

ARTICLE

Utilisation d'extraits méthanoliques de plantes pour la protection des cultures de tomates-cerises (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) contre l'infection fongique par *Alternaria alternata*

Souâd Akroum^{1,*} et Moad Rouibah²

¹ Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed Seddik Ben Yahia, BP 98 Ouled Aissa, Jijel 18000, Algérie

² Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed Seddik Ben Yahia, BP 98 Ouled Aissa, Jijel 18000, Algérie

Reçu le 28 janvier 2020

Résumé – La tomate-cerise est un fruit très sujet aux infections fongiques qui peuvent causer des dégâts considérables dans les cultures et lors de la conservation. Les alternarioses comptent parmi les altérations les plus répandues et dangereuses pour ce fruit. Elles sont causées par *Alternaria alternata* ou d'autres espèces appartenant au même genre. Dans ce travail, nous avons testé l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de cinq plantes récoltées dans la région de Jijel (Algérie) sur *A. alternata*. L'activité a d'abord été testée *in vitro*, puis sur des plants de tomates-cerises cultivés sous serre : les extraits ont été appliqués sur des plants sains, avant l'infection, afin de tester leur action préventive, et après l'infection pour déterminer s'ils sont capables de traiter l'alternariose. Les résultats ont montré que les extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula angustifolia* étaient les plus actifs *in vitro* sur *A. alternata*. L'observation microscopique de la moisissure a indiqué que ces extraits agissaient en inhibant sa production de dictyospores. L'activité antifongique testée sur les plants cultivés sous serre a révélé que l'extrait de *R. officinalis* était toujours le plus actif. Venaient ensuite les extraits de *L. angustifolia* et *Punica granatum* qui n'ont pas permis la protection des plants contre l'alternariose, mais qui ont néanmoins donné une guérison totale à la fin du traitement. Les extraits de *Quercus suber* et *Eucalyptus globulus* étaient les moins actifs. Ils n'ont permis ni la prévention, ni la guérison complète des plants. Le comptage des dictyospores réalisé sur les fruits à la fin du traitement a confirmé les résultats obtenus pour les cultures sous serre.

Mots clés : tomates-cerises, *Alternaria alternata*, alternariose, extraits méthanoliques, activité antifongique

Abstract – Protection by some plant methanol extracts of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* var. *Cerasiforme*) from fungic infection by *Alternaria alternata*. Cherry tomato is very susceptible to fungal infections that can cause considerable damage in crops and during storage. *Alternaria* infection is one of the most common and dangerous alterations for this fruit. They are caused by *Alternaria alternata* or some other species belonging to the same genus. In this work, we tested the antifungal activity of methanol extracts from five plants harvested in the region of Jijel (Algeria) on *A. alternata*. The activity was first tested *in vitro* and then on greenhouse cherry tomato plants: extracts were applied to healthy plants before infection in order to test their preventive action, and after infection to determine whether they are able to knock out *Alternaria*. Results showed that *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* extracts were the most active *in vitro* on *A. alternata*. Microscopic observations of the mold indicated that these extracts inhibited the dictyospores production. The antifungal activity tested on the plants grown in greenhouse revealed that *R. officinalis* extract still was the most active. Extracts of *L. angustifolia* and *Punica granatum* did not protect the plants from *Alternaria* infection, but provided a total cure at the end of the treatment. Extracts from *Quercus suber* and *Eucalyptus globulus* were the least active. They did not bestow any protection nor complete healing of the plants. Dictyospores counting on fruits at the end of the treatment confirmed the results obtained for the greenhouse crops.

Keywords: cherry tomatoes, *Alternaria alternata*, *Alternaria* infection, methanol extracts, antifungal activity

* Auteur correspondant : muorka00@yahoo.com

1 Introduction

La tomate est un fruit très consommé par l'espèce humaine. Sa culture recouvre des milliers d'hectares de sols dans les pays producteurs (Adhikari *et al.*, 2017). Il existe nombre de variétés de ce fruit, qui diffèrent par le goût et l'aspect. La tomate-cerise (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) est l'une d'elles ; elle se caractérise par de petits fruits de forme arrondie et disposés en grappes plus ou moins longues (Blanca *et al.*, 2012). Néanmoins, la culture des tomates-cerises, comme celle des autres variétés de tomates, est sujette à plusieurs infections fongiques qui causent de grandes pertes économiques (Adhikari *et al.*, 2017). Les solutions habituelles se basent sur l'utilisation des pesticides. Mais ceux-ci sont à l'origine de plusieurs toxicités chez l'homme et l'animal. De plus, leur utilisation abusive a engendré une forte résistance des pathogènes (Lozowicka *et al.*, 2015 ; Adhikari *et al.*, 2017).

