

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Agronomiques  
Spécialité / Option : Phytopharmacie et protection des végétaux  
Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

### *Thème*

---

**Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles  
et de l'activité antifongique de la menthe à feuilles  
rondes (*Mentha rotundifolia*)**

---

Présenté par :

- ATTI Maroua
- MELIANI Hadjer

Devant le jury composé de :

Président	: Mme Laouar H.	(MCB)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Examineur	: Mme Chahat N.	(MCB)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Encadreur	: Mme Alliouï N.	(MCA)	Université 8 Mai 1945 Guelma

Juin 2022

## **Remerciements**

*Prières et paix soient sur prophète MOHAMED.*

*Nous remercions ALLAH qui nous a offert la santé, la force, la patience et la volonté pour la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions également les membres du jury: Mme LAOUAR H. d'avoir accepté de présider le jury et Mme CHAHAT N. pour avoir accepté de faire partie du jury et examiner ce travail.*

*Grand merci à notre encadreur Mme ALLIOUI N. pour son aide précieuse, ses conseils, ses encouragements, sa gentillesse, et son accompagnement tout le long de la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi aux techniciennes de nos laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de vie, science de la terre et de l'univers, plus spécialement Mme Louisa, Mme Nadjah et Mahdi.*

*Grand merci pour le personnel de la conservation des forêts de la wilaya de Guelma : Mr. LE CONSERVATEUR, Mme KANNAT A. et Mr AMIROUCHE T. pour leur aide dans la collecte de la plante.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à Mme BENHAMIDA A. qui nous a accueillis dans son laboratoire au niveau de la faculté des sciences et de la technologie et pour son aide dans la caractérisation physicochimique de l'huile, ainsi que pour ses conseils et ses orientations.*

*Sans oublier Mr. ZITOUNI A. pour son aide dans le traitement statistique des résultats. Grand merci Mr. Zitouni pour votre aide et soutien.*

*Enfin, nous remercions tous nos enseignants de la spécialité phytopharmacie qui nous ont accompagné dans notre formation universitaire et à tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce mémoire.*



## *Dédicace*

*« Les mots s'envolent, seuls les écrits restent »*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, mon support dans ma vie pour son confiance : **Mon père.***

*A la femme qui ma bénie par ses prières, qui souffert sans me laisser souffrir, et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : **Mon adorable mère.***

*A mes cher frères : **Montassar, Mouslem, Moatez.** Et ma douce sœur **Malak**, que dieu les protégé et leurs offre le bonheur.*

*A toute ma famille **ATTI** et **BOUHADJAR**, surtout mes oncles **Mabrouk A.** et **Aziz A.** pour leurs encouragements et ses conseils, ma merveilleuse tante **Yamina B.** et son fils **Akrem.***

*Ma belle copine et binôme, **Hadjer** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*À mes compagnons de carrière qui ont partagé ses moments avec moi, que Dieu les protège, prenne soin d'eux et leur accorde le succès : **Dounia, Fatima et Sarah.***

*Sans oublié mes collègues de la promotion surtout **Haroun A.***

## *Maroua*



## *Dédicace*

*« Les mots s'envolent, seuls les écrits restent »*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers **parents** qui m'ont offert leur amour et leur soutien et qui n'ont jamais cessé, de prier pour moi et de m'encourager et m'enseigner la persévérance durant toute mes années d'études, Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mes frères et sœur **Zakarya, Anes, et Khaoula** pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

*A ma chère copine et collègue de ce travail **Maroua** pour sa gentillesse son encouragement*

*A toute ma promo 2022 master 2 spécialement **Amari** que j'ai passé avec eux des moments inoubliables malgré la courte durée.*

*A ta toute ma famille **Meliani et Chekirou***

*Toutes mes collègues et amies*

*J'adresse à tous un grand merci pour tout.*

## *Hadjer*

# Sommaire

Titres	Pages
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction générale .....</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre 01 : Matériel et méthodes.....</b>	<b>11</b>
1.1. Objectifs de l'étude.....	11
1.2. Matériel végétal .....	11
1.2.1. Origine de la plante utilisée .....	11
1.2.2. Situation géographique et caractéristiques climatique de la zone de collecte .....	12
1.2.3. Traitement des échantillons .....	12
1.3. Extraction de l'huile essentielle et détermination du rendement.....	13
1.4. Caractérisation physicochimique des huiles essentielles de <i>Mentha</i> . <i>rotundifolia</i> .....	15
1.4.1. Caractéristiques organoleptiques.....	15
1.4.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	15
1.4.2.1. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	15
1.4.2.2. L'indice d'acide .....	16
1.4.2.3. L'indice de réfraction .....	18
1.4.2.4. Détermination du pH .....	19
1.4.2.5. La spectroscopie par l'UV-Vis .....	20
1.4.2.6. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	21
1.5. Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de <i>Mentha</i> <i>rotundifolia</i> .....	21
1.5.1. Matériel de laboratoire utilisé.....	21
1.5.2. Matériel fongique .....	23

