p.

69. **Nelson,P.Tousson,T ,A et Cook,P,J,K., 1981.** *Fusarium species.* An illustrated Taxonomy.Penn.Stat.Uni.Press.,457p.

70. **Nicklin J., Graene Couk K., Paget ,P. et Killington R., 2000. Microbiologie, 362 p.**

71. **Pageau D, F. P., 2009.** Fusariose : réduire les risques aux champs!présentationlors de la journée d'information sur les mycotoxines. P7.

72. **Penchev, P., 2010.** Etude des procédés d‟extraction et de purification de produitsbioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautespressions. Thèse de doctorat. . Université de toulouse. 1-239 p.

73. **Prapagdee B1, Kuekulvong C, Mongkolsuk S ., 2008.** Antifungal potential ofextracellular metabolite produces by *Streptomyces hygroscopicus* against *phytopathogenic fungi*. . Int. J. Biol. Sci. 4 : 330-337.

74. **Quezel, P., 1963.** Nouvelle Flore d'Algérie et de régions Désertiques Méridionales. Tomes I et II. CNRS.

75. **Dean R1, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD ., 2012.** *‹‹The Top 10 fungal pathogens ine Top 10 fungal pathogens inmolecular plant pathology ».* Molecular Plant Pathology,vol. 13, no4 mai 2012.

76. **Rguez ,S .et Mejda ,D-R ., 2013.** Composition Chimique, Activité Antifongique et Activité Insecticide de l'Huile Essentielle de *Salvia officinalis*.

77. **Richard, H., 1998.** Biochimie de l'aliment, acides aminés et oligopeptides ENSIA.

78. **Rozier, F., 1809.** Nouveau cours complet d'agriculture théorique et pratique …, Vlume11.

79. **Sreenivasan Sasidharan, 1. Selvarasoo Logeswaran, and Lachimanan Yoga ., 2012.** Wound Healing Activity of *Elaeis guineensis* Leaf Extract Ointment.Int J Mol Sci 13 336 - 347.

80. **Semal et al, F. J., 1993.** Traite de pathologie végétale .Presse agronomique de Gembloux Belgique. pp178,.

81. **Sneh, B., 1991.** Identification of *Rhizoctonia species.* sain paul 133pp: American phytopathological society.

82. **Sutour , S., 2011.** de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits dementhe de Corse et de Kumquats. Thèse de Doctorat, spécialité chimie organique et analytique. Université De Corse Pascal Paoli Faculté Des Sciences Et Techniques : 222p

83. **Toyoda, H. Hashimoto, H. Utsumi, R. Kobayashi, H ., 1988.** Detoxification offusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of Pseudomonassolanacearumand its applicationto biological control ofFusariumwilt of tomato. Phytopathology,78:1307.

84. **Tredway, L. e., 2001.** *Rhizoctonia diseases* of turfagrass the plant health instractor.DOI 10.1094/ph -i-2001-1109-01.

85. **Ultee,A . et Kets , E. P. W. Smid1. J., 1999.** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacilluscereus*. Applied and Environemental Microbiology. 1999; 65: 4606-4610.

86. **Veličković Ivana, T. Karabegović, Saša S. Stojičević, Miodrag L. Lazić, Valentina D. Marinković, Vlada B. Veljković ., 2011. .** Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of extracts.

87. **VERBOIS, S., 2003.** Plantes et herbes aromatique saveurs et vertus, Fernande Lanore , 234p.

88. **Vokou,D. et Kokkini .Bessiire,JM ., 1988.** Origanum onites (*Lamiaceae*) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . Economy botanic. 42:407-412.

89. **Jay B. Walker, Kenneth J. Sytsma, Jens Treutlein and Michael Wink ., 2004.** *Salvia(lamiaceae)* is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecologicalspecializations of *Salvia* and *tribe Mentheae.*American Journal of Botany. 91(7):1115-1125.

90. **Wang , L .et Curtis L, W., 2006.** Recent advances in extraction of nutraceuticals fromplants. Trends in Food Science and Technology, 17:300-312.