L'alternariose est l'une des pathologies les plus répandues chez les tomates. Elle peut être redoutable à cause de sa transmission rapide et sa persistance dans les sols infectés. Les moisissures qui la causent appartiennent au genre *Alternaria*. Parmi elles, *Alternaria alternata* est l'une des espèces les plus dangereuses. Elle se caractérise par des taches foncées qui peuvent altérer toutes les parties de la plante (Meena *et al.*, 2017).

Les extraits végétaux représentent une nouvelle alternative pour lutter contre les germes pathogènes : ils permettent d'inhiber ceux qui ont développé des résistances et agissent en causant moins de nuisance au consommateur humain ou animal (Chen *et al.*, 2014 ; Xu *et al.*, 2014 ; Lozowicka *et al.*, 2015 ; Hashem *et al.*, 2018).

Dans cette étude, nous avons testé la capacité d'extraits méthanoliques de cinq plantes à inhiber la croissance d'*A. alternata*. Les plantes sélectionnées sont toutes répandues en Algérie et donc faciles à trouver : *Eucalyptus globulus*, *Quercus suber*, *Punica granatum*, *Lavandula angustifolia* et *Rosmarinus officinalis*. L'activité antifongique a été testée tout d'abord *in vitro*, puis sur des plants de tomates-cerises cultivés sous serre. Afin d'évaluer au mieux l'activité des extraits sur l'alternariose causée chez les tomates-cerises, un comptage des dictyosporos a été réalisé sur des échantillons prélevés à partir des fruits obtenus sur les plants traités.

2 Matériel et méthodes

2.1 Origine des plantes

Les graines de tomates-cerises ont été achetées sur le marché. Une première culture a été réalisée avant cette étude afin de confirmer l'identité de la plante, confirmation effectuée au département de botanique de l'Université Constantine 1 (Algérie) et au département des Sciences de l'environnement et Sciences agronomiques de l'Université de Jijel (Algérie).

Eucalyptus globulus, *Quercus suber* et *Punica granatum* provenaient de la région d'El Aouana (Jijel, Algérie). *L. angustifolia* et *R. officinalis* ont été cueillies dans la commune de Jijel (Algérie) durant la période de floraison. La confirmation de l'identité de ces plantes a été faite au département des Sciences de l'environnement et Sciences agronomiques de l'Université de Jijel (Algérie).

2.2 Isolement et identification de la moisissure pathogène

La moisissure a été isolée à partir de tomates infectées, puis ensemencée dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose extraite de malt. L'incubation durait 72 heures à 28 °C. L'identification de l'espèce était faite par observation macroscopique du mycélium et caractérisation microscopique du thalle et des dictyosporos (Bessadat *et al.*, 2014).

Tableau 1. Les plantes et les parties végétales utilisées.

Plante	Nom scientifique	Parties utilisées
Eucalyptus	<i>Eucalyptus globulus</i>	Tiges et feuilles à proximité des fruits
Chêne liège	<i>Quercus suber</i>	Écorce de l'arbre
Grenadier	<i>Punica granatum</i>	Écorce du fruit
Lavande	<i>Lavandula angustifolia</i>	Tiges et feuilles des extrémités florales
Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Tiges et feuilles des extrémités florales

2.3 Préparation des extraits

Cinq plantes ont été utilisées dans cette étude (Tableau 1). Pour chacune, l'extrait méthanolique était préparé par macération de 10 g de matière végétale sèche dans 100 ml d'un solvant composé de méthanol/eau (50/50 : v/v). La macération durait 20 minutes et était répétée trois fois. Par la suite, le solvant était récupéré par filtration et évaporé à sec à l'aide d'un rotavapor. L'extrait obtenu était repris avec de l'eau distillée pour obtenir une concentration de 1 mg/ml (Laczkó-Zöld *et al.*, 2018).

2.4 Activité antifongique testée *in vitro*

L'espèce *A. alternata* était cultivée dans des boîtes de Pétri contenant la gélose et 1 ml de l'extrait testé. Pour chaque extrait, des dilutions allant de 0,010 à 0,150 mg/ml étaient préparées. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) étaient déterminées après incubation des boîtes à 28 °C pendant 72 heures (Cheruiyot *et al.*, 2015).

