

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل
Université Mohammed Seddik Ben Yahia - JIJEL -

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie
Département : Microbiologie
Appliquée et Sciences
Alimentaires



كلية: علوم الطبيعة و الحياة
قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم
التغذية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Alimentaires

Option : Agroalimentaire & Contrôle de Qualité

Thème

Amélioration de la conservation des tomates fraîches contre les altérations fongiques en utilisant les extraits aqueux de quelques plantes médicinales.

Membres du Jury :

Présidente : Mme DJABALI S.
Promotrice : Dr. AKROUM S.
Examinatrice : Mme BENHAMADA N.

Présenté par :

M^{elle} BENSELIMANE Soucene
M^{elle} BOUREGHDA Aicha

Année Universitaire : 2018-2019

Numéro d'ordre :

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le tout puissant et le miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience nécessaires pour terminer cette étude.

C'est un grand honneur et un grand plaisir de remercier le Dr. AKROUM pour sa patience, sa disponibilité et surtout pour ses conseils avisés et ses encouragements.

Cela a contribué à nourrir notre pensée.

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à madame DJABALI, qui nous fait l'honneur de présider le Jury.

Nous exprimons également nos remerciements à madame BENHAMADA pour avoir accepté d'examiner ce travail et apporter ses précieuses recommandations.

Nous tenons à remercier tous les enseignants de l'Université de Jijel pour la précieuse orientation éducative et culturelle qu'ils nous ont offerte durant ces années d'études.

Nos remerciements s'adressent aussi au personnel administratif, à tous les techniciens et ingénieurs de laboratoire et à tous ceux qui ont contribué, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Enfin, nous exprimons notre gratitude nos familles pour leur soutien, leurs encouragements et leur dévouement tout au long de notre parcours universitaire.

Merci à tous ...

Sommaire	Page
Liste des figures	
Liste des tableaux	
1. Introduction	1
2. Partie bibliographique	2
2.1. Définition de la tomate	2
2.2. Champignons responsables de l'altération des tomates	3
2.2.1. <i>Aspergillus</i>	3
2.2.2. <i>Botrytis</i>	4
2.2.3. <i>Rhizopus</i>	5
2.2.4. <i>Fusarium</i>	5
2.2.5. <i>Alternaria</i>	6
2.3. Facteurs qui favorisent l'altération des tomates	6
2.4. Inconvénients de l'altération fongique des tomates	7
2.4.1. Toxicité des mycotoxines pour l'homme	8
2.4.2. Perte économique	8
2.5. Utilisation des plantes médicinales pour lutter contre les champignons néfastes	9
2.5.1. Définition des plantes médicinales	9
2.5.2. Activité antifongique des plantes médicinales	10
3. Matériel et méthodes	11
3.1. Isolement et purification de moisissures d'altération des tomates fraîches	14
3.2. Identification des espèces fongiques	14
3.2.1. Identification macroscopique	14
3.2.2. Identification microscopique	14
3.3. Préparation des extraits aqueux des plantes	15
3.4. Test de l'activité antifongique <i>in vitro</i> des extraits végétaux	15
3.4.1. Méthode des puits	15

3.4.2. Méthode de contacte directe	15
3.5. Test de l'activité antifongique sur les tomates fraiches	16
4. Résultats	18
4.1. Résultats de l'isolement	18
4.2. Identification des espèces fongiques	21
4.3. Résultats de l'activité antifongique testée <i>in vitro</i>	26
4.3.1. Résultats de la méthode des puits	26
4.3.2. Résultats de la méthode de contacte directe.....	28
4.4. Résultats de l'activité antifongique des extraits sur les tomates fraiches.....	30
5. Discussion	33
6. Conclusion	36
7. Liste de références bibliographiques	37

Liste des figures

	Page
Figure 1 : Les différentes formes de la tomate.	2
Figure 2 : Altération de la tomate par <i>Aspergillus sp.</i>	3
Figure 3 : Altération de la tomate par <i>Botrytis cinerea.</i>	4
Figure 4 : Altération de la tomate par <i>Rhizopus stolonifer.</i>	5
Figure 5 : Altération de la tomate par <i>Fusarium oxysporum.</i>	5
Figure 6 : Altération de la tomate par <i>Alternaria sp.</i>	6
Figure 7 : Exemples de quelques plantes médicinales	10
Figure 8 : Exemples de quelques tomates infectées utilisées pour le prélèvement des moisissures.	13
Figure 9 : Exemples de deux tomates saines choisies pour l'inoculation.	17
Figure 10 : Aspect d'une tomate après l'infection.	17
Figure 11 : Aspect macroscopique de la moisissure 1 après 72 heures d'incubation.	18
Figure 12 : Aspect macroscopique de la moisissure 2 après 72 heures d'incubation.	19
Figure 13 : Aspect macroscopique de la moisissure 3 après 72 heures d'incubation.	19
Figure 14 : Aspect macroscopique de la moisissure 4.	19
Figure 15 : Aspect macroscopique de la moisissure 5 après 72 heures d'incubation.	20
Figure 16 : Aspect macroscopique de la moisissure 6 après 72 heures d'incubation.	20
Figure 17 : Aspect macroscopique de la moisissure 7 après 72 heures d'incubation.	21
Figure 18 : Aspect macroscopique de la moisissure 8 après 72 heures d'incubation.	21
Figure 19 : Aspect microscopique de la moisissure 1.	21
Figure 20 : Observation microscopique de la moisissure 2 au grossissement x 40.	22
Figure 21 : Observation microscopique de la moisissure 3 au grossissement x 40.	22
Figure 22 : Observation microscopique de la moisissure 4 au grossissement x 40.	23
Figure 23 : Observation microscopique de la moisissure 5 au grossissement x 40.	23

Figure 24 : Aspect de la moisissure 6.	24
Figure 25 : Observation microscopique de la moisissure 7 au grossissement x 40.	25
Figure 26 : Observation microscopique d'une tête aspergillaire au grossissement x 40.	25
Figure 27 : Exemple des zones d'inhibition obtenues pour <i>R. miehei</i>	27
Figure 28 : Les espèces sensibles à l'extrait du Romarin.	29
Figure 29 : Les résultats obtenus pour l'extrait du Romarin.	30
Figure 30 : Exemples de quelques résultats obtenus pour les extraits de la Lavande et de la Menthe.	31
Figure 31 : Exemples de quelques espèces résistantes à l'extrait de la lavande.	31

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1 : Les parties utilisées des plantes médicinales sélectionnées.....	12
Tableau 2 : Résultats de l'activité antifongique par la méthode des puits.....	26
Tableau 3 : Résultats de l'activité antifongique des extraits à une concentration de 0.3 mg / ml	28
Tableau 4 : Résultats de l'activité des extraits aqueux sur les tomates fraîches.....	29

1. Introduction

Les études les plus récentes, basée sur des enquêtes et statistiques précises dans différents pays ont montré que les pertes de fruits et légumes au niveau consommateur pour cause d'infection fongiques étaient estimées à une moyenne de 60 million de tonnes par an. Cette masse représentait 16 % de la nourriture arrivant chez le consommateur. Sur cette masse, 80 % d'aliments étaient considérés comme évitables ou potentiellement évitables en améliorant les conditions de conservation dans les foyers ; soit 47 millions de tonnes par an peuvent être épargnés (Zhang et *al.*, 2018).

Les principaux produits jetés étant les fruits et légumes, en particulier en raison de leur faible durée de vie. Les tomates étaient considérées comme étant l'un des produits les plus facilement altérable.

Les tomates sont des fruits rouges, appelés aussi fruits-légumes su fait de leur utilisation comme légumes. Elles représentent l'un des aliments végétaux les plus consommés par l'être humain. Et du fait de cette grande consommation, la culture de la tomate devient de plus en plus importante, et ce même à des périodes hors saison en utilisant les serres. Néanmoins, une fois cueillies, les tomates sont sujettes à différentes altérations fongiques qui empêchent l'être humain de les conserver plus de quelques jours. Parmi les moisissures les plus rencontrées dans l'altération des tomates fraîches, nous pouvons citer : *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria solani*, *Rhizopus stolonifer*, etc (Naika et *al.*., 2005).

Quelque soit la variété des tomates, ces espèces sont souvent présentes. En effet, elles ont été observées chez les tomates cerises, les tomates rondes, les tomates allongées, etc (Khan et *al.*, 2017).

Les conditions de stockage et de conservation des tomates fraîches jouent un rôle important dans l'apparition des altérations fongiques. Les principaux paramètres influençant étant l'humidité et la température de l'endroit où se trouvent ces tomates. Le développement des moisissures est fortement favorisé par une température optimale comprise entre 15 et 30°C et une humidité importante. Un autre paramètre important étant la présence d'aliments moisissus ou surfaces infectées à proximité des tomates. Ceci entraîne une altération très rapides, dans les heures qui suivent le stockage, en ce du fait que les mycètes sont très contagieux et ont un fort pouvoir de dissémination (Ayala et *al.*, 2008 ; Gourama et Bullerman, 1995 ; Gabriel et *al.*, 2017).

Dans ce travail, nous avons cherché un moyen simple qui pourrait diminuer ces détériorations et qui pourrait être facilement réalisé à la maison. Nous avons donc proposé l'utilisation des extraits aqueux bruts de différentes plantes médicinales connues dans notre région : le romarin, la lavande, la menthe, le thé vert et la magramane. Ces extraits ont été testés *in vitro* pour leur activité antifongique, puis appliqués sur des tomates fraîches que nous avons infectées par différentes moisissures.

2. Partie bibliographique

2.1. Définition de la tomate :

La tomate (*Solanum lycopersicon L.*) est l'un des fruits les plus consommés à l'échelle mondiale. Elle a différents aspects selon la variété de la plante, mais tous ces fruits, se caractérisent par une couleur rouge à l'état mature (Figure 1) et un goût acidulé, très recherché. En cuisine, ces fruits sont utilisés dans les différents mélanges de légumes, les salades, les sauces, les produits transformés, les conserves, etc. La popularité de la tomate est évidente du fait qu'elle est riche en phosphore, en calcium, en glucides et en vitamines A et C. Le système d'évaluation de la diversité et de la classification standardisée de cette plante repose sur plusieurs attributs morphologiques (poids, forme et couleur des fruits), ainsi que sur la qualité physico-chimique et sensorielle (goût, arôme), valeurs nutritionnelles, teneur en vitamine C, texture, dureté, pH et acidité (Kasim, et Kasim, 2015).

Selon leur formes, les tomates sont classées en quatre types commerciaux « tomates rondes », «tomates d'à côté », « tomates oblongues ou allongées », « Tomates cerises ou tomates cocktail ». (Khan et *al.*, 2017).

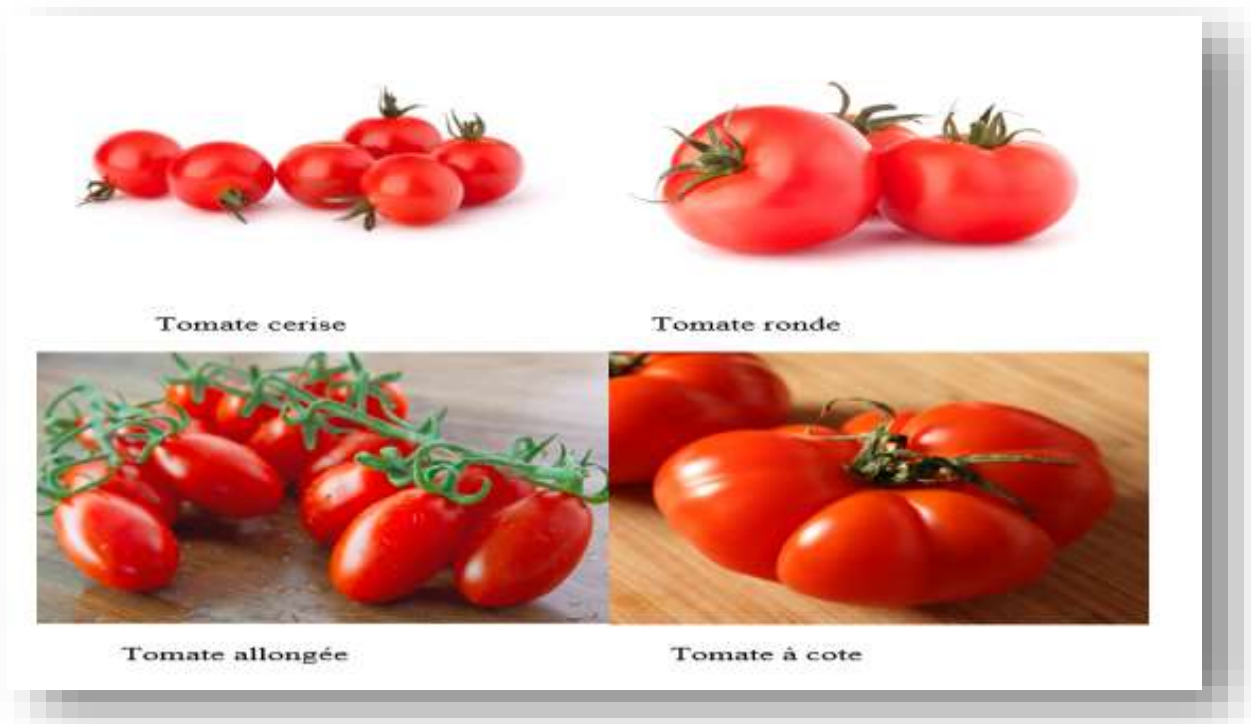


Figure 1 : Les différentes formes de la tomate.

