

## Etude de l'effet fongicide des extraits d'Euphorbia peplus sur quelques champignons phytopathogènes

**Auteur :** Mkongwa Enyonyi, Kanu

**Promoteur(s) :** Jijakli, Haissam

**Faculté :** Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

**Diplôme :** Master de spécialisation en production intégrée et préservation des ressources naturelles en milieu urbain et péri-urbain

**Année académique :** 2021-2022

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/15620>

---

### Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

---

**Etude de l'effet fongicide des extraits d'*Euphorbia peplus* sur  
quelques champignons phytopathogènes**

**MKONGWA ENYONYI KANU**

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2021 – 2022**

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU  
DIPLOME EN MASTER DE SPÉCIALISATION EN PRODUCTION INTÉGRÉE ET  
PRÉSERVATION DES RESSOURCES NATURELLES EN MILIEU URBAIN ET  
PÉRIURBAIN**

**PROMOTEUR : Pr. Haïssam JIJAKLI**

*Copyright : « Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech »*

*« Le présent document n'engage que son auteur »*

**Etude de l'effet fongicide des extraits d'*Euphorbia peplus* sur  
quelques champignons phytopathogènes**

**MKONGWA ENYONYI KANU**

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2021 – 2022**

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU  
DIPLOME EN MASTER DE SPÉCIALISATION EN PRODUCTION INTÉGRÉE ET  
PRÉSERVATION DES RESSOURCES NATURELLES EN MILIEU URBAIN ET  
PÉRIURBAIN**

**PROMOTEUR : Pr. Haïssam M. JIJAKLI**

## **Remerciements**

La réalisation de ce Travail de Fin d'Etude constitue nullement le fruit de nos propres efforts. Qu'il nous soit, ainsi, permis de remercier de tout cœur tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à la matérialisation de cette œuvre :

A l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES), l'organisation qui a financé mes études de master en Belgique ;

A mon Promoteur, Haïssam M. JIJAKLI, Professeur extraordinaire et responsable du laboratoire de phytopathologie de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech, qui en dépit de ses multiples occupations a accepté de diriger ce travail ;

A tout le corps professoral et administratif de l'Université de Liège, en général, et celui de la faculté de Gembloux-Agro-Bio-Tech, en particulier, pour la formation reçue ;

A Wael Ben HMOUDA pour avoir accepté de nous accompagner dans l'encadrement de ce travail ;

A tout le personnel du laboratoire de phytopathologie de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech pour l'encadrement technique, les sages conseils et un environnement de travail mis à notre disposition en faveur notre épanouissement ;

A ma femme Jeanne BALUMBA et mon enfant Massart MKONGWA pour tant d'amour, de soutien et d'encouragement ;

A mes parents, mes frères et sœurs pour tout le soutien.

A tous, je dis merci.

## Résumé

Les plantes médicinales constituent une alternative efficace dans la gestion des agents pathogènes des plantes cultivées. Cette étude s'est focalisée sur l'*Euphorbia peplus*, une espèce végétale connue traditionnellement pour ses propriétés médicinales et pharmacologiques. L'objectif poursuivi était d'évaluer l'efficacité antifongique des extraits de cette plante sur quatre champignons phytopathogènes (*Penicillium digitatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* et *Verticillium dahliae*) en fonction des solvants d'extraction des molécules bioactives (méthanol, hexane, chloroforme) en utilisant la technique de microdilution et celle d'intoxication du PDA par les extraits de plante. *Euphorbia peplus* a été produit en culture hydroponique dans des conteneurs maritimes à environnement contrôlé situés dans la parcelle WASABI de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech. Les essais d'efficacité des extraits ont été menés dans le laboratoire de phytopathologie de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech. A l'issue des tests de dépistage antifongique réalisés à 187,5 ppm, 375 ppm, 750 ppm, 1500 ppm et 3000 ppm, aucun extrait n'a inhibé la croissance de *Penicillium digitatum* sur microplaque ELISA. En boîte de Pétri, l'inhibition de ce pathogène a été évaluée à 6,3 % à 375 ppm pour l'extrait hexanique. Les extraits méthanoliques et hexaniques n'ont pas eu d'effet inhibiteur contre le développement de *Fusarium culmorum* sur microplaque ELISA. Les concentrations de l'extrait chloroformique inférieures à 3000 ppm ont inhibé la croissance de *F. culmorum* jusqu'à 10,4% à 750 ppm. En boîte de Pétri, pour certains traitements il y a eu inhibition du *F. culmorum* jusqu'à 13,3 % par l'extrait hexanique à 375 ppm, pour d'autres, l'extrait a stimulé la croissance du champignon. La croissance mycélienne de *Fusarium avenaceum* a été plus importante en présence des extraits à l'exception de l'extrait chloroformique à 187,5 ppm qui a inhibé cet agent fongique à 8,3 %. *Verticillium dahliae* a été inhibé à 14,5% par l'extrait chloroformique à 1500 ppm. Ce travail qui est l'une des premières études de l'activité antifongique des extraits de l'*Euphorbia peplus* constitue un outil d'orientation pour les recherches ultérieures.

**Mots clés :** *Euphorbia peplus*, extraits des plantes, effet fongicide, champignons phytopathogènes.

## Abstract

Medicinal plants are an effective alternative in the management of crop pathogens. This study focused on *Euphorbia peplus*, a plant species traditionally known for its medicinal and pharmacological properties. The objective was to evaluate the antifungal efficacy of extracts of this plant on four phytopathogenic fungi (*Penicillium digitatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum* and *Verticillium dahliae*) as a function of the extraction solvents of the bioactive molecules (methanol, hexane, chloroform) using the microdilution and PDA intoxication techniques. *Euphorbia peplus* was produced in hydroponic culture in controlled environment marine containers located in the WASABI plot of the Gembloux Agro-Bio-Tech faculty. The efficacy tests of the extracts were carried out in the phytopathology laboratory of the Gembloux Agro-Bio-Tech faculty. Following antifungal screening tests carried out at 187.5 ppm, 375 ppm, 750 ppm, 1500 ppm and 3000 ppm, no extract inhibited the growth of *Penicillium digitatum* on ELISA microplates. In Petri dishes, the inhibition of this pathogen was evaluated at 6.3% at 375 ppm for the hexanolic extract. The methanolic and hexanolic extracts had no inhibitory effect against the growth of *Fusarium culmorum* in microplate ELISA. Concentrations of chloroform extract below 3000 ppm inhibited the growth of *F. culmorum* up to 10.4% at 750 ppm. In Petri dishes, for some treatments there was inhibition of *F. culmorum* up to 13.3% by hexane extract at 375 ppm, for others, the extract stimulated the growth of the fungus. Mycelial growth of *Fusarium avenaceum* was greater in the presence of the extracts except for the 187.5 ppm chloroform extract which inhibited this fungus to 8.3%. *Verticillium dahliae* was inhibited to 14.5% by the 1500 ppm chloroform extract. This work, which is one of the first studies of the antifungal activity of *Euphorbia peplus* extracts, provides a guiding tool for further research.

**Keywords:** *Euphorbia peplus*, plant extracts, antifungal, phytopathogenic fungi.

## Liste des tableaux

Tableau 1. Structure squelettique des composés phénoliques .....	16
Tableau 2. Différentes combinaisons réalisées en vue de préparer les aliquotes pour la croissance des souches fongiques sur microplaque ELISA .....	26
Tableau 3. Schéma-type de la plaque ELISA .....	27
Tableau 4. Evolution au cours du temps de la croissance de <i>P. digitatum</i> (DO) en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	32
Tableau 5. Evolution au cours du temps de la croissance de <i>P. digitatum</i> (DO) en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	33
Tableau 6. Evolution au cours du temps de <i>P. digitatum</i> (DO) au cours du temps en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	34
Tableau 7. Evolution au cours du temps de la croissance de <i>F. culmorum</i> (DO) en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	35
Tableau 8. Evolution au cours du temps de la croissance de <i>F. culmorum</i> (DO) en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	36
Tableau 9. Evolution au cours du temps de la croissance de <i>F. culmorum</i> (DO) en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	37
Tableau 10. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>P. digitatum</i> ) en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	38
Tableau 11. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>P. digitatum</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	39
Tableau 12. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>P. digitatum</i> en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	40
Tableau 13. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>F. culmorum</i> en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	43
Tableau 14. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>F. culmorum</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	43
Tableau 15. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>F. culmorum</i> en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	44
Tableau 16. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>F. avenaceum</i> en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	47
Tableau 17. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de <i>F. avenaceum</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	47



<i>Tableau 18. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de F. avenaceum en présence de l'extrait chloroformique d'Euphorbia peplus. ....</i>	<i>48</i>
<i>Tableau 19. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de V. dahliae en présence de l'extrait méthanolique d'Euphorbia peplus. ....</i>	<i>50</i>
<i>Tableau 20. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de V. dahliae en présence de l'extrait hexanique d'Euphorbia peplus. ....</i>	<i>51</i>
<i>Tableau 21. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de V. dahliae en présence de l'extrait chloroformique d'Euphorbia peplus. ....</i>	<i>52</i>

## Listes des figures

Figure 1. Symptômes de la fusariose de l'épi (A) et du grain de blé (B) .....	4
Figure 2. Pourriture verte de <i>Penicillium digitatum</i> sur orange .....	6
Figure 3. Symptôme du flétrissement verticillien sur la pomme de terre .....	8
Figure 4. <i>Euphorbia peplus</i> .....	13
Figure 5. Trois grands groupes chimiquement distincts de MS.....	14
Figure 6. Culture hydroponique d' <i>E. peplus</i> dans le conteneur situé dans la parcelle WASABI .....	21
Figure 8. Culture des souches fongiques .....	23
Figure 12. Croissance au cours du temps de <i>Verticillium dahliae</i> .....	31
Figure 13. Croissance au cours du temps de <i>P. digitatum</i> sur microplaque ELISA en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	32
Figure 14. Croissance au cours du temps de <i>P. digitatum</i> sur microplaque ELISA en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	33
Figure 15. Croissance au cours du temps de <i>P. digitatum</i> sur microplaque ELISA en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	34
Figure 16. Croissance au cours du temps de <i>F. culmorum</i> sur microplaque ELISA en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	35
Figure 17. Croissance au cours du temps de <i>F. culmorum</i> sur microplaque ELISA en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	36
Figure 18. Croissance au cours du temps de <i>F. culmorum</i> sur microplaque ELISA en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	37
Figure 19. Croissance au cours du temps de <i>P. digitatum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	38
Figure 20. Croissance au cours du temps de <i>P. digitatum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	39
Figure 21. Croissance au cours du temps de <i>P. digitatum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> .....	40
Figure 22. Croissance de <i>Penicillium digitatum</i> en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 240 heures d'incubation .....	41
Figure 23. Croissance de <i>Penicillium digitatum</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 240 heures d'incubation .....	41
Figure 24. Croissance de <i>Penicillium digitatum</i> en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 240 heures d'incubation .....	41

Figure 25. Croissance au cours du temps de <i>F. culmorum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . .....	42
Figure 26. Croissance au cours du temps de <i>F. culmorum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . .....	43
Figure 27. Croissance au cours du temps de <i>F. culmorum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . .....	44
Figure 28. Croissance de <i>Fusarium culmorum</i> en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 96 heures d'incubation. ....	45
Figure 29. Croissance de <i>Fusarium culmorum</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 96 heures d'incubation. ....	45
Figure 30. Croissance de <i>Fusarium culmorum</i> en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 96 heures d'incubation. ....	45
Figure 31. Croissance au cours du temps de <i>F. avenaceum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	46
Figure 32. Croissance au cours du temps de <i>F. avenaceum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	47
Figure 33. Croissance au cours du temps de <i>F. avenaceum</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	48
Figure 34. Croissance de <i>Fusarium avenaceum</i> en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 144 heures d'incubation. ....	49
Figure 35. Croissance de <i>Fusarium avenaceum</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 144 heures d'incubation. ....	49
Figure 36. Croissance de <i>Fusarium avenaceum</i> en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 144 heures d'incubation. ....	49
Figure 37. Croissance au cours du temps de <i>V. dahliae</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	50
Figure 38. Croissance au cours du temps de <i>V. dahliae</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	51
Figure 39. Croissance au cours du temps de <i>V. dahliae</i> en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d' <i>Euphorbia peplus</i> . ....	52
Figure 40. Croissance de <i>Verticillium dahliae</i> en présence de l'extrait méthanolique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 432 heures d'incubation. ....	53
Figure 41. Croissance de <i>Verticillium dahliae</i> en présence de l'extrait hexanique d' <i>Euphorbia peplus</i> après 432 heures d'incubation. ....	53

<i>Figure 42. Croissance de Verticillium dahliae en présence de l'extrait chloroformique d'Euphorbia peplus peplus après 432 heures d'incubation.....</i>	<i>53</i>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

## Listes des annexes

Annexe 1. Analyses statistiques .....	19
---------------------------------------	----

## Liste des sigles et abréviations

ARES : Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur

DO : Densité Optique

DWC : Deep Water Culture

FAO : Food and Agriculture Organisation

MS: Métabolite Secondaire

mm : millimètre

PAM : Plante Aromatique et Médicinale

PDA : Potatose Dextrose Agar

PDB : Potatose Dextrose Broth

PPDF : densité de flux de photons photosynthétiques

g : gramme

ppm : partie par million

°C : degré Celsius

% : Pourcentage

## Table des matières

<i>Remerciements</i> .....	<i>i</i>
<i>Résumé</i> .....	<i>ii</i>
<i>Liste des tableaux</i> .....	<i>iv</i>
<i>Listes des figures</i> .....	<i>vi</i>
<i>Listes des annexes</i> .....	<i>ix</i>
<i>Liste des sigles et abréviations</i> .....	<i>x</i>
<i>INTRODUCTION</i> .....	<i>1</i>
<i>PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</i> .....	<i>3</i>
1.1. Maladies fongiques des plantes .....	3
1.1.1. La fusariose du blé .....	3
1.1.2. Les pourritures post-récolte des agrumes .....	6
1.1.3. La verticilliose .....	7
1.2. Méthodes de lutte contre les champignons pathogènes .....	9
1.2.1. Lutte génétique .....	9
1.2.2. Lutte culturale .....	9
1.2.3. Lutte chimique .....	10
1.2.4. Lutte biologique .....	10
1.2.5. Protection intégrée .....	11
1.3. Plantes aromatiques et médicinales .....	11
1.3.1. Généralités .....	11
1.3.2. Efficacité des extraits des plantes aromatiques et médicinales contre des champignons pathogènes .....	12
1.3.3. <i>Euphorbia peplus</i> .....	12
1.4. Les métabolites secondaires .....	14
1.4.1. Les composés phénoliques .....	15
1.5. Culture hydroponique des plantes médicinales .....	17
1.5.1. Importance de la culture hydroponique des plantes médicinales .....	18
1.5.2. Efficience de la synthèse des métabolites secondaires en culture hydroponique des plantes médicinales .....	18

<i>PARTIE 2 : MATERIELS ET METHODES</i> .....	20
2.1. Site expérimental.....	20
2.2. Matériel végétal.....	20
2.2.1. Semis et repiquage .....	20
2.2.2. Système et conditions de culture .....	20
2.2.3. Récolte de la biomasse fraîche et préparation de la poudre .....	22
2.3. Préparation des extraits de l' <i>Euphorbia peplus</i> .....	22
2.4. Souches fongiques et culture des pathogènes .....	23
2.5. Evaluation in vitro de l'efficacité des extraits.....	23
2.5.1. Technique sur microplaque ELISA.....	23
2.5.2. Technique en boîte de Pétri.....	28
2.6. Analyses statistiques .....	29
<i>PARTIE III. RESULTATS ET DISCUSSION</i> .....	30
3.1. Résultats .....	30
3.1.1. Technique sur microplaque ELISA.....	30
3.1.2. Technique en boîte de Pétri.....	37
3.2. Discussion .....	1
<i>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</i> .....	4
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i> .....	5
<i>ANNEXES</i> .....	19



## INTRODUCTION

La production agricole, à l'échelle mondiale, est sujette aux pressions des bioagresseurs au cours de la croissance des cultures, en post-récolte et pendant le stockage (Gasic & Tanovic, 2013; Kulkarni et al., 2009; Prakash et al., 2014).

Pour combattre ces ennemis des cultures, l'utilisation des pesticides de synthèse demeure la composante principale (Akutse et al., 2020; Barthélémy Yarou et al., 2017; Son et al., 2017), cela au prix de la destruction des écosystèmes, de l'apparition des souches résistantes des agents pathogènes et des problèmes de santé humaine (Chandler et al., 2011; Kather, 2012; Van et al., 2011; Anjarwalla et al., 2016)

En effet, plusieurs cas d'intoxication suite à l'utilisation des pesticides de synthèse ont été documentés (Batsch Dorothée, 2011; Korangi et al., 2021). L'organisation mondiale de la santé (OMS) rapporte que, chaque année, on enregistre vingt-cinq millions cas d'intoxications aiguës dont deux-cent vingt mille morts dus à l'utilisation des pesticides de synthèse ; 99% de décès ont été relevés dans les pays émergents (Korangi et al., 2021; Muliele et al., 2018).

Des études réalisées en Afrique ont montré qu'au Burkina Faso, en 2010, environ 45% d'agriculteurs enquêtés ont subi une intoxication liée à l'application des pesticides (Toé, 2010). Au Maroc, 2672 cas d'intoxications aiguës ont été dénombrées entre 1990 et 2008 chez les enfants âgés de 6 mois à 14 ans (Achour et al., 2011). En République Démocratique du Congo, les investigations sur les intoxications liées aux pesticides n'ont pas encore été menées. Cependant, une étude réalisée dans la cité de Nkolo en province du Kongo Central a montré que 100 % de maraîchers utilisent les pesticides de synthèse, la majorité n'était pas formée sur la gestion des pesticides, n'utilisait pas d'équipement de protection individuelle lors des pulvérisations des pesticides et la gestion des déchets de pesticides posait problème ; les déchets étaient abandonnés dans les champs ou enfouis dans le sol ; ces maraîchers s'exposeraient ainsi aux intoxications (Korangi et al., 2021; Muliele et al., 2018).

Cela étant, la prise de conscience de la problématique de gestion des pesticides dans l'agriculture, notamment les préoccupations environnementales et sanitaires liées à ces pratiques, et les craintes formulées par les consommateurs associées aux restrictions réglementaires en matière de lutte chimique ont suscité un regain d'intérêt pour les composés naturels et les agents de lutte biologique (Papoutsis et al., 2019 ; Lepoivre, 2003). Ces contraintes ont relancé les recherches particulièrement sur les extraits de plantes susceptibles

de renfermer des molécules bioactives (Ait Taadaouit et al., 2012; Faye, 2010); leur utilisation pose moins de problèmes sanitaires et écologiques (Cissokho et al., 2015).

Dans ce contexte, ce travail est focalisé sur les extraits de *Euphorbia peplus*, une plante bien documentée pour ses vertus médicinales et pharmacologiques (Hua et al., 2017; Smeriglio et al., 2021).

L'objectif de cette étude est de contribuer à la recherche des alternatives efficaces de gestion des bioagresseurs des plantes cultivées, alternatives compatibles avec le développement durable.

Spécifiquement, il s'agit d'évaluer l'efficacité in vitro des extraits d'*Euphorbia peplus* sur quelques champignons phytopathogènes.

## **PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **1.1. Maladies fongiques des plantes**

#### **1.1.1. La fusariose du blé**

##### **1.1.1.1. Généralités sur la maladie**

La fusariose de l'épi est inscrite comme étant l'une de maladies fongiques les plus dangereuses affectant le blé dans le monde entier. Elle entraîne à la fois une réduction significative du rendement par avortement et faible poids des grains, et de la qualité des grains. Les champignons responsables (*Fusarium* sp.) produisent des toxines affectant la santé humaine et animale. La fusariose de l'épi est une maladie de pré-récolte, mais le pathogène peut continuer son développement si le grain récolté n'est pas rapidement et efficacement séché (Audenaert et al., 2009; Hope et al., 2005; Hörberg, 2002; Wagacha & Muthomi, 2007).

D'autres espèces cultivées sont affectées par cette maladie : l'avoine, l'orge, le riz, le maïs, le sorgho, etc. (Dorothée Siou, 2013).

##### **1.1.1.2. Symptômes**

La fusariose se présente sous forme des nécroses au niveau des épillets entraînant par la suite un échaudage de l'épi. Les épillets échaudés peuvent avoir une coloration rose orangée qui correspond au développement du mycélium. Ces épillets peuvent se retrouver groupés sur une section de l'épi ou sur presque la totalité de l'épi. Les symptômes peuvent être limités à des rares épillets décolorés selon l'intensité de la maladie.

Les symptômes typiques comprennent un blanchiment partiel ou complet de l'épi. Les grains atteints sont plus petits avec une coloration blanche ou rose (Christ et al., 2011).



Figure 1. Symptômes de la fusariose de l'épi (A) et du grain de blé (B)  
(ResearchGate)

### 1.1.1.3. Agents pathogènes

#### a. Taxonomie

La fusariose de l'épi est une maladie fongique causée par des espèces regroupées en deux genres de champignons phytopathogènes ; le genre *Fusarium* et le genre *Microdochium* (Arseniuk et al., 1999).

Le genre *Fusarium* appartient à la division des Ascomycètes et à la famille des Nectriacées.

Plusieurs espèces du genre *Fusarium* sont capables de provoquer la fusariose de l'épi dont *F. culmorum*, et *F. avenaceum* (X. Xu & Nicholson, 2009).

#### b. Cycle biologique

L'inoculum primaire des champignons induisant la fusariose des épis hivernent et survivent pendant tout le cycle cultural dans le sol (Audenaert et al., 2009) sous forme de chlamydospores pouvant provoquer des infections des jeunes semis et causer ainsi la fonte de semis, des pourritures du collet et des racines (Asran & Eraky, 2011 ; Dorothée Siou, 2013).

Les sources de l'inoculum peuvent être des résidus végétaux infectés l'année précédente qui constitue la source principale (Champeil et al., 2004; Osborne & Stein, 2007), les semences

infectées (X. Xu & Nicholson, 2009) et les plantes hôtes sauvages (Champeil et al., 2004 ; Dorothee Siou, 2013).

L'inoculum dispersé par le vent ou par la pluie de feuille en feuille atteint les fleurs en formation (Fernando et al., 1997; Sutton, 1982). En conditions suffisamment humides, les spores germent, pénètrent dans la fleur et produisent des mycélium qui se développent pour atteindre les grains en formation et les pièces florales (bractées, rachi, anthères). Le pathogène peut pénétrer dans l'épi directement en surface des glumes ou à travers les ouvertures naturelles (stomates, base de l'épillet) ou les blessures (Brown et al., 2010; Champeil et al., 2004). A la germination des spores, le champignon se nourrit des exsudats extracellulaires, cette phase est asymptomatique (Guenther & Trail, 2005 ; Dorothee Siou, 2013). Par la suite, les hyphes en progression colonisent les tissus vivants et vont provoquer des nécroses. Ainsi, les symptômes des décolorations vont apparaître associés à des taches brunes sur les glumes, le rachis et les épillets (Bottalico & Perrone, 2002; Christ et al., 2011).

### **c. Facteurs de développement de la maladie**

Le développement de la fusariose de l'épi est fonction des facteurs climatiques, des facteurs agronomiques et de la physiologie de la plante hôte (Sutton, 1982; Walter et al., 2010).

L'humidité et la température, à côté des autres facteurs climatiques, jouent un rôle primordial en ce sens qu'ils conditionnent à la fois la germination et l'infection du champignon. Chaque espèce phytopathogène en cause a une gamme optimale de température et d'humidité différente de l'autre. Au sein d'une même espèce, les individus de régions géographiquement différentes ont des optima différents en fonction du climat de leur région d'origine (Doohan et al., 2003; X. Xu & Nicholson, 2009).