2.5 Incidence des extraits sur le développement de la moisissure

L'incidence sur le développement de la moisissure a été étudiée pour les extraits qui avaient la plus grande activité antifongique *in vitro*. Des échantillons de mycélium ont été prélevés à partir des boîtes de Pétri contenant les

différentes concentrations d'extraits. Ces échantillons ont été déposés entre lame et lamelle avec une goutte d'eau distillée stérile pour leur observation microscopique minutieuse au grossissement $\times 40$ (Bessadat *et al.*, 2014). Cette observation permettait de caractériser le développement de la moisissure en présence des extraits.

2.6 Activité antifongique des extraits sur les plants de tomates-cerises cultivés sous serre

Cette activité a été testée selon la méthode décrite par Nashwa et Abo-Elyousr (2012). Des plants de tomates-cerises âgés de sept semaines ont été pulvérisés avec 30 ml d'extraits contenant chacun une dose de 20 mg. Cette application s'est faite à l'aide d'un pulvérisateur à main, quatre fois, tous les 15 jours. Deux jours après la deuxième application foliaire, soit après l'utilisation de 40 mg d'extraits, les plants de tomates-cerises ont été traités, toujours par pulvérisation, avec 20 ml de la suspension d'*A. alternata* à une concentration de 5×10^7 UFC/ml. Les plants ont ensuite été placés dans des serres où la température était réglée à 28 °C le jour et 18 °C la nuit, et l'humidité relative fixée à 85 %. L'exposition au soleil durait 12 heures.

Pour chaque extrait, nous avons utilisé des groupes de cinq plants. Les symptômes de l'infection étaient observés lors de la maturation des fruits, soit 30 jours après la dernière application des extraits. Les résultats ont été mesurés en calculant le nombre des tomates-cerises et des feuilles infectées par rapport au nombre total des fruits et des feuilles produits par les plants. Les résultats obtenus étaient classés selon les valeurs de Nashwa et Abo-Elyousr (2012) modifiées : ils étaient exprimés en pourcentages et classés de 0 à 9 (0 = plants sains et tomates saines ; 1 = 1 à 5 % ; 2 = 6 à 10 % ; 3 = 11 à 25 % ; 4 = 26 à 35 % ; 5 = 36 à 45 % ; 6 = 46 à 55 % ; 7 = 56 à 70 % ; 8 = 71 à 80 % et 9 > 80 % de la surface foliaire et des tomates infectées).

Pourcentage de l'infection =

$$\frac{\text{nombre de fruits et de feuilles infectés}}{\text{nombre total de fruits et de feuilles}} \times 100$$

Un groupe de cinq plants a été infecté et non traité ; il a été utilisé comme témoin négatif. Un autre groupe de cinq plants a été infecté et traité avec du mancozèbe à 0,2 % au lieu des extraits. Ce dernier a servi de témoin positif. La concentration de la suspension fongique utilisée pour provoquer l'alternariose sur les plants a été testée lors des essais préliminaires. Elle permettait d'induire des infections allant du stade 7 au stade 9.

2.7 Comptage des dictyosporés après le traitement

À l'aide d'un bistouri stérile, nous avons effectué des prélèvements de 1 cm² sur les parties altérées des fruits, 7 jours après le dernier traitement, soit après l'application de 80 mg de l'extrait considéré. Les échantillons ont été mis dans des tubes à essai contenant 10 ml d'hydroxyde de potassium aqueux à 20 %. Les tubes ont ensuite été placés

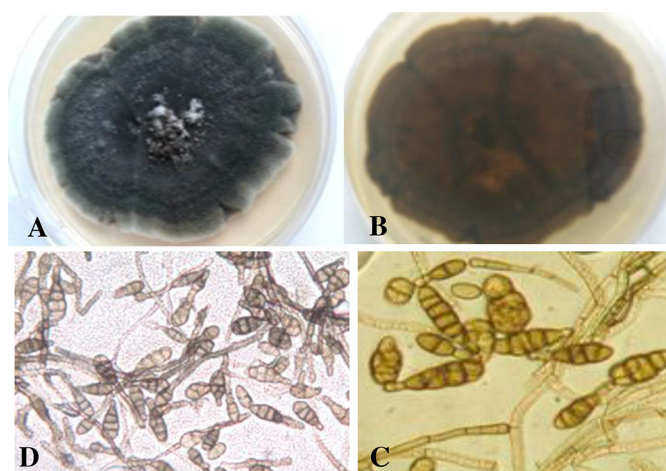


Figure 1. Caractérisation macroscopique et microscopique de la moisissure isolée. (A) Aspect du mycélium dans la boîte de Pétri. (B) Aspect du mycélium au revers de la boîte de Pétri. (C) Observation microscopique au grossissement $\times 10$. (D) Observation microscopique au grossissement $\times 40$.

dans un bain-marie réglé à 100 °C pendant 10 minutes afin de dégrader les tissus végétaux. Après refroidissement, la suspension obtenue était déposée à l'aide d'une micropipette sur une cellule de Malassez afin de procéder au comptage des dictyosporés (Bogden *et al.*, 1981).