Partie bibliographique

La classification de la tomate :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Solanales

Famille : Solanaceae

Genre : *Solanum L.*

Nom binominal : *Solanum lycopersicum L* (Heuvelink., 2018).

2.2. Champignons responsables de l'altération des tomates :

Plusieurs espèces fongiques sont connues pour altérer les tomates ; les plus fréquentes sont :

2.2.1. *Aspergillus* :

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux, imparfaits, appartenant à la classe des Deutéromycètes. Ils ont un mycélium qui se présente sous forme duveteuse. Le thalle présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores terminés en vésicules qui produisent des conidies en chainettes. Cette structure est dite « tête aspergillaire » et est la caractéristique principale de ce genre (Figure 2). Parmi les espèces responsables de l'altération des tomates nous avons *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger* (Goswami et *al.*, 2001).



Figure 2 : Altération de la tomate par *Aspergillus sp*
(Goswami et *al.*, 2001).

Partie bibliographique

2.2.2. *Botrytis* :

Le champignon *Botrytis cinerea* appartient à la classe des Deutéromycètes. Ce sont des champignons à mycélium cloisonné qui produisent plusieurs conidies sur le même endroit du thalle (Figure 3A). Ces dernières ont différentes formes et sont libérées par la suite séparément pour donner de nouveaux thalles.

Botrytis cinerea est responsable de la « pourriture grise » qui sévit sur plusieurs cultures d'intérêt agronomique majeur comme la vigne, le tournesol ou la tomate. Cette moisissure attaque les tomates à l'état mature, après la récolte (Figure 3B) (Benito et *al.*, 1998).

Au niveau de la tomate, *Botrytis cinerea* est connue pour les taches fantômes (ghost spot) qu'elle donne (Figure 3C). Ces dernières se traduisent par des anneaux blanchâtres, de plusieurs millimètres de diamètre, répartis à différents endroits sur le fruit. Ces altérations proviennent de spores présentes dans l'air. Elles surviennent surtout sur les fruits verts adultes produits sous abri et disparaissent plus ou moins à maturité (Figure 3D). Leur présence rend souvent les tomates non commercialisables (Hmouni et *al.*, 2003).

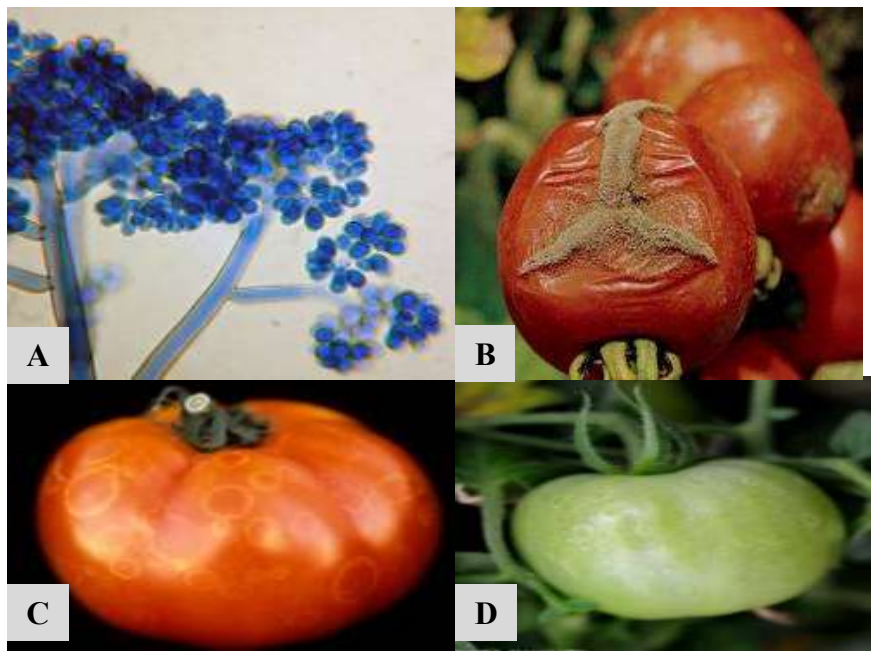


Figure 3 : Altération de la tomate par *Botrytis cinerea*
(Hmouni et *al.*, 2003 ; Benito et *al.*, 1998).

Partie bibliographique

2.2.3. *Rhizopus* :

Cette espèce est un Zygomycète appartenant à l'ordre des Mucorales. Elle forme sur la tomate altérée un mycélium sous forme de touffe laineuse ou cotonneuse, aérée, haute et blanche. Sous microscope, cette espèce affiche des filaments siphonnés portants des sporocystes volumineux et fixés aux substrats grâce à des rhizoïdes (Figure 4) (Hernandez et al. 2010 ; Samuel et al. 2017 ; Jin-Hyeuk et al. 2018).



Figure 4 : Altération de la tomate par *Rhizopus stolonifer*.

2.2.4. *Fusarium* :

F. oxysporum est un Deuteromycète caractérisé par un thalle septé et des spores fusiformes. Ce champignon est retrouvé sur de nombreuses plantes où il joue le rôle de parasite. Au niveau de la tomate, il cause un jaunissement des feuilles de bas en haut, une apparition de racines avortées, des tissus ligneux brun rougeâtre et surtout une décoloration jaune ou dorée les fruits n'ont pas leur brillance normale. Sous microscope, cette espèce se caractérise par des conidies fusiformes et des chlamydospores de résistance (Figure 5) (Charest et al., 1984).



Figure 5 : Altération de la tomate par *Fusarium oxysporum*.

2.2.5. *Alternaria* :

Ce sont des champignons filamenteux cosmopolites et ubiquistes. Sous microscopes les espèces de ce genre affichent un mycélium septé, généralement brun, et des conidiophores qui portent des conidies caractéristiques du genre. Elles sont simples ou ramifiées, avec des cloisonnements transversaux et longitudinaux. Sur la tomate, différentes espèces du genre *Alternaria* peuvent causer des altérations, notamment : *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima* et *Alternaria solani*. La pathologie causée est dite « alternariose ». Sur le fruit de tomate, elle est sous forme de taches noires, plus ou moins grandes, qui rendent la tomate non consommable (Figure 6) (Pastor et Guarro, 2008).



Figure 6 : Altération de la tomate par *Alternaria sp* ((Pastor et Guarro, 2008 ; Aveling et al .,1994)

2.3. Facteurs qui favorisent l'altération des tomates :

Plusieurs facteurs externes peuvent induire l'altération des tomates. En effet, les conditions où se trouvent les tomates jouent un rôle déterminant dans la présence, la croissance et le développement des spores en mycéliums sur ces fruits. Les principaux facteurs sont :

L'humidité : L'humidité du milieu permet les échanges entre aliments et hyphes. De ce fait, la présence de l'eau, même en faible taux, est importante pour initier le développement du champignon. Cette eau peut-être au sein de l'aliment ou dans son environnement. La plupart

Partie bibliographique

des fruits, étant assez riches en eau comme la tomate, représentent un milieu idéal pour le développement des moisissures (Ayala et *al.*, 2008 ; Gourama et Bullerman, 1995).

- Etat du fruit : L'état de la surface de la tomate est un facteur clé pour la fixation des moisissures : si la surface est endommagée, la moisissure aura plus de facilité à pénétrer le fruit et la croissance sera alors plus importante (Romanazzi et *al.*, 2016).

- La contamination du milieu extérieur : Les moisissures se reproduisent par formation de spores, qui se déplacent à travers l'air, et comme ces microorganismes sont présents partout, leur arrivée sur les fruits ou les légumes se fera facilement et entrainera de grandes contaminations.

Étant donné que la dissémination des spores et des moisissures est très rapide, la contamination d'un fruit provoque la contamination des autres, y compris les fruits et les légumes à proximité (Gabriel et *al.*, 2017).

- La variété génétique des tomates : Il existe différentes variétés de tomates : des types à chair fine facile à endommager par les champignons, des types à chair dure difficile à perforer, des types dont l'acidité est importante et donc intolérable pour les champignons, et des types à faible acidité. Les recherches entreprises à travers le monde ont permis l'obtention de toute une gamme de variétés de tomates, notamment hybrides, capables de résister à plusieurs moisissures à la fois (Causse et *al.*, 2000).

2.4. Inconvénients de l'altération fongique des tomates :

2.4.1. Toxicité des mycotoxines pour l'homme :

Les mycotoxines sont des métabolites toxiques produits par différentes espèces fongiques au cours de leur développement. La consommation régulière des tomates contaminées permet l'accumulation des toxines dans l'organisme et provoque donc l'apparition des troubles (Pavón Moreno et *al.*, 2012).

Comme exemples des mycotoxines, nous avons :

- L'ochratoxine A : qui est une toxine produite par les espèces d'*Aspergillus*, notamment *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*. Elle cause une cancérogénicité, des effets hématopoïétiques, une génotoxicité, une hépatotoxicité, une immunotoxicité et une tératogénicité (Periasamy et *al.*, 2016 ; Durand et *al.*, 2019).

Partie bibliographique

- Les aflatoxines sont des métabolites produits par des moisissures du genre *Aspergillus* et plus particulièrement *A. flavus* et *A. parasiticus*. Ces mycotoxines sont connues pour leur grande toxicité et leurs effets mutagéniques, tératogéniques et carcinogéniques (Bourais et al., 2006).
- La patuline : toxine produit par les espèces *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus* et *A. longivesica* et *A. pallidus*. Elle a des effets immunosuppresseurs par la diminution du nombre de lymphocytes du sang, et neurotoxique par la dégénérescence des neurones du cortex cérébral. Aussi, elle cause des hémorragies pulmonaires (Varga et al., 2007 ; Abruñhosa et al., 2016).
- Fumonisine : toxine produit par les espèces suivantes : *Fusarium verticillioides* et *Fusarium proliferatum*. Elle a des effets : cancérigènes, génitotoxiques, hépatotoxiques, immunotoxiques et néphrotoxiques (Sousa et al., 2014 ; Palacios et al., 2015).
- Trichothécène : cette toxine produite par les espèces suivantes : *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichoides*, *F. langesthiae*, *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. solani* et *F. equiseti*. Elle a des effets hématopoïétiques, génitotoxiques, immunotoxiques, neurotoxiques et néphrotoxiques (Shi et al., 2016 ; Sawinee et al., 2017).
- L'alternariol : cette toxine produite par *Alternaria alternata* et *Alternaria solani*. Elle a des effets cancérigènes : elle provoque le cancer de l'œsophage et une maladie hématologique (Pinto et Patriarca, 2017 ; Tiessen et al., 2017).

