



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH ALGER

Département : Botanique

القسم: علم النبات

Spécialité : Interaction plantes-pathogènes
et protection des plantes

التخصص: تفاعل النباتات - ممرضات النباتات و حماية النبات

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

THEME :

Evaluation de l'effet des métabolites secondaires de *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton produits *in vitro* à l'égard des agents pathogènes associés à la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé.

Présenté par : M^{lle} KHEMIES Sabrina

Soutenu publiquement le :09-07-2023.

Devant le jury composé de :

Président : M^r. KEDDAD A.

Chargé de cours, ENSA.

Promoteur : M^r. KHELIFI L.

Professeur, ENSA.

Co-promotrice : M^{me}. BOUREGHDA H.

Professeur, ENSA.

Examinatrice : M^{me}. LAALA S.

Maître de conférences, ENSA.

Promotion 2018/2023

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	1
II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
II.1. Caractéristiques botaniques et taxonomie de l'espèce <i>Calotropis procera</i>	3
II.1.1. Taxonomie	3
II.1.2. Distribution géographique mondiale.....	3
II.1.3. Caractéristiques botaniques	4
II.2. Production de métabolites secondaires <i>in vitro</i> à partir des chevelus racinaires.....	5
II.2.1. Considérations générales	5
II.2.2. Transformation génétique par <i>Rhizobium rhizogenes</i>	7
II.2.3. Diversité des métabolites secondaires produits par <i>C. procera</i>	8
II.2.3.1. Les alcaloïdes	8
II.2.3.2. Les flavonoïdes	8
II.2.3.3. Les glycosides cardiaques	9
II.2.3.4. Les stéroïdes.....	9
II.3. Le blé	9
II.3.1. Importance économique du blé.....	9
II.3.2. Contraintes abiotiques et biotiques de la culture du blé	10
II.4. La fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé.....	13
II.4.1. Importance économique de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet	13
II.4.2. Agents causaux de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet.....	13
II.4.3. Symptomatologie de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet	14
II.4.4. Cycle de développement de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet	15
II.4.5. Mycotoxines.....	16
II.4.6. Contrôle et moyens de lutte	17
II.4.6.1. Lutte culturale	17
II.4.6.2. Lutte chimique.....	18
II.4.6.3. Lutte biologique	18
II.4.6.4. Lutte génétique.....	19

II.4.6.5. Lutte intégrée.....	19
III. MATERIEL ET METHODES.....	21
III.1. Essai d'induction de chevelus racinaires à partir des vitrosemis de <i>C. procera</i>	21
III.1.1. MATERIEL	21
III.1.1.1. Matériel végétal	21
III.1.1.2. Souches bactériennes	21
III.1.1.3. Milieux de culture	21
III.1.2. METHODES	22
III.1.2.1. Désinfection des graines de <i>C. procera</i>	22
III.1.2.2. Mise en culture.....	22
III.1.2.3. Paramètres étudiés	23
III.1.2.4. Culture et maintenance de <i>R. rhizogenes</i>	23
III.1.2.5. Inoculation des feuilles de vitrosemis de <i>C. procera</i> par <i>R. rhizogenes</i>	23
III.1.2.5.1. Premier protocole d'inoculation.....	23
III.1.2.5.2. Deuxième protocole d'inoculation	24
III.1.2.6. Test d'hypersensibilité sur Tabac	24
III.2. Préparation d'extrait aqueux et méthanolique à partir de vitrosemis de <i>C. procera</i>	24
III.2.1. MATERIEL	25
III.2.1.1. Matériel végétal	25
III.2.1.2. Milieu de culture	25
III.2.2. METHODES	25
III.2.2.1. Préparation du matériel végétal	25
III.2.2.2. Paramètres étudiés	26
III.2.2.3. Préparation de l'extrait méthanolique	26
III.2.2.4. Préparation de l'extrait aqueux	26
III.2.2.5. Filtration de l'extrait végétal.....	26
III.2.2.6. Conservation de l'extrait végétal	26
III.3. Evaluation de l'effet des métabolites secondaires de <i>C. procera</i> à l'égard des agents... pathogènes associés à la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé (<i>in vitro</i>).....	27
III.3.1. MATERIEL	27
III.3.1.1. Matériel végétal	27
III.3.1.2. Matériel fongique.....	27