Pour les fruits qui n'ont montré aucun signe d'infection, le prélèvement s'est fait au hasard sur la surface. Et pour les tomates-cerises qui avaient été infectées puis étaient redevenues saines après le traitement, nous avons effectué les prélèvements sur les parties qui avaient cicatrisé.

2.8 Étude statistique

L'évaluation de l'activité antifongique testée *in vitro* a été répétée trois fois. Les résultats étaient reportés en calculant les moyennes et les écarts types avec Microsoft Office Excel 2007. Pour l'activité testée sous serre, nous avons utilisé des groupes composés de cinq plants, ce qui nous a permis d'avoir une moyenne pour chaque groupe. Trois expériences successives ont aussi été réalisées et ont donné des résultats exprimés en moyennes et en écarts types des pourcentages, ce qui nous a permis de déterminer le stade de l'infection.

3 Résultats

3.1 Identification de la moisissure

Sur la gélose extraite de malt, la moisissure a donné un mycélium gris-verdâtre, tacheté de blanc au centre. Celui-ci était duveteux et fasciculé. Au revers de la boîte, il apparaissait brun foncé et toujours fasciculé. Sous microscope, le thalle était brun, cloisonné et ramifié. Les dictyosporés étaient brunes, disposées en chaînettes ou isolées. Elles étaient piriformes, de taille moyenne et avaient des cloisons transversales et longitudinales. Elles se terminaient par un rostre court (Figure 1). Les caractéristiques de cette moisissure indiquaient qu'il s'agissait de l'espèce *A. alternata*.

Tableau 2. Résultats de l'activité antifongique *in vitro* contre *A. alternata*.

Extraits méthanoliques	CMI (mg/ml)
<i>E. globulus</i>	0,100 ± 0,005
<i>Q. suber</i>	0,110 ± 0,010
<i>P. granatum</i>	0,060 ± 0,000
<i>L. angustifolia</i>	0,030 ± 0,005
<i>R. officinalis</i>	0,020 ± 0,005
Antifongique commercial (mancozèbe)	0,020 ± 0,010

3.2 Activité antifongique testée *in vitro*

Tous les extraits avaient une activité antifongique contre la moisissure mais à des concentrations différentes. Les extraits de *R. officinalis* et *L. angustifolia* étaient les plus actifs avec des CMI de 0,020 et 0,030 mg/ml respectivement. L'extrait de *P. granatum* avait une activité un peu plus faible, mais néanmoins intéressante. Par contre, les extraits de *Q. suber* et *E. globulus* avaient des CMI beaucoup plus élevées, témoignant qu'ils étaient les moins actifs sur *A. alternata* (Tableau 2).

3.3 Incidence des extraits sur le développement de la moisissure

L'extrait le plus actif était celui du *R. officinalis*. L'observation microscopique du mycélium prélevé dans la boîte contenant une concentration de 0,010 mg/ml de cet extrait a montré que la moisissure ne produisait pas de dictyospores, elle était formée seulement par un mycélium cloisonné (Figure 2A). Cette même observation a été faite sur le mycélium cultivé dans la boîte contenant 0,020 mg/ml de l'extrait de *L. angustifolia*. Ces observations microscopiques indiquaient que les deux extraits bloquaient la reproduction de l'espèce aux concentrations considérées.

Sur le milieu contenant une concentration de 0,010 mg/ml de l'extrait de *L. angustifolia*, la moisissure était capable de produire des dictyospores, mais ces dernières étaient malformées et plus petites que celles obtenues sur le milieu sans extrait, utilisé comme témoin (Figures 2B et 2C). En effet, les dictyospores étaient pour la majorité cloisonnées transversalement seulement et formées par un nombre réduit d'éléments. Ceci indiquait que l'extrait de *L. angustifolia* à une concentration de 0,010 mg/ml était incapable de bloquer la reproduction de la moisissure, mais la rendait difficile.

3.4 Activité antifongique des extraits sur les plants de tomates-cerises cultivés sous serre

L'alternariose causée sur les plants de tomates-cerises se traduisait par des taches noires qui pouvaient être localisées ou étendues. L'infection touchait toutes les parties aériennes de la plante (les feuilles, les tiges et les fruits), sans jaunissement autour des taches.