2.4.2. Perte économique :

La tomate est, après la pomme de terre, le légume-fruit le plus consommé pendant les quatre saisons dans le monde entier. Elle est consommée fraîche ou après transformation. Elle est cultivée sous toutes les latitudes dans des conditions très variées, sur une superficie d'environ trois millions d'hectares, ce qui représente près du tiers des surfaces mondiales consacrées aux légumes (Zhang et al., 2018).

Partie bibliographique

De nombreuses espèces des moisissures sont à l'origine des altérations des tomates crues dans le champ ou récoltées. Elles causent alors une perte majeure de ce fruit. En effet, une perte économique considérable (des hectares de culture) surtout pour le producteur d'un premier niveau et pour le distributeur, le transformateur, et le consommateur d'un deuxième niveau. La lutte contre ces moisissures requiert l'utilisation des antifongiques au niveau des champs et d'une bonne conservation dans des milieux de stockage exempts de risque de contamination (Gao et *al.*, 2018).

2.5. Utilisation des plantes médicinales pour lutter contre les champignons néfastes :

2.5.1. Définition des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont des espèces végétales qui poussent dans le monde entier. Elles possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. La partie utilisée pour le traitement peut être la tige, les feuilles, de l'écorce, les racines ou la plante entier ou les extraits de ces plantes (Gross et *al.*, 2019).

Parmi les plantes médicinales les plus utilisées par l'être humain, nous pouvons citer les exemples suivants :

- La lavande : elle est utilisée pour soulager les contractions musculaires. Cette plante possède aussi des propriétés antidépressives, antiseptiques, antibactériennes et antioxydantes (Massieau, 2018).
- La menthe : elle joue un rôle pour régler les troubles digestifs et soigner les infections bronchiques. C'est aussi un très bon remède pour les douleurs et les maux de tête liés à une mauvaise digestion (McKay, 2006).
- Le romarin : c'est un stimulant général, efficace contre les crampes digestives, les ballonnements, la constipation, etc. il est connu pour ses effets antioxydants, antimycosiques, antibactériens et antispasmodiques. Cette plante possède également des vertus diurétiques, réduit les risques de calculs rénaux ou de goutte et prévient les rhumatismes (Figure 7) (Pérez-sánchez et *al.*, 2019).



Figure 7 : Exemples de quelques plantes médicinales.

2.5.2. L'activité antifongique des plantes médicinales :

Les infections provoquées par les champignons *Aspergillus* ou les levures *Candida* qui sont appelées aussi les mycoses sont devenues un réel problème de santé publique. Elles sont de plus en plus difficiles à les inactiver et leurs fréquences sont en très forte progression.

Les détériorations des plantes provoquées par les champignons sont devenues un réel problème pour l'homme, que ce soit pour sa consommation personnelle ou pour son économie. Car effectivement ces altérations peuvent être à l'origine de la perte de plusieurs tonnes de produits destinés à l'alimentation.

Récemment, plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes médicinales, en particulier leurs pouvoirs antifongique, antibactérien et antioxydant. Ainsi par ces propriétés, les différents extraits de ces plantes ont été utilisés dans le domaine de conservation alimentaire, d'industrie des parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire.

L'activité antifongique des plantes est due aux composés phénoliques, alcaloïdes, saponines, tanins, stéroïdes, flavonoïdes, terpénoïdes, composés phénoliques et autres composés secondaires qu'elles contiennent (Sharma et al. 2016). Ces composés sont en effet des antimicrobiens très puissants et ce grâce à leur capacité à détruire la membrane cellulaire des microorganismes, à produire des intercalations dans l'ADN et à inhiber la synthèse des différentes enzymes microbiennes, (Rempe et al., 2017).

3. Matériel et méthodes

Objectif :

L'objectif de cette étude était de trouver un moyen de bio-conservation des tomates fraîches contre les moisissures qui pouvaient les altérer après leur récolte. Pour ce nous nous sommes intéressées aux extraits aqueux de différentes plantes médicinales : tout d'abord parce que les extraits aqueux sont faciles à préparer pour tout personne, même si elle ne dispose pas d'un laboratoire ; et aussi parce que les plantes médicinales sont connues pour avoir une bonne activité antimicrobienne et sont faciles à trouver.

Matériel utilisé :

Instruments et appareillages

- Bec bunsen.
- Boîtes de Pétri.
- Anse de platine.
- Lames.
- Lamelles.
- Pince.
- Verres à montre.
- Bain-marie.
- Etuve.
- Autoclave.
- Microscope optique à camera.
- Agitateur.
- Barreau magnétique.
- Becher.

Matériel et méthodes

- Pipettes Pasteur.
- Micropipettes.
- Seringues stériles.
- Pipettes graduées.
- Balance.
- Spatule.
- Ecouvillons.
- Papier filtre.

Milieux de culture et solutions utilisés :

- Gélose extrait de malt.
- Gélose Sabouraud.
- Alcool.
- Eau distillée.
- Eau distillée stérile.

Origine des plantes médicinales :

Les plantes médicinales ont été recueillies de la région d'El Milia et de l'université Mohammed Seddik Benyahia, à Jijel. Elles ont été identifiées au département de botanique de l'université des Frères Mentouri de Constantine. Avant leur utilisation, ces plantes ont été rincées avec de l'eau puis laissées pendant quelques jours jusqu'à ce qu'elles soient complètement sèches. Elles ont ensuite été broyées finement au laboratoire l'aide d'un mortier et d'un pilon, jusqu'à l'obtention d'une poudre. Les parties utilisées de chaque plante sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les parties utilisées des plantes médicinales sélectionnées.

Nom scientifique	Nom commun	Parties utilisées	Lieu de récolte
<i>Lavandula officinalis</i>	Lavande	Fleurs et feuilles	Université de Jijel
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	Feuilles	Université de Jijel
<i>Camelia sinensis</i>	Thé vert	feuilles	El Milia

Matériel et méthodes

<i>Mentha arvensis L</i>	Menthe	feuilles	El Milia
<i>Inula viscosa</i>	Magrammane	feuilles	El Milia

Origines des tomates :

Les tomates infectées ont été obtenues chez différents marchands de légumes de la région de Jijel et d'El Milia. Elles présentaient comme symptômes des tâches noires, blanches, brunes ou autres (Figure 8).

Avant leur utilisation, les tomates ont été nettoyées au laboratoire avec de l'eau distillée stérile, puis elles ont été rincées avec de l'alcool afin d'éliminer les microorganismes de l'air. Une fois l'alcool séchée, ces fruits étaient prêts à l'utilisation (Meena et *al.*, 2017).



Figure 8 : Exemples de quelques tomates infectées utilisées pour le prélèvement des moisissures.

3.1. Isolement et purification de moisissures d'altération des tomates fraîches :

Le prélèvement s'est fait au niveau des taches. Selon la localisation des altérations, nous avons utilisé une anse de platine stérile ou une pince stérile. L'ensemencement a été effectué par touche sur des boîtes de Pétri contenant la gélose à l'extrait de malt. L'incubation a duré 72 heures à 25°C (Meena et *al.*, 2017).

La purification de l'espèce s'est faite par plusieurs repiquages successifs sur les milieux Sabouraud ou extrait de malt, selon la disponibilité des milieux. Puis, l'ensemencement a été effectué à 25°C pendant 72 jours (Meena et *al.*, 2017).

3.2. Identification des espèces fongiques :

Les espèces purifiées ont été suivies durant leur culture afin de déterminer leurs caractéristiques culturales sur la gélose utilisée. Puis une caractérisation microscopique a été réalisée à l'état adulte des moisissures afin de déterminer les espèces.

3.2.1. Identification macroscopique :

L'examen de la culture sur le milieu gélosé a commencé après trois jours d'incubation à 25°C et a duré jusqu'à ce que la surface de la gélose soit entièrement recouverte du mycélium. L'examen permettait de déterminer les caractéristiques culturales suivantes : la vitesse de croissance, la texture et la couleur du thalle, la couleur au revers de la boîte, la présence ou l'absence d'exsudat et de sclérotés (Bessadat et *al.*, 2014 ; Meena et *al.*, 2017).

3.2.2. Identification microscopique :

Elle était réalisée par un prélèvement soigneux d'un petit morceau du mycélium à l'aide d'une anse de platine stérile. Le morceau était déposé sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique. Après un étalement très délicat, la lamelle était déposée sur la lame. L'observation s'est faite au microscopique aux grossissements x10 et x40. Les caractéristiques recherchées étaient : le type de thalle (septé ou siphonné, ramifié ou linéaire, etc.), le type de cellules de reproduction (spores, conidies, dictyospores ou autres), leur disposition, le type des cellules de reproduction, la couleur et l'ornementation de toutes les structures (Botton et *al.*, 1990 ; Bessadat et *al.*, 2014).

3.3. Préparation des extraits aqueux des plantes :

Les extraits ont été préparés selon la méthode de Marston et Hostettmann (2006) modifiée : Les plantes séchées et broyées en été soumises à une macération dans l'eau distillée à raison de 1 g de matière sèche par 2 ml d'eau. Cette macération a duré 30 minutes sous agitation. Une fois filtré à l'aide du papier filtre, l'extrait obtenu était de couleur verte ou brune selon la plante utilisée. Cet extrait était évaporé à sec dans un rotavapor à 50°C, puis repris dans de l'eau distillée stérile à raison de 1 mg / ml (matière extraite / eau).

Avant leur utilisation, les extraits étaient conservés au réfrigérateur afin d'éviter leur dénaturation.

3.4. Test de l'activité antifongique *in vitro* des extraits végétaux :

L'activité antifongique *in vitro* a été testée selon deux méthodes :

3.4.1. Méthode des puits :

Cette méthode permettait d'observer si les extraits aqueux avaient une activité antifongique à différentes concentrations. Pour la réaliser, nous avonsensemencé des boîtes de Pétri contenant la gélose Sabouraud par écouvillonnage. Puis, nous avons formé des puits à la surface de la gélose avec l'extrémité large d'une pipette Pasteur flambée au bec bunsen. Les puits obtenus avaient un diamètre de 5 mm et une bordure nette. La pipette Pasteur a été utilisée à défaut de l'emporte-pièces qui n'était pas disponible au laboratoire.

Les extraits aqueux ont été déposés dans les puits à l'aide de micropipettes ou de seringues stériles avec les mesures suivantes : 0.05 mg /ml, 0.10 mg/ml et 0.15 mg/ml. Les boîtes ont ensuite été incubées à 25°C pendant 72 heures (Balouiri et *al.*, 2016). Pour chaque concentration, nous avons refait l'expérience deux fois (deux répétitions). Les résultats étaient déterminés en calculant la moyenne et l'écart type pour chaque concentration.

Afin de vérifier l'efficacité de cette méthode, nous avons rempli des puits avec les mêmes volumes d'alcool à 90 % (témoin positif). Et aussi avec les mêmes volumes d'eau distillée stérile (témoin négatif).

3.4.2. La méthode de contact directe:

Cette méthode permettait de connaître et de comparer l'activité des extraits à concentration fixe.

Matériel et méthodes

Dans une boîte de Pétri, nous avons déposé 0.3 mg/ml de l'extrait testé, puis nous avons coulé une fine couche de gélose à l'Extrait de Malt. Après avoir mélangé les boîtes manuellement, nous avons laissé la gélose se solidifier près du bec bunsen, puis nous avonsensemencé la surface de la gélose par les moisissures. Cet ensemencement s'est fait par touche à l'aide l'anse de platine. L'incubation s'est faite à 25°C pendant 72 heures (Cheruiyot et *al.*, 2015).

Comme témoin négatif de cette méthode, nous avons utilisé 0.3 ml d'eau distillée stérile et comme témoin positif, 0.3 ml d'alcool 90 %.

Comme pour l'expérience précédente, deux répétitions ont été réalisées et les résultats étaient obtenus en calculant les moyennes et les écarts types.

3.4. Test de l'activité antifongique sur les tomates fraîches :

Pour tester cette activité, nous avons choisi des tomates fraîches parfaitement saines (Figure 9). Ces tomates étaient rincées à l'eau distillée, nettoyées avec de l'alcool, puis rincées une seconde fois à l'eau distillée stérile afin d'éliminer toute trace d'alcool. Une fois sèches, les tomates étaient essuyées avec un coton imbibé convenablement de l'extrait testé (dans un disque de coton de 3 cm de diamètres, 5 mg/ml d'extrait étaient déposés). A l'aide d'une anse de platine, nous avons effectué des trous sur la surface des tomates, et nous y avons déposé les moisissures pathogènes (Figure 10). Les tomates étaient ensuite mises dans l'étuve pendant 72 heures, à 25°C (Sajad et *al.*, 2017).