III.3.1.3. Milieu de culture	27
III.3.2. METHODES	28
III.3.2.1. Préparation des doses de l'extrait végétal	28
III.3.2.2. Repiquage des souches fongiques.....	28
III.3.2.3. Evaluation de l'effet inhibiteur des différents types d'extrait végétal de <i>C. procera</i>	28
III.3.2.4. Analyse statistique	29
IV. RESULTATS ET DISCUSSION	30
IV.1. Résultats	30
IV.1.1. Essai d'induction de chevelus racinaires à partir des vitrosemis de <i>C. procera</i>	30
IV.1.1.1. Germination des graines et obtention des vitrosemis de <i>C. procera</i>	30
IV.1.1.1.1. Taux de germination	30
IV.1.1.1.2. Taux de contamination.....	30
IV.1.1.1.3. Le nombre moyen de feuilles par vitrosemis.....	31
IV.1.1.1.4. La longueur moyenne des tiges des vitrosemis.....	31
IV.1.1.1.5. Poids frais et poids sec des tissus.....	32
IV.1.1.2. Résultats d'inoculation des feuilles des vitrosemis de <i>C. procera</i> par <i>R. rhizogenes</i>	32
IV.1.1.3. Résultats du test d'hypersensibilité sur tabac	33
IV.1.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet des métabolites secondaires de <i>C. procera</i> à l'égard des agents pathogènes associés à la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé	33
IV.1.2.1. Effet des extrait méthanoliques de <i>C. procera</i> sur la croissance mycélienne des agents pathogènes	33
IV.1.2.1.1. Extrait méthanolique à base de racines des vitrosemis de <i>C. procera</i>	33
IV.1.2.1.2. Extrait méthanolique à base de tiges des vitrosemis de <i>C. procera</i>	37
IV.1.2.1.3. Extrait méthanolique à base de feuilles des vitrosemis de <i>C. procera</i>	40
IV.1.2.1.4. Extrait méthanolique à base de feuilles naturelles de <i>C. procera</i>	43
IV.1.2.2. Effet des extraits aqueux de <i>C. procera</i> sur la croissance mycélienne des agents pathogènes.....	46
IV.1.2.2.1. Extrait aqueux à base de racines des vitrosemis de <i>C. procera</i>	46
IV.1.2.2.2. Extrait aqueux à base de tiges des vitrosemis de <i>C. procera</i>	49
IV.1.2.2.3. Extrait aqueux à base de feuilles des vitrosemis de <i>C. procera</i>	52
IV.1.2.2.4. Extrait aqueux à base des feuilles naturelles de <i>C. procera</i>	55

IV.2. Discussion	58
IV.2.1. Développement des vitrosemis de <i>C. procera</i>	58
IV.2.2. Essai d'induction de chevelus racinaires.....	58
IV.2.3. Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet inhibiteur des extraits méthanoliques et aqueux des... vitrosemis de <i>C. procera</i>	58
V. CONCLUSION GENERALE	60
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62

Résumé

Ce présent travail rapporte les résultats d'une évaluation *in vitro* visant à étudier l'effet des métabolites secondaires de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton à l'égard des agents pathogènes responsables de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet du blé. Trois espèces fongiques ont été considérées dans cette étude : *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc., *Microdochium majus* (Wollenw.) Glyn & S.G., and *Microdochium. nivale* (Fr.) & Samuels & I.C. Hallett. Le travail s'est déroulé en trois étapes. Dans un premier temps, un essai d'induction de chevelus racinaires à partir des vitrosemis de *C. procera* est réalisé, en utilisant la bactérie *Rhizobium rhizogenes* (Riker et al., 1930) Young et al. (2001). Ensuite, des extraits aqueux et méthanoliques sont préparés à partir des différentes parties (feuilles, tiges et racines) des vitrosemis de *C. procera*. Enfin, une évaluation *in vitro* de l'effet des métabolites secondaires de *C. procera* contre *F. culmorum*, *M. majus* et *M. nivale* est effectuée. Parmi les extraits végétaux évalués, l'extrait méthanolique à base de tiges des vitrosemis de *C. procera* a montré l'effet inhibiteur le plus significatif contre *F. culmorum* et *M. majus*, avec des taux de réduction de la croissance mycélienne atteignant respectivement 40,8 % et 40 %. De même, l'extrait méthanolique à base de feuilles des vitrosemis de *C. procera* a inhibé la croissance mycélienne de *M. nivale*, avec un taux de réduction de 40,8 %. En ce qui concerne les extraits aqueux, l'extrait à base de racines des vitrosemis de *C. procera* s'est avéré le plus efficace contre *M. majus*, entraînant une inhibition de la croissance mycélienne de 33,8 %. De plus, l'extrait aqueux à base des feuilles naturelles de *C. procera* a présenté un effet inhibiteur considérable contre *M. nivale*, atteignant un taux de réduction de 31,8 %.

