

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoune - Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master académique

Domaine : "Science de la nature et de la vie"

Filière : "Sciences biologiques"

Spécialité : "Microbiologie appliquée"

Thème

**Analyse du pouvoir inhibiteur des extraits aqueux des fruits de
quelques populations de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus* L. Desf.)
vis-à-vis des champignons phyto-pathogènes**

Présenté et soutenu publiquement par :

BRAHIM Amina

BRAHIM Djahida

Devant le jury :

Président:	Mr BOUFARES K.	M.A.A.	Faculté SNV
Promotrice:	M ^{me} BAROUAGUI S.	M.A.A.	Faculté SNV
Co-Promotrice:	M ^{me} DAHLIA F.	M.A.A.	Faculté SNV
Examineur:	Mr YEZLI W.	M.A.A.	Faculté SNV

Année universitaire : 2017/2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال تعالى: "وَأَصْحَابُ الْيَمِينِ مَا أَصْحَابُ الْيَمِينِ. فِي سِدْرٍ مَّخْضُودٍ. وَطَلْحٍ مَّنْضُودٍ. وَظِلِّ مَمْدُودٍ" (الواقعة: 27-30)

وقال تعالى: "لَقَدْ كَانَ لِسَبَأٍ فِي مَسْكِنِهِمْ آيَةٌ جَنَّتَانِ عَن يَمِينٍ وَشِمَالٍ كُلُوا مِن رِّزْقِ رَبِّكُمْ وَاشْكُرُوا لَهُ بَلْدَةٌ طَيِّبَةٌ وَرَبٌّ غَفُورٌ. فَأَعْرَضُوا فَأَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرِمِ وَبَدَّلْنَاهُم بِجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتِي أُكُلٍ خَمْطٍ وَأَثَلٍ وَشَيْءٍ مِّن سِدْرٍ قَلِيلٍ" (سبأ: 15-16)

وقال سبحانه: "عِنْدَ سِدْرَةِ الْمُنْتَهَى. عِنْدَهَا جَنَّةُ الْمَأْوَى. إِذْ يَغْشَى السِّدْرَةَ مَا يَغْشَى" (النجم 14 - 16)

Remerciements



Nous remercions notre Dieu Qui nous a donné le courage et la volonté de poursuivre nos études, ainsi que nos parents, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite.

Nous tenons à adresser nos sincère remerciement et le plus grand respect à notre promotrice Mme BAROUAGUI et notre co-promotrice Mme DAHLIA pour la compréhension, la disponibilité, le savoir-faire, les conseils judicieux et toute l'aide qu'elles nous ont apporté.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury : Mr BOUFARES et Mr YEZLI qui ont accepté d'évaluer notre travail et de nous avoir honorés par leur présence.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études

Nous remercions toute la famille, tous les amis pour leurs encouragements.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la mise en œuvre de ce travail.



Dédicaces



Je dédie ce modeste travail avant tout à mes chers parents qui ont tout sacrifié pour mon bien.

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes deux frères « Hakim et Youssef ».

A mes amis et mes collègues d'études « Aïda, Lalia, Djahida, Cherifa, Amel, Soria, Oumelkhair et Hamida »

A tous les membres de ma famille, petits et grands, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

BRAHIM Amina



Dédicaces



Je dédie ce mémoire à:

*Mes chers parents « Mohammed et Roba » que nulle
dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour
leur patience illimitée, leur encouragement contenu, leur
aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour
leur grand sacrifices.*

*Mes chers frères « Boucif, Allal et Abdelkader » et mes
sœurs « Assia, Fatima, Khadidja et Naïma » et leurs enfants
pour leur grand amour et leur soutien qu'ils trouvent ici
l'expression de ma haut gratitude.*

Mon faiencier « Abdessamad »

Mes très chers amis « Amina et Lalia ».

Et a toute ma famille et à tous ceux que j'aime

BRAHIM Djahida



Liste des abréviations

Alt :	Altitude
C :	Carbone
CM :	caré moyenne
ddl :	Degré de liberté
E :	Est
F :	Test <i>ficher</i>
Lat :	Latitude
Long :	Longitude
N :	Nord
P :	Probabilité, Signification
PDA :	Potato dextrose agar (gélose dextrosée à la pomme de terre)
Pop :	Population
SCE :	Somme des carés des écarts

Liste des figures

Figure 01 :	Les fruits de jujubier sauvage	06
Figure 02 :	Les différentes parties du fruit	06
Figure 03 :	Les différentes zones d'étude	07
Figure 04 :	Etapas de la préparation des extraits aqueux	09
Figure 05 :	Les symptômes des plantes infectées par les souches étudiées	12
Figure 06 :	Etapas de la préparation du milieu de culture	13
Figure 07 :	Etapas de la purification des souches	14
Figure 08 :	Quelques étapes du test antifongique.....	15
Figure 09 :	Variation de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux de la pulpe des fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	17
Figure 10 :	Variation de la teneur en flavonoïdes des différents extraits aqueux de la pulpe des fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	19
Figure 11 :	Variation de la teneur en tanins condensés des différents extraits aqueux de la pulpe des fruits de <i>Zizyphus lotus</i>	20
Figure 12 :	Variation du pourcentage d'inhibition des extraits aqueux	22
Figure 13 :	La zone d'inhibition sur boîte pétri	23

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Cordonnées et caractéristiques des zones d'étude	08
Tableau 02 :	Aspect macro et microscopique des genres fongiques	11
Tableau 03 :	Les symptômes des plantes infectées par les souches étudiées	12
Tableau 04 :	Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux étudiés	16
Tableau 05 :	Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en flavonoïdes des différents extraits	18
Tableau 06 :	Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en tanins des différents extraits	19
Tableau 07 :	Tableau d'analyse de la variance pour l'activité antifongique	21
Tableau 08 :	Classification des moyennes des pourcentages d'inhibition de la croissance fongique pour les différents extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage testés.	24
Tableau 09 :	Classification des moyennes des pourcentages d'inhibition de la croissance fongique pour les différents champignons phytopathogènes testés	24

Sommaire :

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux.....	iii

Table des matières

Introduction générale	01
Chapitre I : Matériel et Méthodes	06
1. Le matériel végétal et zones d'étude	06
2. Préparation des extraits aqueux	09
3. Evaluation quantitative et qualitative des extraits aqueux	10
3.1. La teneur en polyphénols totaux	10
3.2. La teneur en flavonoïdes	10
3.3. La teneur en tanins condensés (Proanthocyanides)	10
4. Test antifongique	10
4.1. Champignons phytopathogènes utilisés	10
4.2. Préparation de milieu de culture	13
4.3. Purification des souches	13
4.4. Test antifongique	14
5. Analyse statistiques.....	15
Chapitre II : Résultat et Discussion	16
1. Evaluation quantitative et qualitative des extraits aqueux	16
1.1. La teneur en polyphénols totaux	16
1.2. La teneur en flavonoïdes	18
1.3. La teneur en tanins condensés (Proanthocyanides)	19
2. Test antifongique	21
Discussion	24
Conclusion	26
Références bibliographiques	27
Annexe	32

Introduction générale



Introduction générale

Les plantes sont essentielles à notre environnement (**Ducreux, 2002**), de très nombreux variétés sont cultivées par l'Homme et sont largement utilisées d'abord comme source alimentaire, mais aussi comme objets décoratifs et pour leurs effets pour la santé (**Potage et Van Holt, 2008**). Cependant, ces plantes cultivées se trouvent rarement dans des conditions optimales, elles se trouvent souvent dans des conditions extrêmes (**Hopkins, 2003**) dans lesquels l'équilibre climat-végétation-sol peut être altéré par les facteurs abiotiques (potentiel hydrique, température, salinité...) et biotiques (bactéries, champignons, algues...) (**Grouzis et Le Flo'h, 2003**). Ces conditions écologiques président le déroulement des différents cycles de végétation : la germination des graines, la survie des plantules et le métabolisme secondaire des plantes (**Le Houérou, 1980**). Ces derniers constituent également un hôte obligatoire pour les micro-organismes biotrophes et nécrotrophes (**Roy, 2014**), ils sont donc exposés à de nombreuses maladies : viroses, bactériose et mycoses dont les champignons sont parmi les principales causes de ces maladies. Ce sont des micro-organismes hétérotrophes, sans chlorophylle, caractérisés par un mycélium formé de filament qui s'appelle hyphe. Ils se nourrissent de matière organique morte ou des tissus vivants. Les champignons se reproduisent par les spores ; qui sont des corps extrêmement petits de 4 à 5 millièmes de diamètre, leur densité est moindre que celle de l'eau. Elles ont une structure simple formée d'une petite vésicule très mince contenant un fluide. Les spores ont une forme ovale, elliptique ou sphérique selon l'espèce (**Cordier, 1870**). On distingue les spores sexuées et les spores asexuées. Les premiers servent à maintenir l'espèce, ils apparaissent souvent à la fin de la saison alors que la forme asexuée, dite imparfaite, assure la propagation (**Corbaz, 1990**).

Les champignons phyto-pathogènes sont des micro-organismes eucaryotes plus complexes que les bactéries. Ils pénètrent dans l'hôte par différentes façons, soit directement à travers la cuticule des cellules végétales soit par des ouvertures existent naturellement dans la plante comme par exemple les stomates, ou par l'intermédiaire de blessures des tissus présent sur les organes végétaux. Après la pénétration dans l'hôte, commence la phase d'infection où le champignon prélève divers substances chez l'hôte de façons traumatisante, c'est-à-dire le parasite dépend des cellules vivantes ou par une destruction rapide des tissus en utilisant des enzymes pectino-lytiques. Cette phase se suit par la formation des structures spécialisées pour produire des spores, la dissémination de ces derniers est assurée par le vent, par l'eau ou par un vecteur tels que les insectes (**Blancard et al., 2003**).

Lors de l'infection, les plantes reconnaissent les champignons pathogènes par les éliciteurs de la membrane de l'hyphe qui conduit à une hypersensibilité caractérisée par l'apparition des nécroses autour des points de pénétration. En cas où le parasite pénètre dans l'hôte, la plante résiste grâce à son système immunitaire et réagit par deux voies ; soit par la mobilisation des substances constitutives de la paroi juste en face de l'hyphe : on parle de paille composé de callose et de cellulose, elle encapsule le parasite et échoue l'infection, soit par la production des substances chimiques tels que les saponines qui forment des complexes avec les stérols fongiques et l'acide chlorogénique qui va être oxydé en présence d'infection et déplace la respiration vers la voie des pentoses conduisant à la production des phénols. En plus de ces deux voies, la plante peut se défendre contre les parasites par la cutine, par les poils ou par la disposition des stomates (**Corbaz, 1990**).

Dans le cas où le parasite affecte la plante et elle ne peut pas se défendre, il faut aller à d'autres moyens pour le combattre. Il y a deux méthodes de lutte. La première est la lutte chimique qui consiste à utiliser des fongicides synthétiques, dont on distingue deux catégories : les préventifs qui inhibent le système enzymatique et respiratoire du pathogène et les fongicides systématiques qui ont une action curative, ils sont absorbés par la plante via les racines et véhiculé par la sève (**Corbaz, 1990**). La lutte chimique est le moyen le plus utilisé : 78600 tonnes de fongicide et herbicides ont été épandues en France, elle est relativement efficace mais présente des dangers pour l'environnement : destruction des insectes pollinisateurs, accumulation des résidus toxiques, pollution de l'air, l'eau et de sol et apparition des souches résistantes (**Asdrubal, 2010**).

A cause de ces inconvénients, l'efficacité des produits chimiques régresse et les scientifiques orientent les recherches vers les méthodes qui permettent de protéger les cultures en minimisant les risques pour l'environnement et les êtres vivants, on parle de la lutte biologique (**Libbey, 2010**), elle présente plusieurs avantages : absence de résistance, un niveau de mortalité élevé, control rapide et un cout inférieur à ceux de la synthèse (**Bale et al., 2008**). La lutte biologique sert à protéger les cultures par des organismes vivants sous forme de parasites, prédateurs ou agents pathogènes du parasite qui attaquent la plante. Ils tuent le parasite ou limitent son développement en s'en nourrissant (**Ajouz, 2009**). Les extraits des plantes sont aussi utilisés dans la lutte biologique. Ils représentent une pratique ancestrale en Afrique, de nombreuses plantes sont utilisées pour leurs activités biocides vis-à-vis les bio agresseurs, elles peuvent être utilisées sous forme d'extraits aqueux ou phénolique, dans les conditions des champs, l'efficacité des extraits est mesurée à travers l'abondance des

populations des ravageurs ou la sévérité des dégâts, à cet égard des travaux antérieures ont pu démontrer que certains extraits ont la même efficacité des fongicides de synthèse, l'action biocide de ces extraits sur les champignons se manifeste par l'inhibition de la sporulation ou par une réduction de la sévérité de la maladie (Yarou, 2017).

Parmi les plantes utilisée dans la lutte biologique, le *Zizyphus lotus* qui est un arbuste épineux (Chehema, 2006) appartenant à la famille des Rhamnaceae. Connue, dans nos régions, sous le nom « Sedra », ou « Azar djerdjer » pour l'arbuste et « N'beg » pour le fruit. Le jujubier sauvage fait partie de l'alimentation traditionnelle et des pratiques médicales des maghrébins (Souleymane, 2016). Le genre *Zizyphus* est dérivé du nom de l'arbre « Zizouf » (Paquereau, 2013).

