

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieure et de la recherche scientifique
Université Saad Dahleb Blida -1-
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biotechnologie et agroécologique



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de Master
En biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie microbienne
Thème

**Biocontrôle par les racines de *Genista tricuspidata* contre les
microorganismes phytopathogènes**

Présenté par :

KOLLA Radhia Manel

Membres de jury :

Présidente	Mme TOUA.D	MAA	USDB 1
Promotrice	Mme ZATOUT. R	MCB	USDB I
Examinatrice	Mme BENKORTEBY. H	MAA	USDB 1

Année universitaire

2022-2023

Remerciements

Louange à ALLAH qui nous a fait musulmans et qui nous a donné pour guide le Coran, afin qu'on se rappelle de la vérité et que la paix et les bénédictions de Dieu soient sur notre prophète Mohammed.

Je tiens à exprimer ma gratitude, mes sincères remerciements, ma reconnaissance et mes respects à ma promotrice DR madame **ZATOUT.R** de m'avoir dirigée, aidée et orientée,

Je tiens également à remercier les membres de jury, d'avoir accepté d'examiner ce travail, et tout particulièrement. Madame **TOUA**, qui m'a fait honneur d'accepter de présider mon jury de soutenance et à Madame **BENKORTEBY** qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être l'examinatrice de notre travail.

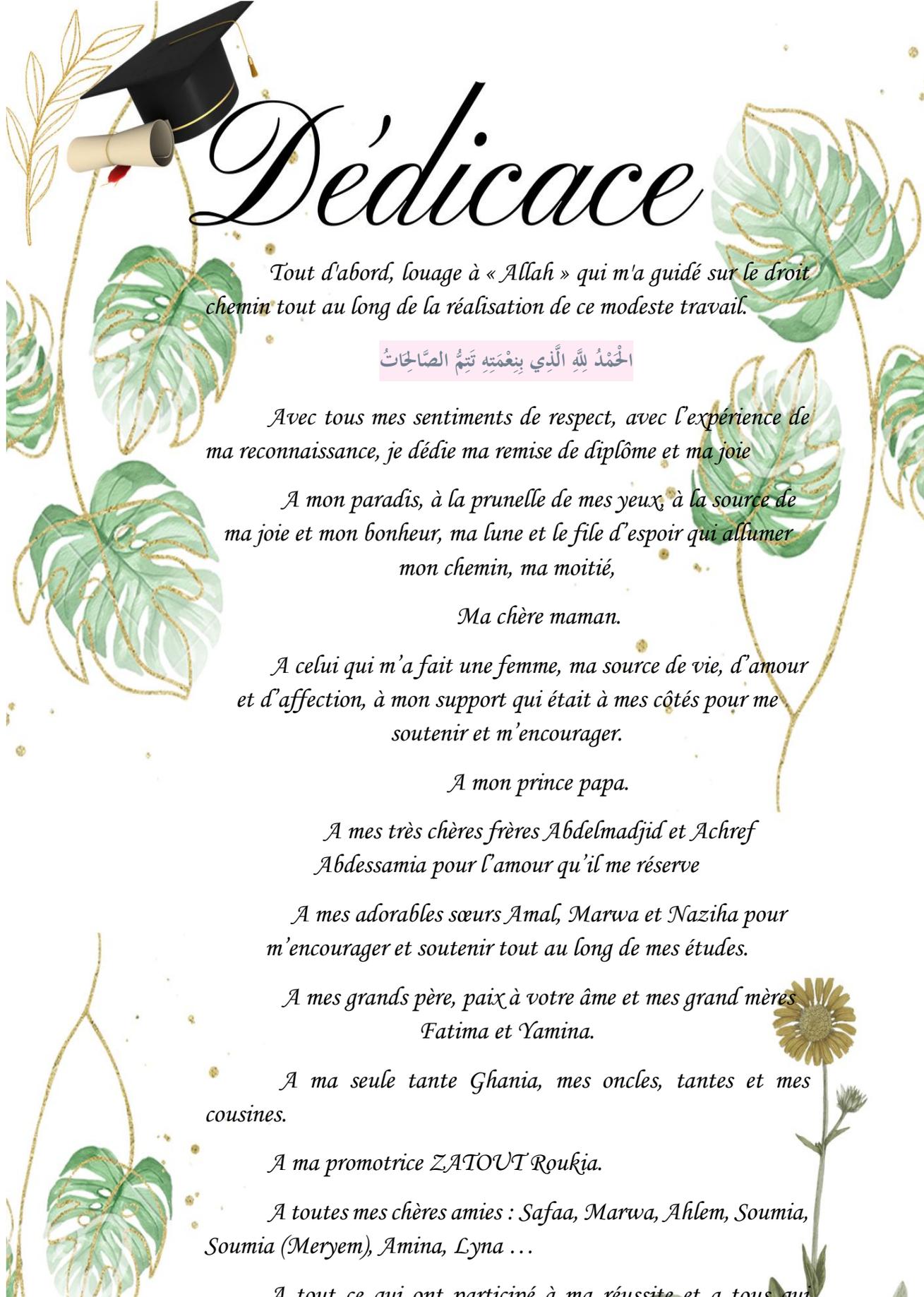
Mes remerciements Mme Chafika l'ingénieure du laboratoire de PFE et ami Youcef l'ingénieure de laboratoire de l'université de Saad Dahleb BLIDA 01 pour son aide et ses conseils,

Aussi je tiens à remercier tous les enseignants qui m'ont suivi durant tout mon cursus pour leur dévouement et précieux conseils.

Remercie enfin toutes les personnes qui m'ont soutenu, m'ont encouragé pour que ce travail aboutisse.

Et enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à ma famille, à tous mes proches et à tous ceux et celles qui ont contribué à leur manière en vue de rendre ce travail possible.

Merci à tous



Dédicace

Tout d'abord, louage à « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي بِنِعْمَتِهِ تَتِمُّ الصَّالِحَاتُ

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie

A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le file d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié,

Ma chère maman.

A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon support qui était à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

A mon prince papa.

A mes très chères frères Abdelmadjid et Achref Abdessamia pour l'amour qu'il me réserve

A mes adorables sœurs Amal, Marwa et Naziha pour m'encourager et soutenir tout au long de mes études.

A mes grands père, paix à votre âme et mes grand mères Fatima et Yamina.

A ma seule tante Ghania, mes oncles, tantes et mes cousines.

A ma promotrice ZATOUI Roukja.

A toutes mes chères amies : Safaa, Marwa, Ahlem, Soumia, Soumia (Meryem), Amina, Lyna ...

A tout ce qui ont participé à ma réussite et a tous qui m'aiment.

Radhia ManaL

Résumé

Biocontrôle par les racines de *Genista tricuspidata* contre les microorganismes phytopathogènes

Genista tricuspidata est une plante endémique appartenant à la famille des légumineuses, riche en métabolite secondaire. Dans notre étude nous avons collecté et extraire les racines de *Genista tricuspidata* par la méthode de macération éthanoïque et décantation par deux solvants éther de pétrole et dichlorométhane, ensuite nous avons étudié l'effet biologique des extraits des racines de *Genista tricuspidata* vis-à-vis l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur milieu solide qu'a été évalué par *Erwinia amylovora* et *Pseudomonas sp*, aussi par l'activité antifongique par la méthode d'étalement a été estimé par *Fusarium sp*, *Botrytis sp* et *Alternaria sp*. Les résultats obtenus dans l'extraction ont présenté un rendement de 0,22% dans l'extrait d'éther de pétrole et un rendement de 1,72% dans l'extrait de dichlorométhane des racines de *G. tricuspidata*. L'évaluation de l'activité antibactérienne montrée un effet résistance sur *Erwinia amylovora* et *Pseudomonas sp*. L'extrait d'éther de pétrole et l'extrait de dichlorométhane des racines de *G. tricuspidata* montrant un effet inhibiteur sur *Botrytis sp*.

D'après les résultats obtenus on peut utiliser les extraits des racines de *Genista tricuspidata* sur le biocontrôle contre les microorganismes phytopathogènes.

Mots clé : *Genista tricuspidata*, microorganismes phytopathogènes, macération, décantation, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

Biocontrol by *Genista tricuspidata* roots against phytopathogenic microorganisms

Genista tricuspidata is an endemic plant belonging to the legume family, rich in secondary metabolite. In our study we collected and extracted the roots of *Genista tricuspidata* by the method of ethanoic maceration and decantation with two solvents petroleum ether and dichloromethane, then we studied the biological effect of the extracts of the roots of *Genista tricuspidata* root extracts with regard to antibacterial activity using the solid-state diffusion method, which was assessed for *Erwinia amylovora* and *Pseudomonase sp*, and antifungal activity using the spreading method, which was assessed for *Fusarium sp*, *Botrytis sp* and *Alternaria sp*. Extraction results showed a yield of 0.22% in petroleum ether extract and 1.72% in dichloromethane extract of *G. tricuspidata* roots. Evaluation of antibacterial activity showed a resistance effect on *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas sp*. The petroleum ether extract and dichloromethane extract of *Genista tricuspidata* roots showed an inhibitory effect on *Botrytis sp*.

According to the results obtained, extracts from *Genista tricuspidata* roots can be used for biocontrol against phytopathogenic microorganisms.

Key words: *Genista tricuspidata*, phytopathogenic microorganisms, maceration, decantation, antibacterial activity, antifungal activity.

المخلص

المكافحة الحيوية بواسطة جذور نبات *Genista tricuspidata* ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض النباتية

Genista tricuspidata هو نبات مستوطن ينتمي إلى عائلة البقوليات، وهو غني بالمستقلب الثانوي. في دراستنا قمنا بجمع واستخلاص جذور نبات *Genista tricuspidata* بطريقة النقع الإيثاني والصيغ بمذيبين هما الإيثر البترولي وثنائي كلورو ميثان، ثم قمنا بدراسة التأثير البيولوجي للمستخلصات من جذور نبات *Genista tricuspidata* فيما يتعلق بالنشاط المضاد للجراثيم بواسطة تم تقييم طريقة الانتشار على وسط صلب بواسطة *Erwinia amylovora* و *Pseudomonas sp*، كما تم تقدير النشاط المضاد للفطريات بواسطة طريقة الانتشار بواسطة *Fusarium sp*، *Botrytis sp* و *Alternaria sp*. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في الاستخلاص عائدًا قدره 0.22% في مستخلص الأثير البترولي وعائدًا قدره 1.72% في مستخلص ثنائي كلورو ميثان من جذور *G. tricuspidata*. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا وجود تأثير مقاومة على بكتريا *Erwinia amylovora* و *Pseudomonas sp*. مستخلص الأثير البترولي ومستخلص ثنائي كلورو ميثان من جذور *G. tricuspidata* يظهران تأثيرًا مثبتًا على *Botrytis sp*.
وفقًا للنتائج التي تم الحصول عليها، يمكن استخدام مقتطفات من جذور *Genista tricuspidata* للمكافحة الحيوية ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض النباتية.