Les facteurs agronomiques sont déterminants dans la conservation de l'inoculum primaire. En effet, le choix de la parcelle en tenant compte du précédent cultural sensible à la fusariose (blé, orge, maïs,...) permet de réduire les sources de l'inoculum. Le travail du sol accroîtrait la décomposition des résidus végétaux en favorisant l'activité fongique, ce qui limiterait la colonisation des résidus par les champignons (Mcmullen et al., 1997; Pereyra et al., 2004).

Le développement de la fusariose n'est pas seulement fonction de la quantité d'inoculum et de la virulence du pathogènes. Il dépend aussi des caractéristiques physiologiques de la plante hôte (taille, densité d'épillets...), son état de stress, son stade de développement, la date et la durée

de la floraison et le niveau de résistance de la variété (Audenaert et al., 2009 ; Champeil et al., 2004 ; X. M. Xu et al., 2005).

### **1.1.2. Les pourritures post-récolte des agrumes**

#### **1.1.2.1. Généralités**

Les agrumes font partie des cultures les plus importantes au monde avec une production mondiale estimée à plus 140 millions de tonnes (Papoutsis et al., 2019).

Après la récolte, les agrumes sont entreposés et conditionnés afin de maintenir leur qualité après récolte, et réduire les pourritures dues à des infections des pathogènes. Sur le plan économique, le *Penicillium* sp. dont *P. digitatum* Sacc. et *Penicillium italicum* Wehmer figurent parmi les agents pathogènes les plus importants des agrumes en post-récolte. Ces deux agents de pourriture entraînent des pertes importantes allant jusqu'à 30 et 80 % respectivement. (Papoutsis et al., 2019). Cette étude se focalise sur l'espèce *Penicillium digitatum*.

#### **1.1.2.2. Symptômes**

*P. digitatum* cause des pourriture verte chez les agrumes (Papoutsis et al., 2019 ; Taqarort et al., 2008). Les zones de l'épiderme atteintes présentent une coloration gris verte avec une frange blanche large et diffuse. Ces zones s'éclaircissent légèrement au début et deviennent molles. Par la suite, un fin mycélium blanc vif à accroissement régulier et circulaire se développe, le centre se couvre de spores vertes. En fin d'évolution, les spores vertes recouvrent la totalité du fruit qui se ratatine.



Figure 2. Pourriture verte de *Penicillium digitatum* sur orange  
(Stringfixer.com)

### **1.1.2.3. Agent pathogène**

#### **a. Taxonomie**

*Penicillium digitatum* est une ascomycète appartenant à l'ordre des eurotiales et à la famille de trichomaceae (Palou et al., 2008; Talibi et al., 2014).

#### **b. Cycle biologique**

*P. digitatum* est un pathogène de blessure. Les spores fongiques (conidies) produites en masse par les fruits tombés puis pourris sur le sol du verger, de la salle de conditionnement ou de la salle de stockage sont disséminés dans l'air par le vent. Ces spores peuvent facilement contaminer les fruits environnants avant ou après la récolte. Le degré du développement de la maladie à venir est fonction de la quantité de l'inoculum déposé sur la plaie de la peau, de la maturité du fruit, les fruits mûrs étant très sensibles, et des conditions de température optimales (20-25°C) pour une infection pathogène (Kellerman et al., 2016; Palou et al., 2008; Papoutsis et al., 2019). La germination des conidies et la croissance des hyphes sont rapides et favorisées par la température ambiante. Au niveau du site d'infection, une tache molle, aqueuse et décolorée apparaît en raison de la production d'enzymes hydrolytiques (polygalacturonase, glucosidase) par le pathogène. Ces enzymes induisent la dégradation des tissus et facilitent leur colonisation par le champignon ; ce qui entraîne la pourriture des fruits. Le développement de la maladie dépend de l'humidité relative. En condition d'humidité relative élevée, la surface du fruit est entièrement recouverte des spores suivi d'une initiation au rétrécissement qui va engendrer une forme momifiée (Barkai-Golan R. & Taster N., 2008; Papoutsis et al., 2019).

### **1.1.3. La verticilliose**

#### **1.1.3.1. Généralités**

La verticilliose est l'une des maladies fongiques les plus dévastatrices affectant plusieurs cultures et plantes ornementales dans nombreuses régions du monde (Inderbitzin et al., 2011; Inderbitzin & Subbarao, 2014; Pegg & Brady, 2002). La maladie cause des pertes économiques de plus de 50 % chez le coton (Friebertshauser & DeVay, 1982), la laitue (Atallah et al., 2011), l'olivier (Jimenez-Diaz et al., 2012) et la pomme de terre (Rowe & Powelson, 2002). En fraisier, les pertes atteignent 75% sur un sol non fumigé (Inderbitzin & Subbarao, 2014b). Sur

l'aubergine et la tomate, la maladie provoque la mort de la plante. Le contrôle chimique est coûteux et difficile à réaliser (Karagiannidis et al., 2001).

### 1.1.3.2. Symptômes

La décoloration noire verdâtre des systèmes vasculaire et racinaire de la plante (Atallah et al., 2011; Vallad & Subbarao, 2008), et la sénescence prématurée associée à la réduction de la capacité photosynthétique constituent les symptômes caractéristiques de la verticilliose. Des symptômes externes distincts, notamment la chlorose et la nécrose foliaires apparaissent ainsi que le flétrissement partiel ou généralisé de la plante (Atallah et al., 2011; Barbara & Clewes, 2003; Nair et al., 2016; Rowe & Powelson, 2002; Vallad & Subbarao, 2008).



Figure 3. Symptôme du flétrissement verticillien sur la pomme de terre (Agronomie.info)

### 1.1.3.3. Agent pathogène

Le genre *Verticillium* compte six espèces de champignons phytopathogènes. Parmi elles, *V. dahliae* et *V. albo-atrum* sont des agents le plus importants responsables de la verticilliose (Atallah et al., 2011; Barbara & Clewes, 2003; Pegg & Brady, 2002).

Cette étude s'intéresse au *Verticillium dahlia*.

La spécificité des différentes souches de *V. dahliae* à leurs hôtes est variable. La sensibilité des plantes aux différentes souches de ce pathogène est aussi variable (Mol & van Riessen, 1995).



## **a. Taxonomie**

*Verticillium dahliae* appartient à l'embranchement des ascomycètes, classe des sordariomycètes, sous-classe des hypocreomycetidea, ordre des incertae sedis, familles des plectosphaerellaceae (Martin-Lapierre, 2011).

## **b. Cycle biologique**

L'inoculum est constitué des microsclérotos dormant, repartis dans le sol ou incrustés dans les débris végétaux. Ces structures peuvent rester viable dans la sol pendant 14 ans même en absence de l'hôte. La dispersion de l'inoculum se fait par le vent et par l'eau de pluie (Nair et al., 2016). Lors de la germination stimulée par les exsudats racinaires, les microsclérotos produisent des hyphes qui se développent entre les cellules épidermiques des racines de l'hôte pour atteindre les tissus corticaux et enfin coloniser les tissus vasculaires. Une fois pénétrés, les hyphes prolifèrent et sporulent. Les conidies sont dispersées dans le xylème avec le flux de transpiration et migrent facilement à travers les parois cellulaires (Klosterman et al., 2009; Rowe & Powelson, 2002). Il s'ensuit une infection systémique de la plante et des symptômes foliaires de flétrissement, de chlorose et de nécrose qui sont visibles. Des microsclérotos se forment rapidement dans les tissus morts (feuilles et tiges) qui sont libérés dans le sol au fur et à mesure que les résidus de cultures se décomposent (Bubici & Cirulli, 2008; Rowe & Powelson, 2002).

## **1.2. Méthodes de lutte contre les champignons pathogènes**

### **1.2.1. Lutte génétique**

Le recours aux cultivars résistants constitue l'un des leviers les plus efficaces et rentables dans la gestion des maladies fongiques. Cependant, la variabilité pathogénique des champignons phytopathogènes limite l'efficacité de ces cultivars (Jimenez-Garsco et al. 2004). La résistance vient de l'aptitude à bloquer le pathogène via certains processus contrôlés par des gènes de résistance (Hammerschmidt, 2007).

### **1.2.2. Lutte culturale**

Cette méthode de lutte regroupe l'ensemble de techniques culturales ayant pour objectif d'éviter ou de réduire les risques d'infection. Ces pratiques sont particulièrement efficaces pour les maladies à faible dispersion (Guyader, 2020).

Les possibilités varient en fonction des pathosystèmes et consistent à éviter le sol infecté par la rotation des cultures, à désinfecter le sol (traitement par la chaleur, solarisation), utiliser les semences et le matériel de plantation sains, faire le labour, éliminer les résidus infectieux, respecter la densité et la date de semis, associer les cultures, nourrir correctement les plantes, isoler les cultures, entretenir des brises vent dans les champs, récolter et conserver convenablement les produits, etc. (Guyader, 2020 ; Lepoivre, 2003).

### **1.2.3. Lutte chimique**

Le traitement chimique constitue, à côté des autres méthodes de lutte, l'un des leviers couramment utilisés dans la gestion des maladies fongiques (Lepoivre, 2003).

En fonction du mode d'action sur l'agent pathogène, les fongicides peuvent agir sur plusieurs sites (multisites) ou perturber une voie métabolique spécifique (unisite). Selon l'action exercée au niveau du cycle du développement du champignon, un fongicide peut être préventif ou antipénétrant (action avant infection), curatif (action pendant la phase d'incubation), anti-sporulant (empêche la sporulation) ou éradicant (élimine le champignon déjà visible). En outre, du point de vue comportement dans la plante, un fongicide peut être de surface ou de contact, pénétrant, translaminaire ou systémique.

Depuis bien longtemps, les fongicides sont appliqués en pulvérisation sur les parties aériennes des plantes ou en traitements des semences (Lepoivre, 2003) ou encore en fumigation et désinfection de sols (Guyader, 2020 ; Lepoivre, 2003).

Cependant, l'utilisation des fongicides conduit à l'apparition des souches résistantes des champignons, la toxicité pour l'environnement et pour les personnes (Guyader, 2020 ; Lepoivre, 2003).

### **1.2.4. Lutte biologique**

La lutte biologique privilégie l'exploitation des mécanismes et d'interactions régissant les relations entre les espèces dans le milieu naturel. Les agents utilisés peuvent être des antagonistes microbiens (bactéries, champignons, protozoaires), des virus (Lepoivre, 2003), les médiateurs chimiques tels que les phéromones, les substances allélochimiques (allomones et kairomones) et les phytophéromones, ainsi que les substances naturelles d'origine animale, végétale et minérale (Guyader, 2020; Fauvergue, 2020).

Les produits biologiques à base d'antagonistes microbiens agissent en réduisant la quantité de l'inoculum ou en interférant dans le cycle infectieux des champignons phytopathogènes (Boivin, 2001 ; Lepoivre, 2003).

Les extraits des plantes sont, depuis longtemps, utilisés en agriculture pour le contrôle des maladies fongiques. Ils présenteraient les avantages d'être à la fois moins toxiques pour la santé et moins polluantes pour l'environnement (Papoutsis et al., 2019a ; Fauvergue, 2020).

### **1.2.5. Protection intégrée**

La protection intégrée consiste à combiner rationnellement les différentes méthodes de lutte disponibles (luttons génétique, culturale, biologique, chimiques) de façon à maintenir les agents pathogènes à un niveau où ils ne posent pas des dommages aux cultures tout en réduisant les risques pour la santé de l'homme et pour l'environnement ; le recours aux pesticides de synthèse devra être justifié sur le plan économique et environnemental (Lepoivre, 2003 ; Guyader, 2020).

Cette approche s'articule autour de deux points : la prévention des maladies fongiques qui devra prendre en compte l'exploitation optimale des ressources naturelles et le choix des pratiques non préjudiciables à l'agro-écosystème, ainsi que la lutte avec des produits exclusivement sélectifs, l'utilisation des substances à large spectre d'action devra se faire en dernier recours (Lepoivre, 2003).

## **1.3. Plantes aromatiques et médicinales**

### **1.3.1. Généralités**

Issues de la biodiversité, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une source des molécules intéressant le monde industriel. Ces molécules disposent la plupart de fois des principes actifs pourvus des propriétés spécifiques qui leur donnent un caractère unique (Endrias, 2006). En effet, les composés naturels issus des plantes médicinales ont depuis des siècles été exploités en alimentation et en industrie cosmétique et pharmaceutique (Nostro et al., 2000).

L'intérêt des PAM réside au fait qu'elles renferment des principes actifs qu'elles peuvent secréter sous l'effet de stress appelés métabolites secondaires disposant des propriétés variées (Neffati M. & Sghaier M, 2014).

### **1.3.2. Efficacité des extraits des plantes aromatiques et médicinales contre des champignons pathogènes**

Des nombreuses recherches ont été réalisées sur l'efficacité antifongique des extraits des PAM. L'application de ces extraits en tant que fongicides potentiels seuls ou combinés à d'autres méthodes de contrôle s'est révélée prometteuse notamment dans la gestion des pourritures des agrumes en post-récolte (Ameziane et al., 2007; Askarne et al., 2013; Li Destri Nicosia et al., 2016; Papoutsis et al., 2019a).

Cet effet antifongique des extraits des PAM a été attribué, dans beaucoup d'études, à la présence des métabolismes secondaires, particulièrement les polyphénols (Li Destri Nicosia et al., 2016; Pangallo et al., 2017; Sanzani et al., 2014; Tayel et al., 2016).

### **1.3.3. *Euphorbia peplus***

#### **1.3.3.1. Généralités**

Connu sous le nom de « petite euphorbe », *Euphorbia peplus* est une plante herbacée faisant partie des espèces de la famille des Euphorbiacées. Son nom vient du grec « Éuphorbos » qui fait référence à un médecin Mauritanien qui eut utilisé cette espèce en premier comme plante médicinale (Frezza et al., 2018).

Du point de vue botanique, *E. peplus* a un système racinaire pivotant et atteint une hauteur de 10 à 40 cm. La tige est dressée, lisse, glabre et cylindrique, ramifiée dès la base et de coloration vert clair teintée de rouge. Les feuilles sont alternées, glabres, avec des pétioles courts et bords pleins. On retrouve du latex blanchâtre dans les feuilles. Les fleurs sont hermaphrodites, jaunes-vertes en ombelles terminales avec parfois des rameaux florifères. Les fruits sont des petites capsules lisses (Frezza et al., 2018).

Cette espèce est originaire de la majeure partie d'Europe, de l'Afrique du Nord et de l'Asie orientale. Elle pousse en général sur des terres arables cultivées, dans des jardins et sur d'autres terres perturbées. Au-delà de son aire d'origine, cette espèce s'est largement installée et naturalisée dans toute les régions du monde (Da Silva et al., 2014; Frezza et al., 2018; Hua et al., 2017).



Figure 4. *Euphorbia peplus*  
(Frezza et al., 2018)

### 1.3.3.2. Intérêt phytochimique et pharmacologique

*E. peplus* est une plante utilisée depuis longtemps en médecine humaine. Elle attire l'attention de plusieurs auteurs pour ses aspects phytochimiques et pharmacologiques. En effet, cette espèce est riche en métabolites secondaires, particulièrement en terpènes et en flavonoïdes qui y ont été relevés en tant que constituants majeurs. Pour le deuxième point, la petite euphorbe est dotée de plusieurs propriétés pharmacologiques : anti-inflammatoire, antipyrétique, anti-astmatique, anti-tumorale, antitussive, cytotoxique, purgative et antimicrobienne (Ahmed & Noureldeen, 2022; Al-Okbi et al., 2002; Da Silva et al., 2014; Ertas et al., 2015; Kemboi et al., 2021; Ramsay et al., 2011; Rautela et al., 2020; Smeriglio et al., 2021; Yang et al., 2021; Yu et al., 2019).

Le latex de l'*E. peplus* est utilisé dans le traitement du cancer de peau et de la kératose actinique en ethnomédecine australienne ; son efficacité a conduit à la sortie du médicament Picato et a suscité l'intérêt pour les produits naturels à base de l'*Euphorbia* sp. (Al-Emam et al., 2019; Frezza et al., 2018).

### 1.3.3.3. Activité antifongique des extraits de l'*Euphorbia peplus*

Le latex irritant, présent dans l'euphorbe et riche en composés phytochimiques, joue un rôle central dans la défense de la plante contre les agents pathogènes microbiens en général (Smeriglio et al., 2021).

## 1.4. Les métabolites secondaires

Les plantes produisent naturellement divers composés chimiques qui sont utilisés pour leur croissance et leur développement et qui sont repartis dans toutes les cellules ; ce sont des métabolites primaires (les sucres, les acides gras, les acides aminés et nucléiques). Les produits dérivés des métabolites primaires, non directement impliqués dans la croissance et le développement, sont considérés comme des métabolites secondaires (MS). En général, les MS sont synthétisés à partir de modification de la biosynthèse, notamment la méthylation, la glycosylation et l'hydroxylation (Twaij & Hasan, 2022).

Souvent produits en faible concentration, les MS sont stockés dans des cellules et/ou organes spécifiques. Ils jouent un rôle important dans l'interaction de plante avec son environnement, particulièrement dans la défense, la compétition, la symbiose ou la pollinisation (Hartmann, 2007; Lattanzio, 2013; Oksman-Caldentey & Inzé, 2004).

Il existe trois groupes chimiquement distincts des MS : les terpènes et stéroïdes, les composés phénoliques, les composés contenant du N (azote) et du S (soufre) (Crozier et al., 2006; Hartmann, 2007; Pagare et al., 2015.)

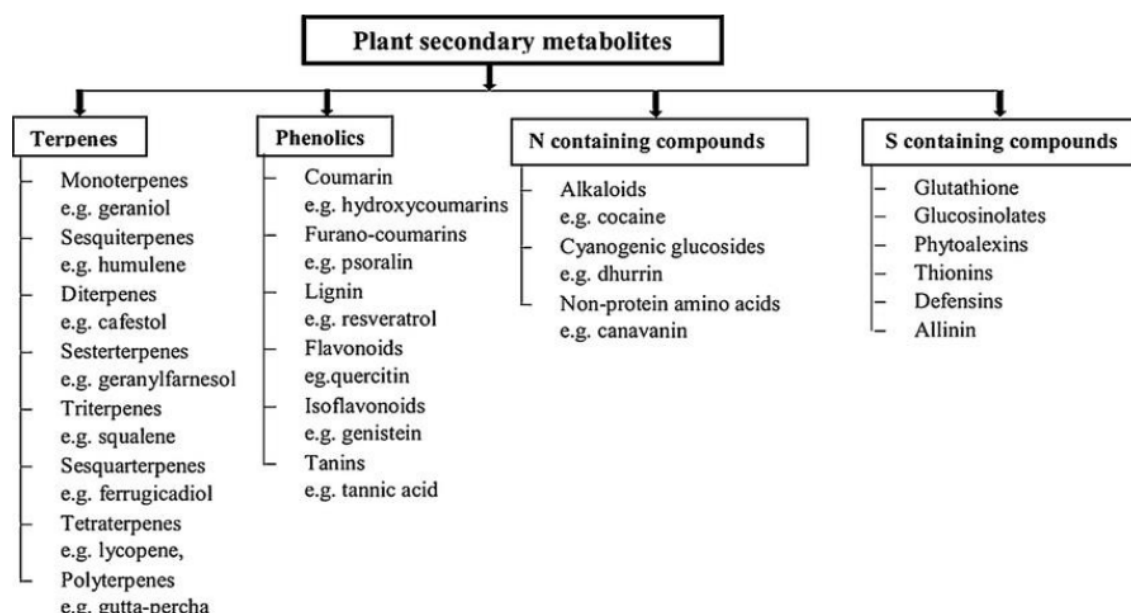


Figure 5. Trois grands groupes chimiquement distincts de MS  
(Twaij & Hasan, 2022)

Plusieurs propriétés biologiques sont reconnues aux MS, ils sont généralement antioxydants, anti-cancérigènes, antiinflammatoires et antimicrobiens ; depuis bien longtemps, ils sont utilisés comme arôme, parfums, colorants, pesticides et produits pharmaceutiques (Oksman-Caldentey & Inzé, 2004; Pagare et al., 2015).

Parmi les MS, les composés phénoliques sont considérés comme ayant un rôle clé dans la défense des plantes contre les stress biotiques et abiotiques (Lattanzio, 2013b; Pagare et al., 2015).

#### **1.4.1. Les composés phénoliques**


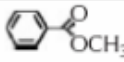


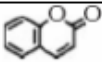
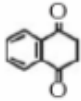
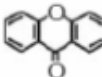
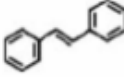
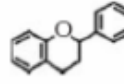
##### **1.4.1.1. Définition**

Le vocable composés phénoliques ou polyphénols fait référence aux molécules chimiques disposant dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, porteur d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH). Ils forment une très vaste famille de substances chimiques spécifiques du règne végétal (Crozier et al., 2006; Hennebelle et al., 2004).

##### **Classification**

Les polyphénols peuvent être classés en fonction du nombre et de l'arrangement de leurs atomes de carbone (Tableau 1).

Tableau 1. Structure squelettique des composés phénoliques  
(Crozier et al., 2006)

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Acide gallique	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphényl-acétique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Esculitine	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiférine	
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resveratrol	
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Naringénine	

#### a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes comprennent quinze carbones, avec deux cycles aromatiques reliés par un pont à trois carbones (Tableau 1). Ce sont les composés polyphénoliques les plus nombreux et se retrouvent dans tout le règne animal. Les principales sous-classes sont : les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. D'autres groupes de flavonoïdes constituent des sous-classes mineures (dihydroflavonols, flavan-3,4-diols, coumarines, chalcones, dihydrochalcones, aurones) (Crozier et al., 2006).

#### b. Les non flavonoïdes

Les non-flavonoïdes les plus importants sont les acides phénoliques, notamment l'acide gallique qui est le précurseur des tanins hydrolysables, les hydroxycinnammates et leurs dérivés conjugués, ainsi que les stilbènes (Tableau 1) (Crozier et al., 2006).



#### **1.4.1.2. Les propriétés biologiques des composés phénoliques**

Les composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes font l'objet des recherches récentes très poussées en raison de leurs propriétés biologiques telles que les activités antiallergiques, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Ksouri et al., 2007; Middleton et al., 2000). Ces actions sont dues à la capacités qu'ont les composés phénoliques à agir comme agent antioxydant disposant des propriétés redox qui jouent un rôle majeur dans la destruction oxydative en neutralisant les radicaux libres, en piégeant l'oxygène ou en décomposant les peroxydes (Nijveldt et al., 2001). Les agents antioxydants attirent beaucoup d'intérêt dans le domaine de phytothérapie et en hygiène alimentaire (Leong & Shui, 2002).

#### **1.5. Culture hydroponique des plantes médicinales**

Par culture hydroponique on entend un système où les végétaux sont cultivés en dehors de leur environnement naturel, le sol. Les plantes réalisent leur cycle complet de développement et de production les racines n'étant pas en contact avec la terre. La technique se fait en plaçant les racines nues dans une solution nutritive ou en utilisant un substrat inerte (Baras, 2019 ; Texier, 2013 ; Urban, 2010).

Les principes fondamentaux de ce système consistent à maintenir la solution nutritive à une bonne température, oxygénée en permanence et en fournissant aux plantes les éléments minéraux selon leurs besoins (Texier, 2013).

Beaucoup d'avantages sont liés à l'hydroponie notamment : la possibilité de cultiver dans des espaces réduits, le contrôle de la nutrition des plantes, l'économie de l'eau et des engrais, la réduction ou l'élimination de l'utilisation de pesticides grâce à une bonne santé et une croissance plus rapide des plantes, la production d'une grande quantité de biomasse, la culture en conditions extrêmes, etc. (Urban, 2010 ; Texier, 2013 ; Baras, 2019 ).