Cet arbuste est très ramifié, de 2 à 2,5 mètres de diamètre, composé de tige à long rameau en zigzag et des feuilles simples, ovales et épineux de couleur vert clair, les fleurs sont petites et en grappe axillaire, généralement de couleur vert jaunâtre, elles apparaissent entre avril et mai et se transforme en un fruit sphérique de la grosseur d'un olive (Chehema, 2006) de couleur rousse, il renferme un noyau osseux arrondie et biloculaire recouvert d'une pulpe douce et agréable (Couverchel, 1839). Il joue un rôle important dans la conservation des sols grâce à son système racinaire profond et vigoureux qui stabilisent les substrats et les protège de l'érosion (Amara et Benabdeli, 2017).

Il se multiplie par voie végétative avec une faible propagation par semis, son optimum thermique est de 35°C, sa germination est rare car le semis nécessite le traitement des noyaux par les sucs digestif des animaux (Zouaoui et al., 2013).

Le *Zizyphus lotus* pousse dans les zones rocailleuses, les falaises, et les pieds des collines (Chehema, 2006). C'est une plante de soleil réservée au climat chaud et sec (Paquereau, 2013), elle pousse donc dans les pays arides et semi-arides : Chine, Iran, la Corée du sud (Souleymane, 2016), l'Afrique dont la Libye, Le Maroc, l'Algérie et le sud de l'Europe dont l'Espagne, le Sicile, la Grèce et le Chypre (Benammar et al. 2010). En Algérie, elle est présente dans toutes les régions sauf le tell algéro-constantinois (Quizel et Santa, 1963).

Le jujubier sauvage contient des quantités substantielles d'acide gallique, matière minérale, stérols, vitamines, fibres, acides aminées, triacylglycérol et des composés antioxydants. A cet égard, le fruit de *Zizyphus lotus* est une source précieuse de nutriments ainsi que d'antioxydant, antimicrobiens et antifongiques. Les feuilles contiennent les

saponines notamment le jujuboside B. Les racines contiennent une grande quantité de polyphénol, d'acide gras essentiels et de vitamine C. La pulpe contient une quantité importante de glucides, phénol, flavonoïdes et de tanins (**Souleymane, 2016**).

La médecine traditionnelle utilise plusieurs parties de *Zizyphus lotus*. Les propriétés médicales de cette plante dépendent de la partie de la plante concernée (racines, feuilles, fruits) et de type de l'extrait utilisé (éthanolique, butanolique). En Afrique du nord et le Moyen-Orient, elle est utilisée pour traiter les troubles digestifs, la faiblesse, les troubles hépatiques, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie tandis qu'en Algérie, elle est utilisée comme antibiotique, sédatif et hypoglycémiant (**Benammar et al. 2010**). Des rapports scientifiques ont montré que *Zizyphus lotus* contient des molécules biologiquement actives (phénol et flavonoïdes) qui sont responsables de ces effets bénéfiques (**Souleymane, 2016**).

Les extraits des plantes y compris l'extrait de *Zizyphus lotus* peuvent être utilisés seuls ou mixtes en association avec des fongicides synthétiques, ils offrent des perspectives nouvelles pour la protection des végétaux en raison de leur nombreux avantages écologiques, cependant la production des extraits en grande quantité est très difficile, d'une part, et la plante utilisée pour la production est souvent liée par les conditions de l'environnement, d'autre part (**Ajouz, 2009**).

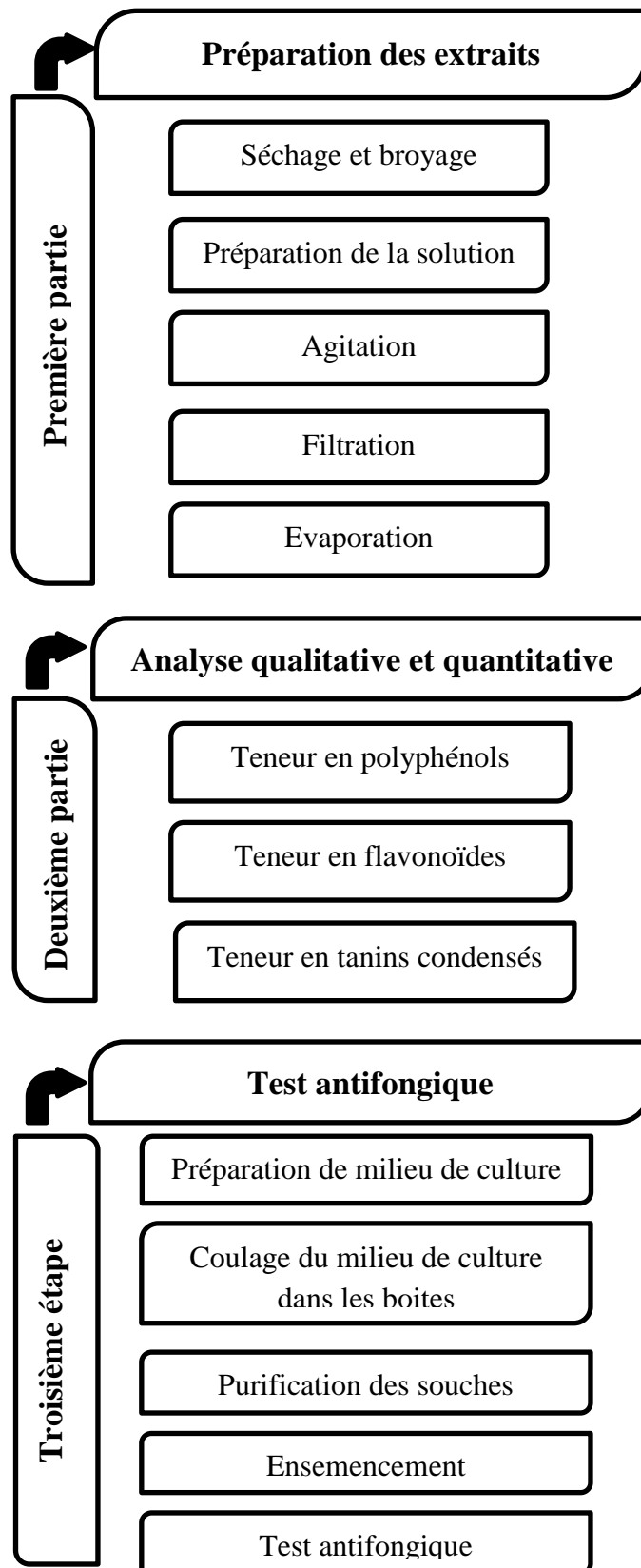
Le jujubier sauvage est souvent développé dans des sols marginaux soumis à de longue période de sécheresse donc le stress hydrique est la plus importante contrainte environnementale qui peut perturber son développement (**Rais et al. 2017**). De ce fait, la composition biochimique des organes de la plante, la production et l'accumulation des métabolites primaires et secondaires sont influencés par les facteurs environnementaux (la température, la disponibilité de l'eau, le rayonnement solaire et le gel) ce qui entraîne une modification de l'activité antimicrobienne de la plante (**Sampaio et al. 2015**), et comme le *Zizyphus lotus* pousse dans toutes les régions de l'Algérie qui dispose de plusieurs étages climatiques (sub-humide, humide, semi-aride, aride et aride sec) et que chaque étage a des caractéristiques qui le distingue des autres en terme de température, humidité et de conditions du sol; le jujubier est donc influencé par ces variations environnementales qui sont variables.

Notre travail vise à étudier si les conditions de l'environnement ont un impact sur les métabolites secondaires du jujubier sauvage à travers l'étude du pouvoir antifongique des extraits aqueux des fruits de cette espèce vis-à-vis des champignons phytopathogènes.

Chapitre I

Matériel et méthodes





Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Le matériel végétal et la zones d'étude

Le matériel végétal utilisé est la pulpe des fruits de jujubier sauvage. Le travail porte sur six populations de jujubier sauvage appartenant à six wilayas Algériennes (Ain Defla, Chlef, El-Bayad, Ghardaïa, Laghouat et Tiaret). Les fruits en provenance de Tiaret ont été récoltés à maturité au mois de septembre 2017, les fruits en provenance des autres régions ont été récoltés à maturité au mois de septembre et octobre 2016. Les fruits récoltés ont été séchés à l'abri de la lumière, puis décortiqués pour récupérer les pulpes. La pulpe été conservées à l'obscurité à une température ambiante jusqu'au jour de son utilisation. La Figure 1 illustre les fruits de jujubier sauvage et la Figure 2 représente les différentes parties du fruit.



Figure 01 : Les fruits de jujubier sauvage

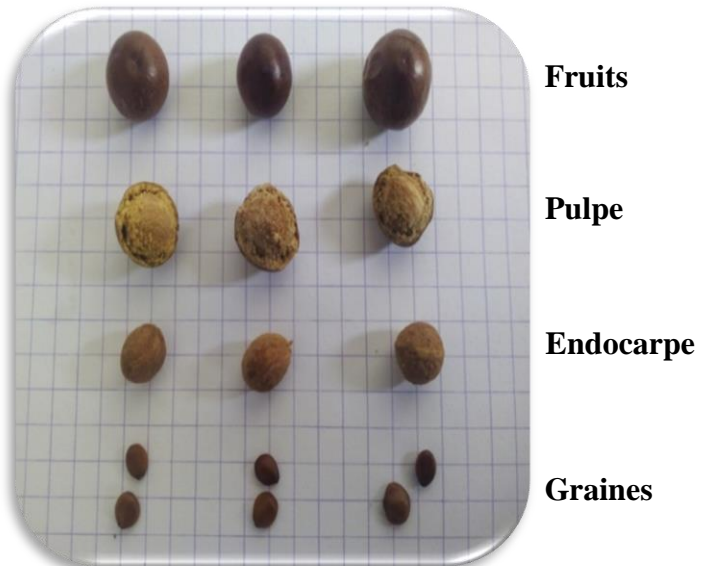


Figure 02 : Les différentes parties du fruit

(Sources : photos originales prises en février 2018 pour la figure 1 et Avril 2017 pour la figure 2).

La Figure 03 illustre les différentes localités des points de collecte des fruits de jujubier sauvage. Les coordonnées géographiques et les caractéristiques de chacune des zones d'étude sont présentées dans le Tableau 1.

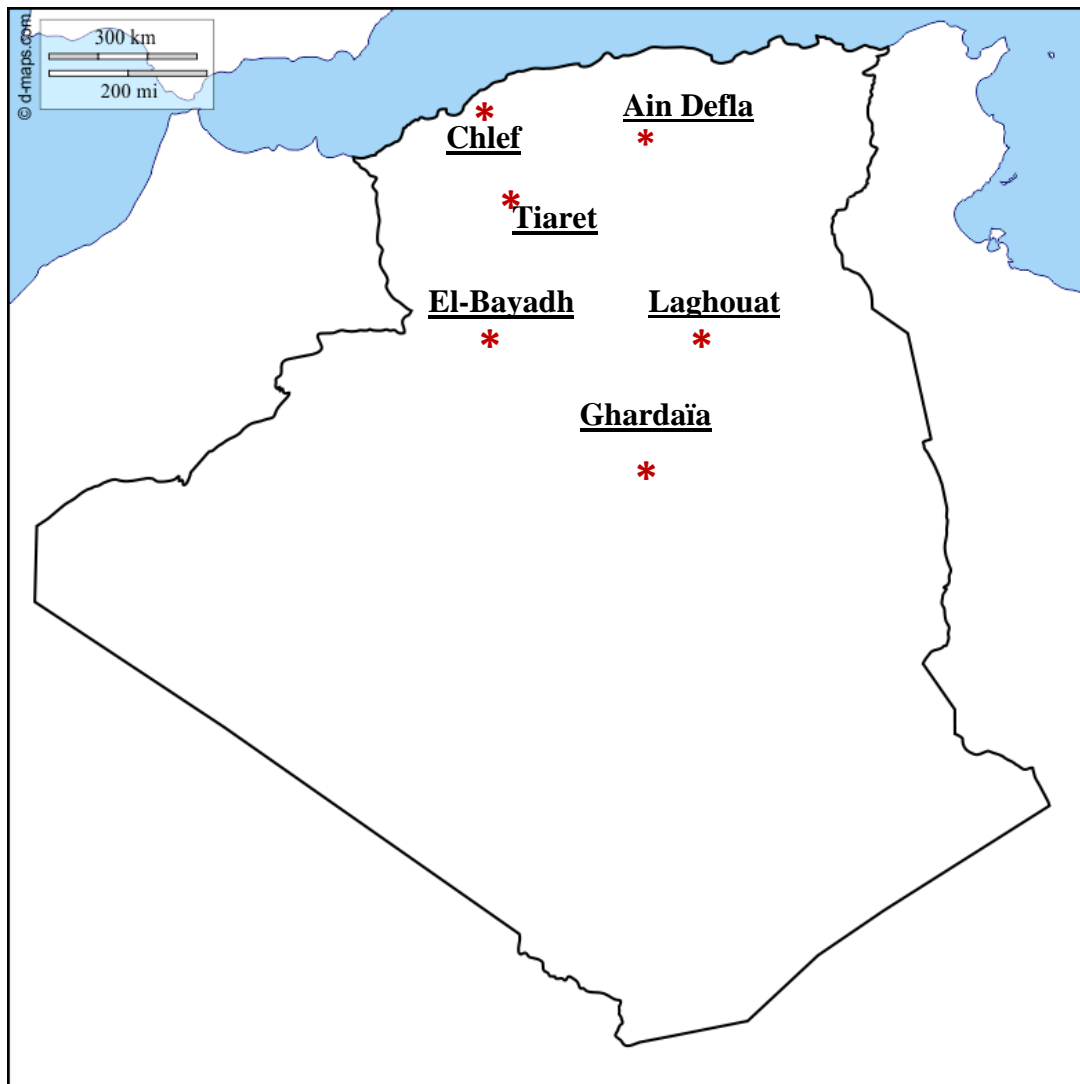


Figure 03: Les différentes zones d'étude

(Source:<http://d-maps.com/cartephpnumcar=192340lang=fr>)