الكلمات المفتاحية: *Genista tricuspidata*، الكائنات الحية الدقيقة، النقع، التفكيك، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات

Liste des figures

Figure 1: <i>Genista tricuspidata</i> (Vella, 2007).....	4
Figure 2 : structure des isoflavonoïdes isolés par <i>Genista tricuspidata</i>	9
Figure 3 : Image satellitaire de région de collecte de <i>Genista tricuspidata</i> (google Earth, 2023).....	18
Figure 4 : Les étapes de broyage des racines de <i>Genista tricuspidata</i> (Original, 2023).....	19
Figure 5 : Filtration et évaporation (Original, 2023)	20
Figure 6 : Les étapes de décantation (Original, 2023).....	20
Figure 7 : Protocole d'extraction des racines de <i>Genista tricuspidata</i> (Original, 2023).....	21
Figure 8 : Repiquage des souches bactériennes (Original, 2023)	23
Figure 9: Les étapes de préparation de l'inoculum (Original, 2023).....	24
Figure 10: Repiquage des souches fongique (Original, 2023).	25
Figure 11: les résultats de Séparation de la phase aqueuse et la phase organique (Original, 2023).	28
Figure 12: Les résultats d'activité antibactériennes (Original, 2023).	30
Figure 13: Les résultats d'activité antifongique (Original, 2023).....	31

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification taxonomique de <i>Genista tricuspidata</i>.....	5
Tableau 2: Activité biologique de <i>Genista</i>.....	6
Tableau 3: Structure des isoflavonoïdes isoler par <i>Genista tricuspidata</i>.....	8
Tableau 4: Matériel non biologique.	16
Tableau 5: Matériel biologique.....	17
Tableau 6: Matériel végétal.....	17
Tableau 7: Les diamètres d'inhibition et leurs degrés de sensibilités (Ponce, 2003).	23
Tableau 8: Rendement de l'extraction.	29
Tableau 9: Résultats d'activité antibactériennes.....	29
Tableau 10: Les résultats d'activité antifongique.	31

Liste des abréviations

EBIC : European Biostimulant Industry Council

GN : Gélose Nutritif

HCN : Acide Cyanhydrique

Mdbs : Les Maladies Des Bois

MH : Mueller Hinton

NODU : Nombre De Doses Unités

Table de matière

	Remerciements	
	Dédicace	
	Résumé	
	Liste des figures	
	Liste des tableaux	
	Liste des abréviations	
	Introduction	1
	Partie I : Synthèse bibliographique	
	Chapitre I : <i>Genista tricuspidata</i>	3
I.1.	Définition	4
I.1.2.	Distribution et air géographique de <i>Genista tricuspidata</i>	4
I.1.3.	Description botanique	4
I.1.4.	Taxonomie et Classification	5
I.1.5.	Effet biologique	6
I.1.6.	Effet chimique	7
I.1.6.1.	Isoflavonoïdes	8
	Chapitre II : Biocontrôle : utilisation des extraits des plantes	
II.1.	Définition de biocontrôle	11
II.2.	Mécanismes de biocontrôle	12
II.3.	Microorganismes utilisés dans le biocontrôle	12
II.3.1.	Les bactéries	12
II.3.2.	Les champignons	13
II.4.	Utilisation des extraits des plantes dans le biocontrôle	13
II.4.1.	Extraits des plantes	13
II.4.2.	Biocontrôle par l'utilisation des biomolécules d'origine végétale	13
	Partie II : Matériels et méthodes	
1.	Objectifs du travail	16
2.	Matériel	16

3.	Collection de matériel végétale	17
4	Méthodes	18
4.1	Extraction	18
4.1.1.	Détermination du rendement	21
4.2.	Activité antimicrobienne	22
4.2.1.	Souches bactériennes testées	22
4.2.2.	Milieu de culture	22
4.2.3	Préparation des disques	22
4.2.4.	La technique de diffusion des disques sur milieu solide	22
4.2.4.1.	Principe	22
4.2.4.2.	Repiquage des souches bactériennes	23
4.2.4.3.	Préparation de l'inoculum	23
4.2.4.4.	Ensemencement	24
4.2.4.5.	Imprégnation des disques	24
4.2.4.6.	Incubation et lecture	24
4.3.	Activité antifongique	25
4.3.1.	Souches fongiques testés	25
4.3.2.	Milieu de culture	25
4.3.3.	Repiquage des souches fongiques	25
4.3.4.	Méthode d'étalement	26
4.3.4.1.	Principe	26
Partie III : Résultats et discussions		
1.	Extraction et rendement d'extraction	28
2.	Activité antibactérienne	29
3.	Activité antifongique	30
4.	Discussions générale	32
	Conclusion	35
	Références	36

Introduction

Introduction

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne et paléotropicale, L'identification de cette flore a été décrite par plusieurs botanistes à titre d'exemple celle de Quezel et Santa (1962-1963), intitulée « la nouvelle flore de l'Algérie et régions désertiques méridionales », elle est avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques, reste très peu étudiée tant sur le plan écologique que sur le plan phytochimiques (**Ozenda , 1991**).

Ce genre constitue un matériel intéressant qui mérite d'être exploré afin de mettre en lumière tous ses avantages et ses potentialités différentes classes du métabolisme secondaire ont été identifiées dans le genre de *Genista* : alcaloïdes, terpènes, les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (**Boumaza, 2006**). Nous sommes intéressants par *Genista tricuspidata* qu'est une plante n'a pas été étudié précédemment polymorphe.

L'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives (**Seitz et al., 1982 ; Alderman et al., 1996**). Les maladies des plantes provoqués par des microorganismes phytopathogènes que sont concentrer sur les espèces cultivées causent des dommages qualitatifs et quantitatifs considérables sur les cultures en particulier (**Morris et al.,2009 ; Zahour, 1992**).

Ces microorganismes déterminés par des bactéries phytopathogènes et des champignons phytopathogènes, certaines bactéries sont recensées comme étant des espèces causales des maladies des plantes tels que *Erwinia amylovora* et *pseudomonas sp* (**Messiaen, 1991**). En plus, ils sont déterminés par des champignons phytopathogènes permis ces champignons en peux citer *Fusarium sp*, *Alternaria sp* et *Botrytis Sp*.

Notre étude pour but de collecté et extraire les racines de *Genista tricuspidata* par la suite nous avons testé les extraits obtenus par l'activité antibactériennes sur les bactéries phytopathogènes et l'activité antifongique sur les champignons phytopathogènes.

Partie I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Généralité sur *Genista tricuspidata*

I. I.1. Définition

G. tricuspidata est une plante légumineuse de genre *Genista* de la famille *Fabaceae*. Elle est une espèce endémique, connue sous le nom de “Guendoul” ou “Chebrak” (Quezel et Santa, 1963). Cette espèce contient une variété de métabolite secondaire de différents types notamment des isoflavonoïdes (Dixon, 2004).



Figure 1: *Genista tricuspidata* (Vella, 2007).

I .1.2. Distribution et air géographique de *Genista tricuspidata*

Le genre *Genista* est circumméditerranéen, il est constitué d'arbustes épineux et monépineux, la majorité de ces espèces forment des maquis sclérophylles ou des matorrals avec 87 espèces (Martins et al., 2005) ; il est largement distribué dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Afrique du nord (Mekkiou, 2005). Le genre *Genista* est représenté par 16 espèces dont 11 sont endémique tel que *Genista Tricuspidata* est une plante qui trouvée dans les régions de l'est et du sud-est du pays (Quezel et Santa, 1963).

I.1.3. Description botanique

Ce sont des arbrisseaux épineux, buissonnants et très rameux de 0,3-1,2 m de hauteur. Les rameaux florifères verts sont plus ou moins allongés et effilés, feuillés, grêles pubescentes puis glabres. Les épines trafiquées ou simples, robustes, divariquées vertes de 1-

Chapitre I : *Genista tricuspidata*

4,5 cm de long. Les feuilles sont toutes unifoliolées, vertes et subsessiles, les folioles sont lancéolées entières et aiguës vêtus sur les deux faces de poils apprîmes de 7-15 mm de long.

L'inflorescence est en grappes terminales multiflores de 1,5-25 cm de long, l'axe de la grappe est inerme et non prolongé en rameau feuillé, plus ou moins poilu. Les fleurs sont d'un jaune d'or verdissant souvent par dessiccation. Le calice est bilabié, glabre et jaune verdâtre de 4,5-6 mm de long. L'étendard est glabre à peu pubescent sur le dos, ovale ou ovale-oblong, aigu et un peu émargé au sommet de 8-10 mm de long. Les ailes sont oblongues-cultriformes, obtuses et égalant à peu près l'étendard. La carène dépassant beaucoup les ailes et l'étendard, elle est oblongue, obtuse et étroite de 10-13 mm de long (Lograda, 2018).

Des travaux phytochimiques ont été montré l'isolement des flavones et des flavols tel que la Quercétine (Boumaza, 2006), 3-o-B-glucoside isorhamnétine, 4'-5,7-trihydroxy-3',8-diméthoxy-3-Oglucosylflavone (Boumaza, 2011) plus des isoflavones Génistéine et isoprúnétine (Harborn, 1969), 7-methoxy-4- hydroxyflavane, 3- 28-dihydroxyolean-12-ene (erythrodiol) et de phytol (Boumaza, 2011).

I.1.4. Taxonomie et Classification

Le genre *Genista* a été décrit pour la première fois par Linné en 1753, il appartient à la famille des légumineuses (*Fabales*), sous-famille des papilionacées (*Fabacées*) et à la tribu des génistées. Parmi les 700 genres de la famille des fabacées, En Algérie ont trouvé environ 53 genres et 337 espèces. Le genre *Genista* comporte 23 espèces dont 11 ont endémiques à l'Algérie (Boukaabache, 2015).

Tableau 1: Classification taxonomique de *Genista tricuspidata*.

Embranchement	Spermaphytes
Sous – embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Rosales
Famille	Fabales (légumineuse)
Sou – famille	Papilionacée (fabacées)
Tribu	Genisteae
Genre	<i>Genista</i>

Espèce	<i>Genista tricuspidata</i>
--------	-----------------------------

I.1.5. Effet biologique

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Genista* montre peu d'investigations réalisées dans ce domaine.

Selon **Ambola et al (2018)**, l'arge gamme de propriété biologique et pharmacologique a été rapportés par ce genre, comme l'activité antimicrobienne et antioxydants.

Dans d'autre part, Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydants...etc (**Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999**) ; Ils sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (**Dixon et al., 1983**), il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces in vitro contre les microorganismes (**Cowan, 1999 ; Recio et al., 1989**).

Le genre *Genista* a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées montrés dans le tableau 02.

Tableau 2: Activité biologique de *Genista*.