91. **Werner, R.-M., 2008).** 5-8Etude variètale de la pomme de terre et liste suisse.la pomme de terre,journée information Agriculture du 7 féverie 2008.Agroscope changnins-wadenswilet A1groscope Reckenholz-TaniKon.

92. **Wharton P., 2007.** *Rhizoctonia stemcanker* and *black scurf* ofpotato. Bulletine. E2994,Mitchigan state university 6 pp.

93. **Wiegand I1, Hilpert K, Hancock RE., (2008)**. Agar and broth dilution methods todetermine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nature protocols, 3(2), 163-175.

94. **Zhang N1, O'Donnell K, Sutton DA, Nalim FA, Summerbell RC, Padhye AA, Geiser DM ., 2006.** Members of the *Fusarium solani* Species Complex That Cause Infections in Both Humans andPlants Are Common in the Environment. . Journal of Clinical Microbiology. 6 juin2006;44(6):2186-2190.

95. **Zyska, B., 1997.** Fungi isolated from library materials : à review of the literrature Int Biodeterand Biodegrad 40: 43-51.

Annexe 1 :

Tableau : Principales plantes aromatiques consommées en Algérie **(Ministère de l'agriculture, 2015)**

Espèces	Noms scientifiques	Parties utilisées	Importance
Fenugrec	*Trigonnella foenum groecum. L*	Graines	XXX
Verveine	*Verbena citriodora HB et K*	Feuilles	XXX
Queue de cerise	*Prunus cerasus . L*	Queues	XXX
Globulaire	*Globularia alypum. L*	Sommités fleuries	XXX
Menthe verte	*Mentha veridis . L*	Feuilles	XXX
Origan	*Majorana hortentis Moeneli*	Sommités fleuries	XXX
Nigelle	*Nigella sativa . L*	Graines	XXX
Cumin	*Cuminum Cyminum L.*	Graines	XXX
Réglisse	*Glycyrrhiza globra. L*	Racines	XX
Romarin	*Rosmarinus officinalis . L*	Sommités fleuries	XX
Tyum	*Thymus vulgaris*	Sommités fleuries	XX
Bigaradier	*Citrus aurantium*	Feuilles et fleurs	XX
Sauge	***Salvia officinalis L***	**Sommités fleuries**	**XX**
Lavande	*Lavandula officinalis L*	fleurs	XX
Noyer	*Juglans regia L*	Feuilles et écorce	XX
Myrte	*Myrtus communis . L*	Feuilles et fruits	XX
Alaterne	*Rhammus alaternus. L*	Feuilles	XX
Menthe pouliot	*Menta pulegium. L*	Sommités fleuries	XX
Tym serpolet	*Tyymus serpillum . L*	Sommités fleuries	XX
Aubépine	*Carataegus monogyna Jacq*	Fleurs	XX
Camomille	*Matricaria camomilla. L*	Fleurs	XX
Anis vet	*Pimpinella anisum. L*	Graines	XX
Ortie	*Urtica urens L*	Sommités fleuries	X
Frêne	*Faxinus exelsior L*	Feuilles	X

ANNEXE 2: le materiel utilisé



Pipette numérique



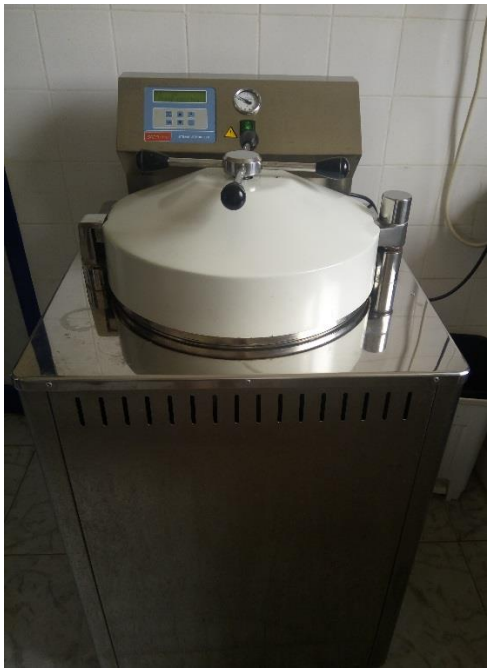
Un bec bunsen.