Tableau 1 : Cordonnées et caractéristiques des zones d'étude

Pop.	Région	Localisation	Climat (https://fr.climate-data.org)
Ain Defla	Djemâa, Ouled Chikh Long. : 2° 1' E Lat. : 36° 6' N Alt. : 516 m	Se situe au centre de l'Algérie à 145 km au sud ouest d'Alger dans une zone relais entre l'Est et l'Ouest du pays.	Méditerranéen semi-aride : la température moyenne à ain defla est de 14.4°C. la moyenne des précipitations annuelles atteints 735 mm.
Chlef	Ouled Ziad, Boukadir Long. : 1° 6' E Lat. : 36° 6' N Alt. : 106 m	Située dans le Tell occidental à 200 km à l'ouest d'Alger.	Méditerranéen sub-humide : En moyenne la température à chlef est de 18.6°C. il tombe en moyenne 394 mm de pluie par an.
El-Bayad	Bougtoub Long. : 0° 7' E Lat. : 33°59'N Alt. : 1038 m	La wilaya d'El-Bayad fait partie intégrante de la région des Haute plaines steppiques du Sud-Ouest algérien.	Climat de steppe rude : Les précipitations sont faibles. El Bayadh affiche une température annuelle moyenne de 14.2°C. la moyenne des précipitations annuelles atteints 271 mm.
Ghardaïa	Metlili Long. : 3°33'E Lat. : 32°18'N Alt. : 526 m	Ghardaïa est situé au centre de l'Algérie dans le Nord du Sahara algérien, à 600 km au sud d'Alger.	Le climat est dit désertique : sue l'année, la température moyenne à Ghardaia est de 21.0, il tombe en moyenne 68 mm de pluie par an.
Laghouat	Oued Nogued, Kheneg Long. : 2°59'E Lat. : 33°49'N Alt. : 772 m	Laghouat est une ville d'Algérie située à 400 km au sud d'Alger.	Le climat est continental aride : la température moyenne à Laghouat est de 17.4°C. chaque année, les précipitations sont en moyenne de 176 mm.
Tiaret	Tidda Oued Lili Long. : 2° 1' E Lat. : 36° 6' N Alt. : 516 m	La wilaya de Tiaret est située à l'ouest du pays dans la région des hauts plateaux.	Le climat est de type continental : la température moyenne à Tiaret est de 14.7°C. chaque année, les précipitations sont en moyenne de 529 mm.

2. Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux ont été préparés, à partir des pulpes des fruits de jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*), par macération à froid pendant 72 heures selon la méthode décrite par **Housseinzadeh et Younssi (1995)**. La pulpe a été séchée à 80°C pendant 48 heures, puis broyée à l'aide des mortiers en porcelaine à fin d'obtenir une poudre fine à partir de laquelle une solution aqueuse a été préparée (macération). 25 grammes de l'échantillon a été mélangée avec 250 millilitres d'eau distillée stérile dans des Erlenmayer recouverte du papier aluminium, cette solution a été agitée ensuite pendant 72 heures successives. Après la récupération de l'extrait, une première filtration a été effectuée en utilisant des bas fins et une deuxième fois par le papier filtre. Après, la solution a été versée dans des verres à montre propres et a été condensée à une température de 40°C dans une étuve ventilée jusqu'à l'évaporation totale de l'eau et l'obtention d'une poudre sèche (Figure 4). Cette dernière a été mise dans un dessiccateur et puis conservée à l'obscurité dans un endroit sec.

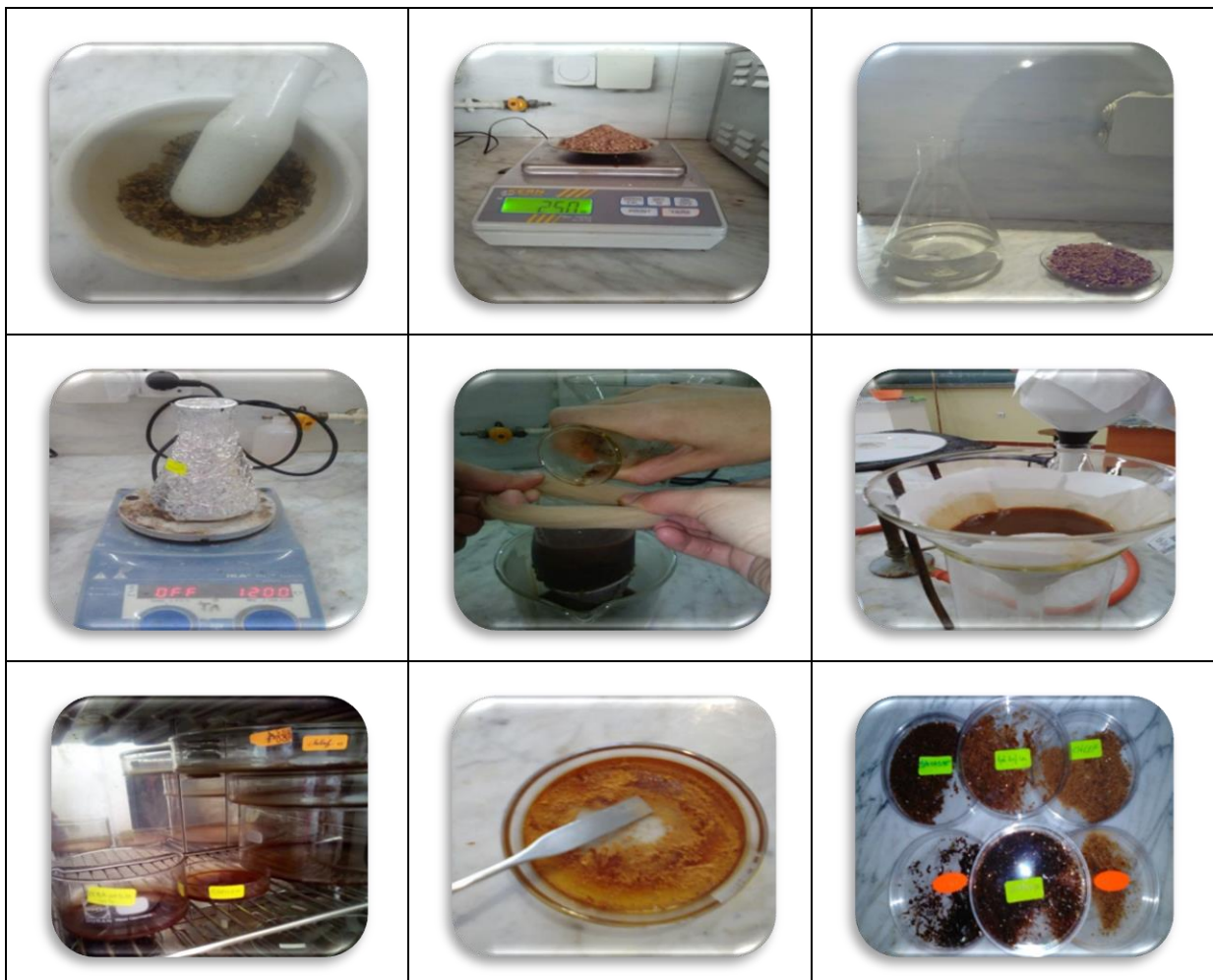


Figure 04 : Etapes de la préparation des extraits aqueux

3. Evaluation quantitative et qualitative des extraits aqueux

3.1. La teneur en polyphénols totaux

Le dosage est réalisé selon la méthode de folin ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PWO_{12}O_{40}$. Il se réduit par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 . (Ollivier et al., 2004).

Une quantité de 0.5 ml de l'extrait est mélangée avec 2.5 millilitres du réactif folin ciocalteu dilué 10 fois et 1 millilitres de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 20%. L'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 15 minutes. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de différentes concentrations d'acide gallique et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide de spectrophotomètre à 760 nm.

3.2. La teneur en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ali-Rachedi et al., 2018).

1.5 Millilitre de l'extrait est mélangé avec 1 ml de la solution de chlorure d'aluminium($AlCl_3$) (2% dans méthanol), après une incubation de 10 minutes. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de différentes concentrations de quercétrine et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide de spectrophotomètre à 430 nanomètres.

3.3. La teneur en tanins condensés (Proanthocyanides)

Le dosage a été réalisé par la méthode de n-butanol/HCL, une fois le n-butanol/HCL chauffé, il scindait les liaisons C_4 et C_8 qui liaient les monomères tanniques entre eux libérant ainsi des anthocyanes (Akroum, 2011).

250 μ l de l'extrait est mélangé avec 2.5 ml de la solution de sulfate ferreux. Après une incubation de 50 minutes à 95°C. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de différentes concentrations d'acide gallique et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide de spectrophotomètre à 530 nm.

4. Test antifongique

4.1. Champignons phytopathogènes utilisés

Afin d'évaluer l'activité antifongique des extraits aqueux de *Zizyphus lotus*, quatre souches des champignons phytopathogènes ont été utilisées. Elles appartiennent aux genres

Fusarium (blé, tomate), *Penicillium* (de citronnier) et *Botrytis* (de pomme de terre). Le tableau 2 montre les caractéristiques de chaque genre. Ces souches sont considérés comme phyto-pathogènes. L'inoculum a été isolée de plantes hôtes de chaque souche. Le tableau 3 et la figure 5 représentent les symptômes qui apparaîtront sur chaque plante infectée.

Tableau 2: Aspect macro et microscopique des genres fongiques étudiés (**Guillaume, 2006**)

Genres	Aspects macroscopiques	Aspects microscopiques
Fusarium	<ul style="list-style-type: none">• Colonies cotonneuse à laiteuse ;• Couleur blanche puis se transforme en rose violet ou jaune.	<ul style="list-style-type: none">• Conodiophores isolés ou accolés en paquets ;• mycélium septé ;• micro-conidies ovales ;• macro-conidies incurvés.
Penicillium	<ul style="list-style-type: none">• Surface poudreuse ;• Couleur blanche au début puis bleu vert.	<ul style="list-style-type: none">• Mycelium septé ;• Conidiophore plus ou moins ramifiés ;• Conidies rendes ou ovoïdes en longue chaîne
Botrytis (Rousselle et al., 1996).	<ul style="list-style-type: none">• Surface cotonneuse ;• Couleur blanchâtre puis grise	<ul style="list-style-type: none">• Long conidiophore irrégulièrement ramifiés• Conidies monocellulaire, ovoïdes légèrement pigmentés

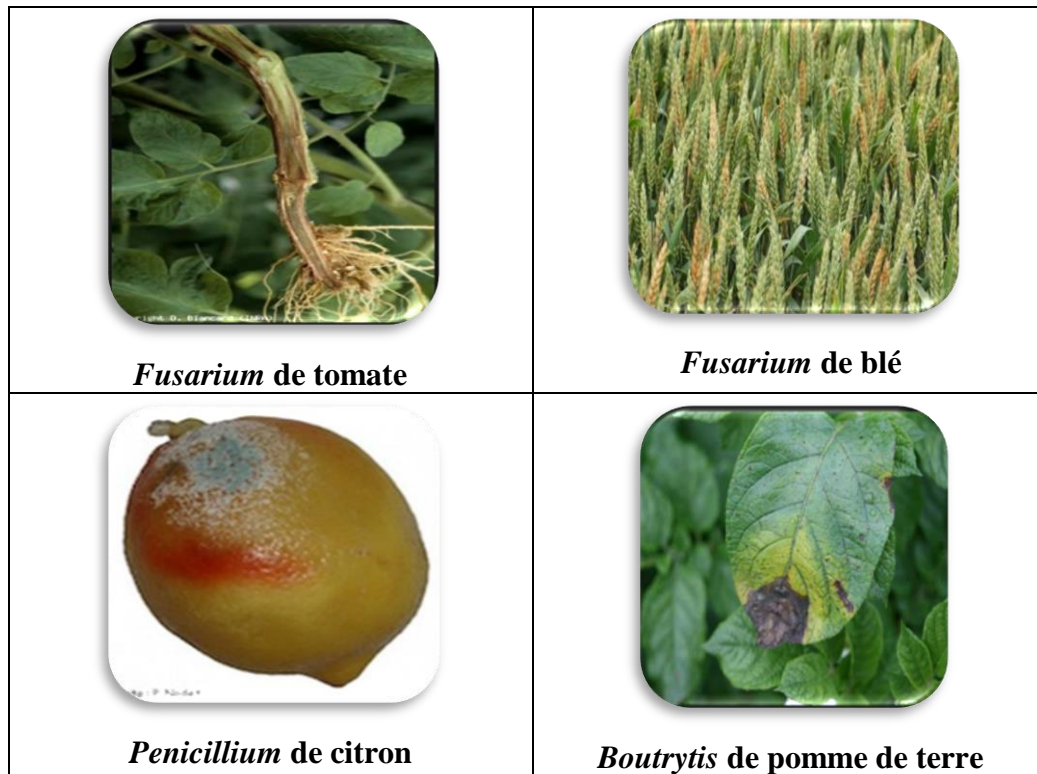


Figure 05 : Les symptômes des plantes infectées par les souches étudiées

Tableau 3 : Les symptômes des plantes infectées par les souches étudiées

Genre	Plante infectée	Symptômes
Fusarium	Blé (Simon <i>et al.</i> , 1989)	<ul style="list-style-type: none"> • Nécrose de la base des tiges et des racines détruites ; • Font de semis.
	Tomate (Blancard, 2009)	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction de la croissance ; • jaunissement des vieilles feuilles ; • mort des jeunes plantes; • Une teinte brune des vaisseaux ; • Flétrissement sur les folioles et sur les feuilles de la tige.
Penicillium	Citron (Hernández-Montiel et Ochoa, 2007)	<ul style="list-style-type: none"> • Décomposition et ramollissement du fruit ; • Le fruit se recouvre du mycélium blanc et spores bleu.
Boutrytis	Pomme de terre (Rousselle <i>et al.</i> 1996).	<ul style="list-style-type: none"> • Nécrose noire entouré d'un halo vert très pale sur la face supérieur des feuilles