Espèce	Extraits	Activité biologique
<i>Genista aspalathoides</i>	Aqueux	Antioxydant (Simoès et al., 2020)
<i>Genista tridentata</i>	L'ethanol	Antioxydant Anti-inflammatoire (Simoès et al., 2020)
<i>Genista saharae</i>	Brut, Chloroforme, Acétate d'éthyle et n-butanol	Antioxydant Antibactérienne (Barek et al., 2019)
<i>Genista halacsi</i>	Méthanol	Ostrogéniques (Fokialakis et al., 2019)
<i>Genista numidica Spach</i>	Chloroforme et Acétate d'éthyle	Antiprolifératif (Benayache et al., 2018)
<i>Genista microcephala Coss et Dur</i>	Acétate d'éthyle n-butanol	Antioxydant Antibactérienne (Maanani et al., 2018)
<i>Genista ferox</i>	Poirret Ethanol	Antioxydant Antiprolifératif (Sebaihi-Harzoun et al., 2018)
<i>Genista quadriflora</i>	n-butanol	Antioxydant Anti-inflammatoire (Boubekri et al., 2016 ; Boubekri et al., 2014)

Chapitre I : *Genista tricuspidata*

<i>Genista ulicina</i> Spach	Acétate d'éthyle <i>n</i> -butanol	Antioxydant (Chebbah et al., 2016)
<i>G. saharae</i> Coss et Dur	Aqueux	Antioxydant (Guettaf et al., 2016)
<i>G. tinctoria</i> <i>G. sagittalis</i>	Ethanol	Antioxydant (Hanganu et al., 2016)
<i>G. ulicina</i> Spach	<i>n</i> -butanol	Antioxydant (Larcher et al., 2016)
<i>G. tenera</i>	<i>n</i> -butanol	Hypoglycémiant (Batista et al., 2015)
<i>G. saharae</i>	Méthanol	Antioxydant (Meriane et al., 2014)
<i>G. sessilifolia</i>	Méthanol	Anti- apoptotique (Bontempo et al., 2013)
<i>G. quadriflora</i> Munby	Acétate d'éthyle	Antioxydant (Boukaabache et al., 2013)
<i>G. numidica</i> Spach <i>G. saharae</i>	Coss et Dur Huile essentielle	Antibactérienne (Lograda et al., 2009)
<i>G. sessilifolia</i> <i>G. tinctoria</i>	Méthanol	Anti-apoptotique Antioxydant (Rigano et al., 2009)

Une étude faite par Harionov en 1988 montre que :

- Les extraits flavoniques des deux plantes médicinales de *Genista* ne sont pas toxique à des doses ≤ 2000 mg/kg.
- Aucune action oestrogénique ni androgénique n'a pu être mise en évidence pour une dose de 100 mg/kg.

I.1.6. Effet chimique

Différentes classes du métabolite secondaire ont été identifiées dans le genre de *Genista*, les travaux phytochimiques de *Genista* permis essentiellement d'isolés : les alcaloïdes (**Pistelli et al., 2001**), les composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les isoflavonoïdes (**Giachi, 2000**), les terpènes et les saponines (**Boutaghane et al., 2013**).

Selon **Boumaza et al (2006)**, *G. tricuspidata* permis d'isoler des flavones et des flavols tel que la Quercétine (**Boumaza, 2006**), 3-o-B-glucoside isorhamnétine, 4'-5,7-trihydroxy-3',8-diméthoxy-3-Oglucosylflavone (**Boumaza, 2011**) plus des isoflavones Génistéine et isoprunétine (**Harborne, 1969**), 7-méthoxy-4- hydroxyflavane, 3- 28-dihydroxyolean-12-ene (erythrodiol) et de phytol (**Boumaza, 2011**).

I.1.6.1. Les isoflavonoïdes

Chapitre I : *Genista tricuspidata*

Dans le genre *Genista* la production des métabolites secondaires spécifiques appelés les isoflavonoïdes sont les particularités les plus importants impliqués dans la signalisation symbiotique, dans les réactions de défense et présentant un grand intérêt pharmaceutique (Dixon, 1999), Ce sont des substances polyphénoliques d'une diversité structurale importante.

En considérant les isoflavones comme des biomarqueurs pour le genre, cette spécificité est probablement due à la présence de l'enzyme responsable du réarrangement du 2-phenylchromone (flavanone) au 3-phenylchromone (isoflavone). Il est important de souligner que les isoflavonoïdes du type Génistéine, Daidzéine et Isoprunétine s'y trouvent majoritairement dans ce genre (Zang et al., 2013).

Voici quelques isoflavonoïdes isolés dans le genre *Genista* : Daidzéine (1), Formononétine (2), 8-Méthoxyformononétine (3), Génistéine (4), Isoprunétine (5), 3'-Hydroxyisoprunétine (6), Biochanine (7), 3'-O-Méthylorobol (8), Wightéone (9), Laburnétine (10), Daidzine (11), Ononin (12), Génistine (13), 4'-O-Glucopyranoside génistéine (14), 7-O-(6"-Malonyl)-glucopyranoside génistéine (15), 7-O-(6"-Acétyl)-glucopyranoside génistéine (16), 7-O-Glucopyranoside 2'-hydroxygénistéine (17), Génistéone (18), 7-O-Glucopyranoside biochanine A(sissotrine (19), 7-O-B-Glucopyranoside isoprunétine (20), 7-O-Diglucopyranoside génistéine (21), 4',7-Di-O-gluco-pyranoside génistéine (22), 4',7-Di-O-gluco-pyranoside isoprunetine (23), 8-C-Glucopyranoside daidzéine (24), 8-C-Glucopyranoside génistéine (26), 4'-O-Méthyl-8-Cgluco- pyranoside génistéine (27), 8-C-Glucopyranoside 4'-O-gluco-pyranosyl-génistéine (28), 8-C- Glucopyranoside orobol (29), 5-O-Méthyl-8-C-gluco-pyranosyl-génistéine (30).

Tableau 3: Structure des isoflavonoïdes isoler par *Genista tricuspidata*.

Isoflavonoïdes	Structure	Espèce
Aglycone	R ₁ =OH, R ₂ =OH, R ₃ = OGlu	<i>G. tricuspidata</i>

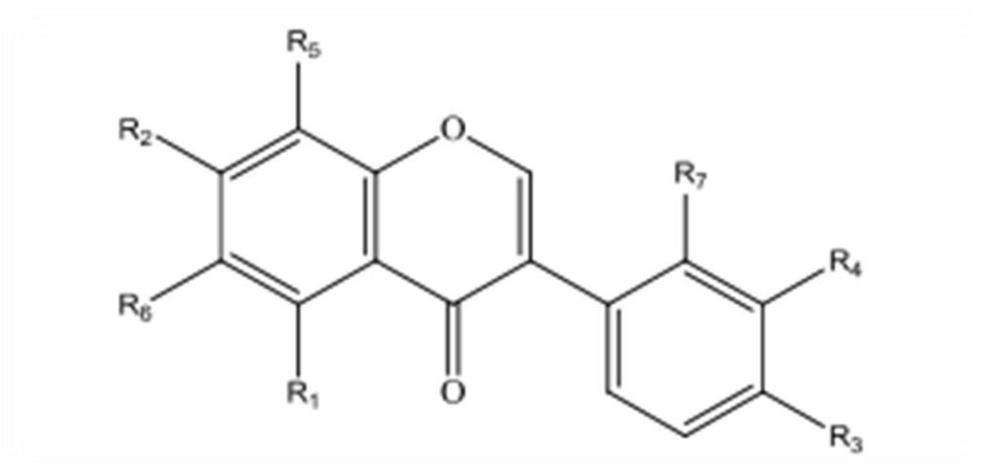


Figure 2 : Structure des isoflavonoïdes isolés dans le genre *Genista*.

Chapitre II :
Biocontrôle : utilisation des
extraits des plantes

1. Définition de Biocontrôle

Le terme de contrôle biologique et son synonyme abrégé de biocontrôle ont été utilisés dans différents domaines de la biologie, notamment la phytopathologie. En pathologie végétale, le terme s'applique à l'utilisation d'antagonistes microbiens pour supprimer les maladies afin de contrôler les populations de ravageurs de la récolte (**Cook, 1993**).

Selon le Conseil national de la recherche des États-Unis, les agents de lutte biologique devraient être définis comme l'utilisation d'organismes naturels ou génétiquement modifiés et l'utilisation de leurs gènes ou leurs produits métaboliques afin de réduire ou supprimer les effets nocifs des agents pathogènes (**khasa, 2017**).

Selon Jyoti et Singh, (2016) la définition du biocontrôle diffère selon la cible de suppression ; nombre, type et source d'agents biologiques ; et le degré et le moment de l'intervention. Plus généralement, le contrôle biologique est la suppression des activités nuisibles d'un organisme par un ou plusieurs autres types d'organismes, souvent appelés ennemis naturels. **Selon Guo, (2020)**, le contrôle biologique implique l'utilisation d'ennemis naturels pour réduire les populations de ravageurs. Il est rentable avec des conséquences environnementales négatives minimisées.

Les microorganismes utilisés en contrôle biologique sont principalement des bactéries, des champignons, des levures (**Gerbore, 2013**). Deux termes sont parfois rencontrés pour nommer ces derniers :

- Celui de ABC, pour « Agent de biocontrôle », est utilisé pour le microorganisme dont l'action est directe sur l'agent pathogène.
- Lorsque le microorganisme a une action sur la plante, le terme de PGPM (microorganismes favorisant la croissance des plantes « en anglais Plant Growth Promoting Microorganism ») est employé pour les micro-organismes ont le potentiel d'augmenter la croissance des cultures en améliorant l'efficacité de l'utilisation des nutriments, en tolérant les stress biotiques et abiotiques et en résistant aux maladies (**Sellitto et al., 2021**). Ce groupe de microorganismes inclus les PGP-B pour les bactéries, PGP-F (Fungi) pour les champignons, PGP-Y (Yeast) pour les levures et PGP-R pour les rhizobactéries.

2. Mécanismes de biocontrôle :

Les mécanismes de biocontrôle peuvent impliquer des interactions entre l'antagoniste et l'agent pathogène directement. Ces interactions peuvent avoir lieu au niveau des racines ou dans la partie aérienne de la plante, comme peuvent se manifester au niveau du sol rhizosphérique. De plus, des interactions indirectes sont connues lorsque la plante elle-même répond à la présence de l'antagoniste, ce qui entraîne une résistance induite ou une stimulation de la croissance des plantes (**Pankhurst et Lynch, 2005**). Les agents de lutte biologique peuvent induire une résistance aux infections contre un agent pathogène dans les tissus végétaux sans interaction directe entre le pathogène et l'antagoniste. Une interaction directe avec les agents pathogènes peut se manifester par une compétition pour les nutriments et l'espace. Les antagonistes peuvent également interagir directement avec l'agent pathogène par hyperparasitisme ou antibiose. La production de métabolites secondaires antimicrobiens ayant des effets inhibiteurs contre les agents pathogènes est un autre mode d'action directe (**Köhl et al., 2019**).