L'extrait de *R. officinalis* a donné les meilleurs résultats (Tableau 3). Les plants traités avec cet extrait n'ont montré aucun signe d'infection tout au long de l'expérience. De même, les fruits obtenus après maturation étaient tous non infectés (Figure 3A). Les extraits de *P. granatum* et *L. angustifolia* ont permis de réduire l'infection jusqu'au stade 1 après la troisième application et les plants étaient entièrement guéris après la quatrième. Les extraits de *Q. suber* et *E. globulus*, quant à eux, n'ont pas permis de protéger complètement les plants et d'avoir des tomates-cerises saines après maturation : l'extrait de *Q. suber* a donné le stade 1 et celui d'*E. globulus* le stade 3 (Figure 3B).

Les plants témoins, qui étaient infectés et non traités, ont montré une altération assez importante. Les fruits et les feuilles étaient infectés à plus de 60 %. Ces plants ont donc été classés au stade 7 (Figure 3C).

3.5 Comptage des dictyospores après le traitement

Les dictyospores étaient complètement absentes dans les échantillons des fruits traités avec les extraits de *R. officinalis*, *L. angustifolia* et *P. granatum*. Ceci confirmait la guérison totale des plants traités avec ces extraits. L'extrait de *Q. suber* a diminué massivement le nombre de dictyospores sur les fruits, mais n'a pas permis de les supprimer complètement. Quant à l'extrait d'*E. globulus*, il a également entraîné une diminution du nombre de ces spores, mais son activité était très faible par rapport à celle des autres extraits (Tableau 4).

4 Discussion

L'activité antifongique testée *in vitro* a montré que tous les extraits étaient capables d'inhiber la croissance d'*A. Alternata*. Les meilleures valeurs de CMI ont été apportées par l'extrait méthanolique de *R. officinalis* qui avait la même activité que le mancozèbe, antifongique commercial testé comme référence. Les extraits de *L. angustifolia* et de *P. granatum* avaient des CMI plus élevées, mais qui demeuraient assez intéressantes. Par contre, les extraits de *Q. suber* et *E. globulus* ont donné les plus hautes valeurs de CMI, témoignant ainsi de leur plus faible activité antifongique.

Ces résultats étaient confirmés par ceux rapportés pour l'activité antifongique testée sur les plants cultivés sous serre. En effet, *R. officinalis* a donné la meilleure inhibition du pathogène en permettant une protection complète des plants vis-à-vis de l'infection. L'activité de cet extrait était confirmée par l'absence totale des dictyospores dans les échantillons prélevés sur les tomates-cerises. Des études antérieures ont démontré que l'extrait méthanolique du romarin est riche en polyphénols, notamment en acide carnosique, carnosol et acide rosmarinique, qui ont une forte activité antimicrobienne (Moreno *et al.*, 2006 ; Ozcan et Chalchat, 2008). De plus, les huiles essentielles présentes dans les différents extraits du romarin ont aussi une activité antifongique puissante ; parmi elles, le p-cymène, le



Figure 2. Observation microscopique d'*A. alternata* cultivée sur des milieux contenant les extraits de *R. officinalis* et *L. angustifolia*. (A) Milieu avec 0,010 mg/ml de l'extrait de *R. officinalis*. (B) Milieu avec 0,010 mg/ml de l'extrait de *L. angustifolia*. (C) Milieu témoin sans extraits.

Tableau 3. Résultats de l'activité antifongique testée sous serre (exprimés en stades).

Extraits méthanoliques	Doses				
	Jour : 1 20 mg	Jour : 15 40 mg	Jour : 17 Infection	Jour : 30 60 mg	Jour : 45 80 mg
<i>E. globulus</i>	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)		Stade 3 (20 ± 0,010 %)	Stade 3 (15 ± 0,005 %)
<i>Q. suber</i>	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)		Stade 2 (10 ± 0,000 %)	Stade 1 (2 ± 0,010 %)
<i>P. granatum</i>	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)		Stade 1 (4 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)
<i>L. angustifolia</i>	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Pulvérisation de 20 ml d'une suspension d' <i>A. alternata</i> à la concentration 5×10^7 UFC/ml	Stade 1 (3 ± 0,005 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)
<i>R. officinalis</i>	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)		Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)
Plants non traités	Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)		Stade 7 (60 ± 0,010 %)	Stade 7 (70 ± 0,005 %)
Plants traités avec du mancozèbe à 0,2 %	Stade 0 (0 ± 0,00 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)		Stade 0 (0 ± 0,000 %)	Stade 0 (0 ± 0,000 %)