4.2. Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture PDA est favorable pour la croissance des champignons phyto - pathogènes. Pour préparer ce milieu, 300 grammes de pomme de terre bien épluchée et découpée en petit morceaux ont été bouillit dans 1 litre d'eau distillée, à 100°C. Après 25 minutes l'eau de pomme de terre est récupérée (environ 300 millilitres) et ajouté à 300 millilitres d'eau distillée contenant 20 grammes d'agar-agar et 20 grammes de dextrose, puis ajusté au volume de 1 litre par l'eau distillée. Le milieu est ensuite versé dans des flacons et passé à l'autoclave à une température de 121 °C pendant 15 minutes sous pression de 1 bar (Figure 6)

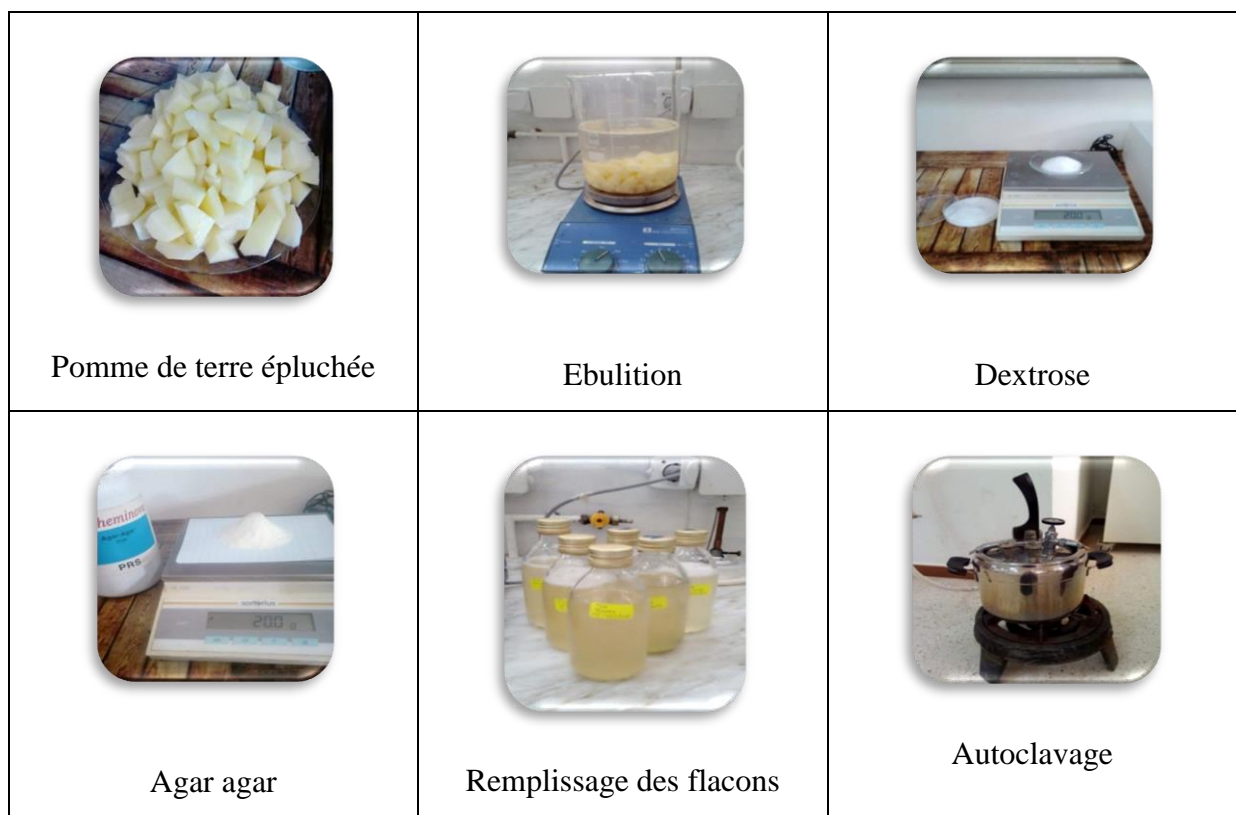


Figure 06 : Etapes de la préparation du milieu de culture

4.3. Purification des souches

La purification a été effectuée avec un matériel stérile et sur une paillasse bien désinfectée autour du bec bensèn (figure 7). Avant d'entamer la purification, le milieu de culture PDA a été coulé dans les boîtes de Pétri et laissé se solidifier. La purification a été procédé à l'aide d'une série de repiquage. Un prélèvement, au bord de la colonie, d'un fragment du mycélium du champignon phytopathogène a été effectué à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et a été déposé au centre de la nouvelle boîte de Pétrie. Les boîtes sont

recouvertes par un film alimentaire pour éviter la contamination et incubées à 28°C pendant 7 jours.

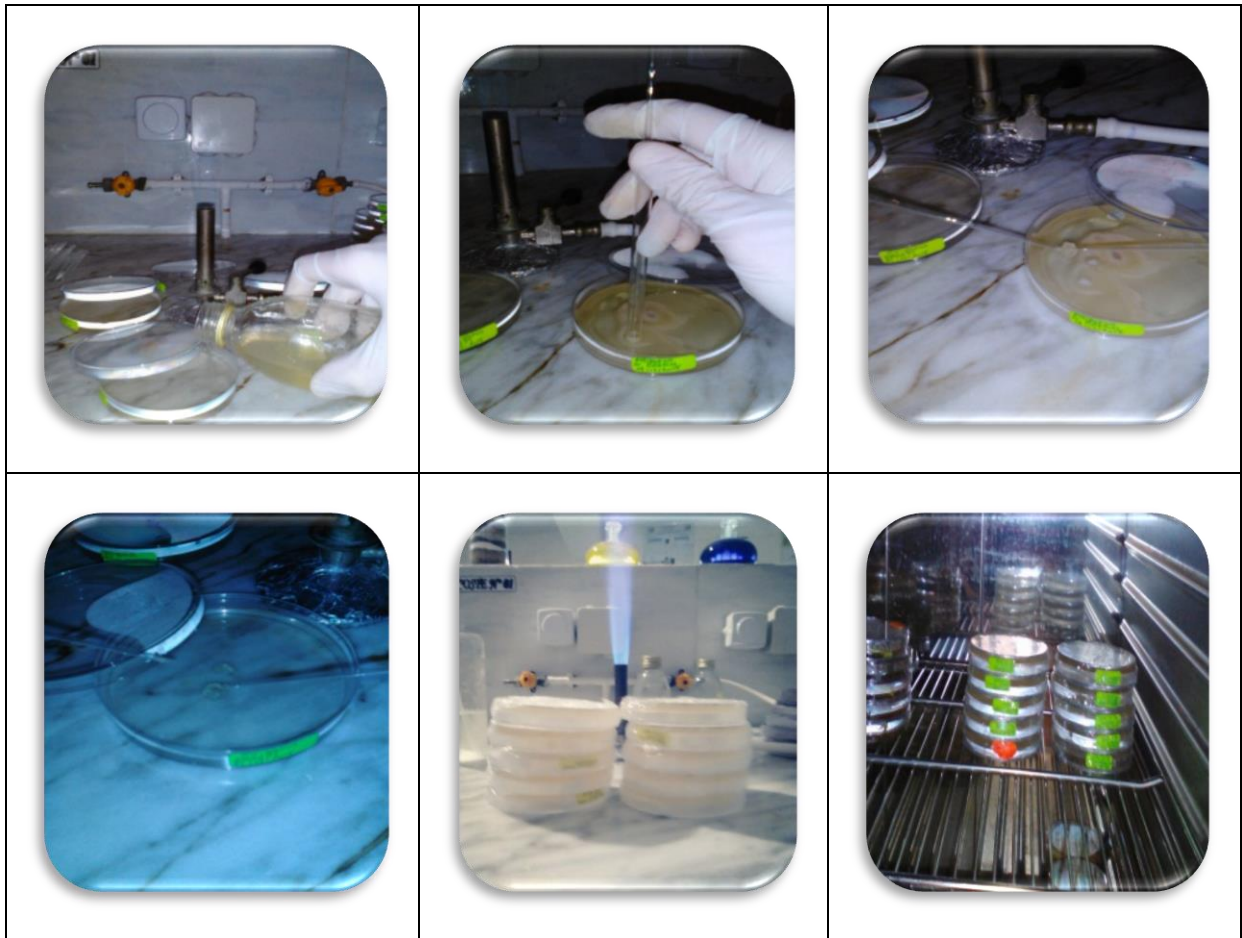


Figure 07: Etapes de la purification des souches

4.4. Test antifongique

Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, sontensemencées en surface: nous avons prélevé un disque (morceau de champignon) et le déposé au centre de la boîte. Ensuite 4 puits sont creusés dans chaque boîte Pétrie à l'aide des pipettes Pasteur stériles, chaque puit est rempli par 30 µl de l'extrait aqueux de chaque population à une concentration de 0,05 g/ml. Le diamètre d'inhibition qui traduit l'activité antifongique est déterminé après une incubation de 7 jours à 28°C.

La lecture s'effectue en comparaison avec une boîte de témoin négatif qui contient l'eau distillée à la place de l'extrait. Cette boîte estensemencée en même temps que les autres boîtes et dans les mêmes conditions. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule

suivante : $I \% = \frac{Dc - De}{Dc} * 100$ (Leroux et Creder, 1978)

Avec : **I %** : Pourcentage d'inhibition.

Dc : Diamètre des colonies dans les boîtes témoins.

De : Diamètre des colonies dans les boîtes qui contiennent l'extrait.



Figure 08 : Quelques étapes du test antifongique

5. Analyse statistique

La partition de la variance, pour les caractères biochimique est estimée entre les extraits et pour l'activité antifongique entre, extraits, entre souches fongiques et entre concentrations des extraits, par l'analyse statistique de la variance (ANOVA) en utilisant le Type III (SPSS V. 16) pour le calcul de la sommes des carrées. Les groupes homogènes de provenances concernant chaque trait mesuré sont séparés par le test de *Tukey*.

Chapitre II

Résultats et discussion



Chapitre II : Résultats et discussions

1. Evaluation quantitative et qualitative des extraits aqueux

Afin de caractériser les différents extraits aqueux préparés à partir de la pulpe des fruits du jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*), des dosages des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ont été effectués.

1.1 La teneur en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus* est riche en polyphénols. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 04 et la figure 10.

L'analyse de variance montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les extraits aqueux de jujubier sauvage ($P < 0,01$), cela veut dire que la quantité des polyphénols totaux diffère d'une population à l'autre.

Tableau 04: Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux étudiés.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	5	3307422,4	661484,48	50,696	0***
Résiduelle	24	313148,39	13047,85		
Total	29	3620570,8			

*** : Très hautement significatif

La concentration en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=0,0056x+1,0519$) et la teneur en polyphénols est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

Avec :

T : Teneur en polyphénols

C : Concentration en polyphénols déduite de la courbe d'étalonnage ;

V : Le volume de la prise d'essai ;

D : nombre de dilution (20 fois) ;

P : Prise d'essai initiale (1gramme).

Les teneurs en polyphénols varient considérablement entre les différents extraits. Elles oscillent entre $1228,400 \pm 209,714$ et $436,250 \pm 97,03$ mg EAG/g MS. La teneur la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait aqueux des fruits de la population en provenance de Chlef suivie par l'extrait aqueux des fruits de la population en provenance de Laghouat avec $1228,5 \pm 209,715$ et $1094,1 \pm 53,222$ mg EAG/g MS respectivement.