Cependant, dans le contexte de ce travail, cette technique présente une limite majeure, la destruction des toutes plantes en cas d'erreur (pH mal réglé, asphyxie des racines, ...) (Urban, 2010 ; Texier, 2013).

### **1.5.1. Importance de la culture hydroponique des plantes médicinales**

Les plantes médicinales synthétisent des métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les terpenoïdes, les phénols etc., utiles à la fois dans la thérapie des affections humaines et animales (Yoshimatsu, 2012) et dans la protection des plantes contre les bioagresseurs (Leontopoulos et al., 2020). Ces plantes constituent l'une des sources principales des médicaments allopathiques modernes et bruts (Yoshimatsu, 2012) et une alternative aux pesticides de synthèse employés en agriculture (Leontopoulos et al., 2020). Un approvisionnement suffisant, régulier et stable en plantes médicinales de bonne qualité et correctement identifiées contribue largement aux soins médicaux actuels et futurs. Cela étant, les plantes médicinales nécessitent une culture à long terme et un travail humain conséquent que de telles tendances amèneraient à une chute de la culture domestique accentuée par le vieillissement des ouvriers agricoles. En plus, la constitution et la concentration des métabolites secondaires sont largement influencées par l'environnement de croissance de la plante, son patrimoine génétique, le temps de la récolte, le séchage, le stockage et les méthodes de traitement des plantes médicinales (Yoshimatsu, 2012). En outre, la collecte de la matière première dans la nature peut être laborieuse du fait des problèmes tels que la mauvaise identification et la variabilité génétique et phénotypique des plantes médicinales (Giurgiu et al., 2014.).

La culture hydroponique dans l'environnement contrôlé est l'une des solutions efficaces aux besoins en plantes médicinales. Ce type de culture permet l'approvisionnement à temps opportun et empêche la surexploitation des ressources médicinales sauvages en protégeant ainsi la flore spontanée et la diversité d'espèces qu'on trouve dans la nature (Giurgiu et al., 2014; Yoshimatsu, 2012).

### **1.5.2. Efficience de la synthèse des métabolites secondaires en culture hydroponique des plantes médicinales**

La demande en plantes médicinales s'est fortement accrue ; cela a suscité l'installation des cultures à grande échelle de manière intensive qui du reste est devenue difficile dans le contexte actuel. Ainsi, les producteurs se sont orientés vers l'hydroponie qui a donné des bons résultats en termes de rendement et donc une alternative efficace à l'agriculture traditionnelle. La grande question qui s'est posée était celle de la qualité des plantes étant données que les plantes médicinales sont précieuses pour leurs composés bioactifs qu'ils renferment (Giurgiu et al., 2014).

La production des plantes médicinales en hydroponie entraîne des fortes concentrations en métabolites secondaires par rapport aux plantes cultivées dans le sol en raison du contrôle total de l'environnement de la plante (Giurgiu et al., 2014). En effet, la manipulation de l'environnement offre au producteur la possibilité d'accroître la synthèse des molécules d'intérêt qui est influencée par la température, l'humidité, la lumière, la conductivité électrique, et le pH, qui sont attentivement surveillés tout au long du cycle cultural (Canter et al., 2005; Giurgiu et al., 2014 ; Pedneault et al., 2002 ). Cependant, Bafort et al., (2022) rapporte que pour une qualité et une intensité lumineuse optimales, la réponse en terme d'accumulation des molécules biactives dépend de l'espèce végétale, du stade de croissance de la plante et des métabolites secondaires spécifiques.

## **PARTIE 2 : MATERIELS ET METHODES**

### **2.1. Site expérimental**

La culture d'*Euphorbia peplus* a été réalisée dans des conteneurs maritimes à environnement contrôlé fournis par Urban Crops (modèle Farm Lab « Research ») situés dans la parcelle WASABI de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech.

Les essais pour les tests d'efficacité des extraits ont été menés au laboratoire de phytopathologie intégrée et urbaine de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech dirigé par le Professeur Haïssam JIJAKLI.

### **2.2. Matériel végétal**

Les semences de départ d'*Euphorbia peplus* sont provenues d'un magasin d'horticulture à Liège, en Belgique. La mise en culture sous serre de cette plante a permis de constituer et de maintenir le stock de graines à l'obscurité à température ambiante.

#### **2.2.1. Semis et repiquage**

Le semis a été effectué à la main sur des petits cubes de laine de roche et déposés, ensuite, sur les étagères réservées à la germination dans le conteneur. Les petits cubes de laine de roche ont été imbibés constamment jusqu'à ce que les plantules aient atteints le stade 2 premières vraies feuilles (environ 21 jours après le semis), sous une densité de flux de photons photosynthétiques (PPFD) de 200  $\mu\text{mol/s/m}^2$ . Par la suite, les plantules ainsi obtenus ont été repiqués dans des cubes de laine de roche de plus grande dimension (7 cm x 7,5 cm x 7,5 cm) et mis dans les bacs de culture hydroponique.

#### **2.2.2. Système et conditions de culture**

Pour cultiver l'*E. peplus*, le système hydroponique employé a été la 'culture en eau profonde (Deep Water Culture : DWC)'. Dans ce système, la partie racinaire de la plante reste entièrement immergée dans la solution nutritive.

Au niveau des conteneurs, les bacs de culture ont été disposés en deux rangées. Sur chacune de rangée, il y a eu trois étagères formées d'une succession en série de six bacs.

Deux solutions d'engrais concentrées de marque Plagron ont été distribuées de façon séparée aux plantes. Ces solutions ont été injectées à quantités égales dans le système pour une dilution au 1000<sup>ème</sup> (1V solution : 1000V eau). La solution A (8-0-0) a assuré la fourniture en azote (N) sous forme nitrate de calcium ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) et la solution B (0-10-5) a apporté le phosphore (P) et le potassium (K) sous forme de pentoxyde de phosphore ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) et d'oxyde de potassium ( $\text{K}_2\text{O}$ ).

Le pH et la conductivité électrique de la solution étaient respectivement maintenues à 6,2 et 2000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Ces deux paramètres étaient ajustés automatiquement à travers un système des sondes et de pompes reliées aux solutions nutritives et à une solution d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Aussi, un multimètre portable (modèle HQ40d, HACH) permettait de faire un contrôle régulier extérieur au système.

Dans le conteneur, la température a été maintenue à 24°C, l'humidité relative variait entre 60 et 70% ; les plantes ont été soumises à une photopériode de 18 heures de lumière et 6 heures d'obscurité. La culture a duré 60 jours.



*Figure 6. Culture hydroponique d'E. peplus dans le conteneur situé dans la parcelle WASABI*

### 2.2.3. Récolte de la biomasse fraîche et préparation de la poudre

Les parties aériennes des plantes ont été récoltées en faisant une coupe au-dessus du collet, puis pesées individuellement à l'aide d'une balance Mettler PM 460 Delta Range (0,01g). Elles ont, par la suite, été séchées à l'étuve ventilée Wotsch VTU à 40°C durant 4 jours. La matière sèche obtenue a été pesée et son pourcentage a été déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ MS} = \frac{PS}{PF} \times 100$$

avec, MS : teneur en matière sèche, PS : poids de la matière sèche (g) et PF : poids de la matière fraîche (g).

Ensuite, la matière sèche a été réduite en poudre à l'aide d'un moulin-broyeur à rotor (Fritsch pulverisette 19, 50-60 Hz, 2200 W, Allemagne) en particules de 250µm puis conservée à température ambiante dans des bocaux en plastique dans l'obscurité.

### 2.3. Préparation des extraits de l'*Euphorbia peplus*

Ce travail a commencé avec les essais de test d'efficacité du latex dilué d'*Euphorbia peplus* en microplaque ELISA. Cependant, la dilution du latex a donné une solution instable. Il y a eu, au cours du temps, la formation des précipités qui interféraient dans la lecture de la densité optique ; ce qui biaisait les résultats de la spectrophotométrie. Ainsi, cette piste a été abandonnée et la suite de ce travail a été réalisée avec les extraits de cette espèce végétale.

Les extraits utilisés dans cette recherche ont été préparés suivant le protocole développé par Gokce et al. (2006) et Yanar et al. (2011) moyennant quelques modifications. En effet, 10 gr de poudre ont été mélangés séparément dans 100 ml de méthanol absolu, de l'hexane et du chloroforme dans des bouteilles en verre. Ces bouteilles ont été recouvertes du papier aluminium, placées sur l'agitateur horizontal (Heidolph UNIMAX 2010) et secouées (120 tours/min) dans l'obscurité pendant 48h. Les suspensions obtenues ont été filtrées à l'aide d'une double couche d'étamine puis évaporées grâce à un évaporateur rotatif (Heidolph Laborota 4003 control) à  $38 \pm 2^\circ\text{C}$  sous une pression réduite. La matière sèche obtenue (environ 2g) a été diluée dans 25 ml d'eau distillée stérile contenant du Tween 20 à 1%. Ensuite, la solution a été soumise à deux centrifugations pendant 15 minutes chacune puis passée au papier filtre qualitatif plissé, 303 (VWR European Cat. No. 516-0294) pour éliminer les résidus de la matière sèche qui pourraient interférer dans la lecture de la densité optique.

## 2.4. Souches fongiques et culture des pathogènes

*Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, *Penicillium digitatum* et *Verticillium dahliae* font l'objet de cette étude. Ces pathogènes proviennent de la collection du laboratoire de phytopathologie de la faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech.

La production des conidies a été réalisée sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Ce milieu a été préparé suivant les instructions du fabricant : 39 gr de poudre dans 1 litre d'eau distillée puis autoclavage de la solution à 120°C pendant 20 minutes.

La technique de culture a consisté à découper, en conditions stériles, des morceaux d'agar contenant le pathogène dans du glycérol et à le repiquer, par la suite, dans des boîtes de Pétri contenant du PDA. Ces boîtes ont été incubées dans la chambre de culture à 23°C pendant 14 jours (*Penicillium digitatum*), 21 jours (*Fusarium culmorum* et *Fusarium avenaceum*) et 30 jours (*Verticillium dahliae*) pour permettre aux champignons de s'étendre sur toute la surface de la boîte de Pétri et produire des spores.

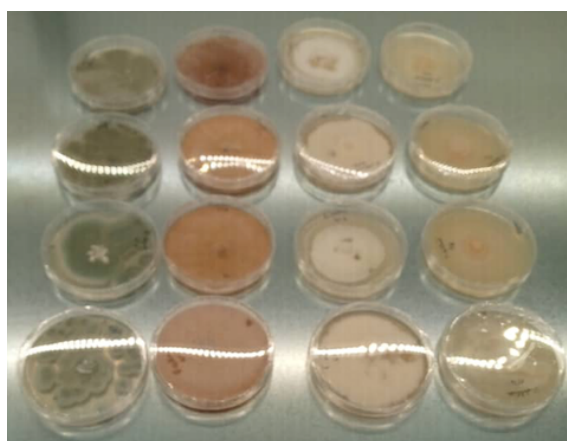


Figure 7. Culture des souches fongiques

## 2.5. Evaluation in vitro de l'efficacité des extraits

Pour évaluer l'effet antifongique de l'extrait d'*Euphorbia peplus*, deux méthodes différentes ont été utilisées : la technique sur microplaque ELISA et celle en boîte de Pétri.

### 2.5.1. Technique sur microplaque ELISA

Pour cette technique, des microplaques ELISA à 96 puits (F96 MAXI SORP NUNC-IMMUNO PLATE) ont été utilisées afin de suivre la croissance in vitro des pathogènes. Ces microplaques présentent l'avantage d'être adaptées pour les applications microscopiques et aussi pour la

précision dans la prise des mesures optiques. Les plaques ont été scellées avec un film adhésif afin de protéger les essais de l'évaporation et des contaminations (Kouassi et al., 2012).

Pour la lecture de la densité optique, le lecteur des microplaques à 96 puits (Labsystems Multiskan RC), contrôlé par Ascent Software for iEMS Reader MF à partir de l'ordinateur, a été utilisé. L'appareil a été programmé de façon à secouer la plaque pendant 60 secondes pour homogénéiser la solution avant de faire la lecture.

#### **2.5.1.1. Milieux de culture des pathogènes**

##### **a. Jus d'orange concentré**

Le jus d'orange concentré a servi pour les essais d'évaluation de l'efficacité des extraits de l'*E. peplus* sur *Penicillium digitatum*. Pour préparer ce milieu, le jus concentré extrait d'orange a été filtré à travers le filtre à membrane, autoclavé à 120°C pendant 20 minutes, ensuite dilué dans l'eau distillée stérile jusqu'à la concentration souhaitée (Kouassi et al., 2012).

##### **b. Milieu V8**

Le milieu V8 a été utilisé pour les essais avec le *Fusarium culmorum* (De Clerck et al., 2020). Ce milieu a été préparé suivant le protocole commun du laboratoire de phytopathologie de Gembloux Agro-Bio-Tech ; 200 mg de carbonate de calcium ont été ajoutés à 100 ml de jus V8, le mélange a été porté à 1000 ml avec de l'eau distillée puis autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.

##### **c. Milieu PDB**

Le milieu PDB a servi pour l'évaluation de la croissance de *Verticillium dahlia* sur les microplaques. Ce milieu a été préparé suivant les recommandations du fabricant ; 26,5 gr de PDB ont été déposés dans 1000 ml d'eau distillée, le mélange a été autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.

#### **2.5.1.2. Préparation de la solution de spores pour les essais in vitro**

La préparation de l'inoculum a été réalisée dans des conditions aseptiques suivant le protocole commun du laboratoire de phytopathologie de Gembloux Agro-Bio-Tech, utilisé aussi par Kouassi et al. (2012). Pour ce faire, 10 ml d'eau distillée stérile contenant du Tween 20 à 0,05 % ont été déposés dans une boîte de Pétri sur des cultures fongiques de 14 à 30 jours selon la



souche. Les conidies ont été récupérées en grattant délicatement la surface avec un fil de platine de sorte à former une suspension eau-spores-mycéliums. La suspension obtenue qui constitue la solution mère a ensuite été filtrée à travers une double couche stérilisée d'étamine pour éliminer les fragments de mycélium et récupérer les spores. Cette solution a été, par la suite, diluée 10 fois pour faciliter le comptage de spores. Pour ce faire, 60  $\mu$ l de cette solution ont été étalés sur la grille de la cellule de Burker puis un comptage au microscope de 5 petits carrés d'un côté de la rainure de cette cellule a été effectué et 5 autres petits carrés de l'autre côté de la rainure pour faire un total de 10 valeurs trouvées. Ensuite, la moyenne arithmétique de ces 10 valeurs a été déterminée puis multipliée par le coefficient  $25 \times 10^4$  pour avoir la concentration initiale de la suspension ( $C_i$ ). La dilution à effectuer pour obtenir la concentration finale désirée ( $C_f$ ) a été calculée par la relation  $F_d = \frac{C_i}{C_f}$  où  $F_d$  est le facteur de dilution.

### **2.5.1.3. Cinétique de croissance des souches fongiques**

L'observation de la cinétique de croissance des souches fongiques permet de déterminer les concentrations en spores ainsi que la dilution du milieu à réaliser pour une croissance optimale des champignons sur microplaque ELISA. Le protocole commun de laboratoire de phytopathologie de Gembloux Agro-Bio-Tech a été utilisé pour cette fin.

En effet, les solutions concentrées à  $3.10^4$ ,  $3.10^5$  et  $3.10^6$  spores/ml, et des milieux dilués 1X, 10X et 100X ont été préparés. Ensuite, les aliquotes (une aliquote par dilution du milieu) constitués, d'une part, des témoins négatifs, et d'autre part, ceux contenant le pathogène, ont été mis en place. Les témoins négatifs ont été réalisés en mélangeant 1ml du milieu dilué, 1ml d'eau distillée stérile + Tween 20 à 0,05% et 1ml d'eau distillée stérile. Les aliquotes avec pathogène ont été préparées en prenant 1ml du milieu dilué, 1ml de la solution de spores par concentration et 1ml d'eau distillée stérile.

Ainsi, on obtient les concentrations finales en milieu et en pathogènes respectivement de 3X/30X/300X et de  $10^4/10^5/10^6$ . Les différentes combinaisons réalisées pour préparer les aliquotes sont décrites dans le tableau ci-dessous.

*Tableau 2. Différentes combinaisons réalisées en vue de préparer les aliquotes pour la croissance des souches fongiques sur microplaque ELISA*

Combinaison	Milieu - Pathogène	Témoins	Milieu
H1	300X - 10 <sup>4</sup>	T1	300X
H2	30X - 10 <sup>4</sup>	T2	30X
H3	3X - 10 <sup>4</sup>	T3	3X
H4	300X - 10 <sup>5</sup>	T4	300X
H5	30X - 10 <sup>5</sup>	T5	30X
H6	3X - 10 <sup>5</sup>	T6	3X
H7	300X - 10 <sup>6</sup>	T7	300X
H8	30X - 10 <sup>6</sup>	T8	30X
H9	3X - 10 <sup>6</sup>	T9	3X
X'	30X - 10 <sup>5</sup>	T'	30X

Où :

- H1 à H9 : différentes combinaisons milieu-pathogène-eau distillée stérile ;
- T1 à T9 : différentes combinaisons pour les témoins négatifs ;
- X' et T' : respectivement témoin positif et témoin négatif, X' et T' ne sont pas obligatoires pour déterminer la cinétique de croissance.

Par la suite, 200µl ont été déposés dans les puits de la plaque ELISA en respectant le schéma-type ci-dessous :

Tableau 3. Schéma-type de la plaque ELISA

H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T1	T5		
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T1	T5		
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T2	T'		
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T2	T'		
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T3			
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T3			
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T4		X'	X'
H1	H2	H3	H4	H5		Eau		T4		X'	X'

Enfin, une première mesure à 630nm a été effectuée grâce au lecteur du Multiskan ELISA. D'autres mesures ont suivies en raison d'une mesure toutes les 24 heures pour obtenir la cinétique de croissance jusqu'au moment où la croissance du pathogène a atteint le plateau.

#### 2.5.1.4. Evaluation de l'efficacité des extraits sur microplaque ELISA

##### a. Préparation des aliquotes

Pour évaluer l'efficacité des extraits sur microplaque ELISA, des aliquotes contenant le pathogène (traitements) et ceux sans pathogène (témoins) ont été préparés. Au total, 5 traitements et 5 témoins correspondant au 5 concentrations en extrait d'*E. peplus* utilisées dans cette recherche ont été mis en place. Les traitements étaient constitués de la combinaison milieu - pathogène - extrait d'*E. peplus* et les témoins de la combinaison milieu - Tween 20 à 0,05% - extrait d'*E. peplus*. Un contrôle positif constitué du milieu - pathogène - eau distillée stérile et un contrôle négatif formé du milieu - Tween 20 à 0,05% - eau distillée stérile ont aussi été installés.

## **b. Chargement de la plaque ELISA et mesure de la densité optique**

Les puits de la plaque ELISA ont été chargés avec 200µl de chaque aliquote suivant le schéma présenté précédemment. La mesure de la densité optique a été réalisée à une longueur d'ondes de 630nm toutes les 24 heures.

## **c. Evaluation du pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition d'un traitement (PI) a été évaluée en utilisant la relation ci-dessous (Kouassi et al., 2012) :

$$PI (\%) = \frac{(X' - T') - (X_n - T_n)}{(X' - T')}$$

où :  $X'$  est la moyenne de la densité optique du contrôle positif au temps 't' ;  $T'$  est la moyenne de la densité optique du contrôle négatif au temps 't' ;  $X_n$  est la moyenne de la densité optique du traitement n au temps t et  $T_n$  est la moyenne de la densité optique du témoin n au temps 't'.

## **2.5.2. Technique en boîte de Pétri**

### **2.5.2.1. Préparation de milieu de culture en vue des essais de test d'efficacité**

L'évaluation de l'efficacité antifongique en boîte de Pétri a été réalisée sur le milieu PDA préalablement amené avec l'extrait d'*Euphorbia peplus* à des concentrations de 187,5 ppm, 375 ppm, 750 ppm, 1500 ppm et 3000 ppm en utilisant la relation  $C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f$  ; avec  $C_i$  : la concentration de l'extrait,  $V_i$  : le volume de l'extrait,  $C_f$  : la concentration en extrait du milieu PDA et  $V_f$  : volume du milieu PDA.

La technique a consisté à ajouter, en conditions aseptiques, l'extrait dans le milieu PDA (Magro et al., 2006; Parveen et al., 2014) lorsque la température du milieu descend à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  après autoclavage. Le mélange a été agité pendant 3 minutes avant de le couler dans des boîtes de Pétri.

Par la suite, au moyen d'une emporte-pièce et de la lame à scalpel, un disque mycélien de 6 mm de diamètre issu des cultures fongiques âgées de 14 jours (*Penicillium digitatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*) et 21 jours (*Verticillium dahliae*) a été déposé au centre de

chaque boîte. Pour chaque essai, un traitement avait 3 répétitions, un contrôle (témoin) par traitement constitué de milieu PDA sans extrait d'*E. pepplus* répété aussi 3 fois a été installé.

Les boîtes ont été incubées dans la chambre de culture des microorganismes à 23°C pendant 6 jours (*Fusarium culmorum* et *Fusarium avenaceum*), 12 jours (*Penicillium digitatum*) et 21 jours (*Verticillium dahliae*).

#### **2.5.2.2. Evaluation du pourcentage d'inhibition**

Pour évaluer le pourcentage d'inhibition d'un traitement, le diamètre de croissance du mycélium a été mesuré à l'aide d'une latte graduée, ce, à intervalle de temps régulier variant suivant le pathogène, puis comparé à celui du témoin.

Le pourcentage d'inhibition (PI) a été déterminé suivant la formule (Magro et al., 2006 ; Shazia et al. 2014) :

$$PI (\%) = \frac{D - D_i}{D} \times 100$$

où D : diamètre moyen de la croissance mycélienne dans le témoin ; Di : diamètre moyen de la croissance mycélienne en présence de l'extrait.

#### **2.6. Analyses statistiques**

L'analyse de la variance a été réalisée sur les données grâce au logiciel Minitab. Le test de Tukey a été utilisé pour établir les différences entre les moyennes à un seuil de signification de 5 %. Les données non normalement distribuées ont été analysées par le test de Kruskal-Wallis.

## **PARTIE III. RESULTATS ET DISCUSSION**

### **3.1. Résultats**

#### **3.1.1. Technique sur microplaque ELISA**

##### **3.1.1.1. Cinétique de croissance des souches fongiques**

Pour évaluer l'activité antifongique des extraits d'*Euphorbia peplus*, les conditions de croissance optimale (concentration en spores et dilution du milieu) ont été déterminées en observant la cinétique de croissance des champignons.

Les conditions de croissances optimales de *Penicillium digitatum* et *Fusarium culmorum* ont été déterminées par des travaux précédents réalisés au sein du laboratoire de phytopathologie de Gembloux Agro-Bio-Tech et respectivement  $10^4$  sp/ml dans du jus d'orange concentré dilué dans l'eau distillé stérile suivant les proportions de  $3 \cdot 10^{-2}$  (volume jus concentré : volume eau distillée stérile) et  $10^5$  sp/ml dans V8 dilué 3 fois.

*Fusarium avenaceum* n'a pas produit des spores lors de la culture fongique ; ainsi, pour ce champignon, l'évaluation de l'efficacité des extraits s'est réalisée uniquement en boîte de Pétri.

- **Cinétique de croissance de *Verticillium dahliae***

La figure ci-dessous présente la croissance au cours du temps de *Verticillium dahliae* en fonction de la concentration en spore du pathogène et de la dilution du milieu de croissance. L'observation de cette figure renseigne qu'aucune combinaison n'a montré une croissance exponentielle suivi d'un plateau de croissance ; ceci conduit à dire qu'aucune combinaison n'est idéale pour la croissance de *Verticillium dahlia* en microplaque ELISA. Ainsi, les tests d'efficacité des extraits sur ce pathogène ont été réalisés en boîtes de Pétri.