Pour chaque moisissure, l'expérience a été refaite trois fois et les résultats étaient exprimés en présence ou absence de croissance fongique. Comme témoin positif, nous avons essuyé les tomates avant l'inoculation avec un coton imbibé d'alcool à 90 % ; et comme témoin négatif, nous avons utilisé un coton imbibé d'eau distillée stérile.



Figure 9 : Exemples de deux tomates saines choisies pour l'inoculation.

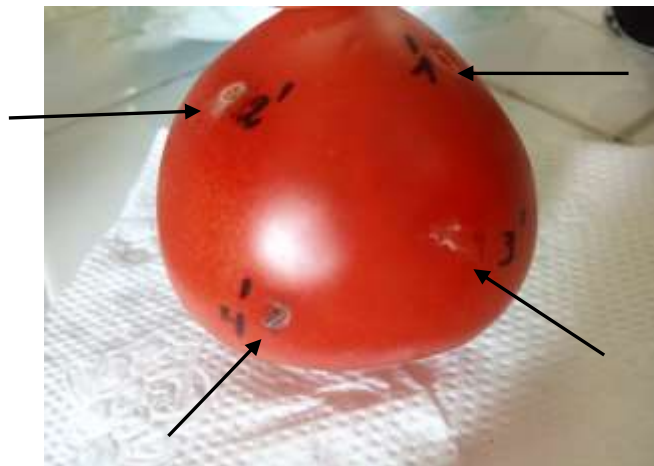


Figure 10 : Aspect d'une tomate après l'infection.

Les flèches noires représentaient les endroits où les moisissures ont été inoculées.

4. Résultats

4.1. Résultats de l'isolement :

L'isolement des moisissures à partir de la tomate nous a permis d'avoir plusieurs mycéliums différents (Figure 8). Après repiquage, nous avons réussi à purifier 8 espèces qui avaient les caractéristiques suivantes :

- **Moisissure 1** : elle se présentait sous forme de mycélium aéré, laineux et beige. Les sporocystes étaient sous forme de points blancs au départ, puis devenaient gris noirs par la suite (Figure 11).

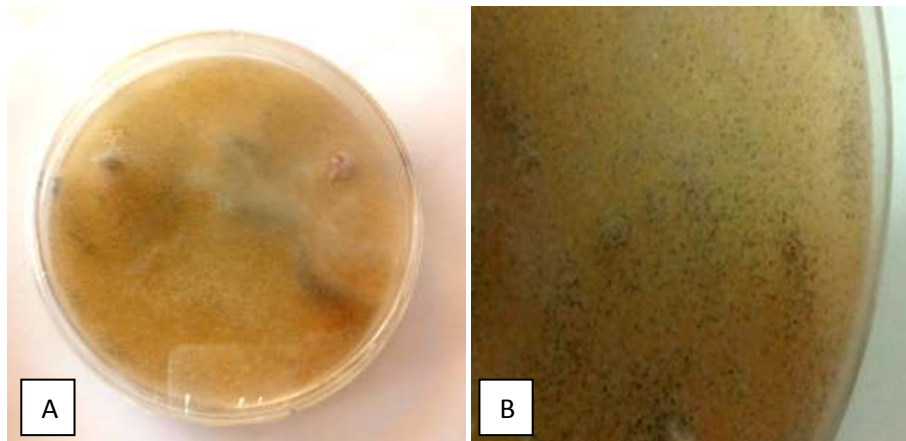


Figure 11 : Aspect macroscopique de la moisissure 1 après 72 heures d'incubation.

A : aspect de toute la boîte. B : grossissement d'une partie de la boîte.

- **Moisissure 2** : elle avait un mycélium cotonneux, blanc au début, puis gris. Il avait un centre relevé, de couleur gris foncé (Figure 12).



Figure 12 : Aspect macroscopique de la moisissure 2 après 72 heures d'incubation.

- **Moisissure 3 :** elle avait un aspect poudreux, jaune avec des points noirs. Le mycélium était radié dès le début de la croissance (Figure 13).



Figure 13 : Aspect macroscopique de la moisissure 3 après 72 heures d'incubation.

- **Moisissure 4 :** elle avait un mycélium très aplati, cotonneux, avec des sclérotés globuleux ou ovoïdes noirs (Figure 14).

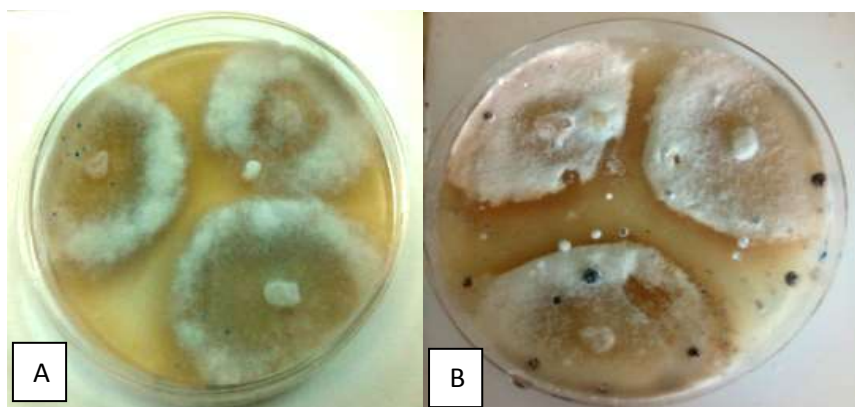


Figure 14 : Aspect macroscopique de la moisissure 4.

- A : aspect avant l'apparition des sclérotés (48 heures d'incubation). B : aspect après l'apparition des sclérotés (72 heures d'incubation).

- **Moisissure 5** : elle avait un aspect aplati, poudreux, blanc neige et une croissance très rapide (Figure 15).
- **Moisissure 6** : cette espèce avait une croissance très rapide qui a recouvert toute la surface de la boîte après deux jours d'incubation. Le mycélium était au début blanc, puis est devenu vert. Il était duveteux et aplati (Figure 16).



Figure 15 : Aspect macroscopique de la moisissure 5 après 72 heures d'incubation.



Figure 16 : Aspect macroscopique de la moisissure 6 après 72 heures d'incubation.

- **Moisissure 7** : elle a montré un mycélium vert clair, cotonneux, avec un centre vert foncé à noir. La croissance de cette espèce était moyenne (Figure 17).
- **Moisissure 8** : elle avait un aspect cotonneux, blanc et poudré de noir. Le thalle était aplati et avait une croissance moyenne (Figure 18).

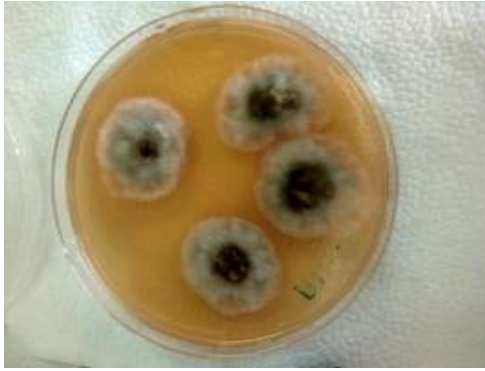


Figure 17 : Aspect macroscopique de la moisissure 7 après 72 heures d'incubation.



Figure 18 : Aspect macroscopique de la moisissure 8 après 72 heures d'incubation.

4.2. Identification des espèces fongiques

Les moisissures isolées ont été identifiées comme suit :

- La moisissure 1 :

En plus des caractéristiques macroscopiques citées auparavant, la moisissure affichait sous microscope un thalle siphonné, fixé avec des rhizoïdes et produisant de grandes spores ovoïdes à partir des sporocystes. Les sporophores étaient ramifiés et se terminaient par des columelles très petites (Figure 19). Ces caractéristiques indiquaient l'espèce *Rhizomucor miehei*.

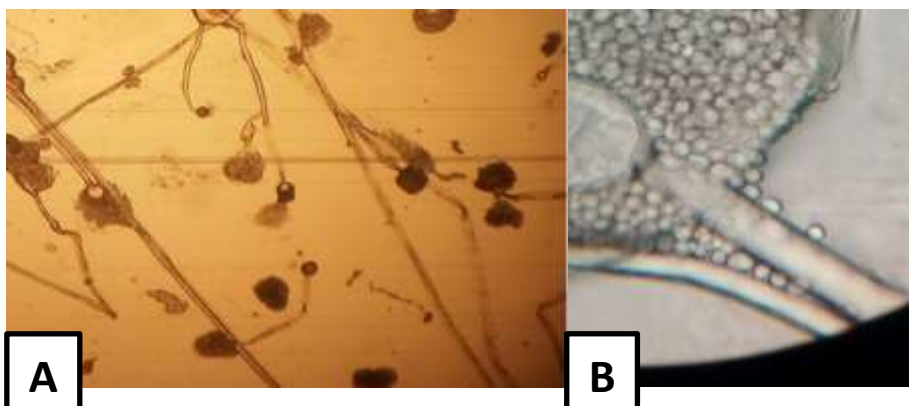


Figure 19 : Aspect microscopique de la moisissure 1.

A : observation microscopique du thalle au grossissement x 4. B : observation microscopique du sporocyste au grossissement x 40.

Résultats

- La moisissure 2 :

La moisissure avait un mycélium septé, tortueux qui produisait des conidies triangulaire ou en forme de gouttes. Ces conidies étaient produites en bouquet par bourgeonnement à partir du thalle. Elles avaient une paroi épaisse et n'étaient pas ornementées (Figure 20)



Figure 20 : Observation microscopique de la moisissure 2 au grossissement x 40.

L'observation microscopique de cette espèce, en plus de l'observation macroscopique citée dans les résultats de l'isolement et de la purification, indiquaient qu'il s'agissait de *Botrytis cinerea*.

- La moisissure 3 :

Cette espèce avait un thalle jaune poudré de noir et un revers jaune à beige. Sous microscope, nous avons observé un cleistothèque (sporocyste) marron orangé, globuleux, qui portait des asques allongés bien distincts et contenait une columelle arrondie à l'intérieur. Les spores étaient globuleuses, marron et séparés (non en chainettes). Le mycélium de cette espèce était septé, fin et de couleur beige à jaune (Figure 21). Cette espèce correspondait à *Eurotium herbariorum*.



Figure 21 : Observation microscopique de la moisissure 3 au grossissement x 40.

- La moisissure 4 :

La moisissure 4 avait un thalle septé, très ramifié, enchevêtré et une absence complète de cellule de reproduction. Le thalle pouvait être de grande taille ou au contraire très fin (Figure 22). La présence des sclérotés dans les boîtes de pétri après 3 jours d'incubation (Figure 14), nous a permis d'identifier cette espèce comme étant : *Sclerotinia sclerotiorum*.

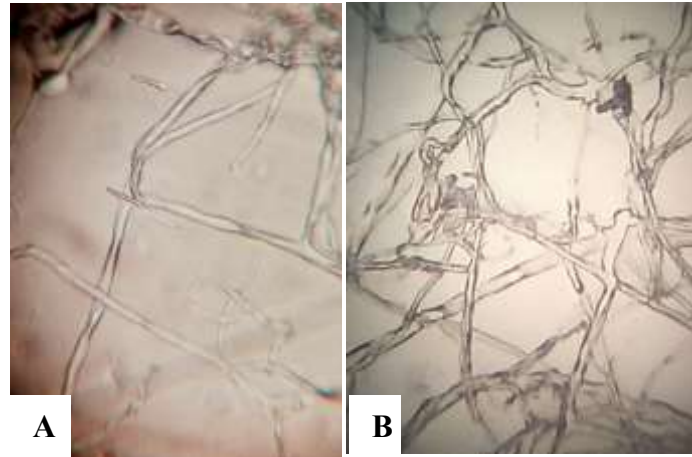


Figure 22 : Observation microscopique de la moisissure 4 au grossissement x 40.