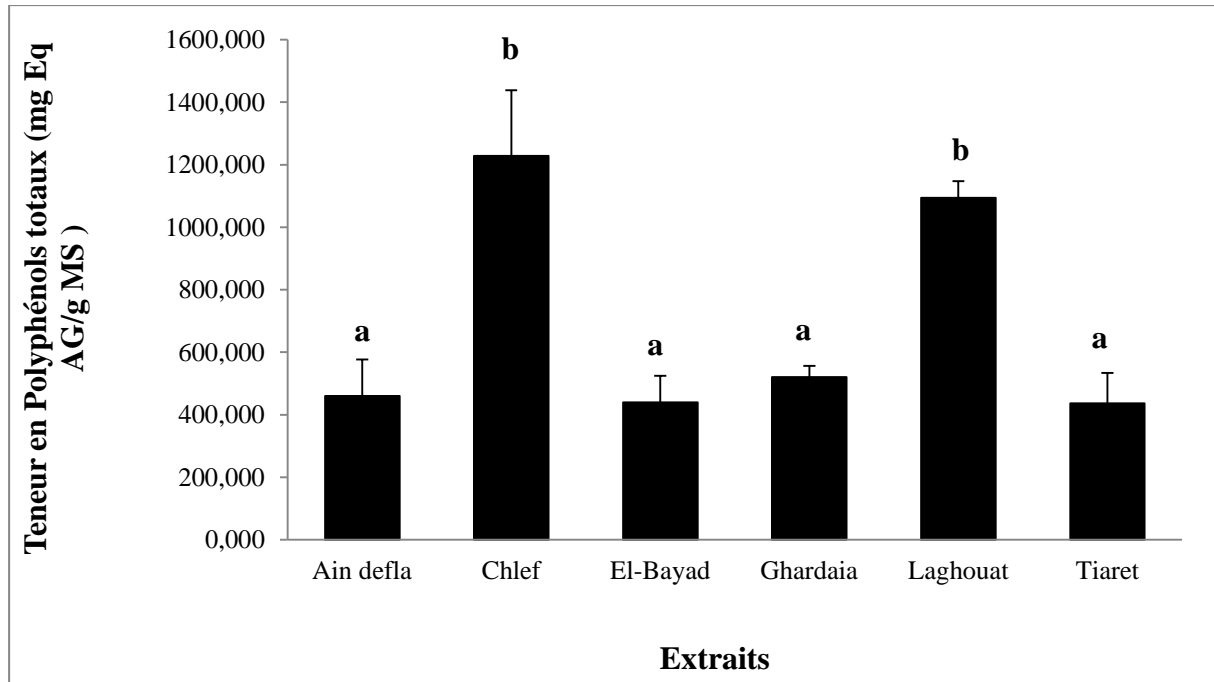


Figure 09: Variation de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits aqueux de la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus*

D'une autre part les extraits aqueux des fruits en provenance de Tiaret et d'El Bayadh présentent les teneurs les plus faibles en polyphénols totaux avec $436,250 \pm 97,033$ et $439,46 \pm 85,434$ respectivement.

Le test de classification des moyennes de *Tukey* sépare deux groupes homogènes. Le groupe homogène (a) regroupe des extraits aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* qui contiennent les teneurs les plus faibles en polyphénols totaux. Ces extraits aqueux sont ceux en provenance d'Ain Defla, El Bayadh, Ghardaïa et Tiaret. Les deux extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage qui proviennent de Chlef et Laghouat sont groupés ensemble dans le groupe homogène (b) et ils représentent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux.

1.2 La teneur en flavonoïdes

Les résultats de dosage montrent la présence des flavonoïdes dans tous les extraits aqueux testés (six populations). Cela confirme la richesse du fruit de *Zizyphus lotus* par les flavonoïdes.

D'après le tableau d'analyses de la variance (tableau 05), les résultats obtenus pour la teneur en flavonoïdes montrent qu'il n'y a pas une différence significative entre les extraits ($P > 0,05$), donc les six populations contiennent des quantités similaires de flavonoïdes.

Tableau 05 : Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en flavonoïdes des différents extraits

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	P
Extraits	5	613,746	122,749	1,291	0,3 ns
Résiduelle	24	2281,22	95,051		
Total	29	247604,9			

ns: non significatif

La concentration en flavonoïdes de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage de Quercitine ($y=75,13x-0,10475$) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalent de Quercitine par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

Avec : **T** : Teneur en flavonoïdes

C : Concentration en polyphénols déduite de la courbe d'étalonnage ;

V : Le volume de la prise d'essai ;

D : nombre de dilution (20 fois) ;

P : Prise d'essai initiale (1g).

Les résultats présentés dans la figure 11 montrent que les teneurs en flavonoïdes sont très proches. L'extrait aqueux des fruits de la population de Ghardaïa enregistre un maximum de flavonoïdes ($98,260 \pm 1,444$ mg Eq Q/g MS), suivi par l'extrait aqueux des fruits de la population de Tiaret et de Chlef avec un taux de $92,605 \pm 4,903$ mg Eq Q/g MS et $91,879 \pm 3,972$ mg Eq Q/g MS respectivement. Tandis que la plus basse teneur en flavonoïdes

a été mesurée dans l'extrait aqueux des fruits de la population d'El Bayadh avec 85,011 ±12,258 mg Eq Q/g MS.

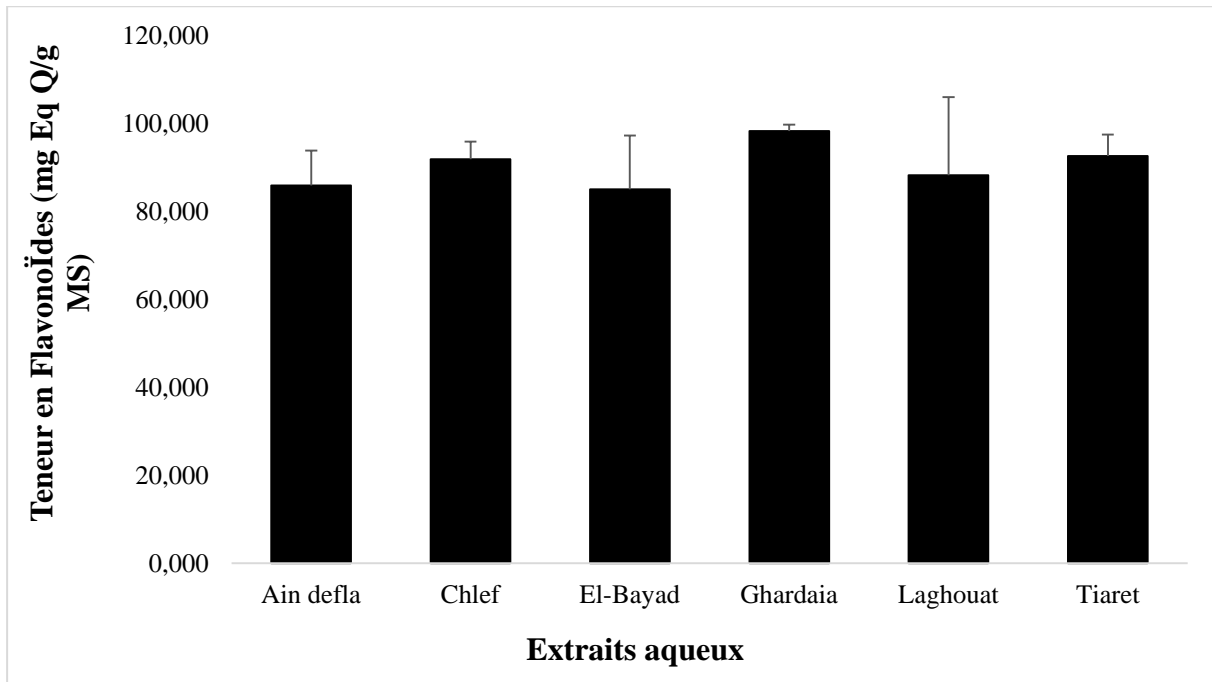


Figure 10: Variation de la teneur en flavonoïdes des différents extraits aqueux de la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus*

1.3 La teneur en tanins condensés (Proanthocyanides)

Il ressort de l'analyse phytochimique que les extraits aqueux de la pulpe des fruits de jujubier sauvage contiennent des tanins. Le tableau d'analyse de la variance (Tableau 06) révèle un effet significatif ($P=0,05$) entre les différents extraits analysés. Cette variation explique que les quantités en tanins diffèrent d'une population à l'autre.

Tableau 06: Tableau d'analyse de la variance pour la teneur en tanins des différents extraits

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	Sig.
Extraits	5	51583,964	10316,793	2,615	0,05*
Résiduelle	24	94682,997	3945,125		
Total	29	146266,961			

* : significatif

La concentration en tanins condensés de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage d'acide gallique ($y=0,0056x+1,0519$) et la teneur en tanin condensée est exprimée en milligrammes équivalent

d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg Eq AG/g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

La figure 12 illustre la variation de la teneur en tanins condensés des extraits aqueux de la pulpe de jujubier sauvage. Le dosage des tanins condensée révèle que l'extrait aqueux des fruit de la population en provenance de Laghouat renferme les plus importantes teneurs en tanins condensés, avec une valeur de $223,215 \pm 27.889$ mg Eq AG/g MS. En revanche, les extraits aqueux des fruits des populations en provenance de Ghardaia et de Tiaret ont enregistré les teneurs les plus faibles en tanins condensés avec $122,768 \pm 24,817$ et $86,696 \pm 23,440$ respectivement.

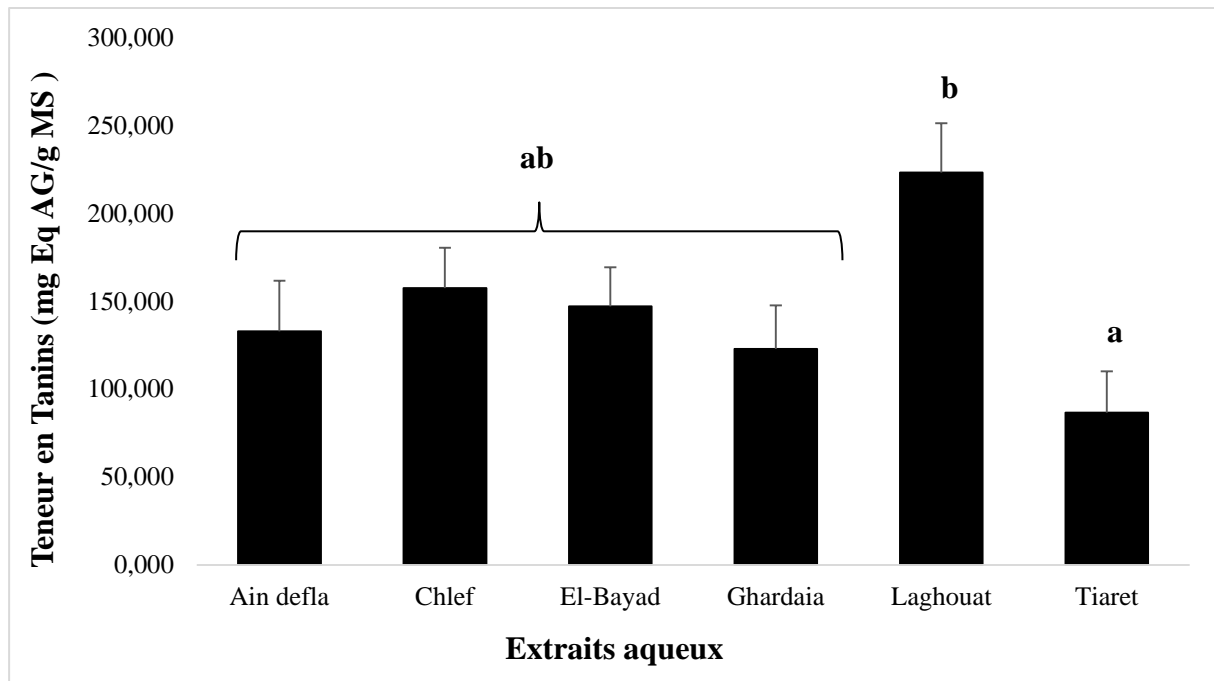


Figure 11 : Variation de la teneur en tanins condensés des différents extraits aqueux de la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus*

Le test de classification des moyennes de *Tukey* sépare deux groupes homogènes (a) et (b) et un groupe intermédiaire (ab). L'extrait aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* de la population en provenance de Tiaret est qui représente la teneur la plus faible en tanins condensés, caractérise le groupe homogène (a). Alors que le groupe homogène (b) renferme uniquement l'extrait aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* de la population en provenance de Laghouat et qui est caractérisé par la teneur la plus élevée en tanins condensés. Le reste des extraits aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* en provenance d'Ain Defla, Chlef, El Bayadh et

Ghardaïa sont classés dans le groupe chevauchant (ab). Ces extraits aqueux présentent des teneurs proches en tanins condensés.

2. Test antifongique

L'activité antifongique des extraits aqueux de la pulpe des fruits du jujubier sauvage (*Zizyphus lotus*) a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches utilisées. Les résultats de l'activité antifongique des extraits, estimée par le diamètre de la zone d'inhibition, autour des puits, sont présentés dans le Tableau N° 7 et dans les Figures 13 et 14.

Les résultats d'analyse des variances révèlent un effet significatif ($P < 0,05$) entre les extraits aqueux et un effet très hautement significatif ($P < 0,01$) entre les souches fongiques testées. La différence significative entre les extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage confirme que le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique diffère d'un extrait à l'autre. De leur part, les différents champignons phytopathogènes testés, ne répondent pas de la même façon aux différents extraits aqueux utilisés, d'où la différence très hautement significative entre les souches fongiques.

Tableau 07: Tableau d'analyse de la variance pour l'activité antifongique

Sources de variation	ddl	SCE	CM	F	Sig.
Extraits	5	1312,749	262,55	2,47	0,049*
Champignons phytopathogènes	3	14872,598	4957,533	46,632	0
Résiduelle	39	4146,154	106,312		
Total	47	135004,47			

* : significatif

D'après les résultats obtenus, il apparaît que toutes les souches fongiques testées sont inhibées par les différents extraits aqueux des fruits des différentes provenances, ce qui confirme le spectre large de l'activité antifongique de ces extraits. L'extrait aqueux des fruits de *Zizyphus lotus* est révélé actif avec des degrés différents selon la souche testée et en fonction de la population de l'extrait utilisé.

Le *Fusarium* de blé se révèle le plus sensible pour quatre extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage: Ain Defla, El-Bayadh, Chlef et Tiaret. Le *Penicillium* de citron est le plus sensible pour les deux autres extraits aqueux : Ghardaïa et Laghouat. Par contre, le *Fusarium*

de tomate se montre plus résistant, par rapport aux autres souches étudiées. Ainsi, les résultats obtenus, montrent que l'extrait de Ghardaïa semble être le plus puissant au niveau de l'activité antifongique contrairement à l'extrait d'Ain Defla qui montre la plus faible activité antifongique.