Mots clés : Métabolites secondaires, *Calotropis procera*, fusariose de l'épi, pourriture du collet, chevelus racinaires, extrait méthanolique, extrait aqueux, taux d'inhibition.

Abstract

This study presents the results of an *in vitro* evaluation aimed at investigating the effect of secondary metabolites derived from *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton on the pathogens responsible for Fusarium head blight and crown rot. Three fungal species were considered: *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc., *Microdochium majus* (Wollenw.) Glyn & S.G., and *Microdochium. nivale* (Fr.) & Samuels & I.C. Hallett. The study was conducted in three stages. Initially, an induction assay of hairy roots was performed using *Rhizobium rhizogenes* (Riker et al., 1930) Young et al. (2001) in conjunction with *C. procera* vitrosshoots. Subsequently, aqueous and methanolic extracts were prepared from various parts (leaves, stems, and roots) of *C. procera* vitrosshoots. Finally, an *in vitro* evaluation of the impact of *C. procera* secondary metabolites on *F. culmorum*, *M. majus*, and *M. nivale* was conducted. Among the evaluated plant extracts, the methanolic extract derived from *C. procera* stem vitrosshoots exhibited the most significant inhibitory effect against *F. culmorum* and *M. majus*, with mycelial growth reduction rates reaching 40.8% and 40%, respectively. Similarly, the methanolic extract from *C. procera* leaf vitrosshoots suppressed the mycelial growth of *M. nivale*, resulting in a reduction rate of 40.8%. Regarding the aqueous extracts, the root-based extract of *C. procera* vitrosshoots demonstrated the highest efficacy against *M. majus*, leading to a 33.8% inhibition of mycelial growth. Furthermore, the aqueous extract derived from natural *C. procera* leaves exhibited a considerable inhibitory effect against *M. nivale*, with a reduction rate of 31.8%.

Keywords : Secondary metabolites, *Calotropis procera*, , Fusarium head blight, crown rot, hairy roots, methanolic extract, aqueous extracts, inhibition rate.

ملخص

هذا العمل يهدف الى دراسة تأثير المركبات الثانوية لنباتة *Calotropisprocera*(Aiton) W.T. Aiton على الكائنات الفطرية المجهرية المسببة للفة السنابل وتعفن الساق القمح. ثلاثة أنواع من الكائنات الفطرية المرصدة أخذت بعين الاعتبار *Fusarium culmorum* : (Wm.G.Sm.) Sacc., *Microdochiumnivale* Samuels Glyn & S.G., and *Microdochiummajus* (Wollenw.) Glyn & S.G., and *Microdochiumnivale* Samuels. تم إجراء الدراسة على ثلاثة مراحل. المرحلة الأولى، تضمنت اجراء تجربة تحفيز نمو الجذور الشعرية باستخدام البكتيريا *Rhizobium rhizogenes* (Riker et al., 1930) Young et al. (2001)، في الخطوة التالية، تم تحضير مستخلصات ميتانولية ومائية من أجزاء مختلفة (أوراق وسيقان وجذور) من vitrosemis لنبات *C. procera* وأخيرا، تم إجراء تقييم *in vitro* لتأثير المركبات الثانوية لـ *C. procera* على الفطور *F. culmorum*، *M. majus*، و *M. nivale* من بين المستخلصات التي تم تقييمها، أظهر المستخلص الميتانولي لسيقان vitrosemis لنبات *C. procera* تأثيرا مثبتا معتبرا ضد *F. culmorum* و *M. majus* حيث بلغت نسبة تثبيط نموهم 40% و 40,8% على التوالي. كما ثبت المستخلص الميتانولي لأوراق vitrosemis لنبات *C. procera* نمو *M. nivale* ب 40,8 %، فيما يخص المستخلصات المائية المستخلص المائي لجذور vitrosemis لنبات *C. procera* كان له تأثير كبير على *M. majus* حيث قام بتثبيط نموه ب 33,8 % كذلك المستخلص المائي للأوراق الطبيعية قام بتثبيط نمو *M. nivale* بنسبة 31,8 %.

الكلمات المفتاحية: *Calotropis procera*، المركبات الثانوية، الجذور الشعرية، نخر السنابل، تعفن الساق، المستخلص الميتانولي، المستخلص المائي، التثبيط.