A : mycélium fin. B : mycélium épais et enchevêtré.

- moisissure 5 :

Sur la boîte de Pétri, cette espèce affichait un thalle blanc aplati et un revers jaune. Sous microscope, le mycélium était hyalin, septé et se fragmentait pour donner des arthrospores de forme cubique ou rectangulaire. Aucune autre structure n'était observée. Le mycélium et les arthrospores n'avaient pas d'ornementation (Figure 23). Cette espèce était identifiée comme étant *Geotrichum candidum*.



Figure 23 : Observation microscopique de la moisissure 5 au grossissement x 40.

- La moisissure 6 :

Comme ça a été décrit auparavant, le mycélium de cette espèce était blanc au début, puis devenait vert, poudreux. Au revers de la boîte, la couleur était beige. L'observation microscopique a montré que cette moisissure avait des pénicilles asymétriques verts qui contenaient des métules cylindriques et des phialides en forme de bouteille. Les conidies étaient rondes ou ovoïdes et étaient disposées en chaînettes assez longues (Figure 24). Cette était *Penicillium chrysogenum*.

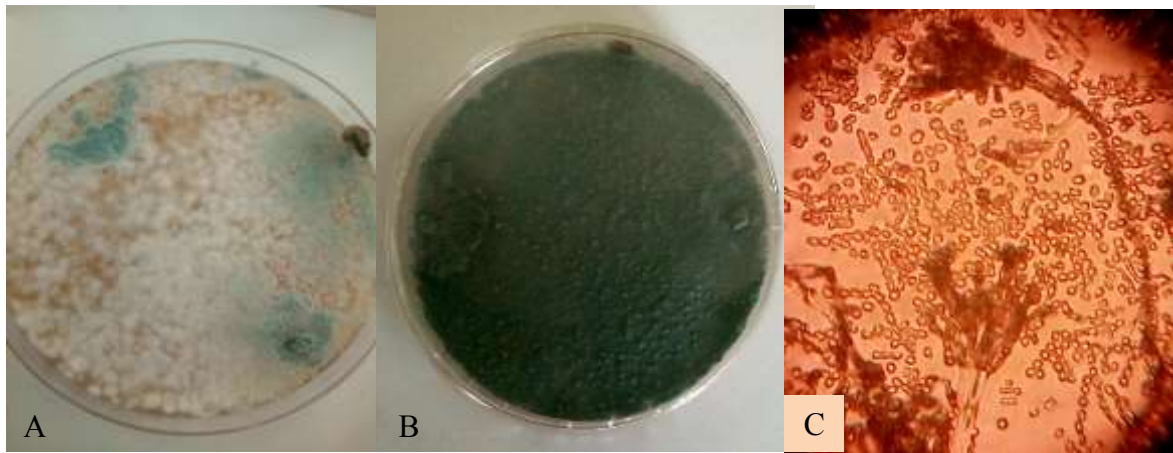


Figure 24 : Aspect de la moisissure 6.

A : aspect du mycélium jeune (48 heures d'incubation). B : aspect du mycélium âgé (à partir de 72 heures d'incubation). C : observation microscopique au grossissement x 40.

- La moisissure 7 :

Sous microscope, la moisissure 7 était formée d'un mycélium brun-jaunâtre, septé, très ramifié et de dictyospores disposées en chaînettes longues. Ces spores étaient septées longitudinalement et verticalement et étaient fortement ornementées (Figure 25). En prenant en compte cette observation en plus des caractéristiques macroscopiques citées auparavant, cette espèce correspondait parfaitement à *Alternaria alternata*.

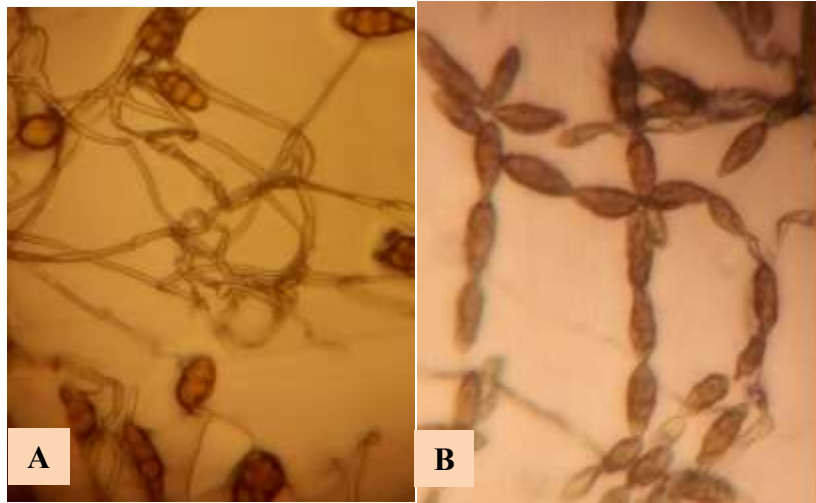


Figure 25 : Observation microscopique de la moisissure 7 au grossissement x 40.

A : aspect du mycélium. B : aspect des dictyospores.

- **La moisissure 8 :**

La moisissure 8 avait un thalle septé et des têtes aspergillaires marron à noires, globuleuses, bisériées, surmontées de conidies en chainettes. Ces dernières étaient globuleuses, ornementées, de couleur marron (Figure 26). La moisissure était identifiée comme étant *Aspergillus niger*.

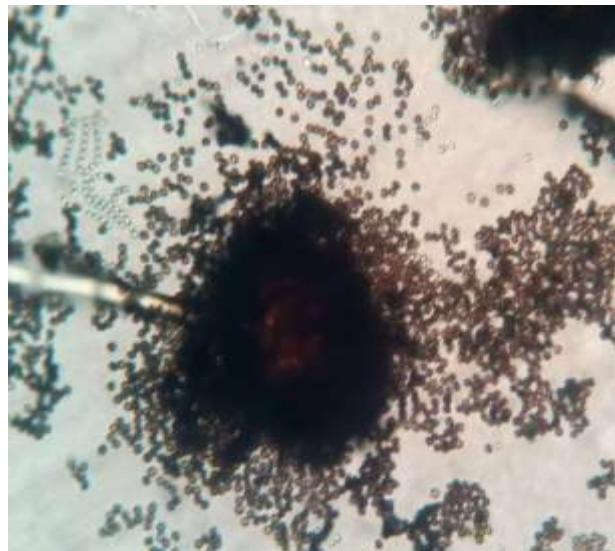


Figure 26 : Observation microscopique d'une tête aspergillaire au grossissement x 40.

Résultats

4.3. Résultats de l'activité antifongique testée *in vitro* :

4.3.1. Résultats de la méthode des puits :

L'activité antifongique testée par la méthode des puits a démontré que les espèces les plus sensibles à l'extrait aqueux du romarin étaient : *E. herbariorum*, *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *S. sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei* (Tableau 2).

Pour l'extrait aqueux du thé, c'étaient les espèces : *B. cinerea*, *A. alternata*, *S. sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei*.

Les extraits de la lavande et de la menthe avaient une activité contre *Rhizomucor miehei* et *Aspergillus niger* seulement, et celui de la magramane, une activité contre ces deux espèces en plus d'*Alternaria alternata*.

Les extraits les plus actifs sur les espèces testées étaient donc celui du romarin et celui du thé. En revanche la lavande et la menthe étaient les extraits les moins actifs.

Tableau 2 : Résultats de l'activité antifongique par la méthode des puits (exprimés en cm).

C : concentration de l'extrait. NT : non testé.

Extrait Espèce	C	romarin	thé	lavande	menthe	magramane	Eau distillée	Alcool 90 %
<i>Eurotium herbariorum</i>	0.05	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	1.00±0.15
	0.10	1.05±0.03	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
	0.15	1.35±0.17	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.05	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	0.90±0.10
	0.10	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	2.30±0.05
	0.15	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	2.90±0.15
<i>Botrytis cinerea</i>	0.05	1.10±0.07	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
	0.10	1.90±0.07	1.30±0.14	00±00	00±00	00±00	00±00	NT

Résultats

	0.15	2.15±0.10	1.65±0.24	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
<i>Alternaria alternata</i>	0.05	00±00	1.05±0.10	00±00	00±00	1.05±0.10	00±00	1.50±0.21
	0.10	00±00	1.40±0.14	00±00	00±00	1.40±0.14	00±00	2.00±0.10
	0.15	1.65±0.10	1.85±0.10	00±00	00±00	1.85±0.10	00±00	2.30±0.12
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.05	00.00	00.00	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
	0.10	1.75±0.10	00.00	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
	0.15	2.05±0.24	2.90±0.28	00±00	00±00	00±00	00±00	NT
<i>Aspergillus niger</i>	0.05	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	0.70±0.21
	0.10	00±00	00±00	00±00	1.85±0.03	00±00	00±00	1.95±0.14
	0.15	00±00	00±00	2.55±0.03	2.30±0.14	2.00±0.14	00±00	2.65±0.14
<i>Geotrichum candidum</i>	0.05	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	0.70±0.10
	0.10	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	1.30±0.25
	0.15	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	2.90±0.15
<i>Rhizomucor miehei</i>	0.05	00±00	1.90±0.42	00±00	00±00	1.40±0.21	00±00	NT
	0.10	1.05±0.10	2.20±0.14	1.85±0.10	00±00	2.10±0.07	00±00	NT
	0.15	1.85±0.10	2.50±0.28	2.20±0.14	2.70±0.14	2.95±0.38	00±00	NT

Rhizomucor miehei s'était avérée comme étant une espèce sensible à tous les extraits (Figure 27), suivie d'*Aspergillus niger* et *Alternaria alternata*. *G. candidum* était au contraire une espèce résistante à tous les extraits. En effet, aucune zone d'inhibition n'a été obtenue pour cette espèce.



Figure 27 : Exemple des zones d'inhibition obtenues pour *R. miehei*.

Résultats

4.3.2. Résultats de la méthode contacte directe :

A concentration fixe, nous avons remarqué que les extraits de la lavande et de la menthe avaient une activité sur sept espèces. Ils se sont donc avérés comme étant les moins actifs (Tableau 3). Les extraits du romarin et du thé étaient au contraire les plus actifs, car ils avaient entièrement inhibé *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *S. sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei*. L'extrait du romarin avait inhibé en plus *E. herbariorum* (Figure 28).

L'espèce *Rhizomucor miehei* était la plus sensible à tous les extraits quand leur concentration était de 0.3 mg / ml, suivie de *Alternaria alternata* qui était sensible à trois extraits, puis *B. cinerea* et *S. sclerotiorum* qui étaient sensibles à deux extraits. Les autres espèces étaient résistantes à tous les extraits.

Tableau 3 : Résultats de l'activité antifongique des extraits à une concentration de 0.3 mg / ml (exprimés en cm).

En gras : inhibition totale de la croissance mycélienne.