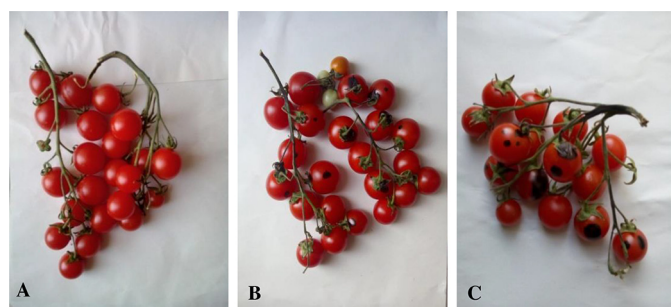


Figure 3. Fruits de tomates-cerises provenant de plants cultivés sous serre. (A) Traitement avec l'extrait de *R. officinalis* (stade 0). (B) Traitement avec l'extrait d'*E. globulus* (stade 3). (C) Fruits prélevés des plants infectés et non traités (stade 7).

linalool, le γ -terpinène, le thymol, le β -pinène, l' α -pinène et l'eucalyptol qui sont très actifs contre *A. alternata* (Ozcan et Chalchat, 2008).

Les extraits de *P. granatum* et *L. angustifolia* n'ont pas été suffisamment efficaces pour protéger les plants de l'infection, mais ils ont permis une guérison totale à la fin du traitement. Le comptage des dictyosporos dans les échantillons prélevés sur les fruits a confirmé cette guérison.

Myresiotis *et al.* (2015) ont rapporté que *P. granatum* était une espèce couramment infectée par *A. alternata*, mais qu'elle produisait plusieurs mycotoxines limitant les effets de l'infection. De plus, Glazer *et al.* (2012) ont aussi démontré que les téguments des fruits de cette plante contenaient des composés fongicides, dont les ellagitannines, et plus précisément les punicalagines, qui étaient particulièrement actifs sur *A. alternata* et d'autres microorganismes phyto-pathogènes. Ces travaux expliquaient les résultats obtenus avec l'extrait de *P. granatum* dans notre étude.

L. angustifolia est une plante connue pour sa richesse en huiles essentielles qui peuvent être extraites par distillation dans le méthanol ou par macération dans l'eau distillée ou le méthanol aqueux (Cardia *et al.*, 2018). Ces composés étaient probablement responsables de l'activité antifongique observée dans notre étude. Il convient de souligner cependant que Zaker et Mosallanejad (2010) ont précisé dans leurs investigations que l'extrait méthanolique obtenu par distillation était beaucoup plus actif contre *A. alternata* que celui préparé par macération.

L'extrait méthanolique de *Q. suber* n'a pas donné une protection totale des plants et des fruits, mais il a montré une réduction importante de l'infection. Cet extrait avait

Tableau 4. Nombres de dictyosporos dans les échantillons prélevés à partir des fruits.

Extraits	<i>E. globulus</i>	<i>Q. suber</i>	<i>P. granatum</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>R. officinalis</i>	Plants non traités
Nombre de dictyosporos	$3 \times 10^2 \pm 1,00$	$20 \pm 1,60$	$0 \pm 0,00$	$0 \pm 0,00$	$0 \pm 0,00$	$3 \times 10^4 \pm 1,20$

donc une activité antifongique bien présente, mais insuffisante pour prévenir et guérir l'alternariose des tomates-cerises. Des études antérieures ont montré que *Q. suber* se caractérise par une forte teneur en polyphénols, dont principalement l'acide ellagique, l'acide gallique et l'acide protocatéchique (Santos *et al.*, 2010). L'extrait méthanolique de cette plante peut renfermer jusqu'à 15 composés phénoliques (Santos *et al.*, 2010). Mais bien que ces derniers aient une bonne activité antibactérienne, en accord avec nos résultats, leur activité antifongique est relativement faible, y compris contre *A. alternata* (Santos *et al.*, 2010 ; Abdul Qadir *et al.*, 2017).

L'extrait méthanolique d'*E. globulus* a permis de réduire l'infection sur les plants de tomates-cerises ainsi que sur les fruits, mais son activité demeurerait très limitée par rapport à celle des autres extraits. Des études précédentes ont démontré que cet extrait contient des alcaloïdes, des composés phénoliques, des stéroïdes et des terpènes (Ishnava *et al.*, 2013). Mais aucun travail n'a été rapporté concernant son activité sur *A. alternata*. Jusqu'à présent, seules les huiles essentielles extraites par distillation de l'eucalyptus étaient connues pour avoir une activité inhibitrice sur cette moisissure (Martins *et al.*, 2013).