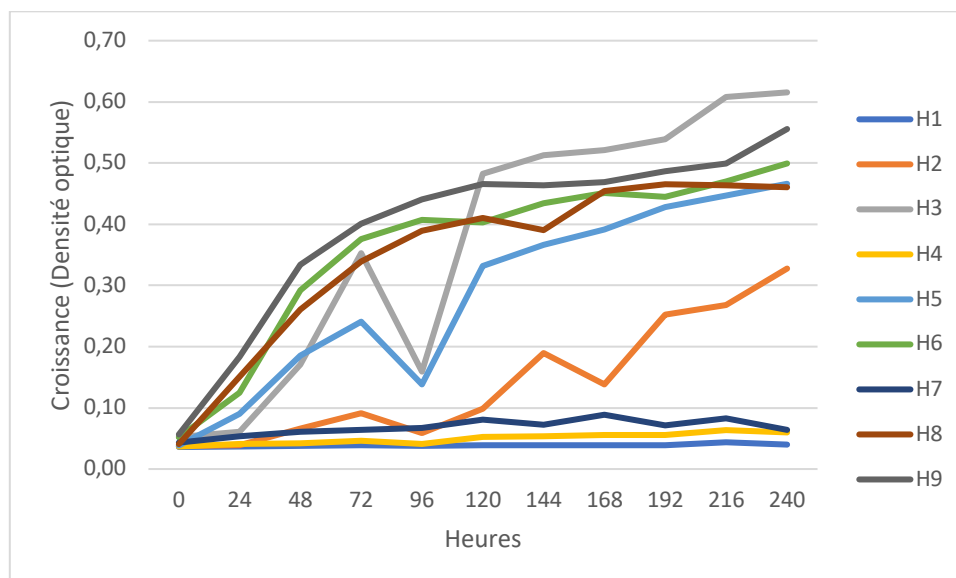


Figure 8. Croissance au cours du temps de *Verticillium dahliae* H1 à H9 : différentes combinaisons milieu-pathogène-eau distillée stérile

### 3.1.1.2. Evaluation de l'efficacité des extraits

Le dépistage antifongique a été réalisé avec trois types d'extraits ; l'extrait méthanolique, le extrait hexanique et l'extrait chloroformique. Chacun de ces extraits a été utilisé à des concentrations de 187,5 ppm, 375 ppm, 750 ppm, 1500 ppm et 3 000 ppm.

#### 3.1.1.2.1. *Penicillium digitatum*

La croissance de *P. digitatum* sur microplaques a été évaluée suivant la fréquence de 24h pendant 144h d'incubation correspondant au plateau de croissance, à 23°C dans l'obscurité. La densité optique a été mesurée en utilisant la longueur d'onde de 630 nm.

Les figures 13, 14 et 15 montrent qu'au bout de 144 heures d'incubation, aucun n'extrait n'a inhibé la croissance de *P. digitatum*. La croissance de ce pathogène a été plus importante en présence des extraits que dans le contrôle, cela durant toute la période de l'essai. Statistiquement (annexe 1), les concentrations de l'extrait méthanolique ont présenté des différences significatives ( $P\text{-value} < 0,05$ ), les concentrations de l'extrait hexanique ont aussi présenté des différences significatives ( $P\text{-value} < 0,05$ ) et celles de l'extrait chloroformique ont révélé des effets significativement différents ( $P\text{-value} < 0,05$ ) sur la croissance de *P. digitatum*. En effet, la croissance de ce champignon a été proportionnelle à l'accroissement de la concentration pour chaque extrait.

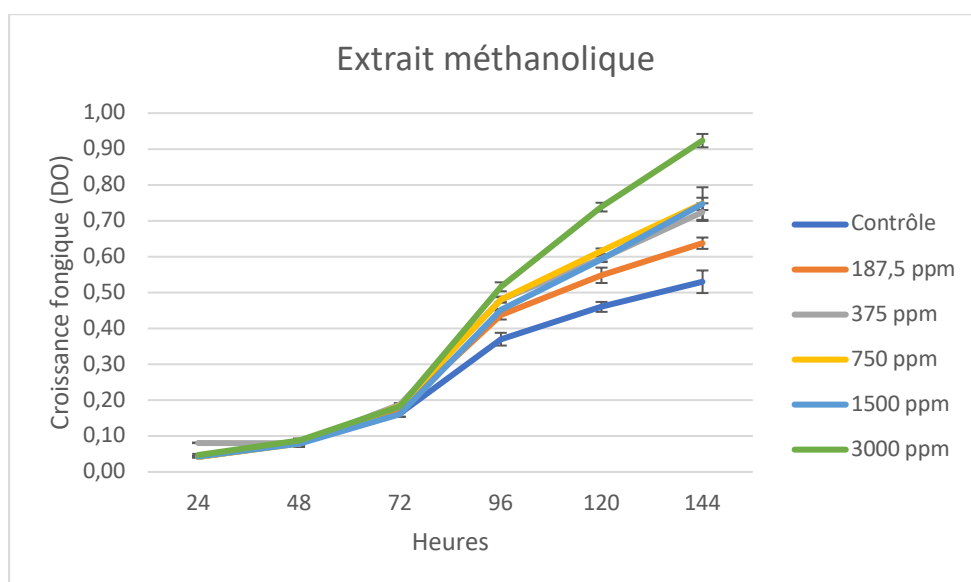


Figure 9. Croissance au cours du temps de *P. digitatum* sur microplaque ELISA en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 4. Evolution au cours du temps de la croissance de *P. digitatum* (DO) en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Durée	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
24 heures	0,04±0,00	0,04±0,00	0,08±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00
48 heures	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,09±0,01
72 heures	0,16±0,01	0,18±0,00	0,19±0,00	0,18±0,01	0,16±0,01	0,18±0,00
96 heures	0,37±0,02	0,44±0,01	0,48±0,01	0,48±0,01	0,45±0,00	0,52±0,01
120 heures	0,46±0,01	0,55±0,02	0,60±0,01	0,62±0,01	0,59±0,01	0,74±0,01
144 heures	0,53±0,03	0,64±0,02	0,72±0,02	0,75±0,05	0,75±0,02	0,92±0,02

Les données sont des moyennes ± écart type de deux expériences (2 microplaques ELISA) avec 8 répétitions chacune. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).



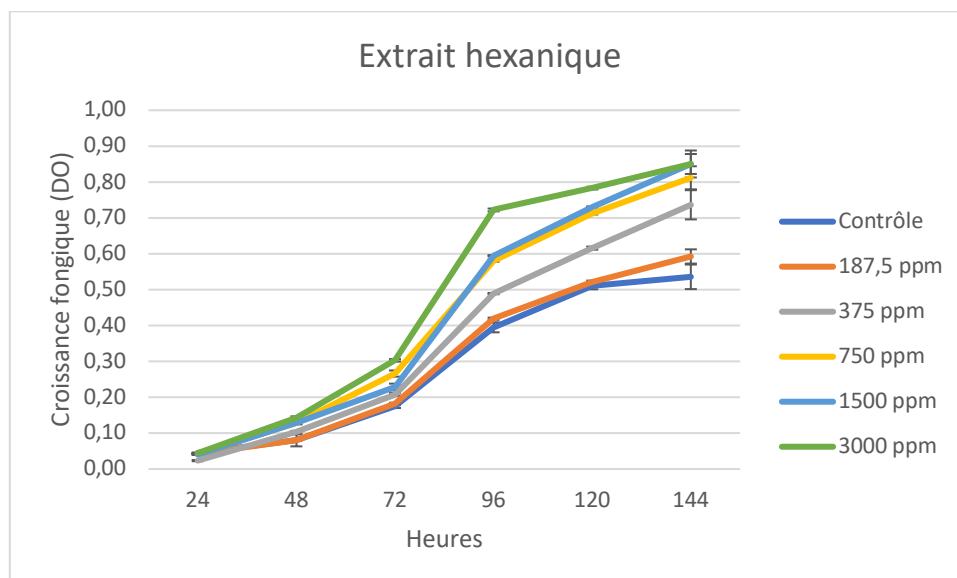


Figure 10. Croissance au cours du temps de *P. digitatum* sur microplaque ELISA en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 5. Evolution au cours du temps de la croissance de *P. digitatum* (DO) en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
24 heures	0,05±0,00	0,04±0,00	0,02±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00
48 heures	0,08±0,02	0,08±0,00	0,10±0,00	0,13±0,00	0,13±0,00	0,14±0,00
72 heures	0,18±0,00	0,18±0,00	0,21±0,00	0,27±0,00	0,23±0,01	0,30±0,00
96 heures	0,40±0,01	0,42±0,00	0,49±0,00	0,58±0,00	0,59±0,00	0,72±0,00
120 heures	0,51±0,01	0,52±0,00	0,62±0,00	0,71±0,00	0,73±0,00	0,78±0,00
144 heures	0,55±0,03	0,59±0,02	0,74±0,04	0,81±0,03	0,85±0,03	0,85±0,04

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type de deux expériences (2 microplaques ELISA) avec 8 répétitions chacune. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

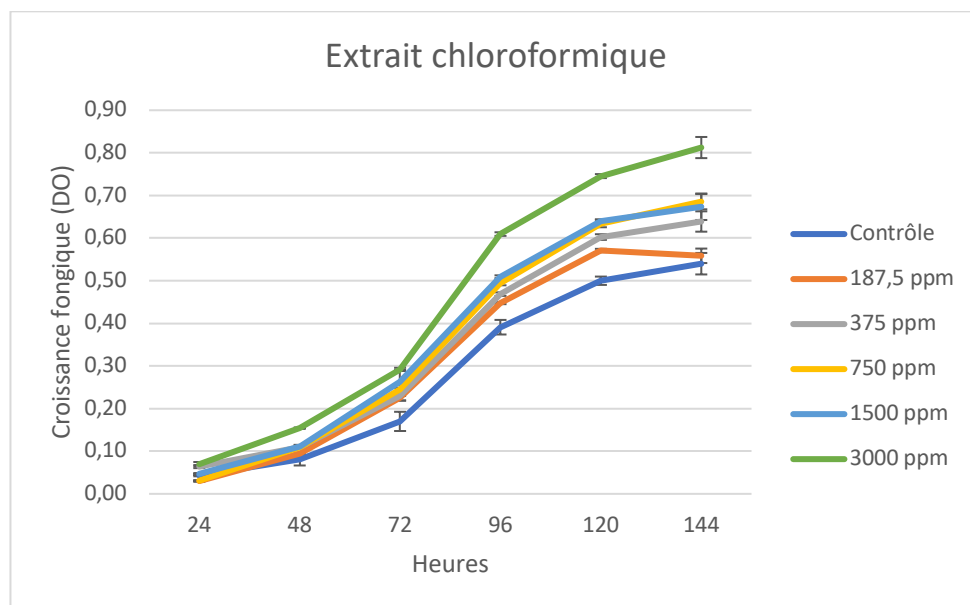


Figure 11. Croissance au cours du temps de *P. digitatum* sur microplaque ELISA en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 6. Evolution au cours du temps de *P. digitatum* (DO) au cours du temps en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
24 heures	0,04±0,00	0,03±0,00	0,06±0,00	0,03±0,00	0,05±0,00	0,07±0,01
48 heures	0,08±0,01	0,09±0,00	0,11±0,00	0,11±0,00	0,11±0,00	0,15±0,00
72 heures	0,17±0,02	0,22±0,01	0,23±0,01	0,24±0,00	0,26±0,03	0,29±0,00
96 heures	0,39±0,02	0,45±0,00	0,47±0,00	0,49±0,00	0,51±0,00	0,61±0,00
120 heures	0,50±0,01	0,57±0,00	0,60±0,01	0,63±0,01	0,64±0,00	0,75±0,00
144 heures	0,53±0,03	0,56±0,02	0,64±0,02	0,69±0,02	0,67±0,03	0,81±0,02

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type de deux expériences (2 microplaques ELISA) avec 8 répétitions chacune. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

### 3.1.1.2.2. *Fusarium culmorum*

L'efficacité des extraits contre *Fusarium culmorum* a été évaluée par spectrophotométrie à 630 nm toutes les 24 heures pendant 120 heures correspondant au plateau de croissance du champignon. Les microplaques ELISA ont été incubées à 23°C dans l'obscurité.

Les résultats repris sur les figures 16, 17 et 18 renseignent qu'après 120 heures d'incubation, les extraits n'ont pas eu d'effet inhibiteur sur ce pathogène. En général, la croissance de *P. digitatum* a été plus importante en présence des extraits que dans le contrôle. Néanmoins, les concentrations de l'extrait chloroformique inférieures à 3000 ppm ont inhibé la croissance de *F. culmorum* jusqu'à 9,6% à 750 ppm. L'analyse de la variance (annexe 1) a montré que pour

chaque extrait (traitement), les concentrations ont présenté des différences significatives ( $P$ -value  $< 0,05$ ) sur la croissance de ce pathogène. La croissance de *F. culmorum* a été plus marquée à 3000 ppm qu'à toutes les autres concentrations pour chaque extrait.

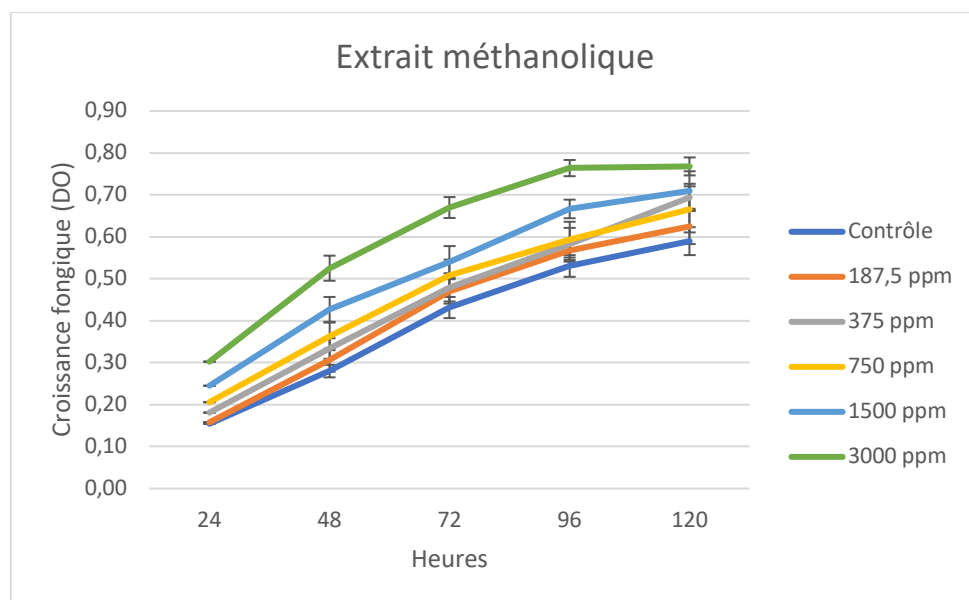


Figure 12. Croissance au cours du temps de *F. culmorum* sur microplaque ELISA en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 7. Evolution au cours du temps de la croissance de *F. culmorum* (DO) en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
24 heures	0,15±0,01	0,16±0,03	0,18±0,02	0,21±0,03	0,25±0,03	0,30±0,03
48 heures	0,28±0,03	0,31±0,03	0,33±0,03	0,36±0,04	0,43±0,04	0,53±0,02
72 heures	0,43±0,03	0,47±0,03	0,48±0,04	0,51±0,04	0,54±0,02	0,67±0,02
96 heures	0,53±0,03	0,57±0,04	0,58±0,03	0,59±0,05	0,67±0,05	0,76±0,02
120 heures	0,59±0,04 <sup>d</sup>	0,62±0,03 <sup>cd</sup>	0,69±0,03 <sup>c</sup>	0,67±0,03 <sup>bc</sup>	0,71±0,03 <sup>b</sup>	0,77±0,03 <sup>a</sup>

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type de deux expériences (2 microplaques ELISA) avec 8 répétitions chacune. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes, selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

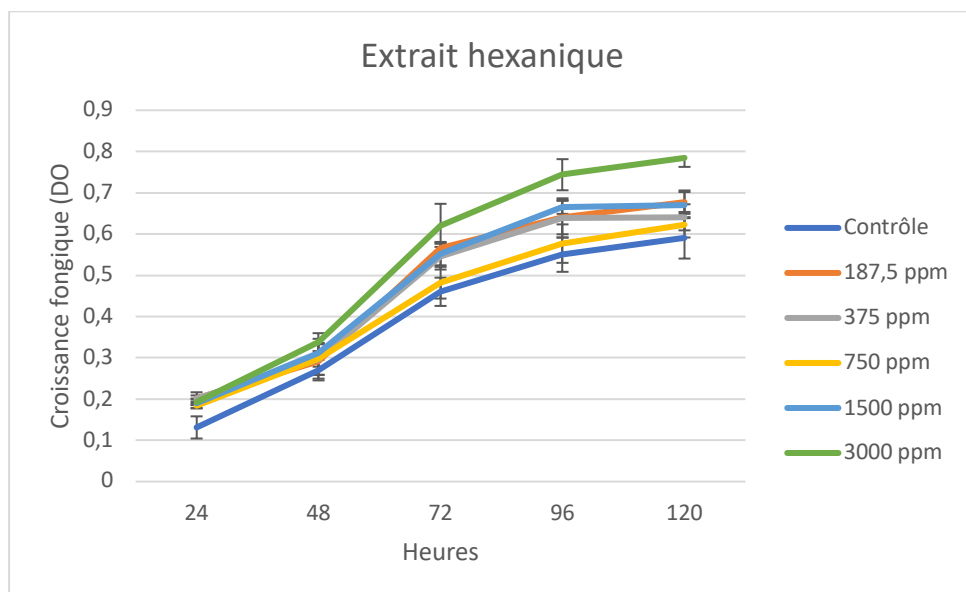


Figure 13. Croissance au cours du temps de *F. culmorum* sur microplaque ELISA en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 8. Evolution au cours du temps de la croissance de *F. culmorum* (DO) en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Durée	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
240 heures	0,13±0,03	0,20±0,01	0,20±0,02	0,18±0,01	0,19±0,01	0,19±0,01
48 heures	0,27±0,03	0,29±0,04	0,30±0,04	0,30±0,04	0,31±0,03	0,34±0,02
72 heures	0,46±0,03	0,57±0,02	0,55±0,03	0,48±0,04	0,55±0,03	0,62±0,05
96 heures	0,55±0,04	0,64±0,04	0,64±0,05	0,58±0,05	0,66±0,02	0,74±0,04
120 heures	0,59±0,05 <sup>d</sup>	0,68±0,03 <sup>b</sup>	0,64±0,03 <sup>bc</sup>	0,62±0,03 <sup>cd</sup>	0,67±0,03 <sup>bc</sup>	0,78±0,02 <sup>a</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type de deux expériences (2 microplaques ELISA) avec 8 répétitions chacune. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes, selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

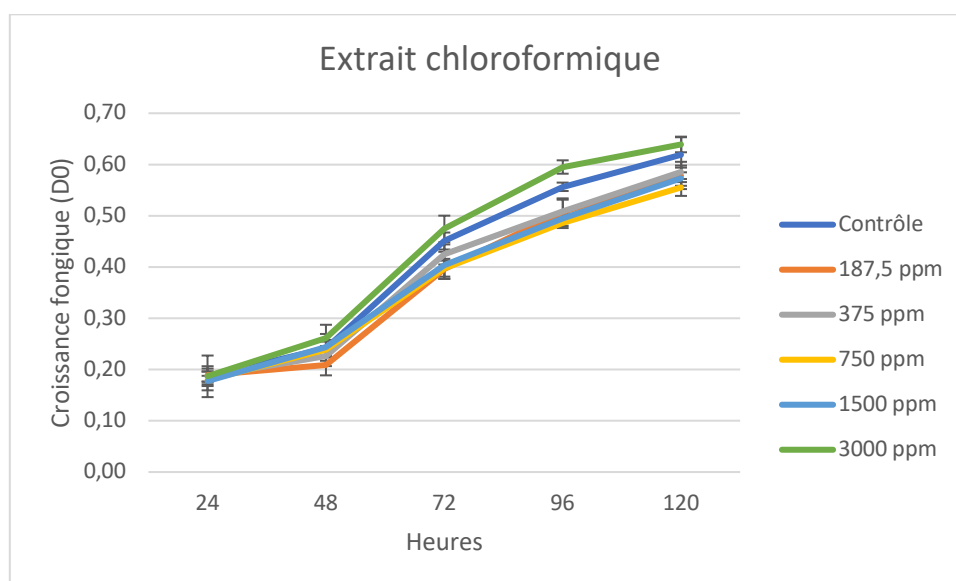


Figure 14. Croissance au cours du temps de *F. culmorum* sur microplaque ELISA en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 9. Evolution au cours du temps de la croissance de *F. culmorum* (DO) en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
24 heures	0,19±0,04	0,19±0,01	0,19±0,01	0,18±0,01	0,18±0,02	0,19±0,02
48 heures	0,24±0,02	0,21±0,02	0,23±0,02	0,24±0,02	0,24±0,03	0,26±0,03
72 heures	0,45±0,02	0,40±0,02	0,42±0,02	0,40±0,02	0,40±0,03	0,47±0,03
96 heures	0,56±0,01	0,51±0,03	0,51±0,02	0,49±0,01	0,49±0,01	0,60±0,01
120 heures	0,62±0,03	0,58±0,02	0,59±0,02	0,56±0,02	0,57±0,02	0,64±0,02

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type d'une expérience avec trois répétitions. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

### 3.1.2. Technique en boîte de Pétri

L'évaluation de l'efficacité antifongique en boîte de Petri a été réalisée sur le milieu PDA amené à des concentrations respectives de 187,5 ppm, 375 ppm, 750 ppm, 1500 ppm et 3 000 ppm avec les différents extraits comme décrit au point 2.4.2.1.

#### 3.1.2.1. *Penicillium digitatum*

La croissance du diamètre du disque mycélien de *Penicillium digitatum* en boîte de Pétri a été mesurée à intervalles de 48 heures pendant 240 heures d'incubation à 23°C dans l'obscurité.

Les résultats observés sur les figures 19, 20 et 21 révèlent qu'après 240 heures d'incubation, *P. digitatum* s'est développé en présence de tous les extraits. La croissance du diamètre mycélien de ce pathogène a été un peu plus important en présence de l'extrait méthanolique que dans le

contrôle. Néanmoins, à 375 ppm, l'extrait hexanique a inhibé l'extension mycélienne de *P. digitatum* jusqu'à 6,3 %, et à 750 ppm l'extrait chloroformique a inhibe ce pathogène à 2,1 %. Les effets des concentrations de l'extrait méthanolique sur la croissance de *P. digitatum* ont été significativement différents (P-value < 0,05), celles de l'extrait hexanique l'ont été aussi et celles de l'extrait chloroformique ont présenté le même effet sur la croissance de ce pathogène aussi (P-value > 0,05) (annexe 1).