Extrait \ Espèce	Romarin	Thé	Lavande	Menthe	Magramane	Eau distillée	Alcool 90 %
<i>Eurotium herbariorum</i>	00±00	1.45±0.10	2.15±0.10	1.55±0.10	1.65±0.10	3.12±0.10	00±00
<i>Penicillium chrysogenum</i>	1.6±0.14	1.4±0.21	1.45±0.03	1.05±0.03	1.5±0.07	1.9±0.05	00±00
<i>Botrytis cinerea</i>	00±00	00±00	1.55±0.03	1.80±0.14	1.70±0.14	2.00±0.10	00±00
<i>Alternaria alternata</i>	00±00	00±00	1.70±0.14	1.00±0.07	00±00	2.00±0.05	00±00
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	00±00	00±00	1.80±0.4	1.45±0.17	1.65±0.38	2.20±0.15	00±00
<i>Aspergillus niger</i>	1.1±0.14	1.50±0.14	3.1±0.07	1.2±0.07	2.70±0.07	3.40±0.10	00±00
<i>Geotrichum candidum</i>	1.65±0.10	1.20±0.14	2.05±0.10	1.27±0.15	2.65±0.07	3.00±0.10	00±00
<i>Rhizomucor miehei</i>	00±00	00±00	00±00	00±00	00±00	2.10±0.10	00±00

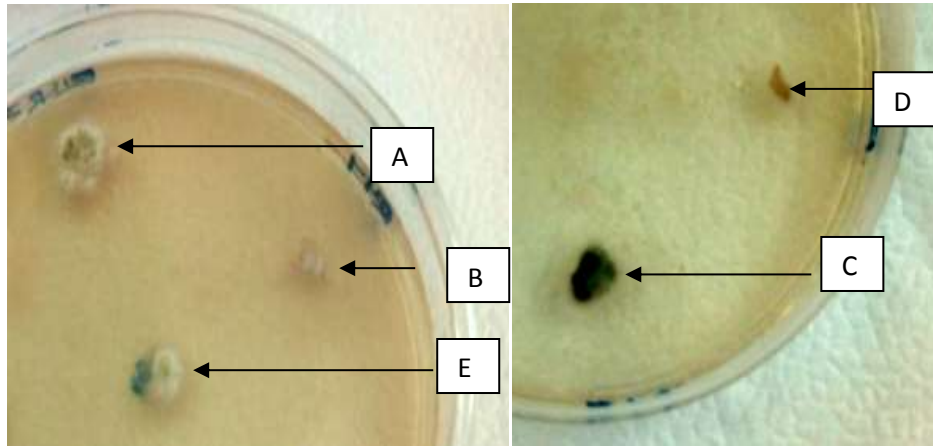


Figure 28 : Les espèces sensibles à l'extrait du romarin.

A: *E. herbariorum*. B: *B. cinerea*. C : *Alternaria alternata*. D : *S. sclerotiorum*. E : *Rhizomucor miehei*.

4.4. Résultats de l'activité antifongique des extraits sur les tomates fraîches :

Les résultats de cette activité étaient exprimés en présence et en absence de croissance. Ils ont été rapportés dans le tableau 4.

L'extrait du romarin était actif sur *E. herbariorum*, *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *S. sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei*. Il était de ce fait considéré comme étant le plus efficace contre les espèces testées (Figure 29). L'extrait du thé a donné de très bons résultats aussi en inhibant quatre espèces : *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *S. sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei*. Les extraits les moins actifs étaient ceux de la lavande et de la menthe (Figure 30).

Les résultats ont démontré que *P. chrysogenum*, *Aspergillus niger* et *G. candidum* étaient résistantes à tous les extraits ; et que *E. herbariorum* était sensible à l'extrait du romarin seulement. D'un autre côté, *Rhizomucor miehei* était l'espèce la plus sensible, car elle avait une absence de croissance en présence de tous les extraits.

Tableau 4 : Résultats de l'activité des extraits aqueux sur les tomates fraîches.

+ : présence de l'activité antifongique, - : absence de l'activité antifongique.

Résultats

Extrait Espèce	Romarin	Thé	Lavande	Menthe	Magramane	Eau distillée	Alcool 90 %
<i>Eurotium herbariorum</i>	+	-	-	-	-	-	+
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Botrytis cinerea</i>	+	+	-	-	-	-	+
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	-	-	+	-	+
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	+	+	-	-	-	-	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Geotrichum candidum</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhizomucor miehei</i>	+	+	+	+	-	-	+

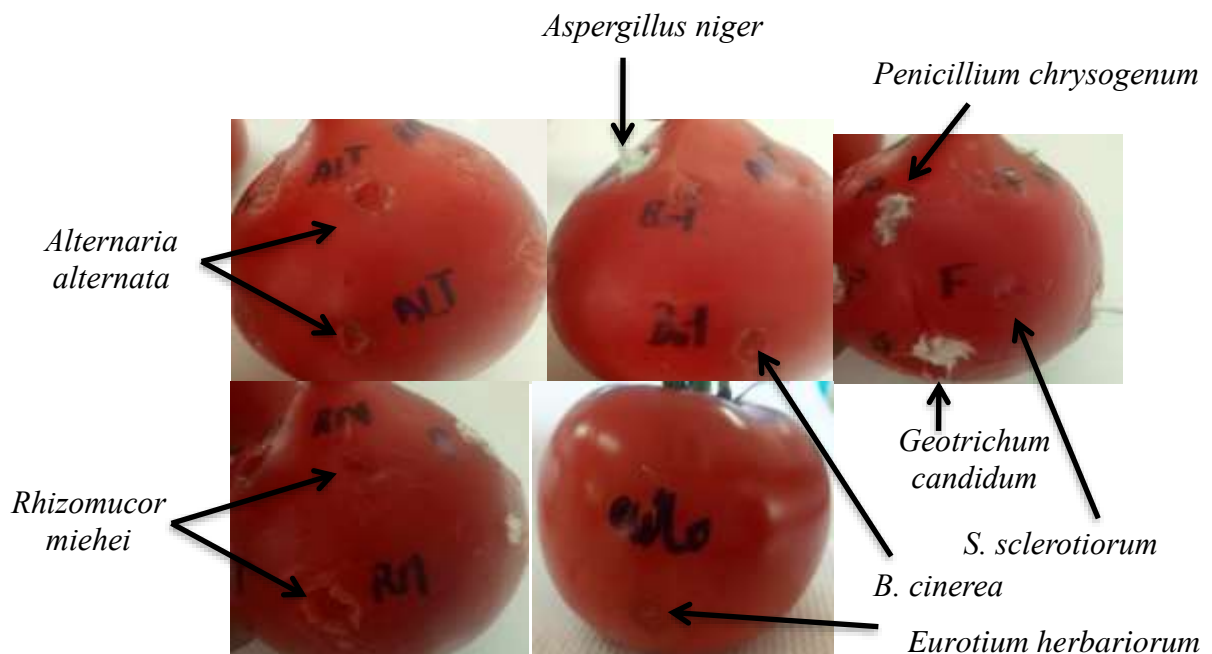


Figure 29 : Les résultats obtenus pour l'extrait du romarin.

Résultats

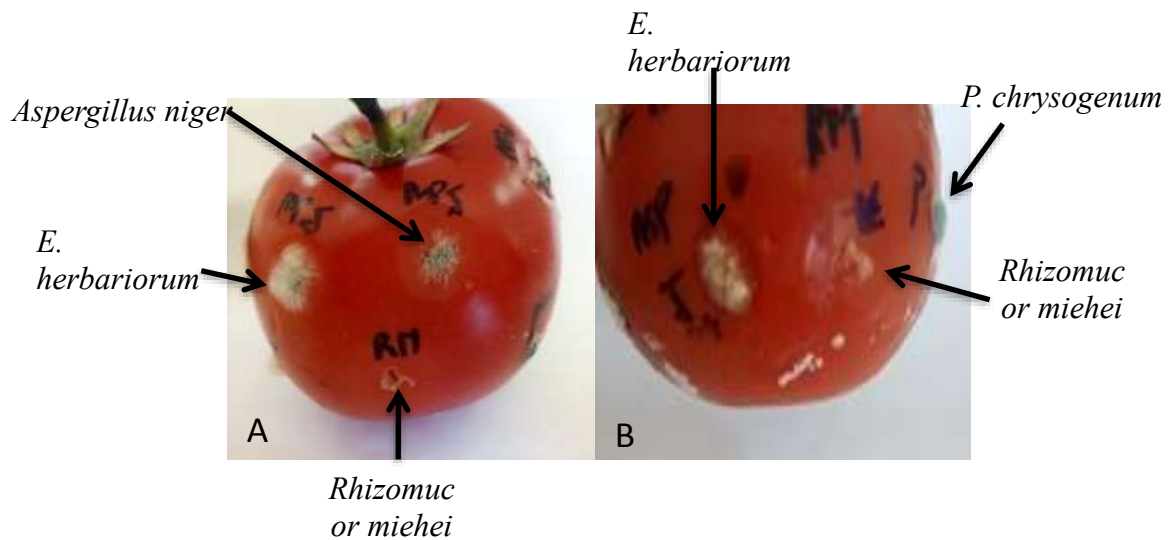


Figure 30 : Exemples de quelques résultats obtenus pour les extraits de la lavande et de la menthe.

A : extrait de la lavande. B : extrait de la menthe.

Les moisissures résistantes avaient affichées des mycéliums développés dont les diamètres dépassaient 1.5 cm après 72 heures d'incubation (Figure 31).

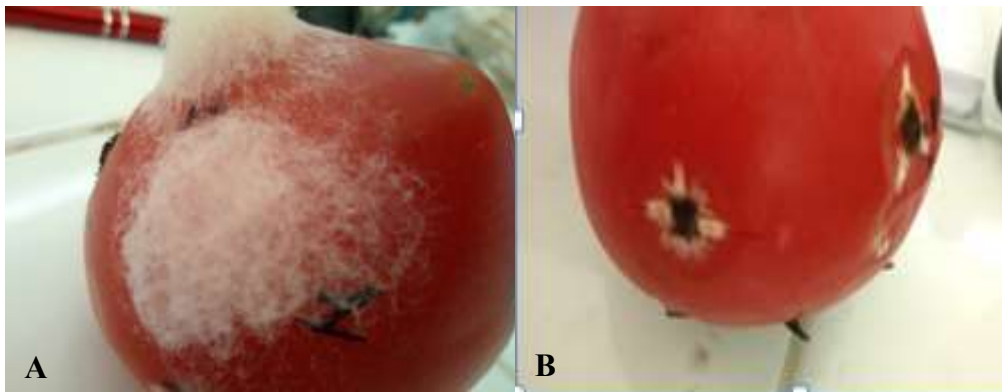


Figure 31 : Exemples de quelques espèces résistantes à l'extrait de la lavande.

A : *S. sclerotiorum*. B : *E. herbariorum*.

5. Discussion

L'espèce *Rhizomucor miehei* a été isolée de la tomate. Comme l'ont indiqué certaines études, la tomate est un milieu idéal pour la croissance de cette espèce (Gómez-Patiño et al., 2013).

L'isolement de *B. cinerea* a permis d'affirmer que la tomate était infecté par ce pathogène. Les travaux de Crespo-Salvador et al., (2018) ont confirmé que cette moisissure était un pathogène dévastateur commun la plante. D'après Sun et ses collaborateurs (2017), *B. cinerea* est une moisissure pathogène nécrotrophe, attaquant de nombreuses cultures, notamment la pomme de terre et la tomate.

Nos résultats ont aussi démontré que la tomate pouvait être altérée par *E. herbariorum*. D'après Rahmatzai et ses collaborateurs (2017), cette espèce était effectivement un pathogène assez courant des tomates.

S. sclerotiorum et *G. candidum* ont aussi été isolées à partir de plusieurs échantillons de tomates. Certaines études ont déjà démontré que ces espèces étaient responsables de la pourriture blanche et la pourriture grise respectivement. Elles étaient répandues dans le sol, et étaient de ce fait facilement transmises aux plantes, notamment les tomates, les agrumes et les légumes. Aussi, toujours selon les mêmes études, *G. candidum* constituait un contaminant majeur pour les équipements de traitement de la tomate (Thornton et al., 2010 ; Singh et Singh, 2015).

Nos résultats ont affirmé aussi que *P. chrysogenum*, *Aspergillus niger* et *Alternaria alternata* étaient des moisissures qui pouvaient altérer les tomates fraîches. Conformément à d'autres travaux antécédents qui ont affirmé que ce fruit était un milieu favorable pour la croissance de ces moisissures ; et ce principalement pour l'activité de l'eau qu'il contenait et qui favorisait la culture et le développement des mycéliums de ces espèces (Gómez-Ramírez et al. 2013 ; García-Sánchez et al., 2014 ; Yang et al., 2017).

L'activité antifongique des extraits aqueux des plantes que nous avons testées a démontrée selon les trois méthodes utilisées que l'extrait de *Rosmarinus officinalis* avait une activité antifongique sur les espèces suivantes : *E. herbariorum*, *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *S. sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei*. Il était considéré comme étant l'extrait le plus actif. Certains travaux ont démontré que cette plante était extrêmement riche en composés phénoliques (Pérez-Sánchez et al., 2019). Ces derniers pouvaient être à l'origine son activité.