3. Microorganismes utilisés dans le biocontrôle

3.1. Les bactéries

Plusieurs espèces de champignons et de bactéries ou leurs métabolites sont aujourd'hui produits commercialement et appliqués à l'environnement dans l'agriculture, l'horticulture et la foresterie pour la lutte biologique. Ce contrôle est appelé également le contrôle microbien qui est un terme utile pour décrire l'utilisation de microorganismes comme agents de contrôle Revue bibliographique 16 biologique (**Madsen, 2011**). Le principal avantage de l'utilisation des agents de biocontrôle est qu'ils sont hautement spécifiques pour un agent pathogène et sont donc considérés comme inoffensifs pour les espèces non ciblées (**O'Brien, 2017**). Il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des agents microbiens dans la protection des plantes et la promotion de la croissance des plantes vers l'évolution des technologies respectueuses de l'environnement et l'ouverture de nouveaux domaines de l'exploitation microbienne. Les agents de lutte biologique ne sont pas limités à un groupe bactérien spécifique ; cependant, étant donné la diversité de la microflore de la rhizosphère, il est probable que le spectre complet des souches potentiellement efficaces a à peine été exploré. Beaucoup de ces agents de lutte biologique sont efficaces dans les conditions de terrain (**Weller, 1988**).

3.2. Les champignons

Certains champignons sont des parasites obligatoires qui nécessitent la croissance et la reproduction de l'hôte vivant, mais la majorité d'entre eux sont des saprophytes qui n'ont besoin d'aucun hôte et peuvent survivre dans le sol, l'eau ou l'air. La lutte biologique contre les agents phytopathogènes présents dans le sol au biais des champignons est un substitut potentiel à l'utilisation de pesticides chimiques, qui se sont déjà révélés nocifs pour l'environnement (**Chet et Inbar, 1994 ; Singh et al., 2018**).

Le contrôle biologique fongique est un moyen passionnant et c'est un domaine de recherche ayant des implications sur la productivité végétale, la santé animale et humaine et la production alimentaire.

4. Utilisation des extraits des plantes dans le biocontrôle

4.1. Extraits des plantes

Depuis un peu plus d'une décennie, la recherche s'intéresse désormais à l'utilisation d'extraits de plantes comme oomycide naturel. Ces sources potentielles de composés antimicrobiens ont l'avantage d'être biodégradables, respectueux de l'environnement et potentiellement peu ou pas néfastes pour la santé humaine. Ainsi, les extraits végétaux exercent globalement une activité oomycide significative contre le mildiou de la vigne. Si l'on compare les résultats de la littérature, on observe une inhibition totale du mildiou sur disques foliaires et in planta à des concentrations aux alentours de 1000 mg/L (**Thuerig et al., 2018**).

4.2. Biocontrôle par l'utilisation des biomolécules d'origine végétale

Les cultures sont attaquées ou concurrencées par divers parasites et ravageurs : insectes, champignons, bactéries, virus et adventices. Les solutions de protection des plantes, qu'elles soient d'origine naturelle ou issues de leurs dérivés, sont indispensables pour sécuriser les rendements et la qualité des productions. Elles contribuent à relever l'un des défis majeurs de notre siècle : offrir une alimentation saine et accessible pour tous (**Jourdheuil et al., 1991**).

Certaines substances naturelles peuvent être utilisées comme produit de biocontrôle. Ce sont des substances présentes dans le milieu naturel et pouvant être d'origine végétale, Ces substances peuvent se substituer à des pesticides de synthèse et ainsi limiter leur utilisation. Elles présentent en effet dans la plupart des cas un avantage en matière de durée

Chapitre II : Biocontrôle : utilisation des extraits des plantes

de demi-vie assez courte ce qui limite les résidus dans les denrées alimentaires et leur persistance dans l'environnement. Leur utilisation est de plus intéressante dans le cadre de la gestion des résistances car leurs modes d'action sont généralement différents de ceux des pesticides de synthèse. Il est cependant souvent conseillé de les utiliser en combinaison avec d'autres méthodes alternatives (**Kutchan, 2001 ; Wink, 2003 ; Kliebenstein, 2004**).

Dans notre étude nous avons travaillé sur la plante *Genista tricuspidata* (cette plante n'a pas étudié précédemment dans le biocontrôle) par les extraits que sont extraire à partir les racines de *Genista tricuspidata*.

Partie II :

Matériels et méthodes

1. Objectifs du travail

Notre étude vise à déterminer l'effet d'extrait des racines de *Genista tricuspidata* contre les microorganismes phytopathogènes. Dans un premier temps, nous avons fait la collecte de matériel végétal dans la région de Tamazguida de la wilaya de Médéa.

Dans un second temps, nous avons fait l'extraction à partir des racines de *Genista tricuspidata* par la macération éthanoïque suivie par la décantation par deux solvants : éther de pétrole et dichlorométhane.

Dans un troisième temps, nous avons évalué l'effet des extraits obtenus sur les bactéries phytopathogènes : *Erwinia amylovora* et *pseudomonas sp* par l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur milieu solide ; et aussi sur les champignons phytopathogènes : *Alternaria sp*, *Fusarium sp* et *Botrytis sp* par l'activité antifongique par la méthode d'étalement.

2. Matériel

→ **Matériel non biologique** : le matériel non biologique utilisé consiste : l'appareillage, le petit matériel et les solvants (tableau 4).

Tableau 4: Matériel non biologique.

	Matériel
Gros appareils	Autoclave
	Incubateur
	Micro-onde
	Réfrigérateur
	Rotavapeur
Petit appareils	Spectrophotomètre
	Vortex
	Balance
	Bec bunsen
Matériels	Bécher
	Ampoule à décanté
	Spatule
	Éprouvette graduée.
	Erlenmeyer.

	Entonnoir
	Papier filtre Whitman.
	Boîtes pétries stériles en plastique
	Flacons en verre.
	Tubes à essai
	Pipette pasteur
	Anse en platine.
	Ecouvillon stérile
	Pince
	Micropipette
	Embouts
	Eppendorf
Solvants	Ethanol – Ether de pétrole – Dichlorométhane – Chloroforme

→ **Matériel biologique (microbien)** : pour avoir l'effet des extraits obtenus à partir des racines de *Genista tricuspidata*, on a utilisé deux souches bactériennes phytopathogènes et trois souches phytopathogènes (tableau 5).

Tableau 5: Matériel biologique.

Souches phytopathogènes	Source
<i>Erwinia amylovora</i>	Laboratoire PVRAB, Université Blida 1.
<i>Pseudomonas sp</i>	Laboratoire PFE, Université Blida 1.
<i>Fusarium sp</i>	Laboratoire PVRAB, Université Blida 1.
<i>Alternaria sp</i>	Laboratoire de mycologie, université Blida 1.
<i>Botrytis sp</i>	Laboratoire de mycologie, université Blida 1.

→ **Matériel végétal** : le matériel végétal utilisé dans cette étude comprend une plante médicinale « *Genista tricuspidata* » exactement les racines de cette plante (tableau).

Tableau 6: Matériel végétal.

Matériel végétal	Source
Les racines de <i>Genista tricuspidata</i>	Tamazguida -Médéa-

3. Collection de matériel végétale

La plante *Genista tricuspidata* a été récolté dans la région de Tamazguida de la wilaya de Médéa le mois d'avril 2022 par Dr. Zatout Roukia, et identifiée par Dr. Sarri Djamel.

Après la récolte, l'échantillon a été séché à température ambiante dans un endroit aéré à l'abri de la lumière pour mieux sécher.



Figure 2 : Image satellitaire de région de collecte de *Genista tricuspidata* (google Earth, 2023).

4. Méthodes

4.1. Extraction :

D'après Boiteau et al (1964), La méthode la plus couramment utilisée dans l'extraction de *Genista tricuspidata* est la **macération** dans une solution éthanol- eau et la **décantation**.

Pour faire l'extraction à partir les racines de *Genista tricuspidata*, nous avons opté pour le protocole décrit par **Zatout et al.**, En y apportant quelques modifications : des racines de la plante médicinale ont été coupées en petits morceaux et broyer pour obtenir une poudre (**figure 03**)



Figure 3 : Les étapes de broyage des racines de *Genista tricuspidata* (Original, 2023).

50g de poudre ont été macéré dans un mélange d'eau/éthanol 100/100 (v/v), le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique et laissé pendant 24h. Cette opération a été répétée deux fois avec le même volume utilisé dans la première macération (**figure 04**).



Figure 4 : Macération à partir les racines de *Genista tricuspidata* (Original, 2023).

Après la filtration par un papier filtre wattman n°1 le filtra obtenu a été évaporé à l'aide d'un rotavapeur qui permet a éliminé le solvant d'extraction.



Figure 5 : Filtration et évaporation (Original, 2023).

Après l'évaporation, nous avons fait la décantation à l'aide d'ampoule à décanter par deux solvants : éther de pétrole et dichlorométhane. Tout d'abord, dans une ampoule à décanter 100ml d'éther de pétrole et l'extrait aqueuse ont été mélangé et bien agité pendant quelques minutes sans oublier le dégazage, après 30 min les deux phases ont été séparées, la décantation a été répété deux fois en raison progressif, d'autre part la phase organique a été séchée par le sulfate de sodium Na_2SO_4 pour éliminer les traces d'eau, ensuite nous avons fait l'élimination de solvant organique par le rotavapeur. Les mêmes étapes ont été fait pour le solvant de dichlorométhane.



Figure 6 : Les étapes de décantation (Original, 2023).

4.1.1. Détermination du rendement

Le rendement des extraits a été calculé par le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la poudre de départ. Il a été exprimé pour 100 unités de masse de poudre végétale.

$$R = \frac{\text{poids du résidu sec}}{\text{poids de poudre végétale de départ}} \times 100$$

Le protocole d'extraction de *G. tricuspidata* résumé dans la figure (07).