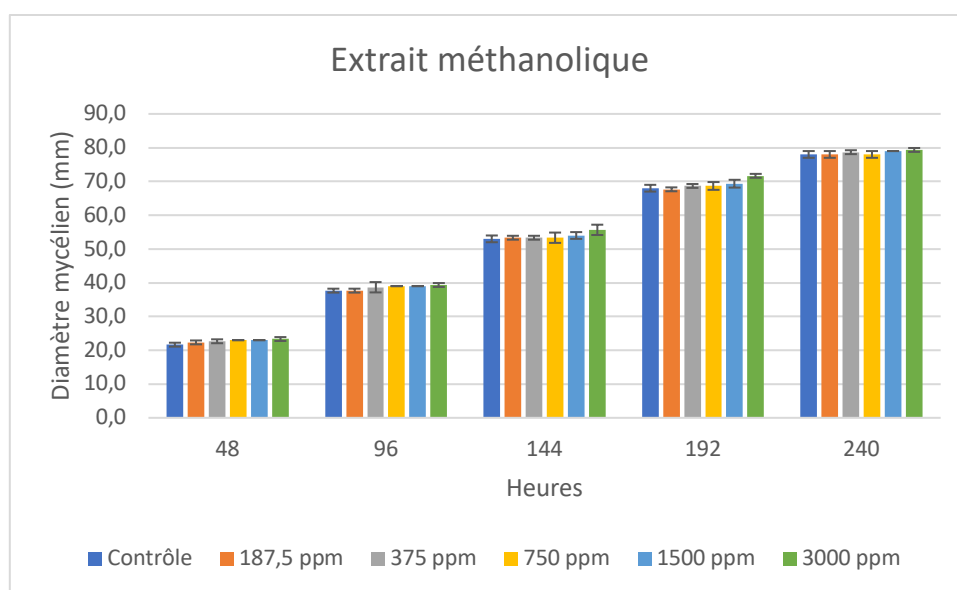


Figure 15. Croissance au cours du temps de *P. digitatum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 10. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *P. digitatum* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	21,7±0,6	22,3±0,6	22,7±0,6	23,0±0,0	23,0±0,0	23,3±0,6
96 heures	37,7±1,0	37,7±0,6	38,7±1,5	39,0±0,0	39,0±0,0	39,3±0,6
144 heures	53,0±1,0	53,3±0,6	53,3±0,6	53,3±1,5	54,0±1,0	55,7±1,5
192 heures	68,0±1,0	67,7±0,6	68,7±0,6	68,7±1,2	69,3±1,2	71,7±0,6
240 heures	78,0±1,0	78,0±1,0	78,7±0,6	78,0±1,0	79,0±0,0	79,3±0,6

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec trois répétitions. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis (P<0,05).

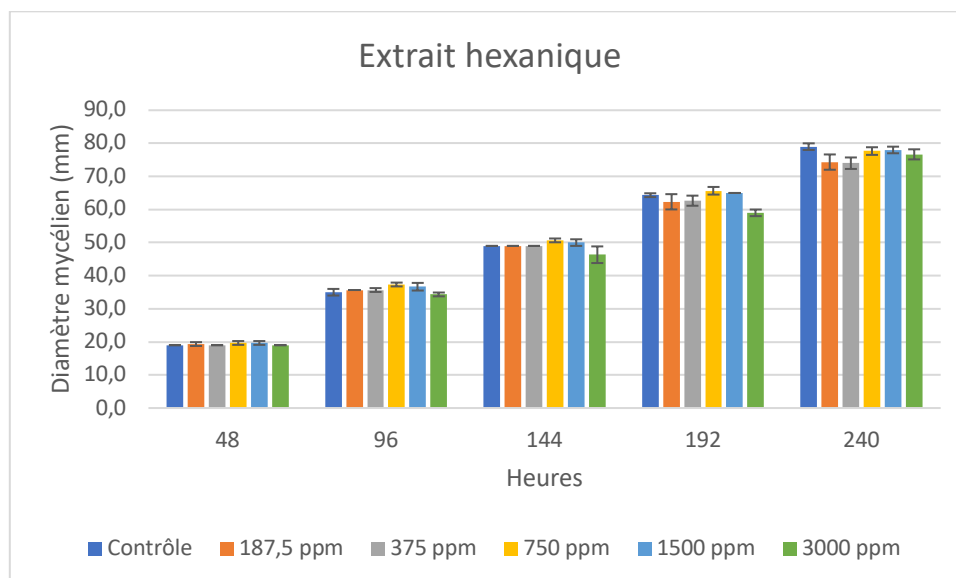


Figure 16. Croissance au cours du temps de *P. digitatum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 11. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *P. digitatum* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	19,0±0,0	19,3±0,6	19,0±0,0	19,7±0,6	19,7±0,6	19,0±0,0
96 heures	35,0±1,0	35,7±0,0	35,7±0,6	37,3±0,6	36,7±1,2	34,3±0,6
144 heures	49,0±0,0	49,0±0,0	49,0±0,0	50,7±0,6	50,0±1,0	46,3±2,5
192 heures	64,3±0,6	62,3±2,3	62,7±1,5	65,7±1,2	65,0±0,0	59,0±1,0
240 heures	79,0±1,0	74,3±2,3	74,0±1,7	77,7±1,2	78,0±1,0	76,7±1,5

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type d'une expérience avec trois répétitions. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

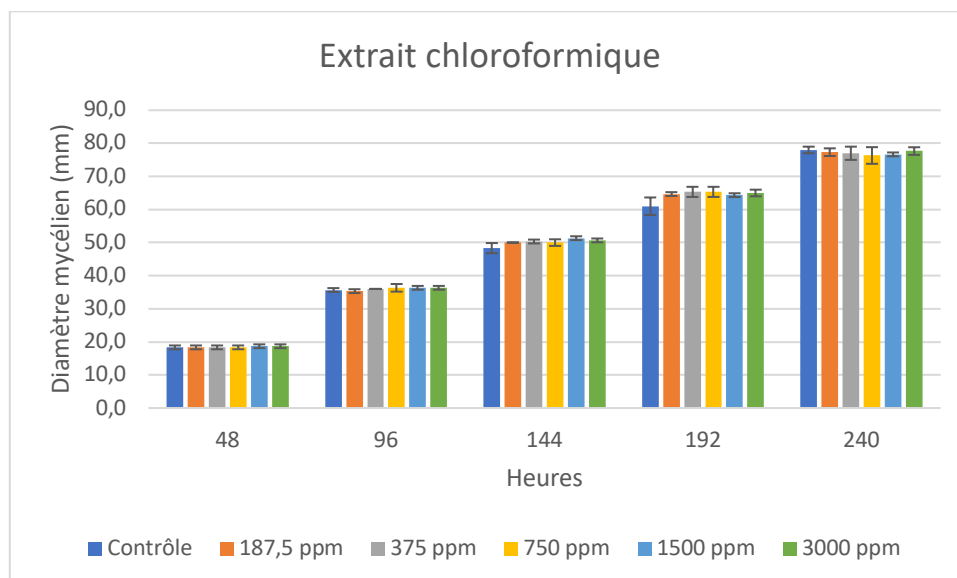


Figure 17. Croissance au cours du temps de *P. digitatum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 12. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *P. digitatum* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	18,3±0,6	18,3±0,6	18,3±0,6	18,3±0,6	18,7±0,6	18,7±0,6
96 heures	35,7±0,6	35,3±0,6	36,0±0,6	36,3±1,2	36,3±0,6	36,3±0,6
144 heures	48,3±1,5	50,0±0,0	50,3±0,6	50,0±1,0	51,3±0,6	50,7±0,6
192 heures	61,0±2,6	64,7±0,6	65,3±0,6	65,3±1,5	64,3±0,6	65,0±1,0
240 heures	78,0±1,0 <sup>a</sup>	77,3±1,2 <sup>a</sup>	77,0±0,6 <sup>a</sup>	76,3±2,5 <sup>a</sup>	76,7±0,6 <sup>a</sup>	77,7±1,2 <sup>a</sup>

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P > 0,05$ ).



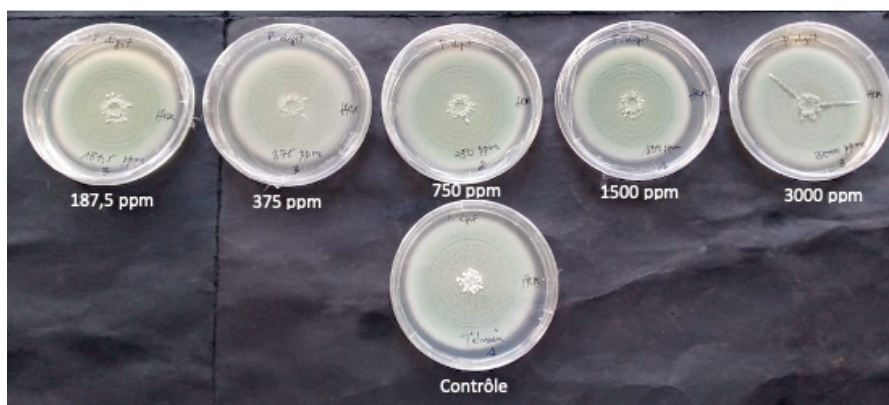


Figure 18. Croissance de *Penicillium digitatum* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus* après 240 heures d'incubation

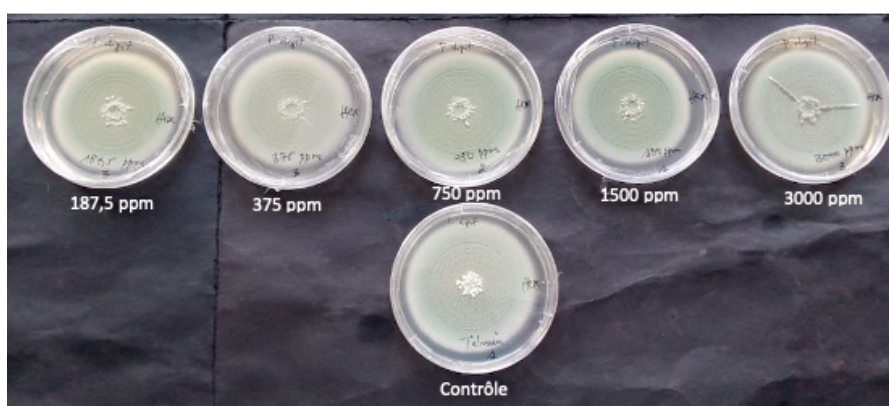


Figure 19. Croissance de *Penicillium digitatum* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus* après 240 heures d'incubation

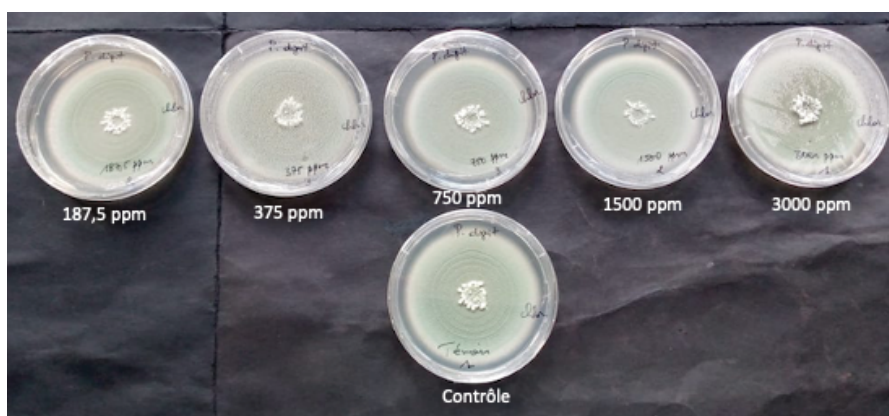


Figure 20. Croissance de *Penicillium digitatum* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus* après 240 heures d'incubation

### 3.1.2.2. *Fusarium culmorum*

Le diamètre du disque mycélien de *Fusarium culmorum* en boîte de Pétri a été suivi à intervalle régulier de 24 heures pendant 96 heures d'incubation à 23°C dans l'obscurité. La première mesure a été prise 48 heures après l'installation de l'essai.

L'analyse des figures 25, 26 et 27 révèle qu'au bout de 96 heures d'incubation, aucun n'extrait n'a inhibé la croissance mycélienne de *F. culmorum*. Comparativement au contrôle, les résultats ont présenté un caractère aléatoire indépendamment des concentrations et du type d'extrait. L'extrait méthanolique à des concentrations inférieures à 3000 ppm a favorisé la croissance du diamètre mycélien de *F. culmorum* alors qu'à 3000 ppm l'extension du mycélium a été inhibé à 5,2%. L'extrait hexanique à 375 ppm a inhibé le pathogène à 13,3 % tandis qu'à 1500 ppm et 3000 ppm l'extrait a favorisé la croissance mycélienne de ce champignon. L'extrait chloroformique à 375 ppm, à 1500 ppm et à 3000 ppm a stimulé l'extension mycélienne de cet agent fongique alors qu'à 187,5 ppm l'extrait a inhibé ce pathogène à 7,6 %.

Statistiquement (annexe 1), au sein de chaque traitement, les concentrations des extraits méthanolique, hexanique et chloroformique ont révélé des différences significatives ( $P\text{-value} < 0,05$ ).

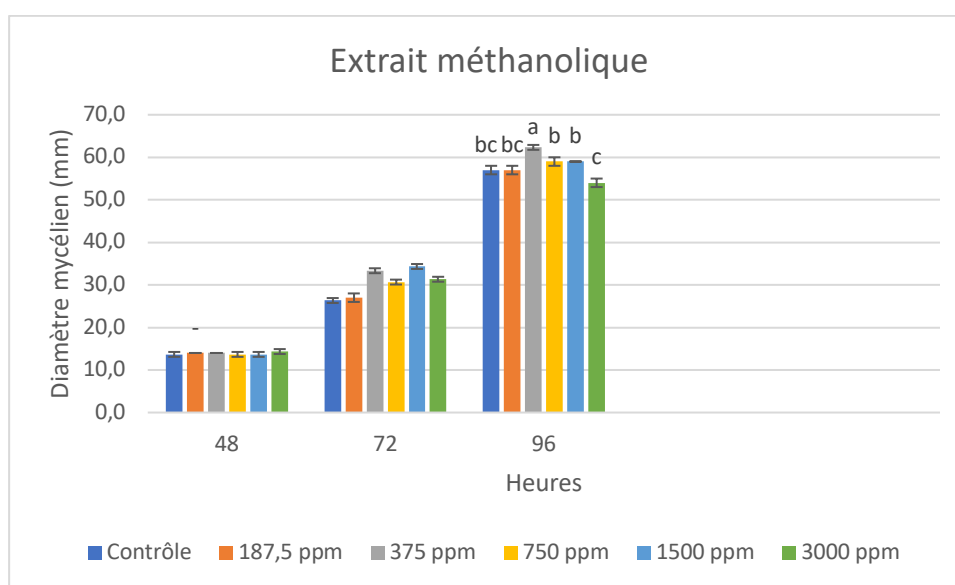


Figure 21. Croissance au cours du temps de *F. culmorum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 13. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *F. culmorum* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	13,7±0,6	14,0±0,0	14,0±0,0	13,7±0,6	13,7±0,6	14,3±0,6
72 heures	26,3±0,6	27,0±1,0	33,3±0,6	30,7±0,6	34,3±0,6	31,3±0,6
96 heures	57,0±0,1 <sup>bc</sup>	57,0±1,0 <sup>bc</sup>	62,3±0,6 <sup>a</sup>	59,0±1,0 <sup>b</sup>	59,0±0,0 <sup>b</sup>	54,0±1,0 <sup>c</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

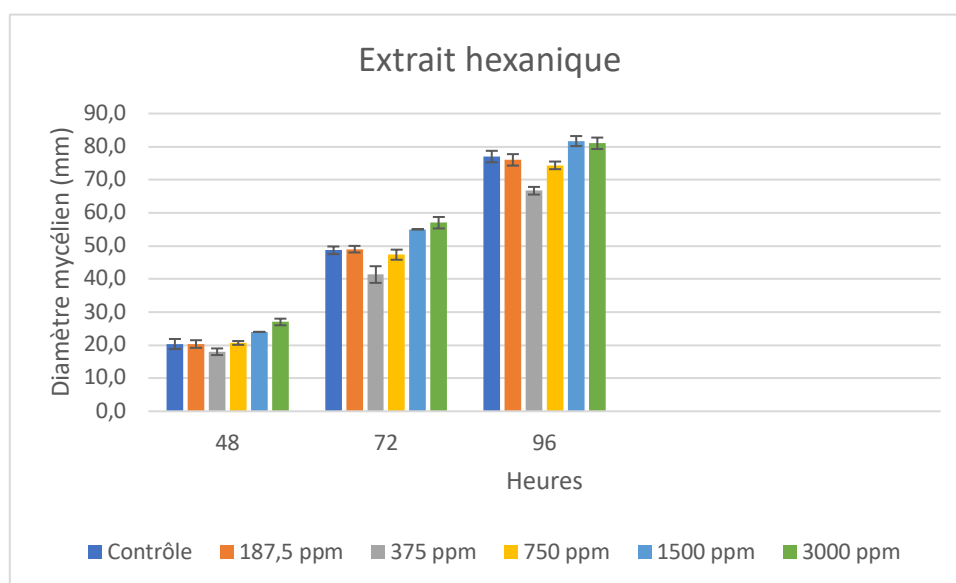


Figure 22. Croissance au cours du temps de *F. culmorum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 14. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *F. culmorum* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	20,3±1,5	20,3±1,2	18,0±1,0	20,7±0,6	24,0±0,0	27,0±1,0
72 heures	48,7±1,2	49,0±1,0	41,3±2,5	47,3±1,5	55,0±0,0	57,0±1,7
96 heures	77,0±1,7 <sup>bc</sup>	76,0±1,7 <sup>c</sup>	66,7±1,2 <sup>d</sup>	74,3±1,2 <sup>c</sup>	81,7±1,5 <sup>a</sup>	81,0±1,7 <sup>b</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

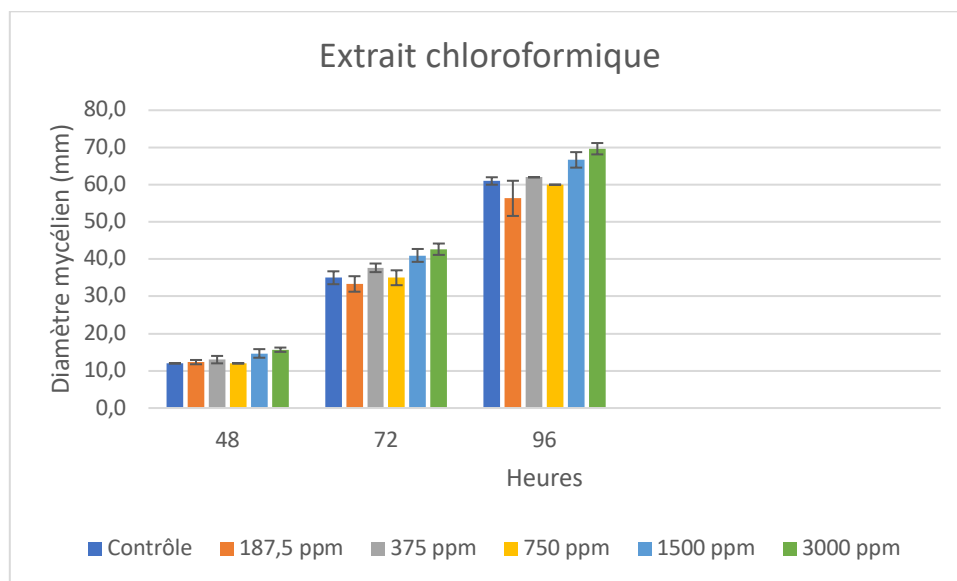


Figure 23. Croissance au cours du temps de *F. culmorum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 15. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *F. culmorum* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	12,0±0,0	12,3±0,6	13,0±1,0	12,0±0,0	14,7±1,2	15,7±0,6
72 heures	35,0±1,7	33,3±2,1	37,7±1,2	35,0±2,0	41,0±1,7	42,7±1,5
96 heures	61,0±1,0 <sup>bc</sup>	56,3±4,7 <sup>c</sup>	62,0±0,0 <sup>bc</sup>	60,0±0,0 <sup>c</sup>	66,7±2,1 <sup>ab</sup>	69,7±1,5 <sup>a</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

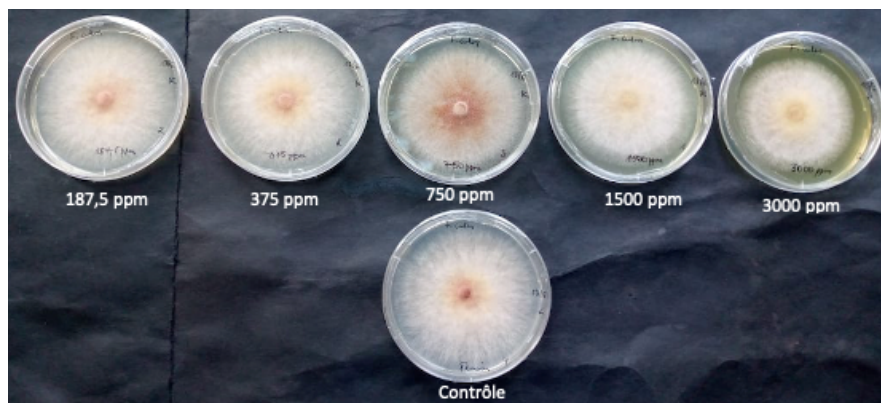


Figure 24. Croissance de *Fusarium culmorum* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus* après 96 heures d'incubation.

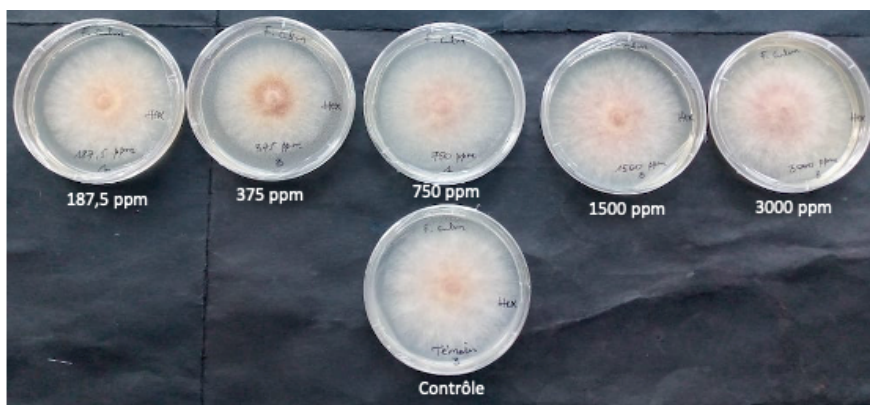


Figure 25. Croissance de *Fusarium culmorum* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus* après 96 heures d'incubation.

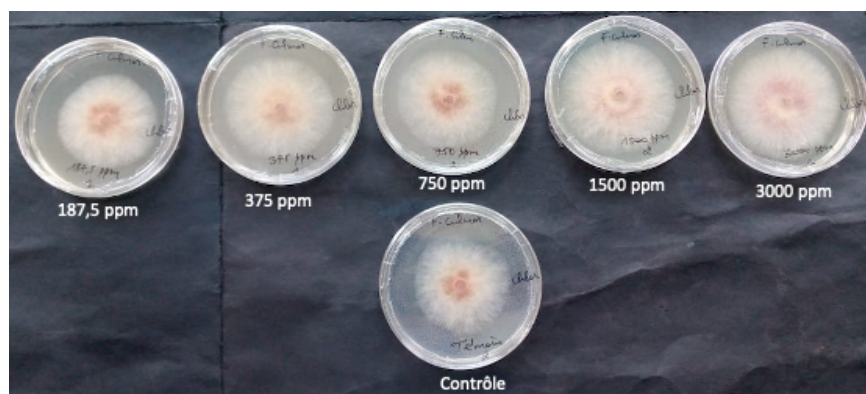


Figure 26. Croissance de *Fusarium culmorum* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus* après 96 heures d'incubation.

### 3.1.2.3. *Fusarium avenaceum*

Les essais en boîte de Pétri contre *Fusarium avenaceum* ont été réalisés pendant 144 heures. Les boîtes ont été incubées à 23°C à l'obscurité. Le diamètre de croissance du mycélium a été mesuré à intervalles de 24 heures. La première mesure a été prélevée 48 heures après l'installation de l'essai.