Discussion

Ceci dit, aucun autre travail n'a été trouvé sur l'activité antifongique de cet extrait sur ces espèces, mais certains travaux ont confirmé que l'huile essentielle de cette plante avait une activité antifongique contre *B. cinerea* et *Alternaria alternata* (Özcan et Chalchat, 2009). D'un autre côté, des investigations précédentes ont aussi montré que l'huile essentielle du romarin avait une activité inhibitrice sur *E. herbariorum*, *B. cinerea* et *S. sclerotiorum* (Císarová et al., 2014 ; Diáñez et al., 2018).

L'extrait aqueux de *Camellia sinensis* a été montré une activité antifongique contre *B. cinerea*, *Alternaria alternata*, *Sclerotinia sclerotiorum* et *Rhizomucor miehei*. Les travaux de Yang et al. (2013) ont affirmé que la combinaison des polyphénols et des saponines du Thé avaient des interactions antifongiques synergiques contre *B. cinerea*, ainsi que sur plusieurs moisissures. Ils ont suggéré aussi que leur combinaison pourrait être un moyen utile et efficace pour lutter contre la pourriture causée par les champignons. Pour *Alternaria alternata*, Mengesha et ses collaborateurs (2017) ont effectué des expériences qui ont prouvé que le thé vert avait une activité antifongique sur cette espèce. Mais aucune information n'a été trouvée sur l'activité antifongique de cette plante contre les deux espèces restantes.

Les résultats ont aussi montré que les extraits de *Mentha arvensis* et *Lavandula officinalis* avaient une activité antifongique sur *Rhizomucor miehei* et *Aspergillus niger* quand ils étaient testés par la méthode des puits et sur les tomates fraîches. Contrairement à la méthode de gélose additionnée des extraits qui a montré qu'*Aspergillus niger* étaient une espèce résistante à ces plantes. Ces résultats pouvaient s'expliquer que les fortes concentrations de ces extraits provoquaient leur saturation et donc une absence d'activité sur les deux espèces citées. En d'autres termes, nos résultats ont démontré clairement que ces extraits étaient efficaces à faible concentration et perdaient leur activité une fois que la concentration devenait importante.

Pour l'extrait aqueux de la lavande et de la menthe, aucun travail n'a été mené jusqu'ici sur l'activité antifongique contre *Rhizomucor miehei* et *Aspergillus niger*. Néanmoins, Pawar et Thaker (2006) ont affirmé que l'huile essentielle de cette plante avait une activité inhibitrice sur *Aspergillus niger*. De même, Kumar et al. (2009) ont trouvé que l'huile essentielle de la Menthe avait une activité fongi-toxique étendue contre 14 champignons de stockage. L'activité de cette l'huile était tellement importante qu'elle s'est révélée supérieure à certains fongicides synthétiques répandus.

Nous avons aussi trouvé que *Rhizomucor miehei*, *Aspergillus niger* et *Alternaria alternata* étaient des espèces sensibles à l'extrait aqueux d'*Inula viscosa*. Les études de Wang et al., (2004) ont montré que cette plante pouvait être utilisée comme source importante pour les

Discussion

préparations fongicides contre les maladies foliaires causées par des agents pathogènes appartenant aux familles des Oomycètes, des Ascomycètes et des Basidiomycètes.

Selon Kheyar-Kraouche et ses collaborateurs (2018), l'extrait de cette plante était constitué de 51 composés, dont 47 ont pu être correctement purifié et identifiés. Ils représentaient 11 acides phénoliques, 23 flavonoïdes, une lignane et 12 terpénoïdes. Cette richesse en métabolites actifs expliquait l'utilisation de cette plante comme plante médicinale expectorante, antitussive, diaphorétique, antiémétique, mais surtout antimicrobienne. En effet elle était considérée comme un antibactérien, un antiviral et un fongicide naturel très efficace (Seca *et al.*, 2014).

6. Conclusion

Cette étude a été réalisée dans le but d'améliorer la bio-conservation des tomates fraîches contre les altérations fongiques. Huit espèces des moisissures ont pu être isolées à partir des tomates altérées. Elles ont été identifiées comme étant : *Eurotium herbariorum*, *Penicillium chrysogenum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum candidum* et *Rhizomucor miehei*.

L'activité fongique a été testée par 3 méthodes différentes : la méthode des puits, la méthode de gélose additionnée de l'extrait et le test d'activité sur des tomates fraîches. Les résultats ont démontré que l'extrait le plus actif était celui du romarin ; en effet, il avait une activité antifongique sur toutes les espèces sauf *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* et *Geotrichum candidum*. Par contre, les extraits les moins actifs étaient ceux de la menthe et de la lavande qui n'avaient une activité que sur *Aspergillus niger* et *Rhizomucor miehei*.

L'espèce la plus sensible aux cinq extraits préparés était *Rhizomucor miehei*. Tandis que les espèces les plus résistantes étaient : *Penicillium chrysogenum* et *Geotrichum candidum*. *Alternaria alternata* et *Aspergillus niger* étaient des espèces assez résistantes aussi, mais moins que les deux premières.

Les résultats obtenus dans cette étude permettaient de conclure que certains extraits aqueux pouvaient être utilisés pour protéger et donc conserver les tomates fraîches contre les altérations fongiques.

7. Liste des références bibliographiques

- Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., AS Vila-Chã, M., & Pereira, A. (2016). Examen des mycotoxines dans les produits destinés à l'alimentation humaine et animale au Portugal et estimation des doses journalières probables. *Examens Critiques en Science des Aliments et en Nutrition*, 56 (2), 249-65.
- Aveling, TA., Snyman, HG., & Rijkenberg, F H J. (1994). Morphology of infection of onion leaves by *Alternaria porri*. *Canadian Journal of Botany*, 72(8), 1164-1170.
- Ayala-Zavala, J. F., Del-Toro-Sánchez, L., Alvarez-Parrilla, E., & González-Aguilar, G. A. (2008). High relative humidity in-package of fresh-cut fruits and vegetables: advantage or disadvantage considering microbiological problems and antimicrobial delivering systems. *Journal of Food Science*, 73 (4), 41-7.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6 (2), 71-9.
- Benito, E. P., Ten Have, A., van't Klooster, J. W., & van Kan, J. A. (1998). Fungal and plant gene expression during synchronized infection of tomato leaves by *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 104 (2), 207-220.
- Bessadat, N., Simoneau, P., Benichou, S., Setti, B., Kihal, M., & Henni, D. E. (2014). Morphological, physiological and pathogenic variability of small-spore *Alternaria* sp. Causing leaf blight of Solanaceous plants in Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 8 (37), 3422-34.
- Bourais, I., Amp ., & AMINE, A. (2006). Aflatoxines : Toxiques redoutables dans nos aliments. *Les Technologies de Laboratoire*, 1.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, Ph., Larpent, JP., Reymond, P., Sanglier, JJ., Vassier, Y., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle. 2^e Edition Paris-Masson.
- Causse, M., Caranta, C., Saliba-Colombani, V., Moretti, A., Damidaux, R., & Rousselle, P. (2000). Valorisation des ressources génétiques de la tomate par l'utilisation de marqueurs moléculaires. *Cahiers Agricultures*, 9 (3), 197-210.

Liste des références bibliographiques

- Charest, PM., Ouellette, GB., & Pauzé, FJ (1984). Observations cytologiques du processus d'infection précoce par *Fusarium oxysporum* f. sp. radialis-lycopersici dans les plants de tomate. *Canadian Journal of Botany*, 62 (6), 1232-44.
- Cheruiyot SE, Muturi M, Bii C.(2015) Antifungal activities of *Camellia sinensis* crude extract on selected pathogenic and mycotoxic Fungi. *Journal of Bacteriology & Mycology*, 2, 1070–80.
- Císarová, M., Kacinová, J., & Tancinová, D. (2014). Activité antifongique de certaines huiles essentielles contre les espèces fongiques du genre *Eurotium* par contact vapor. *Journal de Microbiologie, Biotechnologie et Sciences de L'alimentation*, 3, 202.
- Crespo-Salvador, Ó., Escamilla-Aguilar, M., López-Cruz, J., López-Rodas, G., & González-Bosch, C. (2018). Determination of histone epigenetic marks in Arabidopsis and tomato genes in the early response to *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports*, 37 (1), 153-66.
- Diáne, F., Santos, M., Parra, C., Navarro, M. J., Blanco, R., & Gea, F. J. (2018). Screening of antifungal activity of 12 essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom. *Letters in Applied Microbiology*, 67 (4), 400-10.
- Diba, K., Kordbacheh, P., Mirhendi, S. H., Rezaie, S., & Mahmoudi, M. (2007). Identification of *Aspergillus* species using morphological characteristics. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 23 (6), 867.
- Durand, N., Fontana, A., Meile, J. C., Suárez-Quiroz, M. L., Schorr-Galindo, S., & Montet, D. (2019). Differentiation and quantification of the ochratoxin A producers *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus westerdijkiae* using PCR-DGGE. *Journal of Basic Microbiology*, 59 (2), 158-65.
- Gabriel, M. F., Uriel, N., Teifoori, F., Postigo, I., Suñén, E., & Martínez, J. (2017). The major *Alternaria alternata* allergen, Alt a 1 : A reliable and specific marker of fungal contamination in citrus fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 26-30.
- Gao, P., Qin, J., Li, D. et Zhou, S. (2018). Effet inhibiteur et mécanisme possible d'une souche QBA5 de *Pseudomonas* contre la moisissure grise sur les feuilles et les fruits de la tomate, causés par *Botrytis cinerea*. *PloS One*, 13 (1), 1909-32.
- García-Sánchez, M., Palma, J. M., Ocampo, J. A., García-Romera, I., & Aranda, E. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate oxidative stress induced by ADOR and enhance antioxidant responses of tomato plants. *Journal of plant physiology*, 171(6), 421-8.

Liste des références bibliographiques

- Gómez-Patiño, M. B., Cassani, J., Jaramillo-Flores, M., Zepeda-Vallejo, L. G., Sandoval, G., Jimenez-Estrada, M., & Arrieta-Baez, D. (2013). Oligomerization of 10, 16-dihydroxyhexadecanoic acid and methyl 10, 16-dihydroxyhexadecanoate catalyzed by lipases. *Molecules*, 18 (8), 9317-33.
- Gómez-Ramírez, C., Sosa-Morales, M. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2013). *Aspergillus niger* time to growth in dried tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, 164 (1), 23-5.
- Goswami, B. K., & Sharma, S. B. (2001). Application of *Aspergillus terreus* and *Paecilomyces lilacinus* for the management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *International Journal of Nematology*, 11 (2), 270-3.
- Gourama, H., & Bullerman, L. B. (1995). Detection of molds in foods and feeds: potential rapid and selective methods. *Journal of Food Protection*, 58 (12), 1389-94.
- Gross, AV., Stolz, ED., Müller, LG., Tarifs, SMK., & Ritter, MR. (2019). Plantes médicinales pour les "nerfs": une revue des études ethnobotaniques menées dans le sud du Brésil. *Acta Botanica Brasilica*, (AHEAD).
- Hernández-Lauzardo, A. N., Velázquez-del Valle, M. G., Veranza-Castelán, L., Melo-Giorgana, G. E., & Guerra-Sánchez, M. G. (2010). Effect of chitosan on three isolates of *Rhizopus stolonifer* obtained from peach, papaya and tomato. *Fruits*, 65 (4), 245-53.
- Heuvelink, E. (Ed.). (2018). *Tomatoes*, 27.
- Hmouni, A., Oihabi, L., Badoc, A., & Douira, A. (2003). Étude de la résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles, dicarboximides et dithiocarbamates dans les cultures abritées de tomate de la région du Gharb (Maroc). *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142 (1-4), 79-100.
- Hou, J. C., Xu, Y., Jin, Q., Chen, X. J., Fang, Y., & Wu, J. (2019). (±)-Alternamgin, a Pair of Enantiomeric Polyketides, from the Endophytic Fungi *Alternaria sp.* MG1. *Organic Letters. Veterinary Medical Science*, 123, 15-24.
- Kasim, MU., & Kasim, R. (2015). Les traitements UV-B post-récolte ont augmenté la teneur en fructose de la tomate (*Solanum lycopersicon L. cv. Tayfun F1*) récoltée à différents stades de maturation. *Food Science and Technology*, 35 (4), 742-9.
- Khan, MA., Butt, SJ., Nadeem, F., Yousaf, B., & Javed, Hu (2017). Caractérisation morphologique et physico-biochimique de divers cultivars de tomate dans un milieu simplifié sans sol. *Annals of Agricultural Sciences*, 62 (2), 139-43.