Cette étude a donc permis de démontrer que les tomates-cerises pouvaient être protégées contre les infections fongiques en utilisant des extraits végétaux. Cette information est très importante car certaines investigations ont affirmé que la tomate présentait une forte teneur en pesticides. En effet, les cultures de tomates sont très souvent traitées avec des pesticides qui s'accumulent et constituent un apport toxique non négligeable pour l'être humain (Son *et al.*, 2018). De même, des travaux précédents ont démontré que l'utilisation des pesticides traditionnels était à l'origine d'une forte oxydation des plants de tomates ce qui provoquait leur altération (Shakir *et al.*, 2018). Notre étude représente de ce fait une nouvelle alternative pour protéger les plantes tout en évitant les désagréments apportés par les traitements antifongiques actuels.

Les extraits méthanoliques de *R. officinalis*, *L. angustifolia* et *P. granatum* agissent en inhibant la production des dictyosporos d'*A. alternata*, ce qui jure sa prolifération et sa propagation. Ces extraits seraient donc d'une mise en œuvre simple pour les agriculteurs qui pourraient les utiliser pour prévenir ou traiter un grand nombre de plantes susceptibles d'être altérées par cette espèce et ils pourraient également s'en servir pour assainir les sols porteurs d'*A. alternata*.

Bien que les travaux de Zaker et Mosallanejad (2010) aient déjà démontré une activité antifongique efficace d'extraits végétaux sur des microorganismes phytopathogènes *in vitro*, aucun autre travail n'avait porté sur leur activité sur des plantes en culture.

5 Conclusion

L'extrait méthanolique de *R. officinalis* a montré la plus grande activité antifongique *in vitro* et sur les plants cultivés sous serre. Sur gélose, cet extrait a démontré qu'il agissait sur *A. alternata* en inhibant complètement la formation des dictyosporos. Ceci était confirmé par l'absence de ces spores dans les échantillons prélevés sur les fruits traités avec cet extrait. *P. granatum* et *L. angustifolia* avaient aussi une bonne activité sur *A. alternata*, mais elle était inférieure à celle de *R. officinalis*. Les extraits de ces plantes n'ont pas permis de prévenir l'infection sur les plants cultivés sous serre ; néanmoins ils ont apporté une guérison totale de l'alternariose après le traitement. Ceci était confirmé par l'absence des dictyosporos dans les échantillons prélevés sur les tomates-cerises. Les extraits de *Q. suber* et *E. globulus* avaient la plus faible activité antifongique sur la moisissure : ils ont donné les valeurs de CMI les moins élevées *in vitro* et ils étaient incapables de prévenir ou de guérir complètement les plants infectés.

Les extraits de *R. officinalis*, *L. angustifolia* et *P. granatum* pourraient donc être utilisés afin de protéger les cultures de tomates-cerises contre les infections causées par *A. alternata*. En raison de leur action inhibitrice sur la formation des dictyosporos, la principale forme de reproduction de la moisissure, ces extraits pourraient être envisagés pour le traitement d'un plus grand nombre de plantations et peut-être même pour assainir des sols infectés par *A. alternata*.

Références

- Abdul Qadir, M., Shahzadi, S.K., Bashir, A., Munir, A., Shahzad, S. (2017). Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. *Int J Anal Chem*, 3475738.
- Adhikari, P., Oh, Y., Panthee, D.R. (2017). Current status of early blight resistance in tomato: An update. *Int J Mol Sci*, 18, e2019.
- Bessadat, N., Simoneau, P., Benichou, S., Setti, B., Kihal, M., Henni, D.E. (2014). Morphological, physiological and pathogenic variability of small-spore *Alternaria* sp. causing leaf blight of *Solanaceous* plants in Algeria. *Afr J Microbiol Res*, 8, 3422-3434.
- Blanca, J., Cañizares, J., Cordero, L., Pascual, L., Diez, M.J., Nuez, F. (2012). Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. *PLoS One*, 7, e48198.
- Bogden, J.D., Kemp, F.W., Buse, M., Thind, I.S., Louria, D.B., Forgacs, J., Guillermo, Llanos M.D., Ignacio Moncoya Terrones, M.D. (1981). Composition of tobaccos from countries with high and low incidences of lung cancer. I. Selenium, polonium-210, *Alternaria*, tar, and nicotine. *J Natl Cancer Inst*, 66, 27-31.