Ultr-torax (l'appareille de l'extraction par ultrason)



Etuve



Autoclave



La hotte

Annexe 3 : les informations sur la zone de collecte de *salvia officinalis*

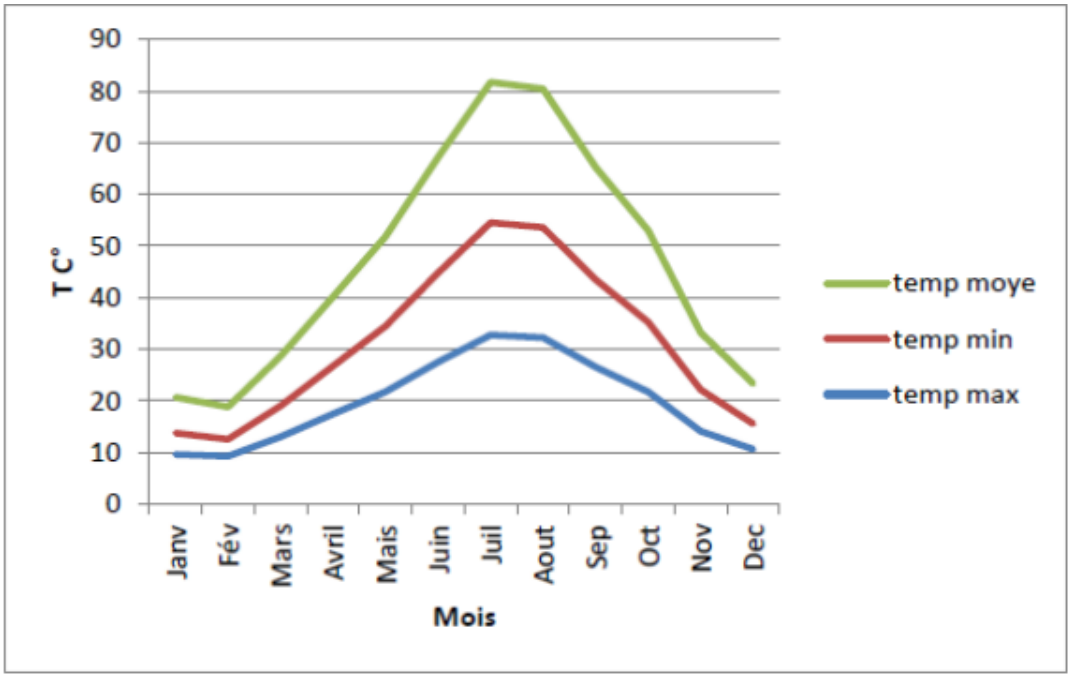


Figure 1 : Courbe représente la répartition mensuelle des valeurs de température (Max, min, Moy) durant la période d'étude (2006-2015).