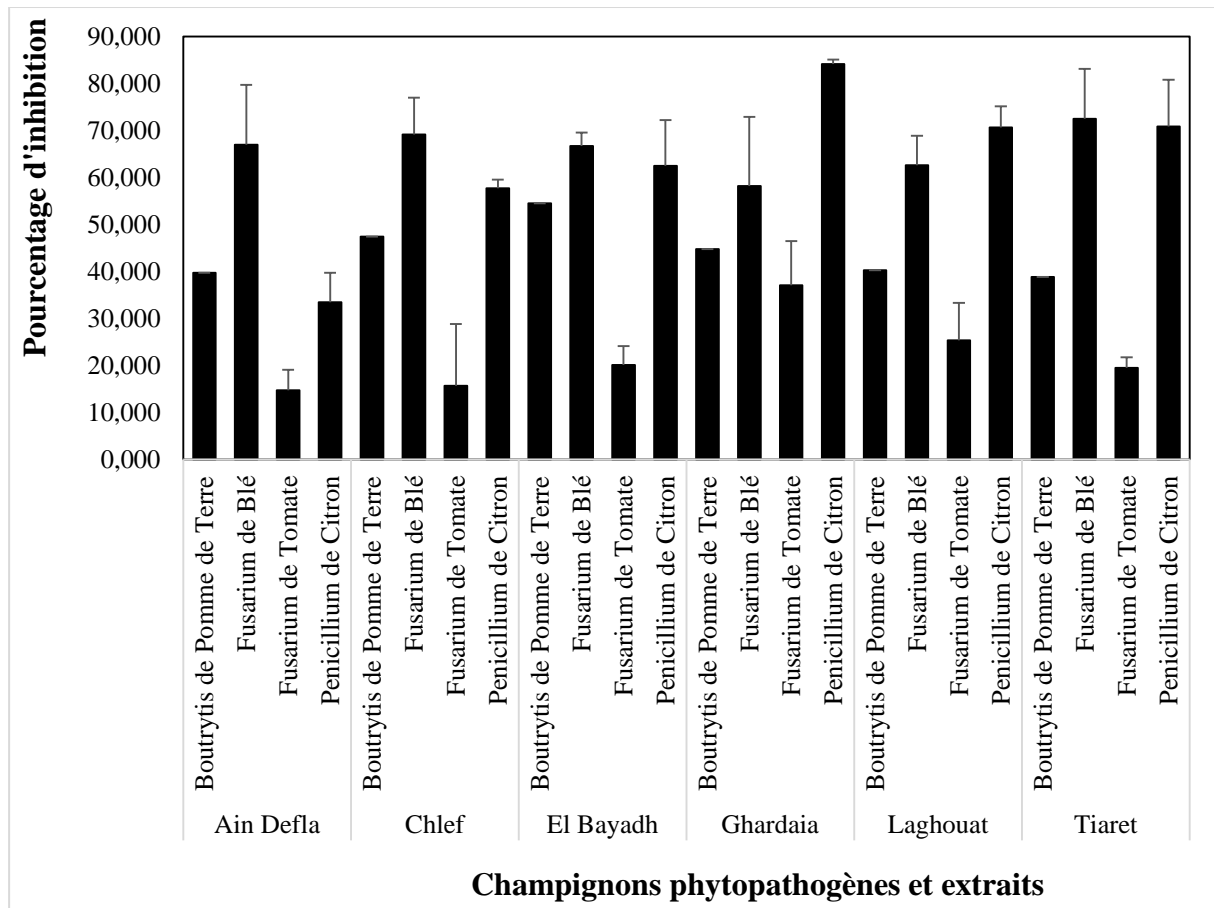


Figure 12 : Variation du pourcentage d'inhibition des extraits aqueux

L'eau distillée a été utilisée, en tant que contrôle négatif et n'a montré aucun effet néfaste sur la croissance fongique.

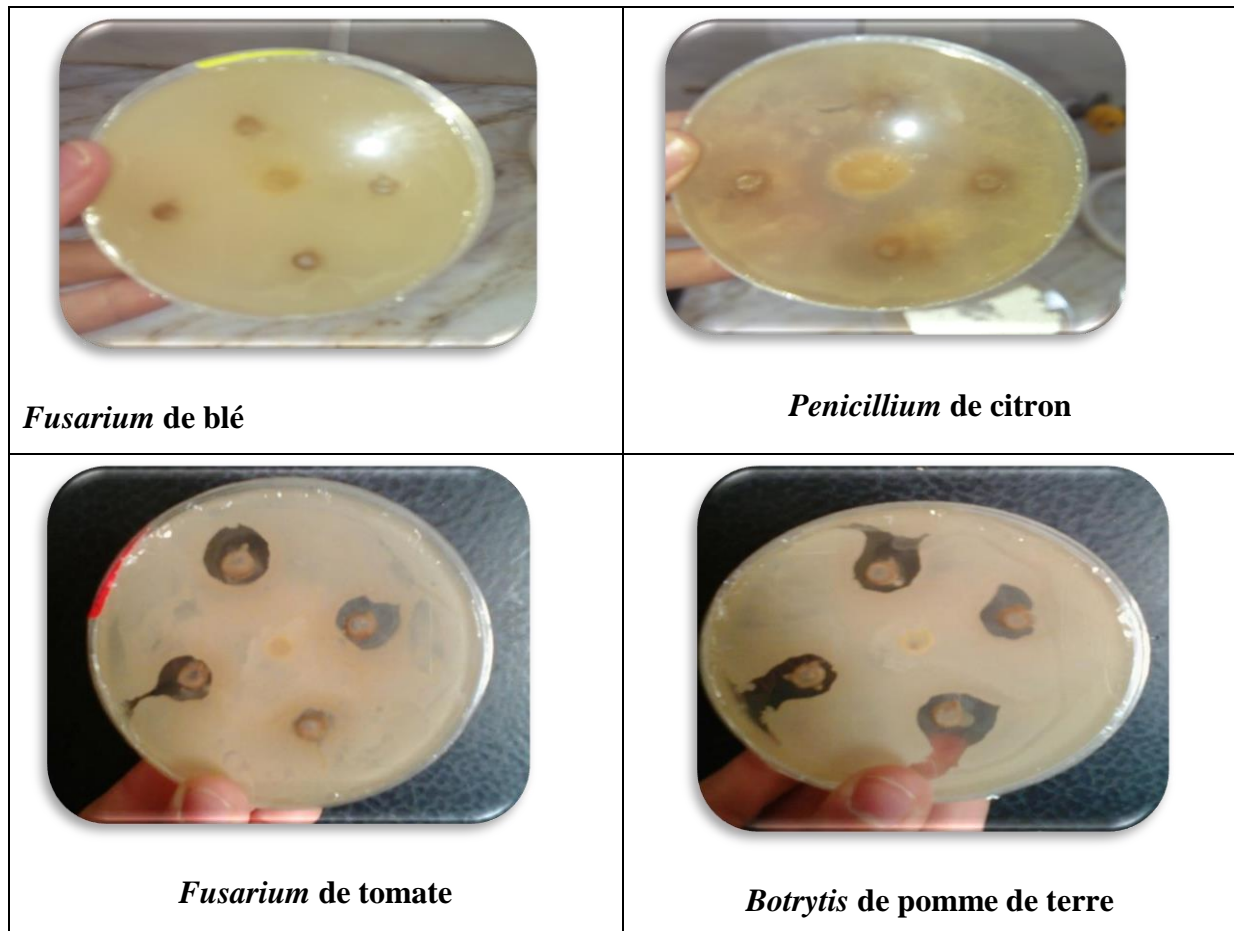


Figure 13 : La zone d'inhibition sur boîte Pétri

Les tableaux 08 et 09 montrent la classification des moyennes, par le test de *Tukey*, des pourcentages d'inhibition de la croissance fongique pour les différents extraits aqueux et pour les souches fongiques respectivement. Deux groupes homogènes et un groupe chevauchant sont séparés pour les extraits aqueux. Le groupe (a) contient l'extrait aqueux des fruits de la population d'Ain Defla. Ce dernier présente une inhibition faible par rapport aux différents champignons phytopathogènes testés. L'extrait aqueux des fruits de la population de Ghardaïa, qui présente une inhibition élevée par rapport aux différents champignons phytopathogènes testés, est classé dans le groupe (b). Les autres extraits aqueux des fruits des différentes populations de jujubier sauvage, sont classés dans le groupe intermédiaire (ab) parce qu'ils présentent des pourcentages d'inhibition proches.

Tableau 08 : Classification des moyennes des pourcentages d’inhibition de la croissance fongique pour les différents extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage testés.

Extraits	a	b
Ain Defla	38,698	
Chlef	47,469	47,469
Laghouat	49,709	49,709
Tiaret	50,429	50,429
El Bayadh	50,930	50,930
Ghardaïa		56,031

Trois groupes homogènes (a), (b) et (c) sont séparés pour les champignons phytopathogène testés. Le *Fusarium* de tomate qui, est le plus résistant aux différents extraits aqueux des fruits de jujubier sauvage des différentes populations, est classé dans le groupe homogène (a). Le groupe homogène (b) renferme le Botrytis de pomme de terre. Ce champignon est moins résistant que le *Fusarium* de la tomate parce qu’il présente un pourcentage d’inhibition de la croissance fongique plus élevé. Dans le troisième groupe homogène (c) sont groupés à la fois les champignons *Penicillium* de citronnier et le *Fusarium* de blé dur. Ces deux derniers sont les plus sensibles à l’action des différents extraits aqueux des fruits des différentes populations testées.

Tableau 09 : Classification des moyennes des pourcentages d’inhibition de la croissance fongique pour les différents champignons phytopathogènes testés.

Champignons	a	b	C
Fusarium de Tomate	22,055		
Boutrytis de Pomme de Terre		44,248	
Penicillium de Citron			63,209
Fusarium de Blé			65,999

Discussion

Les résultats obtenus montrent la présence des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits aqueux étudiés, et d’après ces résultats, une variabilité des teneurs est constatée.

Nos extraits appariaient plus riches en polyphénols par comparaison avec les résultats obtenus par **Bakhtaoui et al. (2014)** et **Rsaissi et al. (2013)** qui ont trouvé 36,30 mg Eq AG/g

MS et 24,89 mg Eq AG/g MS respectivement à partir des extraits méthanoliques des fruits de *Zizyphus lotus*.

Les résultats de la teneur en flavonoïdes sont supérieurs à ceux obtenus par El-Khateeb et al. (2013) à partir des extraits méthanoliques de fruit de *Zizyphus lotus* (16.35 mg Eq Q/mg MS), de même, Rsaissi et al. (2013) ont trouvé 17.67 mg Eq AG/g MS de tanins condensés ce qui est inférieur à nos résultats.

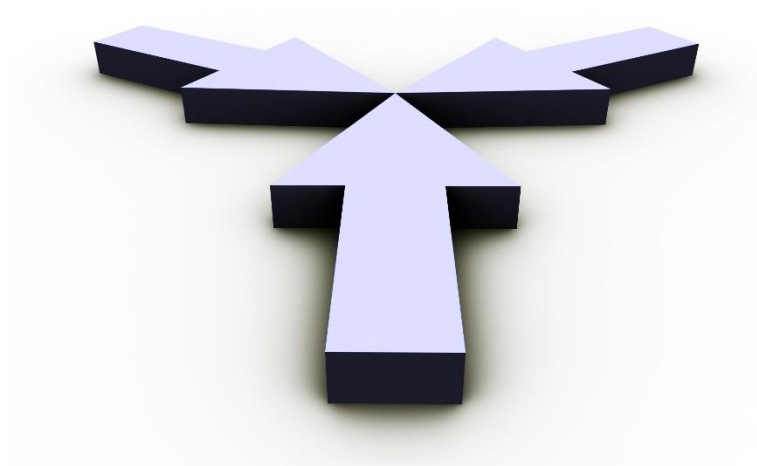
Les variations des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoides et en tanins condensés peuvent s'expliquer par le fait que la quantité des composés phénoliques des extraits de jujubier sauvage dépend essentiellement : de son origine (Ebrahimzadeh et al., 2008), de la saison de culture, de la saison de récolte, des conditions climatiques et environnementales, de la localisation géographique, des différentes maladies qui peuvent affecter la plante et de la maturité de la plante (Park et Cha, 2003).

Cette étude nous a permis aussi d'évaluer l'activité antifongique des extraits aqueux des pulpes des fruit de jujubier sauvage sur la croissance *in vitro* des souches de champignons phytopathogènes. Les six populations ont réagi positivement sur les souches fongiques ce qui confirme que la pulpe de *Zizyphus lotus* est douée des propriétés antifongiques. Cela est lié à la présence des substances actifs que contient la plante (Rojas et al., 1992). Ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins condensés, et ce qui est confirmé par Aziz et al. (1998) qui ont démontré que l'activité antibactérienne et antifongique du *Zizyphus lotus* semble être méditée par la teneur en composées phénoliques. Sisti et al. (2008) ont montré que les composés phénoliques sont actifs contre les micro-organismes pathogènes pour les humains et les animaux. Brown et Morra, (1997) et Nita-Lazar et al. (2004) ont suggéré que la synthèse des polyphénols est connue dans la physiologie de la plante pour faire défendre contre les micro-organismes phytopathogènes. Galvan et al. (2008) ont mentionné que les métabolites secondaires des plantes ont un grand potentiel comme agents antifongiques efficaces par l'altération des processus enzymatiques impliqués dans la production d'énergie et la synthèse des composants structuraux, cette destruction a été suggérée par l'affaiblissement ou la destruction de la barrière de perméabilité de la membrane cellulaire en modifiant l'état physiologique des cellules ou affectant la synthèse des acides nucléiques.