Les résultats obtenus après 144 heures d'incubation (Fig. 31, 32 et 33) montrent qu'en général, la croissance du diamètre mycélien a été beaucoup plus importante en présence des extraits, à l'exception l'extrait chloroformique à 187,5 ppm qui a inhibé l'extension du mycélium à 8,3%. Du point de vue statistique (annexe 1), les concentrations utilisées de l'extrait méthanolique ont présenté des effets significativement différents ( $P\text{-value} < 0,05$ ), celles des extraits hexanique et chloroformique ont révélé des différences significatives ( $P\text{-value} < 0,05$ ) sur la croissance du *Fusarium avenaceum*.

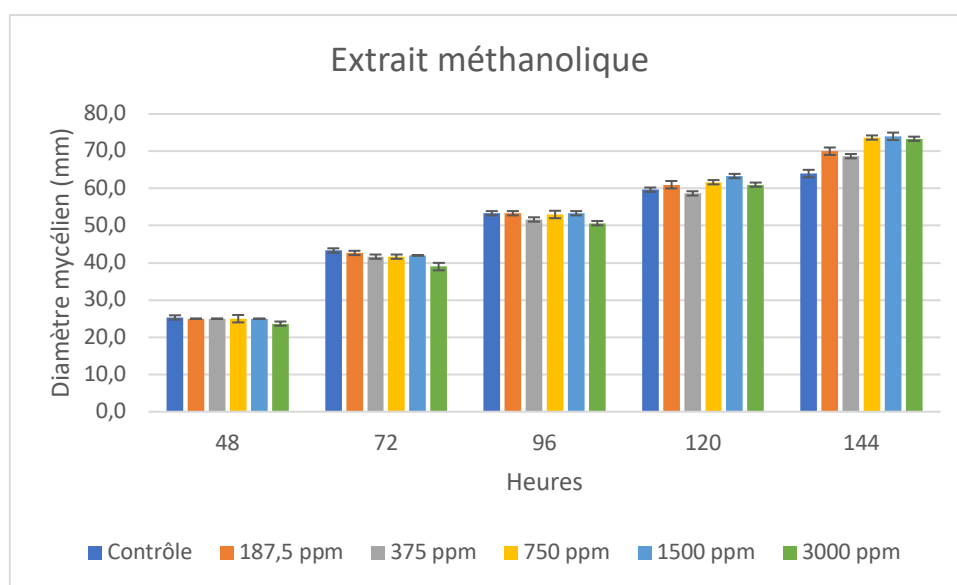


Figure 27. Croissance au cours du temps de *F. avenaceum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.



Tableau 16. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *F. avenaceum* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Durée	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	25,3±0,6	25,0±0,0	25,0±0,0	25,0±1,0	25,0±0,0	23,7±0,6
72 heures	43,3±0,6	42,7±0,6	41,7±0,6	41,7±0,6	42,0±0,0	39,0±1,0
96 heures	53,3±0,6	53,3±0,6	51,7±0,6	53,0±1,0	53,3±0,6	50,7±0,6
120 heures	59,7±0,6	61,0±1,0	58,7±0,6	61,7±0,6	63,3±0,6	61,0±0,6
144 heures	64,0±1,0	70,0±1,0	68,7±0,6	73,7±0,6	74,0±1,0	73,3±0,6

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec trois répétitions. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

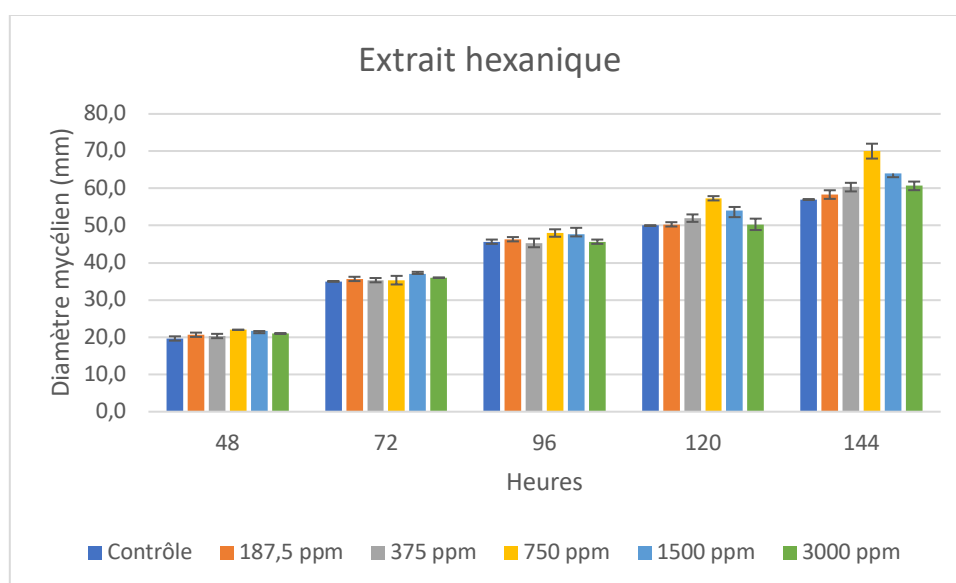


Figure 28. Croissance au cours du temps de *F. avenaceum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 17. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *F. avenaceum* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	19,7±0,6	20,7±0,6	20,3±0,6	22,0±0,0	21,7±0,6	21,0±0,0
72 heures	35,0±0,0	35,7±0,6	35,3±0,6	35,3±1,2	37,0±0,6	36,0±0,0
96 heures	45,7±0,6	46,3±0,6	45,3±1,2	48,0±1,0	47,7±0,6	45,7±0,6
120 heures	50,0±0,0	50,3±0,6	52,0±1,0	57,3±0,6	54,0±0,6	50,3±1,5
144 heures	57,0±0,0 <sup>d</sup>	58,3±1,2 <sup>cd</sup>	60,3±1,2 <sup>cd</sup>	70,0±2,0 <sup>a</sup>	64,0±0,6 <sup>b</sup>	60,7±1,2 <sup>bc</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

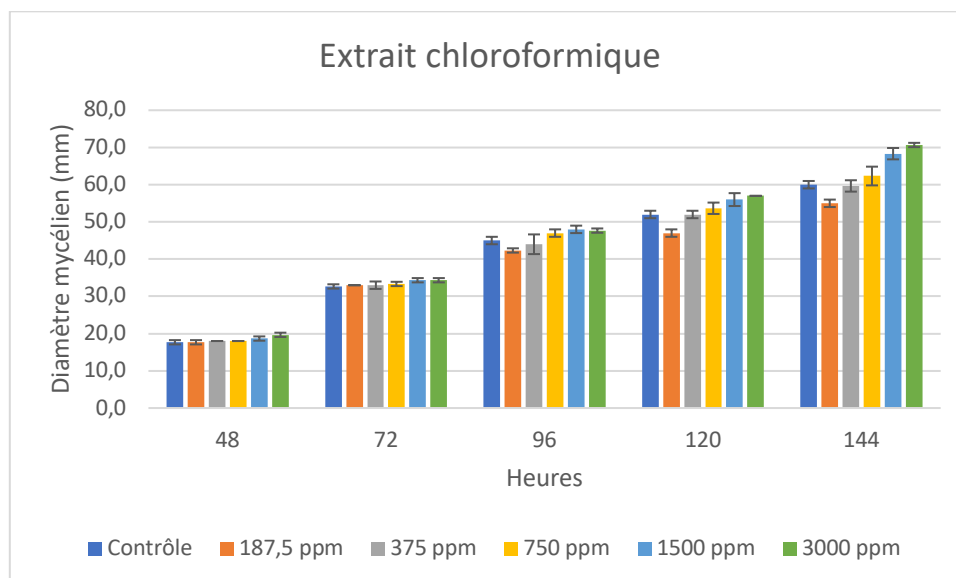


Figure 29. Croissance au cours du temps de *F. avenaceum* en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 18. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *F. avenaceum* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
48 heures	17,7±0,6	17,7±0,6	18,0±0,0	18,0±0,0	18,7±0,6	19,7±0,6
72 heures	32,7±0,6	33,0±0,0	33,0±1,0	33,3±0,6	34,3±0,6	34,3±0,6
96 heures	45,0±1,0	42,3±0,6	44,0±0,6	47,0±1,0	48,0±1,0	47,7±0,6
120 heures	52,0±1,0	47,0±1,0	52,0±1,0	53,7±1,5	56,0±1,7	57,0±0,0
144 heures	60,0±1,0 <sup>b</sup>	55,0±1,0 <sup>c</sup>	59,7±1,5 <sup>b</sup>	62,3±2,5 <sup>b</sup>	68,3±1,5 <sup>a</sup>	70,7±0,6 <sup>a</sup>

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).



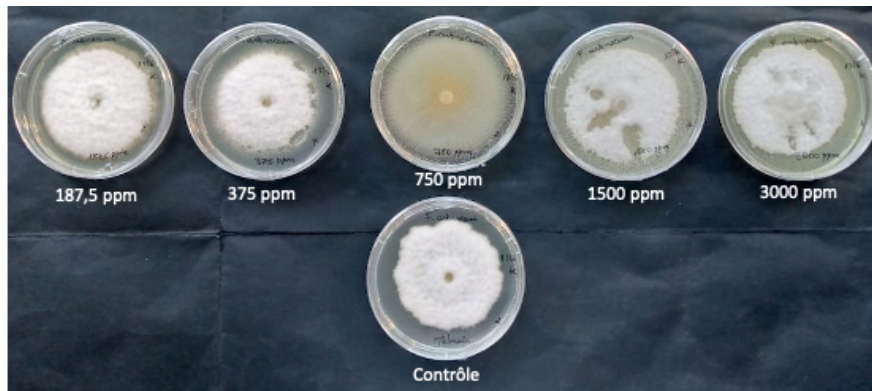


Figure 30. Croissance de *Fusarium avenaceum* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus* après 144 heures d'incubation.

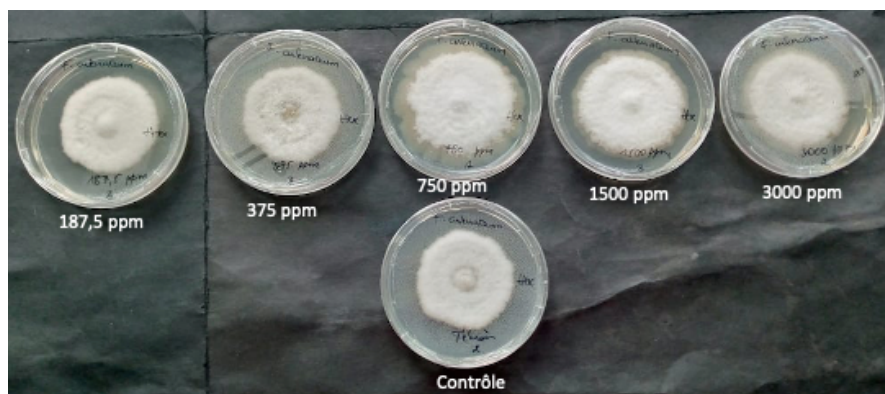


Figure 31. Croissance de *Fusarium avenaceum* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus* après 144 heures d'incubation.

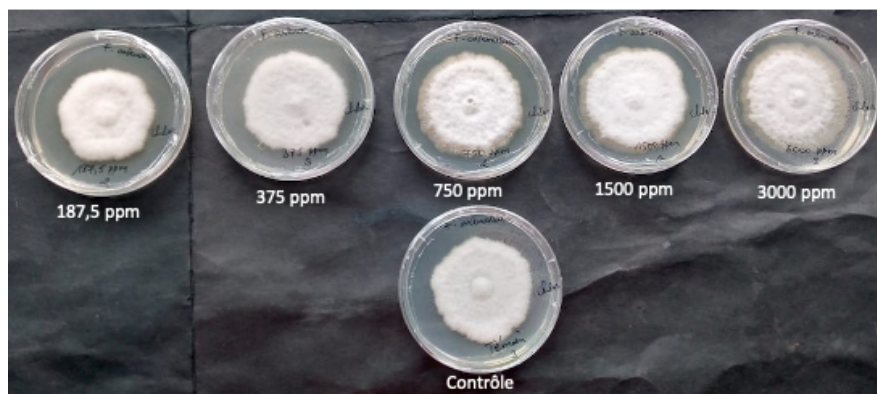


Figure 32. Croissance de *Fusarium avenaceum* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus* après 144 heures d'incubation.

### 3.1.2.4. *Verticillium dahliae*

La croissance du diamètre mycélien du *Verticillium dahliae* en boîte de Pétri a été mesurée à intervalles réguliers de 72 heures pendant 432 heures d'incubation à 23°C à l'obscurité.

Comme indique les figures 37, 38 et 39, après 432 heures d'incubation, *V. dahliae* s'est développé en dépit de la présence des extraits. En comparaison avec le contrôle, l'extrait méthanolique à 375 ppm a inhibé la croissance de ce champignon à 3,3 %. A 1500 ppm l'extrait hexanique et l'extrait chloroformique ont fourni une inhibition de développement mycélien de ce pathogène évaluée respectivement à 10 % et à 14,5 %. Par type d'extrait, les concentrations ont présenté des différences significatives sur la croissance mycélienne *V. dahliae* (P-value < 0,05) (annexe 1).

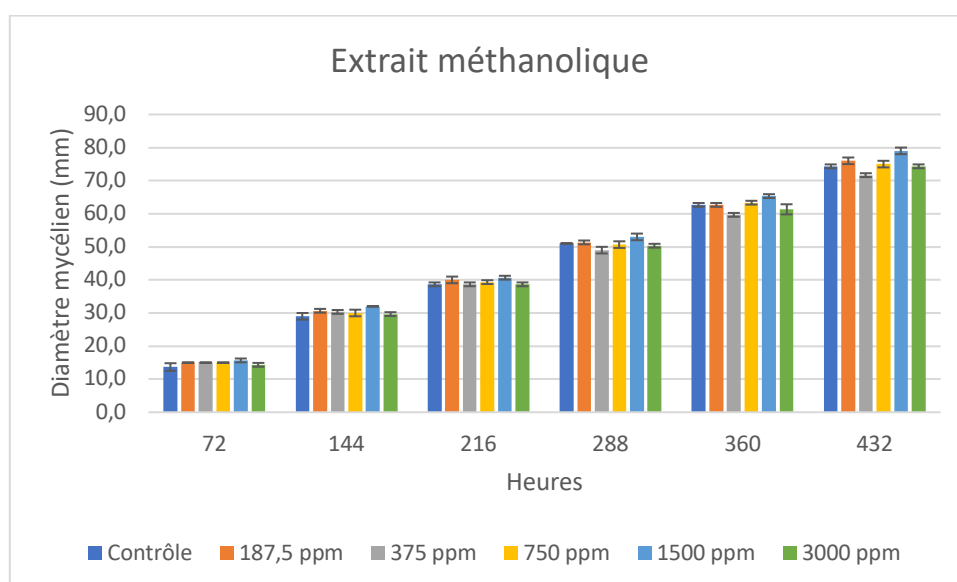


Figure 33. Croissance au cours du temps de *V. dahliae* en boîte de Pétri en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 19. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *V. dahliae* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
72 heures	13,7±1,2	15,0±0,0	15,0±0,0	15,0±0,0	15,7±0,6	14,3±0,6
144 heures	29,0±1,0	30,7±0,6	30,3±0,6	30,0±1,0	32,0±0,0	29,7±0,6
216 heures	38,7±0,6	40,0±1,0	38,7±0,6	39,3±0,6	40,7±0,6	38,7±0,6
288 heures	51,0±0,0	51,3±0,6	49,0±1,0	50,7±1,0	53,0±1,0	50,3±0,6
360 heures	62,7±0,6	62,7±0,6	59,7±0,6	63,3±0,6	65,3±0,6	61,3±1,5
432 heures	74,3±0,6 <sup>b</sup>	76,0±1,0 <sup>b</sup>	71,7±0,6 <sup>c</sup>	75,0±1,0 <sup>b</sup>	79,0±1,0 <sup>a</sup>	74,3±0,6 <sup>b</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey (P<0,05) (a>b).

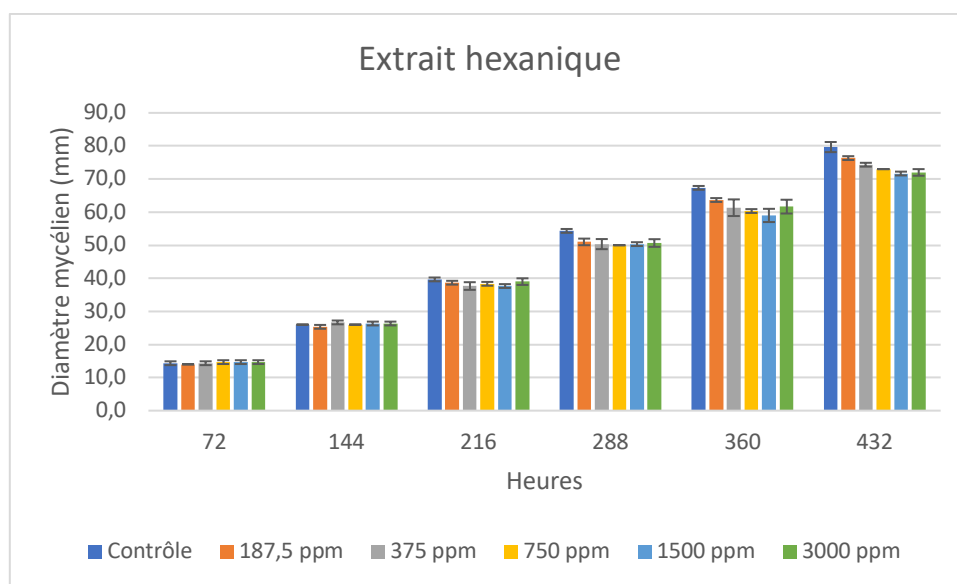


Figure 34. Croissance au cours du temps de *V. dahliae* en boîte de Pétri en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 20. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *V. dahliae* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
72 heures	14,3±0,6	14,0±0,0	14,3±0,6	14,7±0,6	14,7±0,6	14,7±0,6
144 heures	26,0±0,0	25,3±0,6	26,7±0,6	26,0±0,0	26,3±0,6	26,3±0,6
216 heures	39,7±0,6	38,7±0,6	37,7±1,2	38,3±0,6	37,7±0,6	39,0±1,0
288 heures	54,3±0,6	51,0±1,0	50,3±1,5	50,0±0,0	50,3±0,6	50,7±1,2
360 heures	67,3±0,6	63,7±0,6	61,3±2,5	60,3±0,6	59,0±2,0	61,7±2,1
432 heures	79,7±1,5 <sup>a</sup>	76,3±0,6 <sup>b</sup>	74,3±0,6 <sup>bc</sup>	73,0±0,0 <sup>cd</sup>	71,7±0,6 <sup>d</sup>	72,0±1,0 <sup>d</sup>

Les données sont des moyennes ± écart type d'une expérience avec 3 répétitions. Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes selon l'ANOVA couplée aux tests de Tukey ( $P < 0,05$ ) ( $a > b$ ).

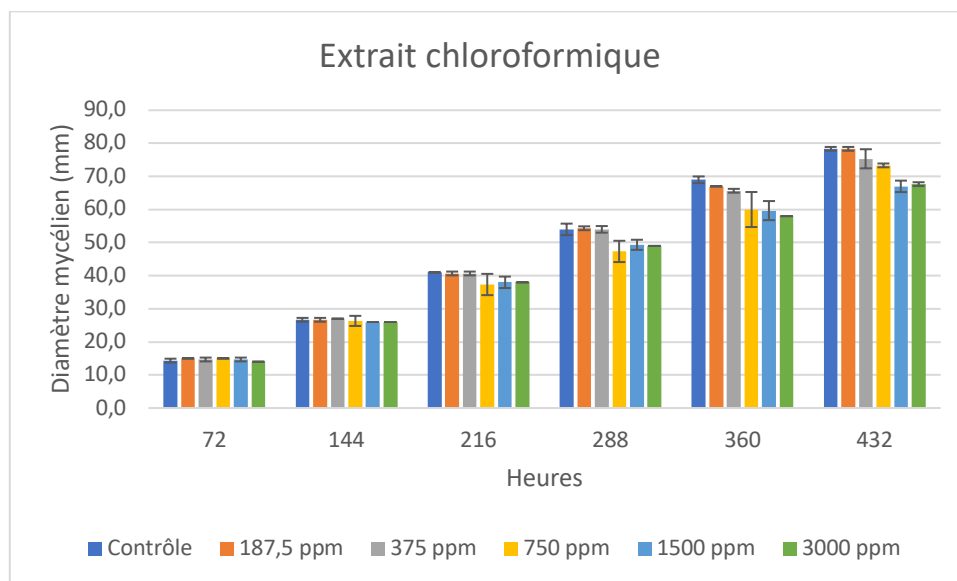


Figure 35. Croissance au cours du temps de *V. dahliae* en boîte de Pétri en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Tableau 21. Evolution au cours du temps de la croissance du diamètre mycélien de *V. dahliae* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus*.

Heures	Contrôle	187,5 ppm	375 ppm	750 ppm	1500 ppm	3000 ppm
72 heures	14,3±0,6	15,0±0,0	14,7±0,6	15,0±0,0	14,7±0,6	14,0±0,0
144 heures	26,7±0,6	26,7±0,6	27,0±0,0	26,3±1,5	26,0±0,0	26,0±0,0
216 heures	41,0±0,0	40,7±0,6	40,7±0,6	37,3±3,2	38,0±1,7	38,0±0,0
288 heures	54,0±1,7	54,3±0,6	54,0±1,0	47,3±3,2	49,3±1,5	49,0±0,0
360 heures	69,0±1,0	67,0±0,0	65,7±0,6	60,0±5,3	59,7±2,9	58,0±0,0
432 heures	78,3±0,6	78,3±0,6	75,3±2,9	73,3±0,6	67,0±1,7	67,7±0,6

Les données sont des moyennes  $\pm$  écart type d'une expérience avec trois répétitions. Les effets des concentrations de l'extrait sur la croissance fongique ont été déterminés par test de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ).

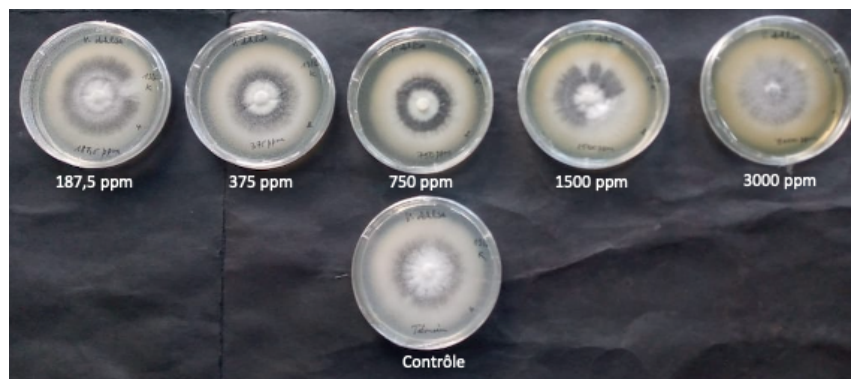


Figure 36. Croissance de *Verticillium dahliae* en présence de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia peplus peplus* après 432 heures d'incubation.