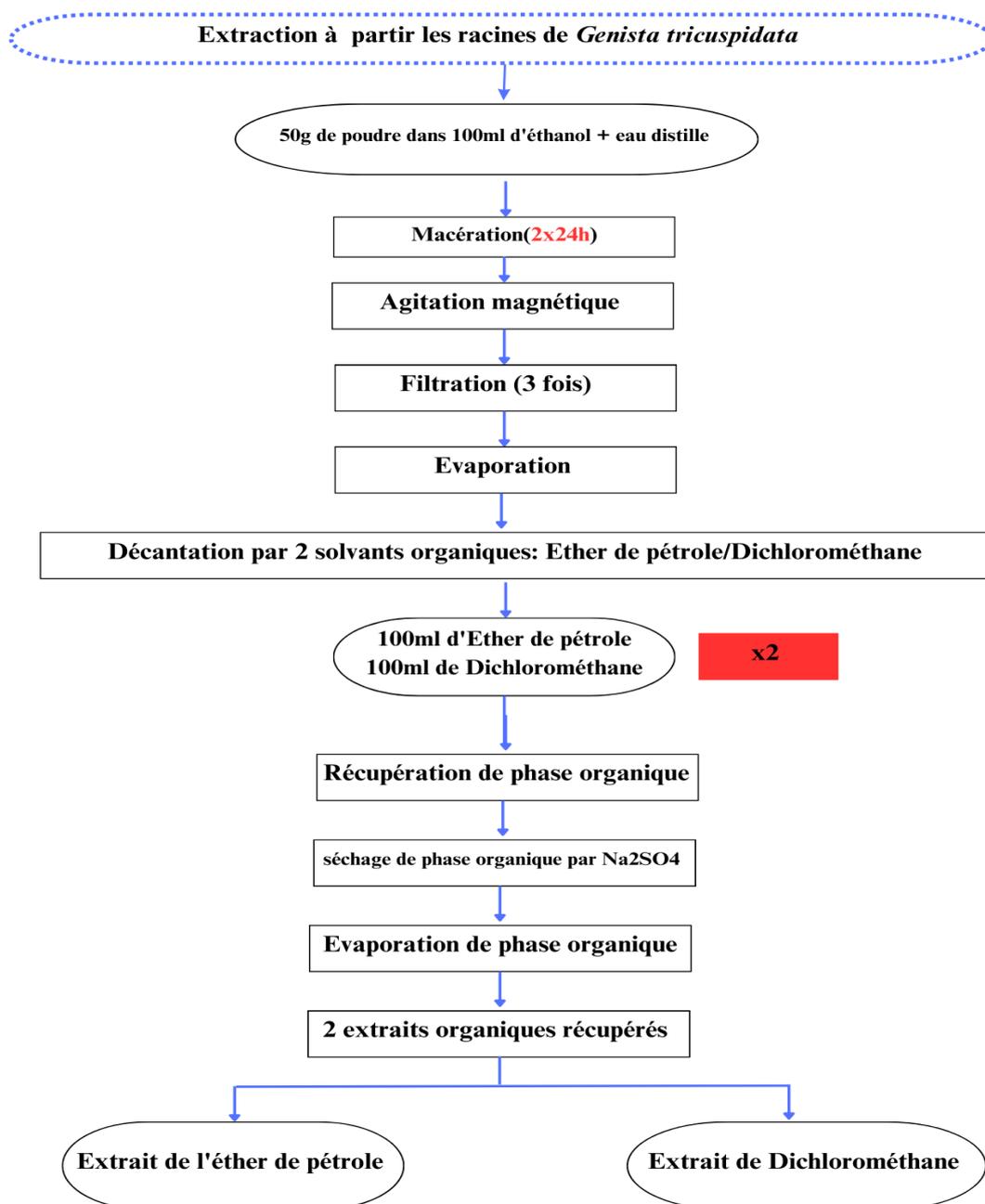


Figure 7 : Protocole d'extraction des racines de *Genista tricuspidata* (Original, 2023).

4.2. Activité antimicrobienne

Les techniques utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne adoptés sont celles recommandées par l'Institut des Standards Cliniques et des Laboratoires (Clsi, 2009), il s'agit de :

- ❖ La technique de diffusion des disques sur milieu solide
- ❖ La technique de dilutions sur milieu liquide

4.2.1. Souches bactériennes testées

Deux souches bactériennes phytopathogènes a été choisir, elles font partie du laboratoire de valorisation des ressources agrobiologique et de PFE à l'université de Saad Dahleb Blida 01. Ce sont les suivantes : *Erwinia amylovora* et *Pseudomonas sp.*

4.2.2. Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu King B et GN pour le repiquage des bactéries et le milieu Mueller Hinton pour tester l'activité antibactérienne.

4.2.3. Préparation des disques :

Les disques ont été préparés à partir du papier wattman, ensuite elles ont été mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 20minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

Pour tester l'activité antibactériennes de l'extrait de *G. tricuspidata* (racines et parties aériennes) nous avons opté l'utilisation de la technique de diffusion des disques sur milieu solide.

4.2.4. La technique de diffusion des disques sur milieu solide

4.2.4.1. Principe

Elle consiste à déposer un disque stérile de papier wattman, imbibé d'huile essentielle ou extrait, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les souches microbiennes n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle ou de l'extrait, est ainsi déterminé (Benjilali et al., 1986 ; Hellal, 2011). La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistance (Benjeleli et al., 1986).

Tableau 7: Les diamètres d'inhibition et leurs degrés de sensibilités (Ponce, 2003).

Diamètre de la zone d'inhibition	Le degré de la résistance
$D < 5\text{mm}$	Souche résistante (-).
$6\text{mm} \leq D \leq 11\text{mm}$	Souche sensible (+).
$12\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$	Souche très sensible (++).
$D > 17\text{mm}$	Souche extrêmement sensible (+++).

4.2.4.2. Repiquage des souches bactériennes

En vue d'obtenir des cultures jeunes, nos souches étant dans des géloses de conservation ont été repiquées par la méthode de stries dans la gélose nutritive pour *Erwinia amylovora* et le King B pour *Pseudomonas sp*, puis incubées pendant 24h à 25°C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

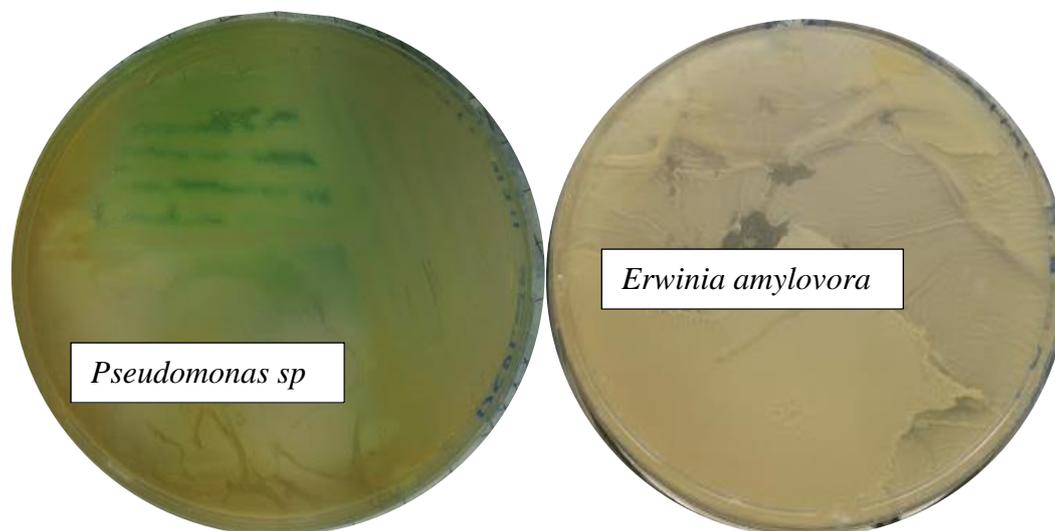


Figure 08 : Repiquage des souches bactériennes (Original, 2023).

4.2.4.3. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune de 24h à tester sur milieu d'isolement, nous avons raclés à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identique ; ensuite le contenu de l'anse de platine a été déchargé dans un tube à essai de 9ml d'eau physiologique stérile et la suspension bactérienne bien homogénéisée par vortex, l'opacité de nos suspensions bactériennes a été mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm. Les densités optiques obtenues étaient comprises entre 0,08 et 0,15 ce qui correspond à une densité de 0,5 à l'échelle Mc Ferland et à une concentration bactérienne de 10^8 UFC/ml.

Souche bactériennes	D.O. prise à 625 nm	Densités cellulaires/ml
<i>Erwinia amylovora</i>	0.098	10 ⁸
<i>Pseudomonas sp</i>	0.134	10 ⁸



transféré des colonies dans l'eau physiologique stérile

homogénéisation de suspension bactérienne



spectrophotomètre



suspension bactérienne finale

Figure 2: Les étapes de préparation de l'inoculum (Original, 2023).

4.2.4.4. Ensemencement

Nous avons fait l'ensemencement sur milieu MH, trempés un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorés en le pressant fermement en tournant sur la paroi interne du tube afin de la déchargés au maximum. L'écouvillon a été frotté sur la totalité de la surface gélosée, sécher de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétrie de 45-60° à chaque fois. Pour finir l'ensemencement nous avons mis l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

4.2.4.5. Imprégnation des disques

Des disques de 6 mm ont été imbibés l'extraits des racines de *G. Tricuspidata* (20µl par disque). A l'aide d'une pince stérile, les disques chargés ont été déposés et pressés légèrement sur la surface gélosée de la boîte de pétri. Nous avons fait trois répétitions par boîte plus le témoin par le chloroforme et le méthanol.

4.2.4.6. Incubation et lecture

L'incubation des souches bactériennes a été faite dans l'étuve à 25°C pendant 24h. observés l'absence ou la présence de zone claire d'inhibition autour des disques, le diamètre de la zone d'inhibitions a été mesuré à l'aide d'une règle.

4.3. Activité antifongique

L'évaluation de l'activité des extraits des racines et parties aériennes de la plante *G. tricuspidata* vis-à-vis des champignons phytopathogènes a été réalisée par la méthode d'étalement (Zatout, 2021).

4.3.1. Souches fongiques testés

Trois souches fongiques ont été choisies *Fusarium sp*, *Alternaria sp* et *Botrytis sp*. Ces souches phytopathogènes que nous avons testées sont collectées à partir de laboratoire de mycologie de l'université de Saad Dahleb Blida 1.

4.3.2. Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu PDA pour le repiquage des champignons et le milieu Sabouraud pour tester l'activité antifongique.

4.3.3. Repiquage des souches fongiques

Nos souches ont été repiquées par méthode qui consiste à prélever un colonie de l'extrémité de la souche fongique et le transférer dans un autre milieu PDA puis incubé pendant 8 jours à 24°C.