Tous les extraits étudiés ont montré une activité antifongique étendue contre tous les champignons testés. Cependant, l'extrait de Ghardaïa apparait le plus puissant suivi par

l'extrait d'El-Bayadh. En revanche l'extrait d'Ain Defla montre le pouvoir antifongique le plus faible. Comme ce dernier contient presque les mêmes quantités des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins que les extraits de Ghardaïa et d'El-Bayadh, on déduit que le pouvoir puissant des deux derniers extraits est lié aux conditions de l'environnement sachant que Ghardaïa et El-Bayadh se caractérisent par le climat désertiques et de steppes ou les conditions de l'environnement sont défavorables au développement de jujubier sauvage en provoquant un stress pour la plante. Ce genre de climat est caractérisé principalement par la sécheresse. Selon **Matos et al. (2014)**, les composés phénoliques sont synthétisés par la plante lors d'un signal ou un stress abiotique. Il est bien établi que l'accumulation des polyphénols dépend fortement des conditions de croissance, telles que la température. Un potentiel hydrique réduit affecte la transpiration et donc l'utilisation de l'eau dans la plante (**Selmar et Kleinwächter, 2013**) et par conséquent, les polyphénols seront concentrés et présentant une meilleure activité antifongique.

Conclusion



Conclusion

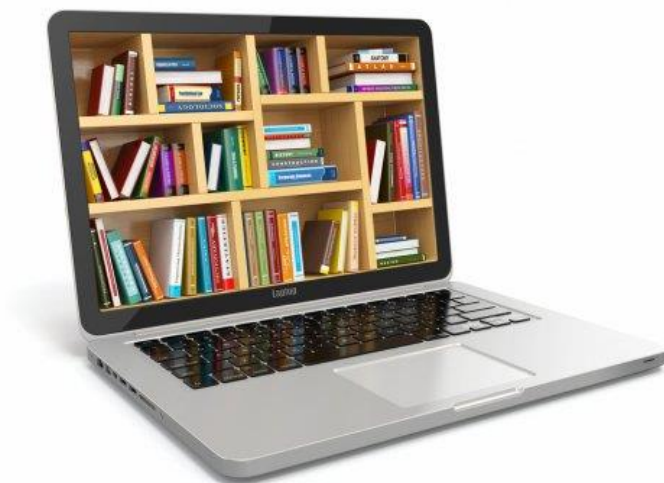
L'étude des activités biologiques *in vitro* des extraits aqueux des pulpes des fruits de *Zizyphus lotus*, nous a permis d'extraire des résultats curieux.

Les analyses qualitatives effectuées ont mis en évidence la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins condensés dans ces extraits. Quantitativement, l'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin ciocalteu révèle que nos extraits contiennent principalement des polyphénols à des concentrations dominantes. De même nous avons dosé les tanins par la méthode de n-butanol/HCl, et les flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃ se qui nous mène à remarquer leur présence dans les six extraits en proportions différentes.

Le test de l'activité antifongique des extraits, par la méthode de diffusion en milieu gélosé, a montré que les extraits testés sont actifs vis-à-vis toutes les souches fongiques. Cependant, il est à noter que la souche la plus sensible aux composés actifs était le *Fusarium* de blé, les résultats ont montré que l'extrait aqueux des fruits en provenance de Ghardaia présente une activité inhibitrice plus élevée par rapport aux autres extraits. Ces résultats sont encourageants et montrent que l'utilisation de *Zizyphus lotus*, comme antifongique, en milieux traditionnels est justifiée.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives et qu'elles devraient être abordées d'une manière plus profonde afin d'explorer son potentiel dans le traitement des maladies cryptogamiques.

Références bibliographiques



Références bibliographiques

- Ajouz S., 2009. Estimation du potentiel de résistance de *Boutrytis cineria* a des biofongicides. Thèse de doctorat, université d'AVIGNON Vancluse, 198 p
- Akroum S., 2011. Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. Page 47
- Ali-Rachedi F., Meraghin S., Touaibia N., Mesbah S. 2018. Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de société royale des sciences de liège*, 87 : 13-21.
- Amara M., Benabdeli K., 2017. A geobotanical study of *Zizyphus lotus* in the Naama région (south-western of Algeria). *Applied environmental and biological sciences*, 7(11) : 1-8.
- Asdrubal M., 2010. La défense des cultures. Editions Educagri, France. Pp : 81-83
- Aziz N.H., Farag S. E., Mousa L. A.A., et Abo-Zaid M. A. 1998. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*, 93: 43-54.
- Bakhtaoui F.Z., Lakmichi H., Megraud F., Chait A., et Gadhi C.E. A. 2014. Gastroprotective, anti-Helicobacter pylori and, antioxidant properties of Moroccan *Zizyphus lotus* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4 (10) : 81-87.
- Bale J.S, Van Lenteren J.C., et Bigler F., 2008. Biological control and sustainable food production. *PMC US National Library of Medicine*, 363: 761–776
- Benammar C., Hichami A., Youssoufou A., Simonin A.M., Belarbi M., Allali H., A Khan N., 2010. *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxydant activity and human T. cell proliferation. *BMC journal complementary and alternative medicine*, 10 (54) : 9p.
- Bentabet N., Boucherit K., Otmani Z. 2014. Composition chimique et activité antioxydant d'extrait organiques des racines de *Fredolia oretoioides* de la région de Bechar en Algérie. *Phytothérapie*, 10 : 1007-1098.
- Blancard D., 2009. Les maladies de la tomate, Édition Quae, Paris. Pp : 413-513.
- Blancard D., Lot H., Maissoneuve B., 2013. Maladies des salades. Édition INRA, France, pp : 219-275.
- Brown P.D., Morra M.J., 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate containing plants. *Advances in Agronomy*, 61: 167-231.

- Champagne J., et Legault A.M., 2007. Notre monde : l'univer, la terre, la météo, les océans. éditions Quebec Amerique inc, Canada, page 95.
- Cehma A., 2006. Catalogues des plantes spontanées du Sahara. Édition ECO-SYS, Algérie. p 123.
- Corbaz R., 1991. Principes de phytopathologies et de lutte contre les maladies des plantes. Édition presses polytechnique et universitaire romande, Suisse. Pp : 11-14.
- Cordier F.S., 1870. Les champignons de la France. Édition Rothschild J. éditeur librairie de la société botanique de France. Pp : 17-18.
- Couverchel J.F., 1839. Traité des fruits tant indigènes qu'exotique, Edition : Imprimerie et librairie de Bouchard-Huzard, Paris. Page 223
- Djemai S., 2009. Etude de l'activité biologiques des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. Memoir de Magister, Université El Hadj Lakhder, Batna. Page 25
- Ducreux G. 2002. Introduction à la botanique. Edition Belin, Paris. Page 5
- Ebrahimzadeh M.A., Pourmmorad F., et Hafezi S., 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology*, 32 : 43-49.
- El-Khateeb A., Elsherbiny A., Tadros K., Ali M., Hamed B., 2013. Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of Fruit Leaves Extracts on the Mycelial Growth of Fungal Plant Pathogens. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 4 :199-215
- Galvan I.J., Mir-Rashed N., Jessulat M., Atanya M., Golshani A. 2008. Antifungal and antioxidant activities of the phytomedicine *pipsissewa*, *Chimaphila umbellata*. *Phytochemistry* 69: 738-746.
- Grouzis M. et Le Floc'h E., 2003. Un arbre au désert : *Acacia Raddiana*. Editions IRD, Paris. Page : 191.
- Guillaume V., 2006. Mycologie, Edition de Boeck. Bruxelles. Pp : 39-43
- Hernández-Montiel L.G., Ochoa J. L., 2007. Fruit rot caused by *Penicillium Italicum* on Lemon (*Citrus aurantifolia*) in Colima, Mexico. *plant diseases*, 91(6) : 767 – 776.
- Hervé J., 2007. L'agriculture russe : Du Kolkhoze à l'hypermarché. Editions L'Harmattan , Paris. Page : 34
- Hopkins G. W. 2003. Physiologie végétale. Edition DE boeck superieur, Bruxelles. Page : 449.

- Houssinzadeh H. et Younssi H.M. 2002. Antinocicptive and anti-inflammatory effects of *Corcus sativus* L. stigma and petrol extracts in mice. *BMC pharmacology*. 2(7) :1-8.
- Hufty A., 2001. Introduction à la climatologie : le rayonnement et la température, l'atmosphère, l'eau, le climat et l'activité humaine. Edition Presses Université Laval, Canada. Page : 18.
- Le Houérou H.N. 1980. Les fourrages ligneux en Afrique. ILRI (AKA ILCA and ILRAD), Ethiopie. Pp : 233-237.
- Leroux P. et Credet A. 1978. Document sur l'étude de l'activité des fongicides. INRA, Versailles, France.
- Libbey J. 2010. Journées d'études sur la protection des végétaux dans le Sahel: premières Journées d'études sur la protection des végétaux dans le Sahel. Institut du Sahel, Bamako, Mali. Page : 6.
- López F.B., 1996. Erosion hydrique, désertification et aménagement dans l'environnement méditerranéen semi-aride. Université de Murcia, EDITUM, Espagne. Page : 157.
- Matos J., Bertodo L., Da Rosa L., Von Poser G. et Rech S. 2014. Stress induction of valuable secondary metabolites in *Hypericum polyanthemum* acclimatized plants. *South African Journal of Botany*, 94 :182-186
- Nita-Lazar M., Heyraud A., Gey C., Braccini I., Lienart Y.2004. Novel oligosaccharides isolated from *Fusarium oxysporum* L. rapidly induce PAL activity in Rubus cells. *Acta Biochim Pol.*, 51: 625-647.
- Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guérèr M. et Artaud J. 2004. Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierge. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique*, 965 : 169-196.
- Paquereau J. 2013. Au jardin des plantes de la bible botanique, symobes et usage.eddition sammel six, France. Page 314.
- Park H.J., et Cha H.C. 2003. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*, 7: 327-330.
- Potage M., Van Holt A., 2008. Utilisation des plantes par l'homme. *Universalis ensyclopedae*, 1 : 1-11.

- Poucet M., 1992. Les relations Sol-Végétation dans les steppes Sud-Algéroises. Éditions de l'office de la recherche scientifique et technique outre-mer, France. Page : 5.
- Quezel P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales. Edition : Centre national de la recherche, Paris, France, 565p.
- Rais C. , Lazraq A., Nechad I., Houhou M., El Harchali H., El Ghadraoui L., Meni Mahzoum A., Louahlia S. 2017. The biochemical and metabolic profiles of the leaves in *Ziziphus lotus* L. as a potential adaptive criterion to the environmental conditions. *Journal de Materials and Environmental Sciences*, 8-(5) : 1626-1633
- Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., et Mata R., 1992. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, 35 : 275-283.
- Rousselle P., Robert Y., Crosnier J.C., 1996. La Pomme de terre, production, amélioration, ennemies et maladies, utilisation. Edition ITPT, ITCF, INRA. Paris. Pp : 280-304.
- Roy J. 2014. Microbiologie des plantes en coussin des milieux alpins : influence des facteurs biotiques et abiotiques dans l'assemblage des communautés microbiennes. Thèse de docteur, université de greoble, France. P. 300
- Rsaissi N., El Kamili, Bencharki B., Hillali L., Bouhache M., 2013. Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube "*Ziziphus Lotus* (L.) Desf. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4(9) : 1521-1528
- Sampaio B.L., Edrada-Ebel R. et Batista Da Costa F. 2015. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. *Scientific Report Journal*, 11 (9) : 229-265.
- Scapini F., Boffa J.M., Casser L.F., Conrad E., Nardi M., 2009. Sustainable management of Mediterranean coastal fresh and transitional water bodies: a socio-economic and environmental analysis of changes and trends to enhance and sustain stakeholders benefits. Firenze University Press, Italie. Page : 199.
- Selmar D., Kleinwächter M., 2013. Stress Enhances the Synthesis of Secondary Plant Products: The Impact of Stress-Related Over-Reduction on the Accumulation of Natural Products. *Plant and Cell Physiology*, 54 (6) : 817-826
- Simon H., codaccioni P., Le cœur X., 1989. Produits des céréales à paille, Edition TEC et DOC Lavoisier. Paris. Pp: 172-180.