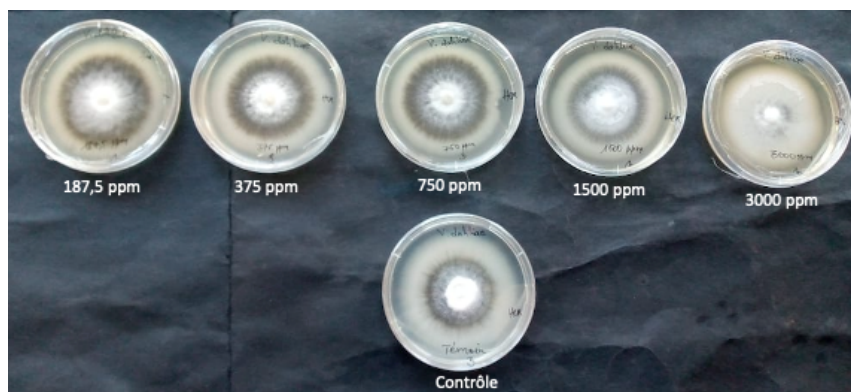


Figure 37. Croissance de *Verticillium dahliae* en présence de l'extrait hexanique d'*Euphorbia peplus peplus* après 432 heures d'incubation.

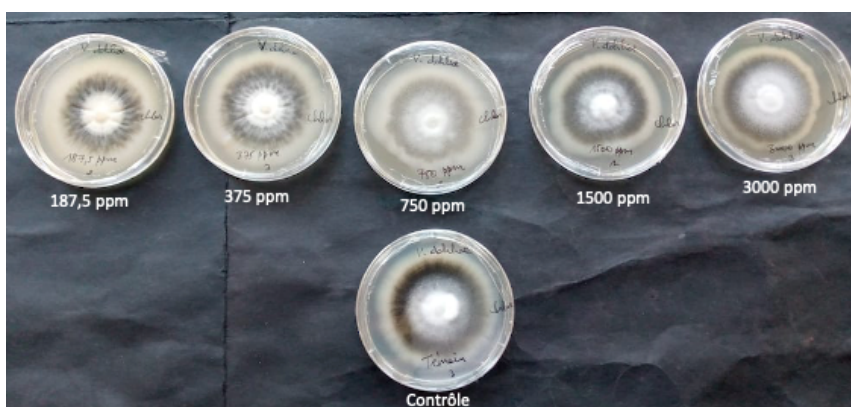


Figure 38. Croissance de *Verticillium dahliae* en présence de l'extrait chloroformique d'*Euphorbia peplus peplus* après 432 heures d'incubation.

### 3.2. Discussion

Dans cette étude qui est, à notre connaissance, l'une des premières investigations sur le pouvoir antifongique d'*Euphorbia peplus* contre les champignons pathogènes des plantes cultivées, l'efficacité des extraits méthanolique, hexanique et chloroformique de cette espèce végétale sur *Penicillium digitatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, et *Verticillium dahliae* a été évaluée.

En général, aucun extrait n'a inhibé la croissance de *P. digitatum* sur microplaque ELISA. En présence des extraits, la croissance de ce champignon a été plus importante que dans le contrôle. En boîte de Pétri, l'extrait méthanolique n'a pas inhibé ce pathogène, l'extrait hexanique à 375 ppm l'a inhibé à 6,3 % et à 750 ppm, l'extrait chloroformique a inhibé ce pathogène à 2,1%. Sur microplaque ELISA, les extraits méthanolique et hexanique n'ont pas inhibé la croissance de *F. culmorum* qui s'est beaucoup plus développé en présence des extraits. L'extrait chloroformique à 750 ppm a inhibé ce champignon à 9,6 % tandis qu'à 3000 ppm, *F. culmorum* n'a pas été inhibé. En boîte de Pétri, les extraits ont présenté un caractère aléatoire indépendamment des concentrations et du type d'extrait. Aucun extrait n'a présenté d'effet inhibiteur contre *F. avenaceum* à l'exception de l'extrait chloroformique à la seule concentration de 187,5 ppm qui a fourni une inhibition de 8,3%. La croissance de ce champignon a été plus remarquable en présence des extraits. L'extrait méthanolique à 375 ppm a inhibé la croissance de *V. dahliae* à 3,3 % ; les autres concentrations de cet extrait n'ont pas inhibé ou ont favorisé la croissance de ce pathogène. A 1500 ppm l'extrait hexanique et l'extrait chloroformique ont fourni une inhibition respectivement de 10 % et 14,5 %.

Ces résultats ne s'accordent pas avec ceux trouvés dans le travail de Serkan et Giilcin (2012) sur l'efficacité des extraits d'*Euphorbia peplus* contre les pathogènes fongiques humains. Ces auteurs ont révélé que les extraits d'*E. peplus* présentent une activité antifongique importante contre *Candida spp.* et la souche *Cryptococcus neoformans*.

Chamkhi et al. (2022) et Smaili et al. (2017) mentionnent que les espèces médicinales du genre *Euphorbia* sont riches en composés triterpéniques dotés des vertus antimicrobiennes. De ce fait, ces espèces pourraient fournir une protection efficace contre les pathogènes fongiques. Comparativement aux résultats obtenus avec les extraits d'*Euphorbia peplus*, plusieurs études réalisées sur les extraits d'autres espèces d'euphorbe contre les champignons phytopathogène ont présentés des résultats probants. A titre d'exemple, les travaux de Al-Mughrabi (2003)



utilisant le butanol, le chloroforme, l'eau et l'éther de pétrole comme solvant d'extraction des molécules bioactives, ont montré que les extraits butanoliques et chloroformiques des fleurs et des parties des tiges d'*Euphorbia macroclada* à 1000 ppm inhibe jusqu'à 100 % la croissance de *Verticillium dahliae*. Kena (2016) évaluant l'effet inhibiteur de l'extrait méthanolique d'*Euphorbia ingens* contre *P. digitatum* à des concentrations de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1,0 g/100ml a trouvé que toutes ces concentrations ont inhibé significativement la croissance de ce champignon. Ces concentrations ont montré le même profil d'inhibition de ce pathogène ; ce qui vient encore une fois contredire les résultats observés dans ce travail où l'extrait méthanolique a aussi été utilisé à diverses concentrations. Mekam et al. (2019) ont d'abord fait l'analyse phytochimique d'extraits végétaux bruts de trois espèces parmi lesquelles *Euphorbia hirta* et ont, par la suite, testé l'efficacité antifongique des extraits aqueux et hydro-éthanolique de ces plantes à 1,25 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 20 mg/ml. Entre 10 et 20 mg/ml, l'inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, et *Rhizoctonia solani* était de 80 à 100 % avec l'extrait éthanolique d'*Euphorbia hirta* et inférieure à 62 % avec l'extrait aqueux et la richesse en composés phénolique d'extraits végétaux bruts d' *Euphorbia hirta* étaient plus élevée. Le pouvoir antifongique était plus remarquable en utilisant le solvant d'extraction moins polaire (hydro-éthanol) et dépendaient de la concentration et de l'interaction extrait-pathogène ; ce qui n'est pas en harmonie avec les résultats trouvés dans la présente recherche. Selon Kotzé & Eloff (2002), l'augmentation de l'efficacité de l'extraction et de la concentration des molécules antimicrobiennes telles que les flavonoïdes et les composés phénoliques est fortement liée à l'utilisation des solvants moins polaires. Dans ce travail, bien que le choix des solvants ait été fait sur base de la faible polarité, les extraits se sont révélés moins efficaces.

Cependant, Jiménez et al. (2021) travaillant sur les extraits des parties aériennes d'*Euphorbia serpens*, *E. schickendantzii* et *E. collina* à 1500, 750, 375, 188, 94, 47 et 23 µg/ml contre différentes souches de *F. graminearum* et *F. verticillioides* en utilisant l'hexane, l'acétate d'éthyle et le méthanol comme solvant d'extraction des biomolécules actives ont trouvé que les extraits de *E. serpens* et *E. schickendantzii* et l'extrait de méthanol d'*E. collina* n'ont pas présenté d'effet antifongique dans les tests de microdilution. L'extrait d'acétate d'éthyle a présenté une faible inhibition tandis que l'extrait hexanique a inhibé ces souches fongiques à 50 % entre 750 et 150 µg/ml. L'analyse des composés phytochimique réalisée sur les extraits hexaniques a montré la présence de cycloarténol (CA) et de 24-méthylènenecycloartanol (24MCA) qui sont des triterpénoïdes pentacycliques associés à cet effet inhibiteur modéré. Ces résultats conduiraient à dire qu'au sein du genre euphorbia, l'efficacité antifongique des extraits de plantes dépend de

l'espèce, du solvant utilisé et des souches fongique en cause. Cette hypothèse pourrait partiellement expliquer les résultats trouvés dans cette étude.

En outre, l'activité antimicrobienne reconnue à l'*Euphorbia peplus* serait due à sa teneur élevée en composés phénoliques, en terpènes et en stérols (Ali et al., 2013). Kumar et al. (2018) et Rishikesh (2022) rapportent que dans la plante, la synthèse des métabolites secondaires tels que les phénols et les terpènes augmente en réponse aux stress abiotiques. Dans ce contexte, certains auteurs mentionnent que la production des plantes médicinales en culture hydroponique augmenteraient la concentration en composés bioactives, et par ricochet leur activité antimicrobienne, du fait de manipulation des paramètres comme la température, la lumière, l'humidité, la conductivité électrique et le pH (Canter et al., 2005 ; Giurgiu et al., 2014 ; Pedneault, 2002). Cependant, les résultats obtenus dans cette investigation avec le dépistage antifongique des extraits d'*Euphorbia peplus* contre *Penicillium digitatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium avenaceum*, et *Verticillium dahliae* ne corrobore pas avec cette hypothèse. Bafort et al. (2022) précise que la réponse des plantes à la modification de ces paramètres en culture hydroponique serait fonction de l'espèce végétale, du stade de croissance de la plante et des métabolites secondaires spécifiques ; Yoshimatsu (2012) ajoute que la teneur en métabolites secondaires est aussi influencée par le temps de récolte, le séchage ; le stockage et les méthodes de traitement de matériel végétal. Ainsi les résultats obtenus dans cette recherche trouveraient une explication dans ces deux dernières interventions.

Vu ces résultats, il serait important de procéder à l'analyse des composés bioactifs des extraits d'*Euphorbia peplus* associés à l'activité antifongique tels que les composés phénoliques, les terpènes, les stérols, etc. avant de pousser cette investigation plus loin.



## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que globalement, les effets des extraits ont été trop faibles ou nuls ou encore ont favorisé la croissance fongique indépendamment de la concentration et de l'interaction extrait-pathogène.

*Penicillium digitatum* a produit plus de mycélium en présence des extraits sur microplaque ELISA. En boîte de Pétri, l'inhibition la plus élevée de ce champignon a été évaluée à 6,3 % avec l'extrait hexanique à 375 ppm. Sur microplaque ELISA, les extraits ont, en général, favorisé la croissance de *Fusarium culmorum*. L'extrait chloroformique à 3000 ppm a inhibé ce pathogène à 9,6 %. En boîte de Pétri, les résultats des tests ont présenté un caractère aléatoire indépendamment des concentrations et du type d'extrait ; l'extrait hexanique à 375 ppm a inhibé ce pathogène à 13,3 %. La croissance mycélienne de *Fusarium avenaceum* a été plus importante en présence des extraits à l'exception de l'extrait chloroformique à 187,5 ppm qui a inhibé cet agent fongique à 8,3 %. Contre *Verticillium dahliae*, l'extrait chloroformique à 1500 ppm a fourni le pourcentage d'inhibition le plus élevé évalué à 14,5%.

Eu égard aux conclusions ci-haut, à ce stade, les perspectives suivantes peuvent être formulées :

- Faire le dosage phytochimique des biomolécules à activité antifongique telles que les composés phénoliques, les terpènes et les stérols, etc.
- Reprendre les essais de test d'efficacité avec un protocole de préparation des extraits différent de celui qui a été utilisé dans cette étude.
- Développer le protocole d'évaluation de l'efficacité antifongique du latex d'*Euphorbia peplus* en microplaque ELISA.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achour, S., Khattabi, A., Rhalem, N., Ouammi, L., Mokhtari, A., Soulaymani, A., & Bencheikh, R. S. (2011). Pesticide poisoning in Moroccan children: Epidemiological and prognostic aspects (1990-2008). *Sante Publique*, 23(3), 195–206. <https://doi.org/10.3917/spub.113.0195>
- Ahmed, S. M., & Noureldeen, A. (2022). A comparative study of *Euphorbia peplus*, *Euphorbia hirta* and *Euphorbia tirucalli* based on DNA barcoding markers. *Pakistan Journal of Botany*, 54(2), 475–481. [https://doi.org/10.30848/PJB2022-2\(35\)](https://doi.org/10.30848/PJB2022-2(35))
- Ait Taadaouit, N., Hsaine, M., Rochdi, A., Nilahyane, A., & Bouharroud, R. (2012). Effet des extraits végétaux méthanoliques de certaines plantes marocaines sur *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). *OEPP/EPPO Bulletin*, 42(2), 275–280. <https://doi.org/10.1111/epp.2571>
- Akutse, K. S., Subramanian, S., Maniania, N. K., Dubois, T., & Ekesi, S. (2020). Biopesticide Research and Product Development in Africa for Sustainable Agriculture and Food Security – Experiences from the International Centre of Insect Physiology and Ecology (icipe). In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 4). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.563016>
- Al-Emam, A., Al-Shraim, M., Eid, R. A., Jamil, A. M., Moustafa, M. F., & Radad, K. (2019). Cytotoxicity of *Euphorbia peplus* extract on MCF7 breast cancer cells. *Folia Biologica (Poland)*, 67(3), 127–139. [https://doi.org/10.3409/fb\\_67-3.13](https://doi.org/10.3409/fb_67-3.13)
- Ali, A. A., Sayed, H. M., Ibrahim, S. R. M., & Zaher, A. M. (2013). Chemical constituents, antimicrobial, analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Euphorbia peplus* L. In *Phytopharmacology* 4: 69-80.
- Al-Mughrabi K.I. (2003). Antimicrobial activity of extracts from leaves, stems and flowers of *Euphorbia macroclada* against plant pathogenic fungi, *Phytopathologia Mediterranea*. Vol. 42 (3). 245–250.
- Al-Okbi, S. Y., MEI-Sayed, E., Ammar, N. M., El-Sayed, N. K., & Abou-El Kassem, L. T. (2002). Effect of *Ruta graveolens* L. and *Euphorbia peplus* L. anti-inflammatory extracts

- on nutritional status of rats and the safety of their use. In *Indian Journal of Experimental Biology* (Vol. 40) 45 – 48.
- Ameziane, N., Boubaker, H., Boudyach, H., Msanda, F., Jilal, A., & Ait Benaoumar, A. (2007). Antifungal activity of Moroccan plants against citrus fruit pathogens. *Agronomy for Sustainable Development*, 27(3), 273–277. <https://doi.org/10.1051/agro:2007022>
- Anjarwalla P, Belmain S, Sola P, Jamnadass R, Stevenson P. C. (2016). Guide des plantes pesticides, Centre mondial d'agroforesterie (ICRAF), Nairobi, Kenya, p. 1.
- Askarne, L., Talibi, I., Boubaker, H., Boudyach, E. H., Msanda, F., Saadi, B., & Ait Ben Aoumar, A. (2013). Use of Moroccan medicinal plant extracts as botanical fungicide against citrus blue mould. *Letters in Applied Microbiology*, 56(1), 37–43. <https://doi.org/10.1111/lam.12012>
- Arsan, M. R., Eraky A. M. I. (2011). Aggressiveness of certain *Fusarium graminearum* isolates on wheat seedlings and relation with their trichothecene production. *Plant Pathology* 10(1), 36-41.
- Arseniuk, E., Foremska, E., Goral, T., Chelkowski, J. (1999). *Fusarium* head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology* 147, 577-590.
- Atallah, Z. K., Hayes, R. J., & Subbarao, K. v. (2011). Fifteen years of verticillium wilt of lettuce in Americas salad bowl: A tale of immigration, subjugation, and abatement. *Plant Disease*, 95(7), 784–792. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-11-0075>
- Audenaert, K., Van Broeck, R., Van Bekaert, B., De Witte, F., Heremans, B., Messens, K., Höfte, M., & Haesaert, G. (2009). *Fusarium* head blight (FHB) in Flanders: Population diversity, inter-species associations and DON contamination in commercial winter wheat varieties. *European Journal of Plant Pathology*, 125(3), 445–458. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9494-3>
- Bafort, F., Kohnen, S., Maron, E., Bouhadada, A., Ancion, N., Crutzen, N., & Jijakli, M. H. (2022). The Agro-Economic Feasibility of Growing the Medicinal Plant *Euphorbia peplus* in a Modified Vertical Hydroponic Shipping Container. *Horticulturae*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030256>

- Baras T., 2019, Le guide marabout de l'hydroponie
- Barbara, D. J., & Clewes, E. (2003). Plant pathogenic *Verticillium* species: How many of them are there? In *Molecular Plant Pathology* (Vol. 4, Issue 4, pp. 297–305). <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00172.x>
- Barkai-Golan, R. (2008). *Penicillium* mycotoxins. In R. Barkai-Golan, & N. Paster (Eds.). *Mycotoxins in fruits and vegetables* (pp. 153–183). San Diego : Academic Press.
- Barthélémy Yarou, B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., & Francis, F. (2017). Pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique), *Biotechnol. Agro. Soc. Environ.* 201721(4), 288-304.
- Batsch Dorothée (2011). L'impact des pesticides sur la santé humaine. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France, p. 185.
- Boivin, G. (2001). Parasitoïdes et lutte biologique: paradigme ou panacée ? *Vertigo*, Volume 2 Numéro 2. <https://doi.org/10.4000/vertigo.4096>
- Bottalico, A., & Perrone, G. (2002). Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. In *European Journal of Plant Pathology* (Vol. 108).
- Brown, N. A., Urban, M., van de Meene, A. M. L., & Hammond-Kosack, K. E. (2010). The infection biology of *Fusarium graminearum*: Defining the pathways of spikelet to spikelet colonisation in wheat ears. *Fungal Biology*, 114(7), 555–571. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.04.006>
- Bubici, G., & Cirulli, M. (2008). Integrated management of verticillium wilt of tomato. In *Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria* (pp. 225–242). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8571-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8571-0_12)
- Canter, P. H., Thomas, H., & Ernst, E. (2005). Bringing medicinal plants into cultivation: Opportunities and challenges for biotechnology. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 23, Issue 4, pp. 180–185). <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.02.002>

- Chamkhi, I., Hnini, M., & Aurag, J. (2022). Conventional medicinal uses, phytoconstituents, and biological activities of *Euphorbia officinarum* L.: A systematic review. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2. <https://doi.org/10.1155/2022/9971085>
- Champeil, A., Doré, T., & Fourbet, J. F. (2004). Fusarium head blight: Epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by Fusarium in wheat grains. In *Plant Science* (Vol. 166, Issue 6, pp. 1389–1415). <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.02.004>
- Chandler, D., Bailey, A. S., Mark Tatchell, G., Davidson, G., Greaves, J., & Grant, W. P. (2011). The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1573), 1987–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390>
- Christ, D. S., Gödecke, R., Von Tiedemann, A., & Varrelmann, M. (2011). Pathogenicity, symptom development, and mycotoxin formation in wheat by Fusarium species frequently isolated from sugar beet. *Phytopathology*, 101(11), 1338–1345. <https://doi.org/10.1094/PHTO-01-11-0003>
- Cissokho, P., Gueye, M., Sow, E., & Diarra, K. (2015). Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1644. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.43>
- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2006). Plant secondary metabolites : occurrence, structure and role in the human diet. Blackwell Pub.
- Da Silva, O. L. M., Cordeiro, I., & Caruzo, M. B. R. (2014). Synopsis of euphorbia (Euphorbiaceae) in the state of São Paulo, Brazil. *Phytotaxa*, 181(4), 193–215. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.181.4.1>
- De Clerck, C., Maso, S. D., Parisi, O., Dresen, F., Zhiri, A., & Haissam Jijakli, M. (2020). Screening of antifungal and antibacterial activity of 90 commercial essential oils against 10 pathogens of agronomical importance. *Foods*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101418>

- Dorothée Siou. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien, Thèse de doctorat, Université Paris-sud 11.
- Doohan, F. M., Brennan, J., & Cooke, B. M. (2003). Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. In *European Journal of Plant Pathology* (Vol. 109).
- Endrias A. 2006. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdariffa* L. et à l'*Artemisia annua*, Thèse de doctorat, Université de Dakar.
- Ertas, A., Yilmaz, M. A., & Firat, M. (2015). Chemical profile by LC-MS/MS, GC/MS and antioxidant activities of the essential oils and crude extracts of two *Euphorbia* species. *Natural Product Research*, 29(6), 529–534.  
<https://doi.org/10.1080/14786419.2014.954113>
- Fauvergue X., Rusch A., Barret M., Bardin M., Jacquin-Joly E., Malausa T., Lannou C., coord. (2020). Biocontrôle : Éléments pour une protection agroécologique des cultures.
- Faye, M. (2010). Nouveau procédé de fractionnement de la graine de Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss.) sénégalais : production d'un biopesticide, d'huile et de tourteau. . Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse. 256p.
- Fernando, W. G. D., Paulitz, T. C., Seaman, W. L., Dutilleul, P., & Miller, J. D. (1997). Head Blight Gradients Caused by *Gibberella zeae* from Area Sources of Inoculum in Wheat Field Plots. *Phytopathology* 87, 414-421.
- Frezza, C., Venditti, A., Sciubba, F., Tomai, P., Antonetti, M., Franceschin, M., di Cocco, M. E., Gentili, A., Delfini, M., Serafini, M., & Bianco, A. (2018). Phytochemical profile of *Euphorbia peplus* L. collected in Central Italy and NMR semi-quantitative analysis of the diterpenoid fraction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 160, 152–159.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.059>
- Friebertshauser G E end DeVay J E (1982). Differential effects of the defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* upon the growth and development of *Gossypium hirsutum*. *Phytopathology* 72:872- 877.