Liste des références bibliographiques

- Kheyar, K. N., Silva, AB., Serra, AT., Bedjou, F., & Bronze, MR. (2018). Characterization by liquid chromatography-mass spectrometry and antioxidant activity of an ethanolic extract of *Inula viscosa* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 156, 297-306.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Singh, Ak., & Dubey, Nk (2009). Utilisation de l'huile essentielle de *Mentha arvensis* L. pour lutter contre les moisissures et les insectes stockés dans les pois chiches entreposés. *Journal de la Science de l'Alimentation et de l'Agriculture*, 89 (15), 2643-9.
- Kwon, JH, Kang, SW, Kim, JS et Park, CS (2001). Rhizopus pourriture molle sur tomate cerise causé par *Rhizopus stolonifer* en Corée. *Mycobiology*, 29 (3), 176-8.
- Mailafia, S., God'spower Richard Okoh, H. O., Olabode, K., & Osanupin, R. (2017). Isolation and identification of fungi associated with spoiled fruits vended in Gwagwalada market, Abuja, Nigeria. *Veterinary World*, 10 (4), 393.
- Marston, A., & Hostettmann, K. (2006). Separation and quantification of flavonoids. In OYvind MA, Markham KR. (eds) Chemistry, biochemistry and application. *CRC Press Taylor and Francis Group*, 2-20.
- Marssieau. (2018). Les pathologies de la tanguera traitées par la phytothérapie. *Phytothérapie Clinique*, 16,(1), 45-52.
- Meena, M., Swapnil, P., & Upadhyay, RS. (2017). Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria* mycotoxins (TeA, AOH and AME) in different *Alternaria* species from various regions of India. *Science Report*, 7 (8777).
- Mengesha, WK., Gill, WM., Powell, SM., Evans, KJ., & Barry, KM. (2017). Une étude de facteurs sélectionnés affectant l'efficacité du thé de compost contre plusieurs agents pathogènes fongiques de la pomme de terre. *Journal of Applied Microbiology*, 123 (3), 732-47.
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20 (8), 619-633.
- Naika, S., de Jeude, L., Goffau, M.D., Hilmi, M., & Dam, BV. (2005). La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation.
- Olivain, C., Humbert, C., Nahalkova, J., Fatehi, J., L'Haridon, F., & Alabouvette, C. (2006). Colonization of tomato root by pathogenic and nonpathogenic *Fusarium*

Liste des références bibliographiques

- oxysporum* strains inoculated together and separately into the soil. *Applied Environmental Microbiology*, 72 (2), 1523-31.
- Özcan, MM., & Chalchat, JC. (2008). Composition chimique et activité antifongique de l'huile de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) de Turquie. *Revue Internationale de Sciences de l'Alimentation et de la Nutrition*, 59 (7-8), 691-8.
 - Palacios, S. A., Susca, A., Haidukowski, M., Stea, G., Cendoya, E., Ramirez, M. L., & Torres, A. M. (2015). Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* isolated from durum wheat grains in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 201, 35-41.
 - Pastor, FJ., & Guarro, J. (2008). Infections à *Alternaria* : diagnostic de laboratoire et caractéristiques cliniques pertinentes. *Clinical Microbiology and Infection*, 14 (8), 734-746.
 - Pawar, V. C., & Thaker, V. S. (2006). In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses*, 49 (4), 316-23.
 - Pavón, M. M., González, I. A., de Santos Martín, R., & García, T. L. (2012). The importance of genus *Alternaria* in mycotoxins production and human diseases. *Nutricion Hospitalaria*, 27 (6), 1772-81.
 - Pérez-Sánchez, A., Barrajon-Catalán, E., Ruiz-Torres, V., Agulló-Chazarra, L., Herranz-López, M., Valdés, A., Cifuentes, A., & Micol, V. (2019). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract causes ROS-induced necrotic cell death and inhibits tumor growth in vivo. *Science Report*. 9 (1), 808.
 - Periasamy, R., Kalal, I. G., Krishnaswamy, R., & Viswanadha, V. (2016). Quercetin protects human peripheral blood mononuclear cells from OTA-induced oxidative stress, genotoxicity, and inflammation. *Environmental toxicology*, 31(7), 855-65.
 - Rahmatzai, N., Zaitoun, A. A., Madkour, M. H., Ahmady, A., Hazim, Z., & Mousa, M. A. (2017). In vitro and in vivo antifungal activity of botanical oils against *Alternaria solani* causing early blight of tomato. *International Journal of Biosciences*, 10 (1), 91-9.
 - Rättsch, C. (2005). *L'encyclopédie des plantes psychoactives : l'ethnopharmacologie et ses applications*. Simon et Schuster.
 - Rempe, CS., Burris, KP., Lenaghan, SC., Stewart Jr, CN. (2017). The potential of systems biology to discover antibacterial mechanisms of plant phenolics. *Frontiers in Microbiology*, 8, (422), 1-12.

Liste des références bibliographiques

- Romanazzi, G., Smilanick, J.L., Feliziani, E., & Droby, S. (2016). Gestion intégrée de la moisissure grise après récolte sur les cultures fruitières. *Biologie et Technologie Post- Récolte*, 113, 69-76.
- Sajad, A. M., Jamaluddin, A., & Abid H.Q. (2017). Fungi associated with the spoilage of post-harvest tomato fruits and their frequency of occurrences in different markets of Jabalpur, Madhya-Pradesh, India. *International Journal of Current Research and Review*, 9 (5), 12-16.
- Seca, AM., Grigore, A., Pinto, DC., & Silva, AM. (2014) The genus *Inula* and their metabolites: from ethnopharmacological to medicinal uses. *Journal of Ethnopharmacology*. 154, (2), 286-310.
- Sharma, PK., Singh, V., Ali, M., & Kumar, S. (2016). Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* Roscoe on central nervous system activity in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 54 (10):664-9.
- Shi, W., Tan, Y., Wang, S., Gardiner, D., De Saeger, S., Liao, Y., & Wu, A. (2017). Mycotoxigenic potentials of *Fusarium* species in various culture matrices revealed by mycotoxin profiling. *Toxins*, 9 (1), 6.
- Singh, S. P., & Singh, H. B. (2015). Effect of mixture of Trichoderma isolates on biochemical parameter in tomato fruits against *Sclerotinia sclerotiorum* rot of tomato plant. *Journal of Environmental Biology*, 36 (1), 267.
- Sousa, FC., Schamber, CR., Amorin., SSS., & Natali, MRM. (2014). Effet d'un régime alimentaire contenant de la fumonisine sur le plexus muventérique du jéjunum chez le rat. *Neuroscience Autonome*, 185, 93-9.
- Sun, K., van Tuinen, A., van Kan, J. A., Wolters, A. M. A., Jacobsen, E., Visser, R. G., & Bai, Y. (2017). Silencing of DND1 in potato and tomato impedes conidial germination, attachment and hyphal growth of *Botrytis cinerea*. *BMC Plant Biology*, 17 (1), 235.
- Thornton, C. R., Slaughter, D. C., & Davis, R. M. (2010). Detection of the sour-rot pathogen *Geotrichum candidum* in tomato fruit and juice by using a highly specific monoclonal antibody-based ELISA. *International Journal Of Food Microbiology*, 143 (3), 166-72.
- Tiessen, C., Ellmer, D., Mikula, H., Pahlke, G., Warth, B., Gehrke, H., & Marko, D. (2017). Impact of phase I metabolism on uptake, oxidative stress and genotoxicity of

Liste des références bibliographiques

- the emerging mycotoxin alternariol and its monomethyl ether in esophageal cells. *Archives of Toxicology*, 91 (3), 1213-26..
- Varga, J., Due, M., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2007). Taxonomic revision of *Aspergillus* section Clavati based on molecular, morphological and physiological data. *Studies in Mycology*, 59, 89-106.
 - Verhoeff, K. (1965). Studies on *Botrytis cinerea* in tomatoes mycelial development in plants growing in soil with various nutrient levels, as well as in internodes of different age. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 71 (6), 167-75.
 - Wang, W., Ben-Daniel, BH., & Cohen, Y. (2004). Lutte contre les maladies des plantes par des extraits d'*Inula viscosa*. *Phytopathology*, 94 (10), 1042-7.
 - Yang, J., Sun, C., Zhang, Y., Fu, D., Zheng, X., & Yu, T. (2017). Résistance induite par l'acide γ -aminobutyrique dans les fruits de tomate pour lutter contre l'alternariose causée par *Alternaria alternata*. *Chimie Alimentaire*, 221, 1014-20.
 - Yang, XP., Jiang, XD., Chen, JJ., & Zhang, SS. (2013). Contrôle de la moisissure grise post-récolte de la nectarine par le polyphénol de thé associé à la saponine de thé. *Lettres en Microbiologie Appliquée*, 57 (6), 502-9.

Amélioration de la conservation des tomates fraîches contre les altérations fongiques en utilisant les extraits aqueux de quelques plantes médicinales.

Préparé et présenté par :

M^{elle} BOUREGHDA Aicha

M^{elle} BENSELIMANE Soucene

Résumé :

Les tomates fraîches sont difficiles à conserver car elles sont particulièrement vulnérables aux altérations fongiques. Dans ce travail, nous avons testé l'activité antifongique des extraits aqueux bruts de cinq plantes médicinales (thé, lavande, menthe, romarin et magramane) contre 8 espèces des moisissures isolées des tomates altérées. L'activité antifongique a d'abord été testée *in vitro* par deux méthodes différentes, puis directement sur des tomates fraîches.

Les résultats obtenus ont indiqué que les extraits aqueux du romarin et du thé étaient les plus actifs, contrairement aux extraits de la lavande et de la menthe qui étaient les moins actifs. *Rhizomucor miehei* était l'espèce la plus sensible à tous les extraits. *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* et *Geotrichum candidum* étaient résistantes à tous les extraits une fois testées sur les tomates fraîches.

Mots clés : Tomates fraîches, altérations fongiques, moisissures, identification, activité antifongique.

Abstract :

Fresh tomatoes are hard to conserve because they are particularly vulnerable to molds. In this work we have tested the rough aqueous extracts of five medical plants which were : tea, lavender, Mint, rosemary and magramane against eight species of molds that were isolated from infected tomatoes. The antifungal activity was first tested *in vitro* via two different methods, then on fresh tomatoes directly.

The obtained results indicated that the aqueous extracts of both rosemary and tea were the most active, contrary to the aqueous extracts of both Lavender and Mint which were the least active.

Rhizomucor miehei was the most sensitive species. *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Geotrichum candidum* were resistant to all the extracts once tested on fresh tomatoes.

Keywords: Fresh tomatoes, fungal alterations, molds, identification, antifungal activity.

المخلص :

يصعب الاحتفاظ بالطماطم الطازجة لأنها عرضة للتلف الفطري. في هذه الدراسة، اختبرنا نشاط مستخلصات مائية خامة لخمسة نباتات طبية (الشاي، الخزامى، النعناع، إكليل الجبل والبيرمان) ضد 8 أنواع من الفطريات المعزولة من الطماطم المتعفنة. وقد تم اختبار النشاط المضاد للفطريات في المختبر بطريقتين مختلفتين وبعد ذلك مباشرة على الطماطم الطازجة.

وأشارت النتائج إلى أن المستخلص المائي من إكليل الجبل والشاي هما الأكثر نشاطا، على عكس المستخلصات المائية للخزامى والنعناع كانوا أقل نشاطا. كان الفطر *Rhizomucor miehei* الأكثر حساسية لكل المستخلصات. بينما *Penicillium chrysogenum*، *Aspergillus niger* و *Geotrichum candidum* هم الفطريات المقاومة لجميع المستخلصات المختبرة على الطماطم الطازجة.

الكلمات المفتاحية: الطماطم الطازجة، التلف الفطري، الفطريات، تحديد الهوية، نشاط مضاد للفطريات.