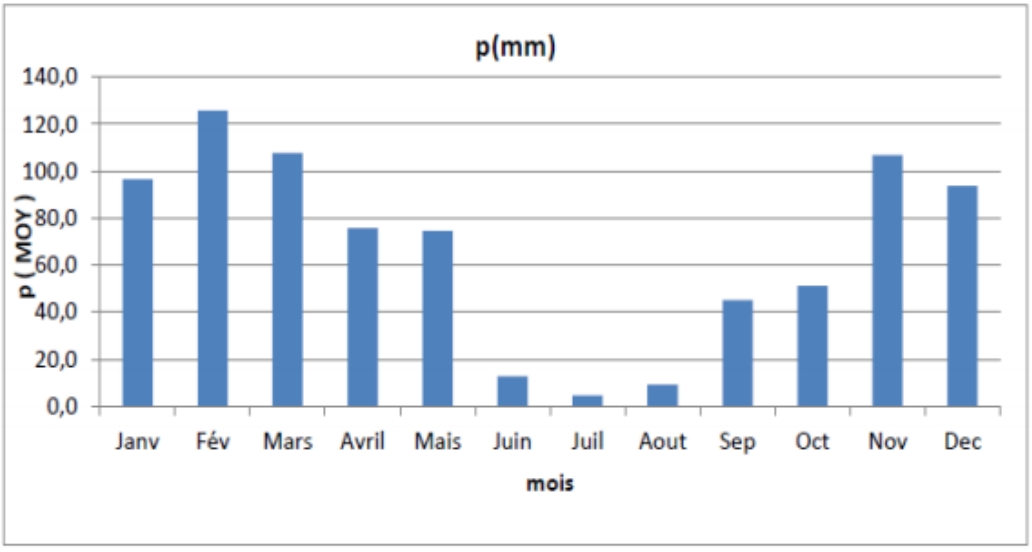


Figure 2 : Histogramme de précipitation moyenne de région de Médéa mensuelle durant la période D'étude (2006-2016).

Annexe 4 : Analyse de variance

Analysis of Variance

Source	Type III SS	df	Mean Squares	F-ratio	p-value
VAR_1$	2 172,032	2	1 086,016	10,940	0,000
VAR_2$	8 409,274	1	8 409,274	84,709	0,000
VAR_3$	5 734,582	2	2 867,291	28,883	0,000
Error	3 573,819	36	99,273		

Tableau : analyse de variance des facteurs

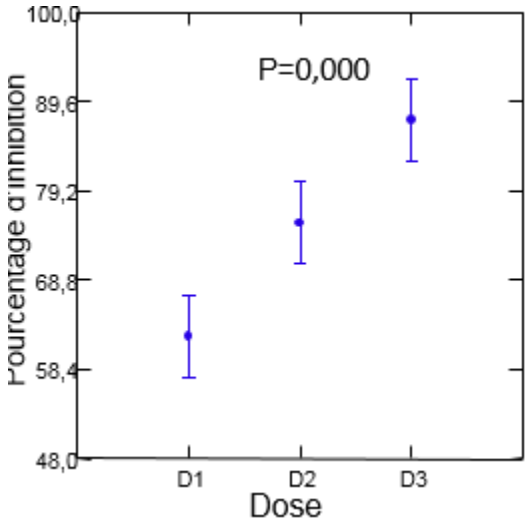


Figure 1 : Comparaison entre les pourcentages d'inhibition des différentes doses

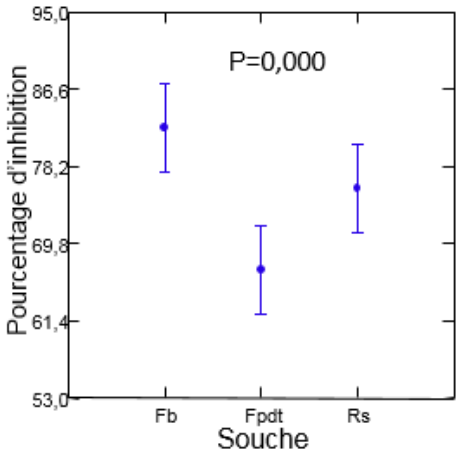


Figure32 : Comparaison entre les pourcentages d'inhibition chez les trois souches étudiées

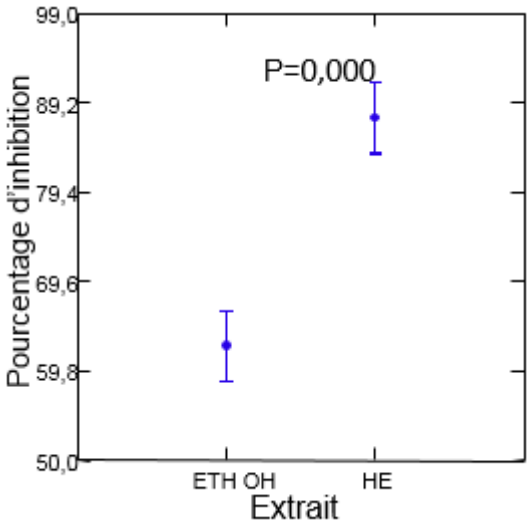


Figure 3 : Comparaison entre les pourcentages d'inhibition des deux extraits testés

Annexe 5 : Milieu de culture utilisée

Milieu PDA :

La composition du milieu :

-200g de pomme de terre.

-20g de Glucose.

-20g de Gélose.

-1000 d'eau distillée