- Gasic, S., & Tanovic, B. (2013). Biopesticide formulations, possibility of application and future trends. *Pesticidi I Fitomedicina*, 28(2), 97–102. <https://doi.org/10.2298/pif1302097g>
- Giurgiu, R. M., Morar, G. A., Dumitraş, A., Boancă, P., Duda, B. M., & Moldovan, C. (2014). Study regarding the suitability of cultivating medicinal plants in hydroponic systems in controlled environment. In *Research Journal of Agricultural Science* (Vol. 46, Issue 2).
- Guenther, J. C., & Trail, F. (2005). The development and differentiation of *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. *Mycologia*, 97(1), 229–237. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832856>
- Guyader S. (2020). Maladies cryptogamiques : Méthodes de lutte. Master Biologie - Santé, hal-02791127.
- Hammerschmidt R. (2007). Introduction: Definitions and Some History. In : Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection. *Blackwell Publishing*, 1-8
- Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. In *Phytochemistry* (Vol. 68, Issues 22–24, pp. 2831–2846). <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.017>
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphenols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>
- Hope, R., Aldred, D., & Magan, N. (2005). Comparison of environmental profiles for growth and deoxynivalenol production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* on wheat grain. *Letters in Applied Microbiology*, 40(4), 295–300. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01674.x>
- Hörberg, H. M. (2002). Patterns of splash dispersed conidia of *Fusarium poae* and *Fusarium culmorum*. In *European Journal of Plant Pathology* (Vol. 108).
- Hua, J., Liu, Y., Xiao, C. J., Jing, S. X., Luo, S. H., & Li, S. H. (2017). Chemical profile and defensive function of the latex of *Euphorbia peplus*. *Phytochemistry*, 136, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.12.021>

- Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Davis, R. M., Usami, T., Platt, H. W., & Subbarao, K. v. (2011). Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS ONE*, 6(12).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028341>
- Inderbitzin, P., & Subbarao, K. v. (2014). *Verticillium* systematics and evolution: How confusion impedes verticillium wilt management and how to resolve it. In *Phytopathology* (Vol. 104, Issue 6, pp. 564–574). American Phytopathological Society.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-13-0315-IA>
- Jiménez-Gasco M. M., Navas-Cortés J. A. et Jiménez-Díaz R. M. (2004). The *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* / *Cicer arietinum* pathosystem: A Case Study of the Evolution of Plant Pathogenic Fungi into Races and Pathotypes. *International Microbiology*, 7: 95-104
- Jiménez, C. M., Álvarez, H. L., Ballari, M. S., Labadié, G. R., Catalán, C. A. N., Toso, R. E., & Sampietro, D. A. (2021). Antifungal activity of Euphorbia species against moulds responsible of cereal ear rots. *Journal of Applied Microbiology*, 130(4), 1285–1293.  
<https://doi.org/10.1111/jam.14860>
- Jimenez-Diaz, R. M., Cirulli, M., Bubici, G., del Mar Jimenez-Gasco, M., Antoniou, P. P., & Tjamos, E. C. (2012). *Verticillium* wilt, a major threat to olive production: Current status and future prospects for its management. *Plant Disease*, 96(3), 304–329.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-06-11-0496>
- Karagiannidis, N., Bletsos, F., & Stavropoulos, N. (2001). Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings, *Scientia Horticulturae* 94, 145-156.
- Kather H. F. (2012). Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02 (05), 244-259.
- Kellerman, M., Joubert, J., Erasmus, A., & Fourie, P. H. (2016). The effect of temperature, exposure time and pH on imazalil residue loading and green mould control on citrus through dip application. *Postharvest Biology and Technology*, 121, 159–164.  
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.06.014>



- Kemboi, D., Siwe-noundou, X., Krause, R. W. M., Langat, M. K., & Tembu, V. J. (2021). Euphorbia diterpenes: An update of isolation, structure, pharmacological activities and structure–activity relationship. In *Molecules* (Vol. 26, Issue 16). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules26165055>
- Kena, M. (2016). Antifungal activities of *Monsonia burkeana* and *Euphorbia ingens* extracts against *Penicillium digitatum*, the causal agent of citrus green mould. *African Plant Protection* 19: 1–3. <https://www.researchgate.net/publication/303764579>
- Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E., & Subbarao, K. v. (2009). Diversity, pathogenicity, and management of verticillium species. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 39–62. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081748>
- Korangi, V., Kubindana, G., Fingu-Mabola, J. C., Sulu, A., Kasereka, G., Matamba, A., & Ndindir, J. (2021). Utilisation des biopesticides pour une agriculture durable en République Démocratique du Congo (Synthèse bibliographique). *Revue Africaine d'Environnement et d'Agriculture* . In *Numéro Spécial* (Vol. 02). <http://www.rafea-congo.com>
- Kotzé, M., & Eloff, J. N. (2002). Extraction of antibacterial compounds from *Combretum microphyllum* (Combretaceae). *South African Journal of Botany*, 68, 62–67.
- Kouassi H.S., Bajji M., Brostaux Y., Zhiri A., Samb A., Lepoivre P., Jijakli M.H. (2012). Development and application of a microplate method to evaluate the efficacy of essential oils against *Penicillium italicum* Wehmer, *Penicillium digitatum* Sacc. and *Colletotrichum musea* (Berk. & M.A. Curtis) Arx, three postharvest fungal pathogens of fruits, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 16(3), 325-336.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3–4), 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.02.001>
- Kulkarni, J., Kapse, N., Kulkarni, D. K. (2009). Plant based pesticides for control of *Helicoverpa armigera* on cucumis. *Asian Agri-History* Vol. 3 N° 4, p 327.

- Kumar I., Sharma RK., 2018, Production of secondary metabolites in plants under abiotic stress: an overview, *Significance of Bioengineering and Bioscience*, No. 2(4).
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic compounds: Introduction. In *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes* (pp. 1543–1580). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6\\_57](https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57)
- Leong, L. P., & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76 : 69-75 [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem).
- Leontopoulos, S. (2020). Potential Use of Medicinal Plants as Biological Crop Protection Agents. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 25(4). <https://doi.org/10.26717/bjstr.2020.25.004231>
- Li Destri Nicosia, M. G., Pangallo, S., Raphael, G., Romeo, F. v., Strano, M. C., Rapisarda, P., Droby, S., & Schena, L. (2016). Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract. *Postharvest Biology and Technology*, 114, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.012>
- Magro, A., Carolino, M., Bastos, M., & Mexia, A. (2006). Efficacy of plant extracts against stored products fungi. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 23(3), 176–178. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(06\)70039-0](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(06)70039-0)
- Martin-Lapierre A. (2011). Application de composts et de fumigants pour lutter contre la verticilliose (*Verticillium dahliae*) du fraisier, Mémoire de maîtrise, Université de Lava Québec.
- Mcmullen, M., Jones, R., & Gallenberg, D. (1997). Scab of wheat and barley: A Re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease* 81(12), 1340-1348.
- Mekam, P. N., Martini, S., Nguefack, J., Tagliazucchi, D., Mangoumou, G. N., & Stefani, E. (2019). Activity of extracts from three tropical plants towards fungi pathogenic to tomato (*Solanum lycopersicum*). *Phytopathologia Mediterranea*, 58(3), 573–586. <https://doi.org/10.14601/Phyto-10891>

- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev.* 52: 673-839 <http://www.pharmrev.org>
- Mol, L., & van Riessen, H. W. (1995). Effect of plant roots on the germination of microsclerotia of *Verticillium dahliae* I. Use of root observation boxes to assess differences among crops. In *European Journal of Plant Pathology*. 101 (6) : 673-678.
- Muliele, T. M., Manzenza, C. M., Ekuke, L. W., Diaka, C. P., Ndikubwayo, D. M., Kapalay, O. M., & Mundeke, A. N. (2018). Utilisation et gestion des pesticides en cultures maraîchères : cas de la zone de Nkolo dans la province du Kongo Central, République démocratique du Congo. *Journal of Applied Biosciences*, 119(1), 11954. <https://doi.org/10.4314/jab.v119i1.11>
- Nair, P. V. R., Wiechel, T. J., Crump, N. S., & Taylor, P. W. J. (2016). Role of *Verticillium dahliae* and *V. tricorpus* naturally infected tubers in causing *Verticillium* wilt disease, contribution of soil pathogen inoculum and subsequent progeny tuber infection. *Australasian Plant Pathology*, 45(5), 517–525. <https://doi.org/10.1007/s13313-016-0442-3>.
- Neffati M. et Sghaier M., 2014, Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie), Rapport principal Projet MENA-DELP.
- Nijveldt R. J., Van Nood E., Van Hoorn D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren K, and Van Leeuwen P. A. M. (2001) Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74:418–25.
- Nostro, A., Germano, M. P., D'angelo, V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters en Microbiologie Appliquée* 30, 379.
- Oksman-Caldentey, K. M., & Inzé, D. (2004). Plant cell factories in the post-genomic era: New ways to produce designer secondary metabolites. In *Trends in Plant Science* (Vol. 9, Issue 9, pp. 433–440). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.07.006>

- Osborne, L. E., & Stein, J. M. (2007). Epidemiology of Fusarium head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1–2), 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.032>
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare S. and Bansal, Y. K. (2015). Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview, *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, Vol. 9 (3) 293-304.
- Palou, L., Smilanick, J. L., & Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. In *Stewart Postharvest Review* (Vol. 4, Issue 2). <https://doi.org/10.2212/spr.2008.2.2>
- Pangallo, S., Li Destri Nicosia, M. G., Raphael, G., Levin, E., Ballistreri, G., Cacciola, S. O., Rapisarda, P., Droby, S., & Schena, L. (2017). Elicitation of resistance responses in grapefruit and lemon fruits treated with a pomegranate peel extract. *Plant Pathology*, 66(4), 633–640. <https://doi.org/10.1111/ppa.12594>
- Papoutsis, K., Mathioudakis, M. M., Hasperu , J. H., & Ziogas, V. (2019). Non-chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 86, pp. 479–491). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.053>
- Parveen, S., Wani, A. H., Ganie, A. A., Pala, S. A., & Mir, R. A. (2014). Antifungal activity of some plant extracts on some pathogenic fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(3), 279–284. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.808857>.
- Pedneault K., L onhart S. and Gosselin A., Papadopoulos A. P., Angers P. and Dorais M. (2002). Variations in Concentration of Active Compounds in Four Hydroponically- and Field-Grown Medicinal Plant Species, *Academia*, Ed. M. Dorias, Acta Hort 580.
- Pegg, G. F. & Brady, B. L. (2002). *Verticillium wilts*. CABI Pub.
- Pereyra, S. A., Dill-Macky, R., & Sims, A. L. (2004). Survival and Inoculum Production of *Gibberella zeae* in Wheat Residue. *Plant Disease* 88, 724-730.

- Prakash, A., Rao, J., Berliner, J., Pokhare, S. S., Adak, T., & Saikia, K. (2014). Botanical pesticides for the management of plant nematode and mite pests. In *Advances in Plant Biopesticides* (pp. 89–118). Springer India. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2006-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2006-0_6)
- Ramsay, J. R., Suhrbier, A., Aylward, J. H., Ogbourne, S., Cozzi, S. J., Poulsen, M. G., Baumann, K. C., Welburn, P., Redlich, G. L., & Parsons, P. G. (2011). The sap from *Euphorbia peplus* is effective against human nonmelanoma skin cancers. *British Journal of Dermatology*, 164(3), 633–636. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.10184.x>
- Rautela, I., Joshi, P., Thapliyal, P., Pant, M., Dheer, P., Bisht, S., Sinha, V. B., Sundriyal, S., & Sharma, M. D. (2020). Comparative GC-MS analysis of *Euphorbia hirta* and *Euphorbia milli* for therapeutic potential utilities (Vol. 20, Issue 2), 3515-3522.
- Rishikesh U., 2021, The life of plants in a changing environment, Lady Stephenson library, Newcastel upon Tyne, NE6 2PA, UK.
- Rowe, R. C., & Powelson, M. L. (2002). Potato Early Dying: Management Challenges in a Changing Production Environment. *Plant Dis.* 86:1184- 1193.
- Sanzani, S. M., Schena, L., & Ippolito, A. (2014). Effectiveness of phenolic compounds against citrus green mould. *Molecules*, 19(8), 12500–12508. <https://doi.org/10.3390/molecules190812500>
- Smaili, A., Mazoir, N., Rifai, L. A., Koussa, T., Makroum, K., Kabil, E. M., Benharref, A., & Faize, M. (2017). Triterpene derivatives from *Euphorbia* enhance resistance against *Verticillium* wilt of tomato. *Phytochemistry*, 135, 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.12.017>
- Smeriglio, A., Denaro, M., Trombetta, D., Ragusa, S., & Circosta, C. (2021). New insights on *euphorbia dendroides* l. (euphorbiaceae): Polyphenol profile and biological properties of hydroalcoholic extracts from aerial parts. *Plants*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/plants10081621>
- Son, D., Somda, I., Legreve, A., & Schiffers, B. (2017). Pratiques phytosanitaires des producteurs de tomates du Burkina Faso et risques pour la santé et l'environnement. *Cahiers Agricultures*, 26(2). <https://doi.org/10.1051/cagri/2017010>

- Sutton, J. C. (1982). Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4(2), 195–209. <https://doi.org/10.1080/07060668209501326>
- Talibi, I., Boubaker, H., Boudyach, E. H., & Ait Ben Aoumar, A. (2014). Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 117, Issue 1, pp. 1–17). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jam.12495>
- Taqarort, N., Bouzerda, L., Boubaker, H., ben Aoumar, A. A., & Boudyach, E. H. (2008). Lutte biologique contre la pourriture verte des agrumes en post-récolte par l'utilisation de levures antagonistes. *Acta Botanica Gallica*, 155(2), 235–244. <https://doi.org/10.1080/12538078.2008.10516106>
- Tayel, A. A., Moussa, S. H., Salem, M. F., Mazrou, K. E., & El-Tras, W. F. (2016). Control of citrus molds using bioactive coatings incorporated with fungal chitosan/plant extracts composite. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(4), 1306–1312. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7223>
- Texier W. (2013). L'hydroponie pour tous : tout sur l'horticulture à la maison. France : Mama édition, 15-33 p.
- Toé A. M. (2010). Pilot Study on Agricultural Pesticide Poisoning in Burkina Faso. In Secretariat of the Rotterdam Convention ; FAO (Issue September).
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>
- Urban L et Urban I., (2010). La production sous serre : L'irrigation fertilisante en culture hors sol. 2e ed, 11 rue lavoisier, Paris. 1-19 p.
- Vallad, G. E., & Subbarao, K. V. (2008). Colonization of resistant and susceptible lettuce cultivars by a green fluorescent protein-tagged isolate of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 98(8), 871–885. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-8-0871>
- Van Den Bosch, F., Paveley, N., Shaw, M., Hobbelen, P., & Oliver, R. (2011). The dose rate debate: Does the risk of fungicide resistance increase or decrease with dose ? In *Plant*

- Pathology* (Vol. 60, Issue 4, pp. 597–606). <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02439.x>
- Wagacha, J. M., & Muthomi, J. W. (2007). *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. In *Crop Protection* (Vol. 26, Issue 7, pp. 877–885). <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.003>
- Walter, S., Nicholson, P., & Doohan, F. M. (2010). Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. In *New Phytologist* (Vol. 185, Issue 1, pp. 54–66). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03041.x>
- Xu, X. M., Parry, D. W., Nicholson, P., Thomsett, M. A., Simpson, D., Edwards, S. G., Cooke, B. M., Doohan, F. M., Brennan, J. M., Moretti, A., Tocco, G., Mule, G., Hornok, L., Giczey, G., & Tatnell, J. (2005). Predominance and association of pathogenic fungi causing *Fusarium* ear blight in wheat in four European countries. *European Journal of Plant Pathology*, 112(2), 143–154. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-2446-7>
- Xu, X., & Nicholson, P. (2009). Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 83–103. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081737>
- Yang, Y., Zhou, M., Wang, D., Liu, X., Ye, X., Wang, G., Lin, T., Sun, C., Ding, R., Tian, W., & Chen, H. (2021). Jatrophone Diterpenoids from *Euphorbia peplus* as Multidrug Resistance Modulators with Inhibitory Effects on the ATR-Chk-1 Pathway. *Journal of Natural Products*, 84(2), 339–351. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00986>
- Yoshimatsu K. (2012). Innovative cultivation: Hydroponic of medicinal plants in the closed-type cultivation facilities, *J. Trad. Med.* 29, 30 – 34.
- Yu, J. H., Wu, D. X., Yu, Z. P., Li, Y. P., Wang, Y. Y., Yu, S. J., & Zhang, H. (2019). New e: b-friedo-hopane type triterpenoids from *Euphorbia peplus* with simiarendiol possessing significant cytostatic activity against hela cells by induction of apoptosis and S/G2 cell cycle arrest. *Molecules*, 24(17). <https://doi.org/10.3390/molecules24173106>

## ANNEXES

### Annexe 1. Analyses statistiques

#### Microplaque ELISA

##### *Penicillium digitatum*

##### Extrait méthanolique

Conc. Extr.

Méthanol.	N	Médiane	Rang de n
1500 ppm	8	0,7455	
187,5 ppm	8	0,6415	
3000 ppm	8	0,9275	
375 ppm	8	0,7230	
750 ppm	8	0,7440	
Contrôle	8	0,5410	
Global	48		

Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	42,00	0,000
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	42,05	0,000

##### Extrait hexanique

Conc. Extr.

Hexan.	N	Médiane	Rang de moyenne	Valeur de Z
1500 ppm	8	0,81	31,3	1,51
187,5 ppm	8	0,59	12,5	-2,66
3000 ppm	8	0,85	41,1	3,68
375 ppm	8	0,74	21,3	-0,71
750 ppm	8	0,82	36,3	2,60
Contrôle	8	0,55	4,5	-4,43
Global	48		24,5	



Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	41,43	0,000
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	41,71	0,000

## Extrait chloroformique

### Statistiques descriptives

Extr.

chloroform.	N	Médiane	Rang de moyenne	Valeur de Z
1500 ppm	8	0,6705	29,8	1,16
187,5 ppm	8	0,5570	10,5	-3,10
3000 ppm	8	0,8140	44,5	4,43
375 ppm	8	0,6390	22,6	-0,41
750 ppm	8	0,6825	33,1	1,91
Contrôle	8	0,5350	6,5	-3,98
Global	48		24,5	

Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	41,86	0,000
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	41,87	0,000

## *Fusarium culmorum*

### Extrait méthanolique

Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Extr	5	0,16213	0,032426	31,29	0,000
Méthanol					
Erreur	42	0,04353	0,001036		
Total	47	0,20566			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Extr Méthanol	N	Moyenne	Groupement
3000 ppm	8	0,76787	A
1500 ppm	8	0,7096	B
750 ppm	8	0,6655	B C
375 ppm	8	0,6440	C
187,5 ppm	8	0,62488	C D
Contrôle	8	0,5897	D

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

### Extrait hexanique

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Traitement	5	0,17898	0,035797	33,54	0,000
Erreur	42	0,04482	0,001067		
Total	47	0,22380			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Traitement	N	Moyenne	Groupement
3000 ppm	8	0,78450	A
187,5 ppm	8	0,6773	B
1500 ppm	8	0,6701	B C
375 ppm	8	0,6405	B C
750 ppm	8	0,6225	C D
Contrôle	8	0,5907	D

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

## Extrait chloroformique

### Statistiques descriptives

Extr.

chloroform.	N	Médiane	Rang de moyenne	Valeur de Z
1500 ppm	8	0,5670	17,3	-1,60
187,5 ppm	8	0,5795	19,1	-1,19
3000 ppm	8	0,6350	41,3	3,71
375 ppm	8	0,5850	25,0	0,11
750 ppm	8	0,5535	9,4	-3,35
Contrôle	8	0,6245	35,0	2,32
Global	48		24,5	

Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	28,62	0,000
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	28,64	0,000

## Boîte de Pétri

### *Penicillium digitatum*

### Extrait méthanolique

Conc. Extrait

Méthanol.	N	Médiane	Rang de moyenne	Valeur de Z
1500 ppm	11	0,58	22,3	-0,60
187,5 ppm	3	76,00	43,0	2,36
3000 ppm	11	0,65	29,4	1,32
375 ppm	9	0,59	21,0	-0,83
750 ppm	11	0,57	16,1	-2,27
Contrôle	3	74,00	37,5	1,66
Global	48		24,5	

Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	13,99	0,016
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	14,06	0,015

## Extrait hexanique

### Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Traitement	5	62,28	12,456	3,56	0,033
Erreur	12	42,00	3,500		
Total	17	104,28			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Traitement	N	Moyenne	Groupement
Contrôle	3	79,000	A
1500 ppm	3	78,000	A
750 ppm	3	77,667	A
3000 ppm	3	76,667	A
187,5 ppm	3	74,33	A
375 ppm	3	74,00	A

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes*

## Extrait chloroformique

### Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Traitement	5	5,833	1,167	0,49	0,779
Erreur	12	28,667	2,389		
Total	17	34,500			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Traitement	N	Moyenne	Groupement
Contrôle	3	78,000	A
3000 ppm	3	77,667	A
187,5 ppm	3	77,333	A
375 ppm	3	77,00	A
1500 ppm	3	76,667	A
750 ppm	3	76,33	A

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

## ***Fusarium culmorum***

### Extrait méthanolique

Analyse de la variance

Source		DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Conc	Extrail	5	90,716	18,1431	27,85	0,000
Méthanol						
Erreur		11	7,167	0,6515		
Total		16	97,882			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Conc	Extrail	N	Moyenne	Groupement
Méthanol				
375 ppm		3	62,333	A
750 ppm		3	59,000	B
1500 ppm		3	59,00	B
Contrôle		3	57,000	B C
187,5 ppm		3	57,000	B C
3000 ppm		2	54,500	C

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

### Extrait hexanique

Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Niveau	5	443,78	88,756	38,04	0,000
Erreur	12	28,00	2,333		
Total	17	471,78			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Niveau	N	Moyenne	Groupement
1500 ppm	3	81,667	A
3000 ppm	3	81,00	A B
Contrôle	3	77,00	B C
187,5 ppm	3	76,00	C
750 ppm	3	74,333	C
375 ppm	3	66,667	D

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

### Extrait chloroformique

## Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Traitement	5	346,28	69,256	13,85	0,000
Erreur	12	60,00	5,000		
Total	17	406,28			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Traitement	N	Moyenne	Groupement
3000 ppm	3	69,667	A
1500 ppm	3	66,67	A B
375 ppm	3	62,00	B C
Contrôle	3	61,000	B C
750 ppm	3	60,00	C
187,5 ppm	3	56,33	C

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

## *Fusarium avenaceum*

### Extrait méthanolique

Concentr.

Extr. Méthan.	N	Médiane	Rang de moyenne	Valeur de Z
1500 ppm	3	74	15,0	1,95
187,5 ppm	3	70	7,7	-0,65
3000 ppm	3	73	12,8	1,18
375 ppm	3	69	5,3	-1,48
750 ppm	3	74	14,2	1,66
Contrôle	3	64	2,0	-2,67
Global	18		9,5	

Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	14,75	0,011
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	15,12	0,010

## Extrait hexanique

### Analyse de la variance

Source		DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Concentr.	Extr.	5	331,61	66,322	44,21	0,000
Hexan.						
Erreur		12	18,00	1,500		
Total		17	349,61			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Concentr.				
Extr. Hexan.	N	Moyenne	Groupement	
750 ppm	3	70,00	A	
1500 ppm	3	64,000	B	
3000 ppm	3	60,667	B	C
375 ppm	3	60,333	C	D
187,5 ppm	3	58,333	C	D
Contrôle	3	57,00	D	

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

## Extrait chloroformique

### Analyse de la variance

Source		DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Conc.	Extr.	5	513,33	102,667	46,20	0,000
Chlorof.						
Erreur		12	26,67	2,222		
Total		17	540,00			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Conc. Extr.				
Chlorof.	N	Moyenne	Groupement	
3000 ppm	3	70,667	A	
1500 ppm	3	68,333	A	
750 ppm	3	62,33	B	
Contrôle	3	60,000	B	
375 ppm	3	59,667	B	
187,5 ppm	3	55,000	C	

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

## *Verticillium dahliae*

### Extrait méthanolique

Analyse de la variance

Source		DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Conc.	Extrait	5	86,944	17,3889	26,08	0,000
Méthan.						
Erreur		12	8,000	0,6667		
Total		17	94,944			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Conc.	Extrait		
Méthan.	N	Moyenne	Groupement
1500 ppm	3	79,000	A
187,5 ppm	3	76,000	B
750 ppm	3	75,000	B
Contrôle	3	74,333	B
3000 ppm	3	74,333	B
375 ppm	3	71,667	C

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*

### Extrait hexanique

Analyse de la variance

Source		DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Conc.	Extr.	5	139,833	27,9667	38,72	0,000
Hexane						
Erreur		12	8,667	0,7222		
Total		17	148,500			

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Conc.	Extr.		
Hexane	N	Moyenne	Groupement
Contrôle	3	79,667	A
187,5 ppm	3	76,333	B
375 ppm	3	74,333	B C
750 ppm	3	73,00	C D
3000 ppm	3	72,000	D
1500 ppm	3	71,667	D

*Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.*



## Extrait chloroformique

Conc. Extr.

Chlorof.	N	Médiane	Rang de moyenne	Valeur de Z
1500 ppm	3	68	3,3	-2,19
187,5 ppm	3	78	15,5	2,13
3000 ppm	3	68	3,7	-2,07
375 ppm	3	77	10,0	0,18
750 ppm	3	73	9,0	-0,18
Contrôle	3	78	15,5	2,13
Global	18		9,5	

Méthode	DL	Valeur de H	Valeur de P
Non ajusté pour les nombres de même grandeur	5	15,22	0,009
Ajusté pour les nombres de même grandeur	5	15,59	0,008