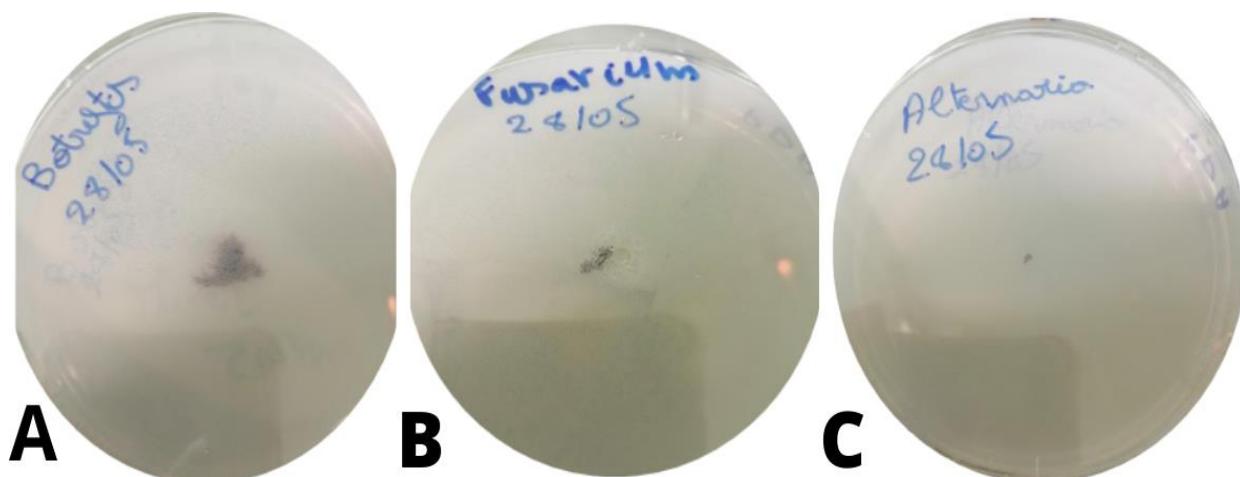


Figure 3: Repiquage des souches fongique (Original, 2023).

A : Repiquage de *Botrytis sp.*

B : Repiquage de *Fusarium sp.*

C : Repiquage de *Alternaria sp.*

4.3.4. Méthode d'étalement

4.3.4.1. Principe

La méthode d'étalement principalement consiste à déposer et prélever des colonies des souches fongiques testés sur la boîte de pétrie qu'a été étalier par l'extrait de notre plante *Genista tricuspidata* pour voir l'activité antifongique. Après 8 jours d'incubation, l'activité d'extrait a été considérée comme inhibiteur s'il y a eu reprise de la croissance de l'espèce fongique.

Mode opératoire : Cette méthode consiste à déposer 20 µl d'extraits aux boîtes de pétri contenant le milieu de culture Sabouraud puis étalier à l'aide de pipete pasteur ou étaloir stérile, ensuite nous avons prélevé notre souche fongique par une anse et piqué au milieu de la boîte de pétrie.

Les boîtes de pétrie préparées ont été incubés pendant 8 jours à 24°C.

Partie II :

Résultats et discussions

1. Extraction et rendement d'extraction

La préparation des extraits à partir racines de *G. tricuspidata* a été effectuée par deux type d'extraction dans deux parties par ordre : dans la première partie, nous avons été utilisés l'extraction solide-liquide par la macération et L'extraction liquide-liquide « décantation », Après la séparation, nous avons récupérés les deux phases parements ; généralement la phase aqueuse est la plus dense qui la phase organique et dans notre étude la phase aqueuse a été en dessous de la phase organique pour le solvant éther de pétrole par contre le cas de dichlorométhane la phase aqueuse a été au-dessous de la phase organique (figure 4).



Figure 4: les résultats de Séparation de la phase aqueuse et la phase organique (Original, 2023).

Ce rendement est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction, La variation des rendements d'extraction est liée à plusieurs facteurs parmi eux, les conditions climatiques et l'environnement du sol de l'espèce, l'âge des arbres (Kaewmanee et al., 2014), et le type du solvant, de polysaccharide et la procédure d'extraction comme la décoction ou la macération (Mouradi et al., 2006).

Tableau 8: Rendement de l'extraction.

	Extrait	Poids (g)	Rendement
Les racines de <i>G. tricuspidata</i>	EP	0,118	0,22%
	DCM	0,860	1,72%

2. Activité antibactérienne

Dans notre étude, nous avons choisi la méthode de diffusion par disque sur milieu solide (aromatogramme) pour l'activité antibactérienne.

Cette étude a été basée sur la mesure de diamètre de la zone d'inhibition qu'entoure les disques imprégnés par l'extrait d'éther de pétrole et dichlorométhane des racines de *Genista tricuspidata*.

Les deux souches bactériennes testées ont été montrés une résistance vis-à-vis des racines de *G. tricuspidata* (**tableau 09**) (**figure 12**).

Tableau 9: Résultats d'activité antibactériennes.

	Extraits	Souches bactériennes testés	Gram	Zone d'inhibition
Les Racines de <i>Genista tricuspidata</i>	EP	<i>Pseudomonas sp</i>	Gram-	Aucune zone d'inhibition
		<i>Erwinia amylovora</i>	Gram-	Aucune zone d'inhibition
	DCM	<i>Pseudomonas sp</i>	Gram-	Aucune zone d'inhibition
		<i>Erwinia amylovora</i>	Gram-	Aucune zone d'inhibition

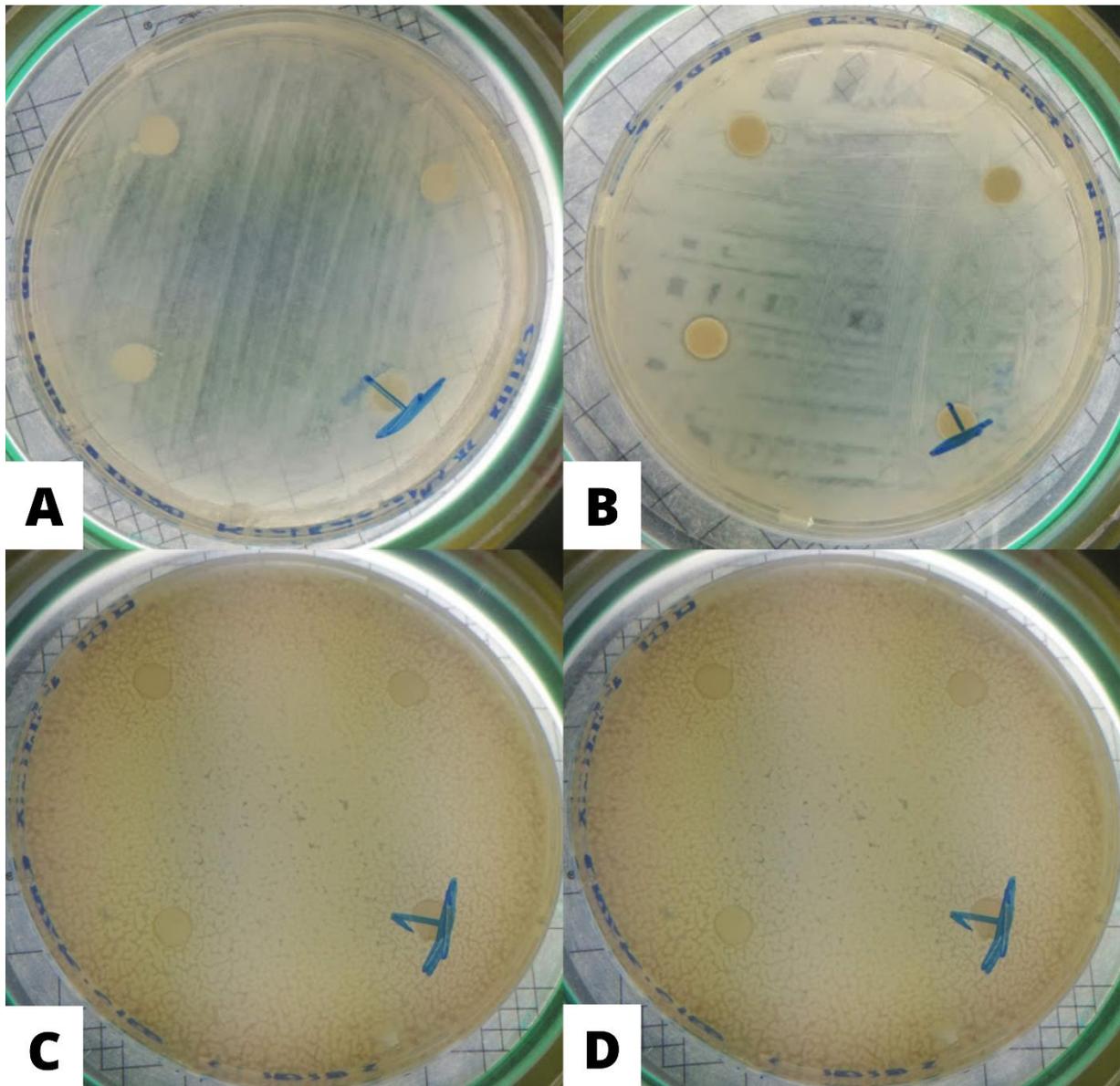


Figure 5: Les résultats d'activité antibactériennes (Original, 2023).

A : *pseudomonas sp* (extrait éther de pétrole).

B : *pseudomonas sp* (extrait dichlorométhane).

C : *Erwinia amylovora* (extrait éther de pétrole).

D : *Erwinia amylovora* (extrait dichlorométhane).

3. Activité antifongique

Dans notre recherche, nous avons utilisés la méthode d'étalement pour estimer l'activité antifongique des extraits vis-à-vis a des souches fongiques phytopathogènes tel qui *Fusarium sp*, *Botrytis sp* et *Alternaria sp*.

Résultats et discussions

L'extrait d'éther de pétrole et dichlorométhane à partir les racines de *Genista tricuspidata* a été inhibé la croissance de *Botrytis sp* (figure 13).

Tableau 10: Les résultats d'activité antifongique.

	Extraits	Souches bactériennes testés	Effet	Résultats
Les Racines de <i>Genista tricuspidata</i>	EP	<i>Alternaria sp</i>	Pas d'inhibition	(-)
		<i>Fusarium sp</i>	Pas d'inhibition	(-)
		<i>Botrytis sp</i>	Inhibition	(+)
	DCM	<i>Alternaria sp</i>	Pas d'inhibition	(-)
		<i>Fusarium sp</i>	Pas d'inhibition	(-)
		<i>Botrytis sp</i>	Inhibition	(+)

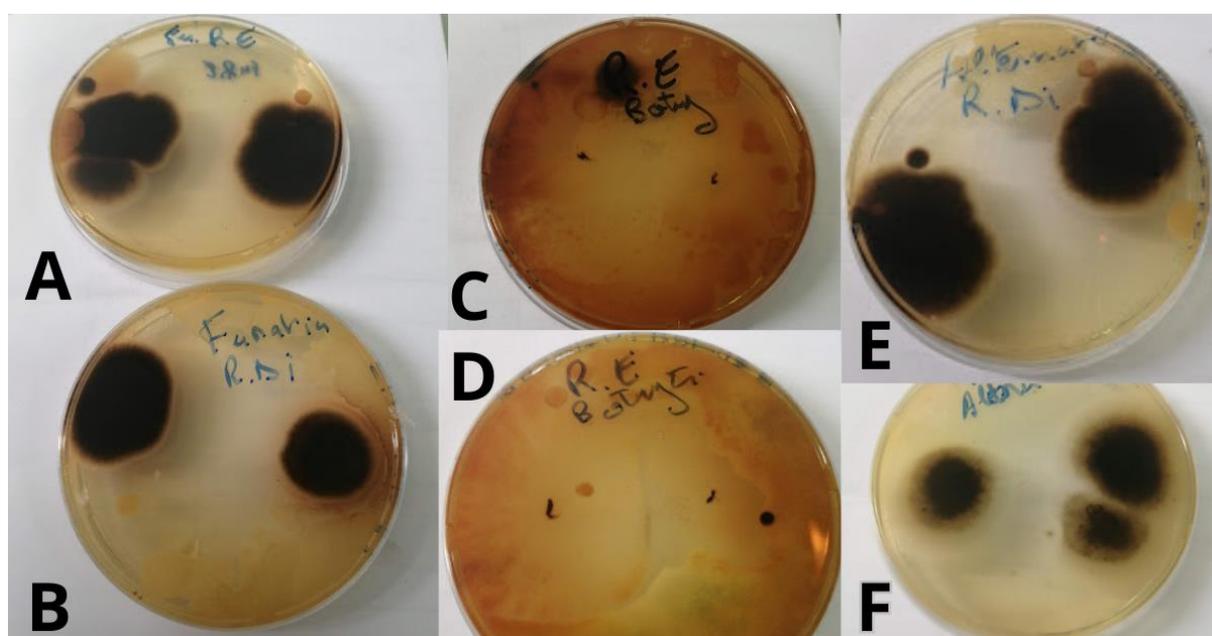


Figure 6: Les résultats d'activité antifongique (Original, 2023).