- Sisti M., De-Santi M., Fraternali D., Ninfali P., Scoccianti V., 2008. Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT - Food Science and Technology*, 41: 946-950.
- Souleymane A., 2016. Potentiel benefits of jujube (*Zizyphus lotus* L.) bioactive compounds for nutrition and health. *Journal of nutrition and metabolism*, 6:1-13 .
- Talbi H., Boumaza A., EL-mostapha K., Hilali A., 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physicochimique des extraits méthanoliques et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of materials and environmental sciences*, 6-(4) : 1111-1117.
- Yarou B.B., Silvie P., Komlan F.A., Mensah A., Alabi T., Verheggen F. et Francis F.2017. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Revue de Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 21 (4) : 288-304.
- Zouaoui R., Ksontini M. Ferchichi A., 2013. Effet de l'intensité de la contrainte hydrique sur la germination de *Zizyphus lotus* L. lam. des régions arides de la Tunisie. *Algerian journal of arid environment*, 3(1) : 35-49

Annexes



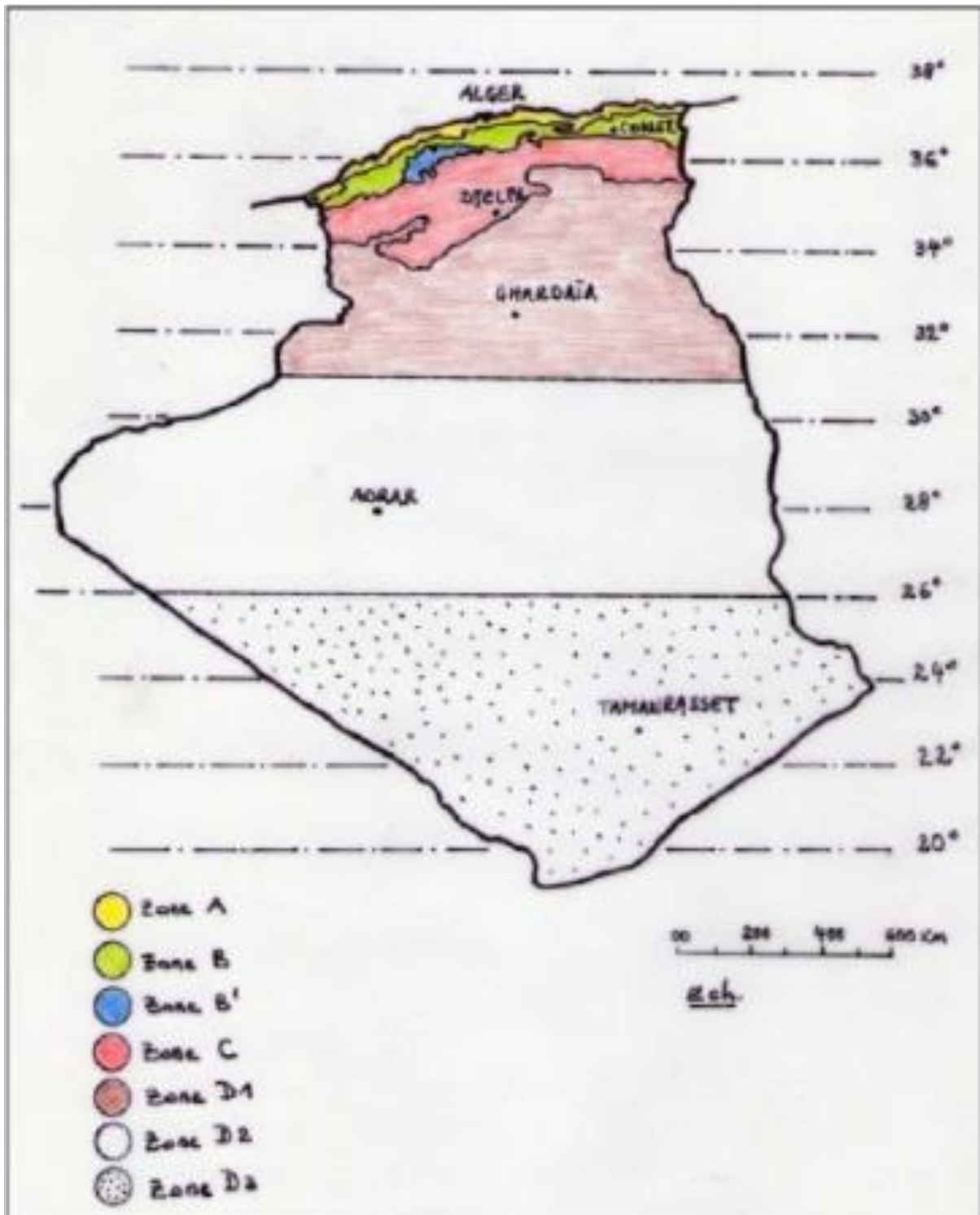
Annexe 01 : Photos descriptives du jujubier sauvage



L'arbuste de jujubier sauvage

(source: <http://seyilaabe-htkm.blogspot.com/2014/05/la-chronique-du-mardi-au-jardin.html>)

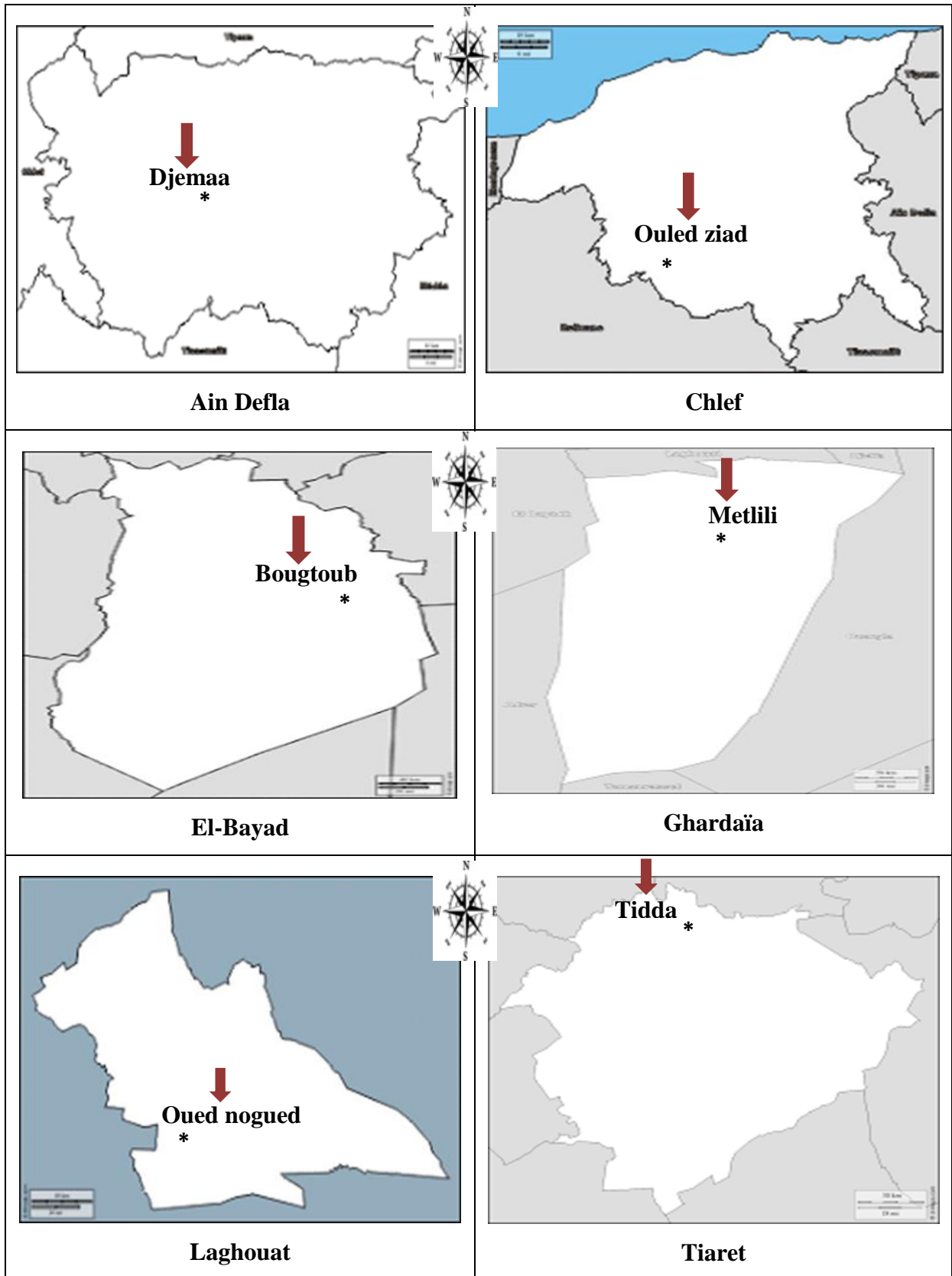
Annexe 02 : Climat de l'Algérie



Carte climatique de l'Algérie

(Source : <https://fr.scribd.com/doc/48480380/Donnees-climatiques-de-l-Algerie>)

Annexe 03 : Zones d'étude

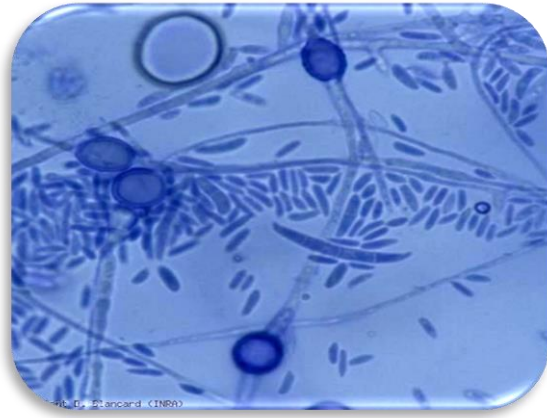


Annexe 04 : Aspect microscopique des souches étudiées



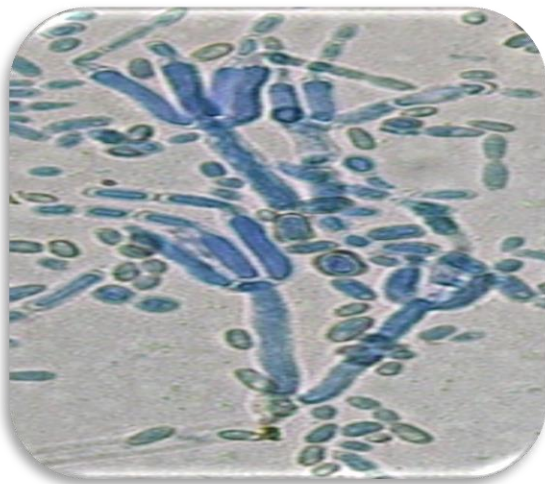
***Fusarium* de blé**

<http://eol.org/pages/6755365/details>

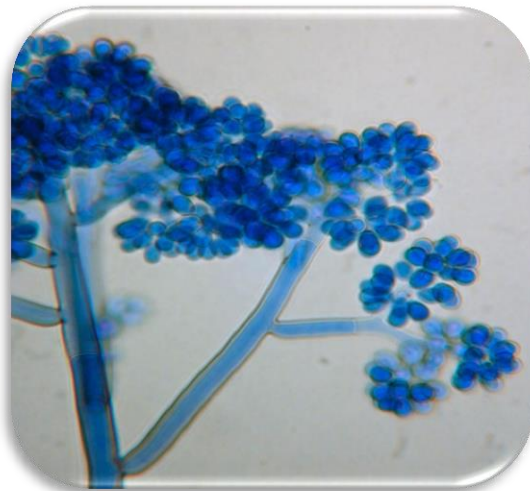


***Fusarium* de tomate**

<http://ephytia.inra.fr/fr/C/5217/Tomate-Biologie-epidemiologie>



***Penicillium* de citron**



***Bo trytis* de pomme de terre**

Source :

https://www.google.dz/search?rlz=1C1MSIM_enDZ671DZ671&biw

<https://www.pinterest.com/pin/774759942115581951/>

Résumé

Les extraits des plantes contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'effet des conditions de l'environnement sur le pouvoir antifongique des différents extraits préparés à partir de la pulpe des fruits de *Zizyphus lotus*, ces extraits ont été obtenus par macération.

L'analyse qualitative de ces extraits a révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, des flavonoïdes dans les extraits aqueux. L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits a révélé une puissante activité de l'extrait de Ghardaïa qui est responsable d'une forte inhibition de la croissance fongique. Cette activité est due aux conditions de stress qui provoquent la synthèse des composés phénoliques concentrés. La souche la plus résistante aux extraits aqueux est le *Fusarium* de tomate et la plus sensible est le *Fusarium* de blé.

Mots clés : jujubier sauvage, *Zizyphus lotus*, champignons phytopathogènes, pouvoir antifongique, composés phénoliques, extraits aqueux, les conditions de l'environnement.

Abstract

Plant extracts contain a variety of biologically active molecules. In this context we have tried to evaluate the effect of environmental conditions on the antifungal power of the various extracts prepared from the pulp of fruits of *Zizyphus lotus*. These extracts were obtained by maceration.

The qualitative analysis of these extracts revealed the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids in the aqueous extracts. The evaluation of the antifungal activity of the various extracts revealed a powerful activity of the extract of Ghardaia which showed the highest inhibition of fongic development. This activity is due to stress conditions which cause the synthesis of concentrated phenolic compounds. The most resistant strain is the tomato *Fusarium* and the sensible is the *Fusarium* of wheat.

Key words: wild jujube, *Zizyphus lotus*, phytopathogenic fungi, antifungal potency, phenolic compounds, aqueous extracts, environmental conditions

الملخص

المستخلصات الطبيعية المشتقة من النباتات تحتوي على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيا. في هذا السياق، حاولنا تقييم مدى تأثير الظروف البيئية على قدرة فاكهة نبات السدر في تثبيط نمو الفطريات. تم الحصول على هذه المستخلصات عن طريق النقع.

كشف التحليل النوعي لهذه المستخلصات عن وجود المركبات الفينولية والعفص والغالونويد. كما أظهر تقييم النشاط المضاد للفطريات للمستخلصات المختلفة نشاطا قويا لمستخلص غرداية المسؤول عن اكبر تثبيط لنمو الفطريات وهذا راجع الى ظروف المناخ الغير الملائمة التي تؤدي الى تصنيع مركبات فينولية مركزة. السلالة الأكثر مقاومة هي فيوزاريوم الطماطم و الأكثر حساسية هو فيوزاريوم القمح.

الكلمات المفتاحية: نبات السدر، *Zizyphus lotus*، فطر ممرض للنباتات، النشاط المضاد للفطريات، مركبات فينولية، مستخلصات مائية، ظروف بيئية