- Cardia, G.F.E., Silva-Filho, S.E., Silva, E.L., Cavalcante, H.A. O., Cassarotti, L.L., Salvadego, V.E.C. (2018). Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on acute inflammatory response. *Evid Based Complement Alternat Med*, 1413940.
- Chen, Q., Xu, S., Wu, T., Guo, J., Sha, S., Zheng, X., Yu, T. (2014). Effect of citronella essential oil on the inhibition of postharvest *Alternaria alternata* in cherry tomato. *J Sci Food Agric*, 94, 2441-2447.
- Cheruiyot, S.E., Muturi, M., Bii, C. (2015). Antifungal activities of *Camellia sinensis* crude extract on selected pathogenic and mycotoxic fungi. *J Bacteriol Mycol*, 2, 1070-1080.
- Glazer, I., Masaphy, S., Marciano, P., Bar-Ilan, I., Holland, D., Kerem, Z. (2012). Partial identification of antifungal compounds from *Punica granatum* peel extracts. *J Agric Food Chem*, 60, 4841-4848.
- Hashem, A.S., Awadalla, S.S., Zayed, G.M., Maggi, F., Benelli, G. (2018). *Pimpinella anisum* essential oil nano-emulsions against *Tribolium castaneum*-insecticidal activity and mode of action. *Environ Sci Pollut Res Int*, 25, 18802-18812.
- Ishnava, K.B., Chauhan, J.B., Barad, M.B. (2013). Anticariogenic and phytochemical evaluation of *Eucalyptus globules* Labill. *Saudi J Biol Sci*, 20, 69-74.
- Laczko-Zöld, E., Komlósi, A., Ülkei, T., Fogarasi, E., Croitoru, M., Fülöp, I., Domokos, E., Stefănescu, R., Varga, E. (2018). Extractability of polyphenols from black currant, red currant and gooseberry and their antioxidant activity. *Acta Biol Hung*, 69, 156-169.
- Lozowicka, B., Abzeitova, E., Sagitov, A., Kaczynski, P., Toleubayev, K., Li, A. (2015). Studies of pesticide residues in tomatoes and cucumbers from Kazakhstan and the associated health risks. *Environ Monit Assess*, 187, 609.
- Martins, C., Natal-da-Luz, T., Sousa, J.P., Gonçalves, M.J., Salgueiro, L., Canhoto, C. (2013). Effects of essential oils from *Eucalyptus globulus* leaves on soil organisms involved in leaf degradation. *PLoS One*, 8, e61233.
- Meena, M., Swapnil, P., Upadhyay, R.S. (2017). Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria-mycotoxins* (TeA, AOH and AME) in different *Alternaria* species from various regions of India. *Sci Rep*, 7, 8777.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res*, 40, 223-231.
- Myresiotis, C.K., Testempasis, S., Vryzas, Z., Karaoglanidis, G. S., Papadopoulou-Mourkidou, E. (2015). Determination of mycotoxins in pomegranate fruits and juices using a QuEChERS-based method. *Food Chem*, 182, 81-88.
- Nashwa, S.M.A., Abo-Elyousr, K.A.M. (2012). Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. *Plant Protect Sci*, 48, 74-79.
- Ozcan, M.M., Chalchat, J.C. (2008). Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *Int J Food Sci Nutr*, 59, 691-698.
- Shakir, S.K., Irfan, S., Akhtar, B., Rehman, S.U., Daud, M.K., Taimur, N., Azizullah, A. (2018). Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. *Ecotoxicology*, 27, 919-935.
- Santos, S.A.O., Pinto, P.C.R.O., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of phenolic extracts of cork from *Quercus suber* L. Ind. *Crops Prod*, 31, 521-526.
- Son, D., Zerbo, F.K.B., Bonzi, S., Legreve, A., Somda, I., Schiffrs, B. (2018). Assessment of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) producers' exposure level to pesticides, in Kouka and Toussiana (Burkina Faso). *Int J Environ Res Public Health*, 15, 204.
- Xu, S., Yan, F., Ni, Z., Chen, Q., Zhang, H., Zheng, X. (2014). *In vitro* and *in vivo* control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of Chinese origin. *J Sci Food Agric*, 94, 1403-1408.
- Zaker, M., Mosallanejad, H. (2010). Antifungal activity of some plant extracts on *Alternaria alternata*, the causal agent of alternaria leaf spot of potato. *Pak J Biol Sci*, 13, 1023-1029.

Citation de l'article : Akroum, S. et Rouibah, M. (2020). Utilisation d'extraits méthanoliques de plantes pour la protection des cultures de tomates-cerises (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) contre l'infection fongique par *Alternaria alternata*. *Biologie Aujourd'hui*, **214**, 55-61