- A : *Fusarium sp* (extrait éther de pétrole).
- B: *Fusarium sp* (extrait dichloromethane).
- C : *Botrytis Sp* (extrait éther de pétrole).
- D : *Botrytis Sp* (extrait dichlorométhane).
- E : *Alternaria sp* (extrait éther de pétrole).
- F : *Alternaria sp* (extrait dichlorométhane).

Discussion générale

Notre travail nous a permis d'utiliser les racines de *Genista tricuspidata* comme agent de biocontrôle contre les microorganismes phytopathogènes.

Les agents de biocontrôle sont présents dans différents compartiments environnementaux (sol, air, eau) et peuvent infecter leur hôte soit par ingestion, soit par contact avec la cuticule (**Leger et al., 1988**) utilisant de mécanismes naturels dans le cadre de la lutte intégrée contre les ennemis des cultures (**Nicole, 2020**) permettent de protéger les cultures tout en intégrant les objectifs du plan Ecophyto et de l'agriculture durable (**Rousseau et al., 2017**).

Genista tricuspidata est une plante médicinale n'a pas été étudiée précédemment comme agent de biocontrôle contre les microorganismes phytopathogènes.

D'après Boiteau et al (1964), Il existe plusieurs techniques pour extraire les produits d'une plante. Selon **Zatout et al (2021)**, la macération 'extraction solide-liquide' et la décantation 'extraction liquide-liquide' sont parmi les meilleures méthodes d'extraction des plantes médicinales; La macération est une extraction de type solide/liquide qui consiste à laisser séjourner une plante dans un solvant à froid pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs) et préserve les espèces chimiques fragiles car elle est pratiquée à froid mais elle n'est pas toujours aussi efficace que les techniques qui utilisent un chauffage (**Boucekrit, 2018**). L'extraction liquide-liquide consiste à faire passer une substance d'un solvant dont elle est difficilement séparable à un autre dont elle sera isolable (**Solvay, 2022**), basée sur la distribution d'un soluté entre deux solvants.

À partir des recherches que nous avons faites, la méthode de diffusion par disque sur milieu solide est la méthode la plus connue et standardisée par NCCLS pour tester l'effet des extraits obtenus à partir des plantes sur les bactéries. La méthode d'étalement d'extrait sur milieu solide est considérée comme une nouvelle méthode d'activité antifongique pour tester l'effet des extraits (**Zatout et al., 2021**)

D'après notre étude, l'extraction des extraits à partir des racines de *Genista tricuspidata* a donné un rendement de 1,72% dans l'extrait de dichlorométhane et 0,22% de l'extrait d'éther de pétrole. Ces extraits présentant aucun effet d'activité antibactérienne sur les bactéries phytopathogènes testées '*Erwinia amylovora*' et '*Pseudomonas sp*' par contre ils ont montré une activité antifongique sur *Botrytis sp*.

A la fin de notre étude, Nous avons réussi à utiliser *Genista tricuspidata* comme agent de biocontrôle contre les microorganismes phytopathogènes, des extraits organiques qui ont montré un effet résistance contre les bactéries phytopathogènes testés et un effet inhibiteur contre le champignon phytopathogène *Botrytis sp.* Cela montre qu'ils ont un effet bénéfique biotechnologique, à intégrer dans le biocontrôle ou à les utiliser comme biofongicide sur les maladies phytopathogènes.

Conclusion

Conclusion

Genista tricuspidata est fabacée endémique de la flore algérienne. Elle a fait l'objet de peu d'investigations tant sur le plan botanique, phytochimique que sur le plan pharmacognosique. Dans l'étude qui ont pour objectif de déterminé l'effet des extraits à partir les racines de *Genista tricuspidata* contre les microorganismes dans le biocontrôle.

Notre travail sur les extraits à partir les racines de *Genista tricuspidata* contre les microorganismes phytopathogènes montre un effet intéressant.

En premier lieu, l'extraction à partir les racines de *Genista tricuspidata* par la macération et la décantation donne un fort rendement fort dans l'extrait de dichlorométhane qui l'extrait d'éther de pétrole.

En deuxième lieu, les deux souche bactérienne phytopathogènes testé montant un effet résistance eux les extraits obtenus à partir les racines de *Genista tricuspidata*, d'autre part la souche fongique phytopathogènes *Botrytis sp* montre un effet positif et intéressant dans laquelle l'extrait éthylique et l'extrait dichlorométhanique à partir les racines de *Genista tricuspidata* sont capable d'inhibé le développement et la croissance de *Botrytis sp*.

On considère que les résultats obtenus sont intéressants et suggèrent que l'extrait éthylique et l'extrait dichlorométhanique à partir les racines de *Genista tricuspidata* ne pourraient pas utiliser dans le biocontrôle, par contre on peut utiliser ces extraits dans le biocontrôle des maladies provoquées par *Botrytis sp*.

Afin de mieux valoriser les résultats que nous avons obtenus, des études ultérieures sont nécessaires pour approfondir l'effet des extraits à partir les racines de *Genista tricuspidata* dans le biocontrôle contre les microorganismes phytopathogènes. Il est également important d'étudier leur effet sur d'autres microorganismes phytopathogènes et de comprendre leur importance dans le biocontrôle.

En conclure que notre étude pour but d'extraire des extraits à partir les racines de *Genista tricuspidata* et voire leurs effets contre les microorganismes phytopathogènes dans le biocontrôle. Ces résultats sont essentiels et importants pour développer des solutions et aussi pour ouvrir une voie de recherche au futur dans le contrôle biologique par l'utilisations des substances naturelles et des microorganismes et dans le domaine de biotechnologie microbienne.

Références bibliographique

Références Bibliographiques

1. **Abo Arab, R. B., Zayed, G. M. M., et Abeer, A. S. (2012).** Bioactivity of plant extracts against two stored product insects and use of chromatography and infrared analyses for defining the toxic compounds. *Ann Agr Sci Moshtohor*, 50, 75-86.
2. **Adivitiya, et Khasa, Y. P. (2017).** The evolution of recombinant thrombolytics: Current status and future directions. *Bioengineered*, 8(4), 331-358.
3. **Bennett, D. P., Bhattacharya, A., Anderson, J., Bond, I. A., Anderson, N., Barry, R., et Udalski, A. (2015).** Confirmation of the planetary microlensing signal and star and planet mass determinations for event OGLE-2005-BLG-169. *The Astrophysical Journal*, 808(2), 169.
4. **Bennoune, S., Atriche, N., et Bourzama, G. E. (2017).** *Effet du zinc sur les métabolites secondaires de certaines moisissures* (Doctoral dissertation, université de jijel).
5. **Bluestone, J., Johnson, P., Fullerton, J., Carr, C., Alderman, J., et BonTempo, J. (2013).** Effective in-service training design and delivery: evidence from an integrative literature review. *Human resources for health*, 11, 1-26.
6. **Boiteau, P., Pasich, B., et Ratsimamanga, A. R. (1964).** Les triterpenoides en physiologie végétale et animale.
7. **Bouhekrit, M. (2018).** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux espèce *Elaeoselinum asclepium* (L) Bertol Et *Margotia gummifera* (Desf) Lange (Doctoral dissertation).
8. **Boukaabache, R., Boubekri, N., Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Sarri, D., et Benayache, S. (2013).** Phytochemical study of ethyl acetate extract and antioxidant activity of *Genista quadriflora* Munby (Fabaceae). *Der Pharmacia Lettre*, 5(6), 56-59.
9. **Boukaabache, R., Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Benayache, F., et Benayache, S. (2015).** Preliminary phytochemical analysis and chemical constituents from *Genista aspalathoides* Lamk Ssp. *erinaceoides* (Lois.) M. (Fabaceae). *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 6(2), 551-554.
10. **Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Benayache, S., Garcia, V. P., Bermejo, J., et Benayache, F. (2011).** Secondary metabolites from chloroform extract of *Genista tricuspidata*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 277-278.

11. Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Sarri, D., Benayache, S., Garcia, V. P., et Benayache, F. (2006). Flavonoids and isoflavonoids from *Genista tricuspidata*. *Chemistry of natural compounds*, 42, 730-731.
12. Boumaza, O., Mekkiou, R., Seghiri, R., Sarri, D., Benayache, S., Garcia, V. P., et Benayache, F. (2006). Flavonoids and isoflavonoïdes from *Genista tricuspidata*. *Chemistry of natural compounds*, 42, 730-731.
13. Boutaghane, N., Kabouche, Z., et Voutquenne, L. (2013). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae).
14. Bovei, B. ANNEXE: Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963).
15. Cherubini, A., Taddei, G. L., Crociani, O., Paglierani, M., Buccoliero, A. M., Fontana, L., et Arcangeli, A. (2000). HERG potassium channels are more frequently expressed in human endometrial cancer as compared to non-cancerous endometrium. *British Journal of Cancer*, 83(12), 1722-1729.
16. Cook, V., et Cook, V. J. (1993). *Linguistics and second language acquisition*. London: Macmillan.
17. Crowden, R. K., Harborne, J. B., et Heywood, V. H. (1969). Chemosystematics of the Umbelliferae—a general survey. *Phytochemistry*, 8(10), 1963-1984.
18. Daira, N. E. H., Maazi, M. C., et Chefrou, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85(1), 276-29.
19. Dal Piaz, F., Bader, A., Malafronte, N., D'Ambola, M., Petrone, A. M., Porta, A., et Severino, L. (2018). Phytochemistry of compounds isolated from the leaf-surface extract of *Psiadia punctulata* (DC.) Vatke growing in Saudi Arabia. *Phytochemistry*, 155, 191-202
20. Denton, E., Hanna, A., Amironesei, R., Smart, A., Nicole, H., et Scheuerman, M. K. (2020). Bringing the people back in: Contesting benchmark machine learning datasets. *arXiv preprint arXiv:2007.07399*.
21. Dixon, J. M., ET Summers, J. M. (1983). Patterns of total and incremental strain in subsiding troughs: experimental centrifuged. Models of inter-diapir synclines. *Canadian Journal of Earth Sciences*, 20(12), 1843-1861.

22. **Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Dixon, K. W., et Trengove, R. D. (2004).** A compound from smoke that promotes seed germination. *Science*, 305(5686), 977-977.
23. **Floch, M. H., Walker, W. A., Madsen, K., Sanders, M. E., Macfarlane, G. T., Flint, H. J., et Brandt, L. J. (2011).** Recommendations for probiotic use—2011 update. *Journal of clinical gastroenterology*, 45, S168-S171.
24. **Gagliardi, G., M'Barek, K. B., et Goureau, O. (2019).** Photoreceptor cell replacement in macular degeneration and retinitis pigmentosa: a pluripotent stem cell-based approach. *Progress in retinal and eye research*, 71, 1-25.
25. **Gerbore, J. (2013).** *Lutte biologique contre un champignon pathogène impliqué dans l'esca de la vigne, par utilisation de l'oomycète Pythium oligandrum* (Doctoral dissertation, Pau).
26. **Guettaf, S., Abidli, N., Kariche, S., Bellebcir, L., et Bouriche, H. (2016).** Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharæ* (Coss. Et Dur.). *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 50-60.
27. **Guo, Y. (2020).** Le concept de désir imaginatif et ses applications dans l'esthétique, la métaphysique et l'épistémologie (Doctoral dissertation, Sorbonne université).
28. **Harborne, J. B. (1969).** Chemosystematics of the *Leguminosae*. Flavonoid and isoflavonoid patterns in the tribe *Genisteeae*. *Phytochemistry*, 8(8), 1449-1456.
29. **Hipel, K. W., McLeod, A. J., et Weller, R. R. (1988).** DATA ANALYSIS OF WATER QUALITY TIME SERIES IN LAKE ERIE 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 24(3), 533-544.
30. **Hombach, M., Wolfensberger, A., Kuster, S. P., et Böttger, E. C. (2013).** Influence of clinical breakpoint changes from CLSI 2009 to EUCAST 2011 antimicrobial susceptibility testing guidelines on multidrug resistance rates of Gram-negative rods. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(7), 2385-2387.
31. **Isenhardt, I., Otte, T., Abdelrazeq, A., Solvay, A. F., Henke, C., et Haberstroh, M. (2022).** Role and Effects of Industry 4.0 on the Design of Autonomous Mobility. In *Handbook Industry 4.0: Law, Technology, Society* (pp. 579-593). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
32. **Jourdheuil, P., Grison, P., et Fraval, A. (1991).** La lutte biologique: un aperçu historique. *Courrier de la Cellule environnement INRA*, 15(15), 37-60.
33. **Kabour, A., Mekkaoui, A., Et Chebbah, L. (2016).** Le barrage de Djorf Torba (Béchar, Sud-Ouest Algérien), sous contraintes du climat, de l'environnement et de

gestion. *International Journal for Environment & Global Climate Change*, Juin, 3(5), 23-32.

34. Köhl, J., Kolnaar, R., et Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in plant science*, 845.
35. Larit, F., Elokely, K. M., Chaurasiya, N. D., Benyahia, S., Nael, M. A., León, F., et Cutler, S. J. (2018). Inhibition of human monoamine oxidase A and B by flavonoids isolated from two Algerian medicinal plants. *Phytomedicine*, 40, 27-36.
36. Lattanzio, V., Kroon, P. A., Quideau, S., et Treutter, D. (2009). Plant phenolics—secondary metabolites with diverse functions. *Recent advances in polyphenol research*, 1, 1-35.
37. Leger, L. A., Mercier, D., Gadoury, C., et Lambert, J. (1988). The multistage 20 metre shuttle run test for aerobic fitness. *Journal of sports sciences*, 6(2), 93-101.
38. Lieber, C. S. (1996). Role of oxidative stress and antioxidant therapy in alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Advances in pharmacology*, 38, 601-628.
39. Lograda, T. (2018). Etude caryologique et phytochimique de six espèces endémiques du genre *Genista* En Algérie (Doctoral dissertation).
40. Lograda, T., Chaker, A. N., Chalard, P., Ramdani, M., Chalchat, J. C., Silini, H., et Figueredo, G. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Genista numidica* Spach. and *G. saharae* Coss et Dur. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8(7), 495-499.
41. Maanani, Y., Menacer, A., et Harzelli, I. (2018). Comparative study between sensorless vector control and nonlinear control for PMSM based on extended Kalman filter (EKF). *Selçuk-Teknik Dergisi*, 173-185.
42. Martins, F., Schaerer, D., et Hillier, D. J. (2005). A new calibration of stellar parameters of Galactic O stars. *Astronomy & Astrophysics*, 436(3), 1049-1065.
43. McKeith, I. G., Boeve, B. F., Dickson, D. W., Halliday, G., Taylor, J. P., Weintraub, D., et Kosaka, K. (2017). Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth consensus report of the DLB Consortium. *Neurology*, 89(1), 88-100.
44. Mekkiou, R., Touahar, H., Dijoux-Franca, M. G., Mariotte, A. M., Benayache, S., et Benayache, F. (2005). A new isoflavone from *Genista saharae* (Fabaceae). *Biochemical systematics and ecology*, 635-638.

- 45. Menichini, F., Conforti, F., Rigano, D., Formisano, C., Piozzi, F., et Senatore, F. (2009).** Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four Teucrium essential oils from Greece. *Food Chemistry*, *115*(2), 679-686.
- 46. Meriane, D., Genta-Jouve, G., Kaabeche, M., Michel, S., et Boutefnouchet, S. (2014).** Rapid identification of antioxidant compounds of *Genista saharae* Coss. & Dur. by combination of DPPH scavenging assay and HPTLC-MS. *Molecules*, *19*(4), 4369-4379.
- 47. Messiaen, C. M., Blancard, D., Lafon, R., et Rouxel, F. (1991).** Les maladies des plantes maraîchères. *Les maladies des plantes maraîchères*, 1-568.
- 48. Mina, M., Huber, M. O., Forrester, D. I., Thürig, E., et Rohner, B. (2018).** Multiple factors modulate tree growth complementarity in Central European mixed forests. *Journal of Ecology*, *106*(3), 1106-1119.
- 49. Nõges, P., Argillier, C., Borja, Á., Garmendia, J. M., Hanganu, J., Kodeš, V., et Birk, S. (2016).** Quantified biotic and abiotic responses to multiple stress in freshwater, marine and ground waters. *Science of the Total Environment*, *540*, 43-52.
- 50. Ouadi, L. (2017).** *Effet d'une nouvelle matrice de conservation sur la qualité de poudre des feuilles de Pulicaria odorae séchées à l'air libre* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- 51. Ozenda, P. (1991).** Les relations biogéographiques des montagnes sahariennes avec la région méditerranéenne. *Revue de géographie alpine*, *79*(1), 43-53.
- 52. Pankhurst, C. E., et Lynch, J. M. (2005).** Biocontrol of soil-borne plant diseases.
- 53. Pešić, M., Fengler, F. P. G., Larcher, L., Padovani, A., Schenk, T., Grimley, E. D., et Mikolajick, T. (2016).** Physical mechanisms behind the field-cycling behavior of HfO₂-based ferroelectric capacitors. *Advanced Functional Materials*, *26*(25), 4601-4612.
- 54. Peyrat, L. A., Tsafantakis, N., Georgousaki, K., Ouazzani, J., Genilloud, O., Trougakos, I. P., et Fokialakis, N. (2019).** Terrestrial microorganisms: Cell factories of bioactive molecules with skin protecting applications. *Molecules*, *24*(9), 1836.
- 55. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., et Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, *36*(7), 679-684.
- 56. Sebaihi-Harzoun, S., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Nana, F., Evain-Bana, E., Kirsch, G., et Atmani, D. (2018).** Phytochemical composition, antioxidant

and anti-proliferative properties of *Genista ferox* Poirret. aerial parts. *European Journal of Integrative Medicine*, 23, 6-13.

- 57. Simons-Morton, B. G., et Farhat, T. (2010).** Recent findings on peer group influences on adolescent smoking. *The journal of primary prevention*, 31, 191-208.
- 58. Singh, S., Bhatnagar, S., Choudhary, S., Nirwan, B., et Sharma, K. (2018).** Fungi as biocontrol agent: An alternate to chemicals. *Fungi and their role in sustainable development: current perspectives*, 23-33.
- 59. Soumare, A., Boubekri, K., Lyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., et Kouisni, L. (2020).** From isolation of phosphate solubilizing microbes to their formulation and use as biofertilizers: status and needs. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 425.
- 60. Spector, C. (2017).** Au Prisme de Rousseau. Voltaire Foundation.
- 61. Tosi, E. A., Ré, E., Ortega, M. E., et Cazzoli, A. F. (2007).** Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food chemistry*, 104(3), 1025-1029
- 62. Véla, E., et Benhouhou, S. (2007).** Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *Comptes rendus biologies*, 330(8), 589-605.
- 63. Viegi, G., Scognamiglio, A., Baldacci, S., Pistelli, F., et Carrozzi, L. (2001).** Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Respiration*, 68(1), 4-19.
- 64. Zahoor, I., Mitchell, M. A., Hall, C. S., Beard, P. M., Gous, R. M., De Koning, D. J., et Hocking, P. M. (2016).** Predicted optimum ambient temperatures for broiler chickens to dissipate metabolic heat do not affect performance or improve breast muscle quality. *British poultry science*, 57(1), 134-141.
- 65. Zang, Z., Nakamura, A., et Temmyo, J. (2013).** Single cuprous oxide films synthesized by radical oxidation at low temperature for PV application. *Optics express*, 21(9), 11448-11456.
- 66. Zatout, R., Cimmino, A., Cherfia, R., et Chaouche, N. K. (2021).** Isolation of tyrosol the main phytotoxic metabolite produced by the edible fungus *Agaricus litoralis*. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(10), 5741.
- 67. Zatout, R., et Chaouche, N. K. (2023).** Antibacterial activity screening of an edible mushroom *Agaricus litoralis*. *Int. J. Bot. Stud*, 8, 49-52.

- 68. Zhang, D., Mishra, S., Brynjolfsson, E., Etchemendy, J., Ganguli, D., Grosz, B., et Perrault, R. (2021).** The AI index 2021 annual report. *arXiv preprint arXiv:2103.06312*.