1.5.2.1.Nature des souches .....	23
1.5.2.2.Origines des souches .....	24
1.5.2.3.Culture et conservation des souches.....	24
1.5.3. Evaluation de l'activité antifongiqu .....	24
1.5.3.1.Préparation des suspensions sporales des souches fongiques ..	24
1.5.3.2.Concentrations (Volumes) d'huile essentielle testée.....	25
1.5.3.3.Confrontation Champignons-huile essentielle.....	25
1.6.Analyse statistique des résultats .....	26
<b>Chapitre 02 : Résultats et discussion.....</b>	<b>27</b>
2.1. Rendement en huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i> .....	27
2.2. Caractérisation de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i> .....	28
2.2.1. Caractéristiques organoleptiques.....	28
2.2.2. Caractérisation physico-chimique de l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i> ....	29
2.2.2.1. La chromatographie sur une couche mince .....	29
2.2.2.2. L'indice de réfraction.....	31
2.2.2.3. L'indice d'acide .....	32
2.2.2.4. Le pH .....	32
2.2.2.5. Analyse de spectroscopie à l'UV-Vis.....	32
2.2.2.6. Analyse de la structure par spectroscopie Infra-Rouge à transformée de Fourier (IRTF) .....	34
2.3. Analyse de l'activité antifongique d'HE de <i>Mentha rotundifolia</i> .....	36
2.3.1. Effets de l'huile testée sur <i>Aspergillus niger</i> .....	36
2.3.2. Effets de l'huile testée sur <i>Botrytis cinerea</i> .....	38
2.3.3. Effets d'huile testée sur <i>Fusarium roseum</i> .....	40
2.3.4. Effets d'huile testée sur <i>Zymoseptoria tritici</i> .....	42
 Conclusion.....	 45
Résumés	
Références bibliographiques	

## Liste des abréviations

**FAO**: Food and Agriculture Organization of the United Nations

**Mt**: Millions de tones

**STB** : Septoria Tritici Blotch (la tache septorienne du blé)

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**HE** : Huiles Essentielle

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**Rf** : Rapport frontal

**UV** : Ultra-violet

**IA** : Indice d'acide

**KOH** : Hydroxyde de potassium

$\lambda$  : Longueur d'ondes

**max** : maximum

**IR** : Indice de réfraction

**pH** : potentiel d'Hydrogène

**UV-Vis.** : Ultraviolet-visible

**IRTF** : Infrarouge à transformée de Fourier

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**GC/MS**: Chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse

## Liste des figures :

N°	Titre	Pages
01	Morphologique de <i>Mentha rotundifolia</i>	11
02	Situation géographique de la zone de collecte (Guelaat Bou Sbaa, Guelma)	12
03	Séchage des parties aériennes utilisées de <i>Mentha rotundifolia</i> (Les tiges, à gauche, et les feuilles, à droite)	13
04	Photographie du montage de type <i>Clevenger</i> utilisé pour l'extraction des huiles essentielles	14
05	Cuve de CCM (à gauche) et lampe UV utilisée pour la révélation (à droite)	16
06	Solution avant le titrage (à gauche), et après titrage (à droite).	17
07	Réfractomètre utilisé pour la détermination de l'indice de réfraction	18
08	Papier pH	19
09	Spectroscopie UV-visible de type LANGE DR 6000 utilisé pour l'analyse de l'HE.	20
10	Spectrophotomètre à IRTF utilisé pour l'analyse	21
11	Rendements en huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i>	27
12	Résultat de la chromatographie sur couche mince de l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i>	30
13	à gauche, l'indice obtenu pour l'eau et à droite, l'indice obtenu pour l'HE	31
14	Etalonnage de l'appareil UV-Vis.	32
15	Spectres UV –Vis montrant les pics d'absorption au niveau des deux valeurs de $\lambda$ pour l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i>	33
16	Spectre IRTF de l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i> enregistré dans la région 4000 - 500 $\text{cm}^{-1}$	35
17	Résultats du test de confrontation d' <i>Aspergillus niger</i> et l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i>	36
18	Résultats du test de confrontation de <i>Botrytis ceneria</i> et l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i> .	38
19	Résultats de test de confrontation de <i>Fusarium roseum</i> et l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i> .	40
20	Résultats du test de confrontation de <i>Zymoseptoria tritici</i> et l'HE de <i>Mentharotundifolia</i> .	42



## Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
01	Matériel et réactifs utilisés pour le test de l'activité antifongique	22
02	Propriétés organoleptiques de l'HE de <i>Mentha rotundifolia</i>	28
03	Séparation par CCM des composants de l'HE dans le système d'élution	29
04	Résultat de l'analyse de la variance pour <i>Aspergillus niger</i> confronté à l'huile de la menthe ( <i>Mentha rotundifolia</i> )	37
05	Résultats du test de Dunnett pour <i>Aspergillus niger</i> /HE.de <i>Mentha rotundifolia</i>	37
06	Résultat de l'analyse de la variance pour <i>Botrytis cineria</i> confronté à l'huile de la menthe ( <i>Mentha rotundifolia</i> )	39
07	Résultats de test de Dunnett pour <i>Botrytis cinerea</i> /HE. de <i>Mentha rotundifolia</i>	39
08	Résultat de l'analyse de la variance pour <i>Fusarium roseum</i> confronté à l'huile de la menthe ( <i>Mentha rotundifolia</i> )	41
09	Résultats de test de Dunnett pour <i>Fusarium roseum</i> /HE. de <i>Mentha rotundifolia</i>	41
10	Résultat de l'analyse de la variance pour <i>Zymoseptoria tritici</i> confronté à l'huile de la menthe ( <i>Mentha rotundifolia</i> )	43
11	Résultat du test de Dunnett pour <i>Zymoseptoria tritici</i> /HE de <i>Mentha rotundifolia</i>	44

***Introduction***  
***générale***

### ***Introduction générale***

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) : « La sécurité alimentaire existe lorsque tous les êtres humains ont, à tout moment, un accès physique et économique à une nourriture suffisante, saine et nutritive leur permettant de satisfaire leurs besoins énergétiques et leurs préférences alimentaires pour mener une vie saine et active » (**Laurent, 2016**).

Cependant, malgré les programmes adoptés et les efforts déployés à travers le monde entier, pour le développement agricole et l'amélioration de la productivité des cultures, les rendements restent insuffisants notamment dans les pays en développement, et des millions de personnes souffrent encore de la malnutrition.

A titre d'exemple, et à travers le monde, les céréales ont une importance impérieuse pour les disponibilités alimentaires. Elles représentent l'aliment de base de toute l'humanité directement à travers la consommation des produits céréaliers et indirectement à travers la production animale (**Ben Mbarek et Boubaker, 2017**). En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (**Djermoun, 2009**) et ils revêtent une importance singulière dans ce pays, comme dans la plupart des pays méditerranéens (**Bencharif et Rastoin, 2007**).

Les rendements enregistrés pour ces cultures sont très faibles et sont loin de satisfaire les besoins de la population, et chaque année le pays fait recours aux importations pour assurer la sécurité alimentaire de la population. Selon **Bessaoud (2018)**, l'Algérie est le troisième pays importateur de blé, dans le monde, après l'Égypte (12 MT) et l'Indonésie (8,9 MT) avec un peu plus de 8 millions de tonnes importés en 2017. Le même auteur ajoute que, la facture alimentaire a atteint plus de 9,2 Milliards de dollars sur la période 2011-2017, et à l'intérieur du groupe alimentaire, la facture affectée à l'achat des céréales représente en moyenne 30% du montant total de la facture.

Plusieurs facteurs sont incriminés dans la limitation des rendements des cultures, et la santé des plantes est un facteur déterminant pour les rendements agricoles. En effet, les cultures sont soumises à de nombreuses pressions biotiques et/ou abiotiques, qui peuvent affecter grandement la productivité agricole mondiale (**Laurent, 2016**).

Certains facteurs climatiques (la température et l'amplitude de ses variations, l'eau et sa disponibilité relative, le vent, la lumière, ...) ont de tout temps affecté les végétaux. D'autres maladies abiotiques connaissent une extension plus récente : réactions aux polluants atmosphériques, aux précipitations acides, aux pesticides, aux déséquilibres trophiques, etc. (**Lepoivre, 2003**). Aux facteurs abiotiques sont combinés les stress biotiques qui regroupent les maladies parasitaires (fongiques, bactériennes, virales,...) et les attaques par les ravageurs (insectes, ...), qui affectent considérablement le rendement et la qualité des cultures.

**Laurent (2016)** rapporte qu'en moyenne, 10 à 16% des récoltes mondiales seraient perdues à cause des pressions biotiques, et les changements climatiques engendreraient une augmentation globale des pressions parasitaires.

Parmi les pressions biotiques auxquelles sont soumises les cultures, les maladies cryptogamiques, causées par les champignons, constituent une véritable menace. Qu'ils soient spécifiques ou polyphages, les champignons phytopathogènes (*Puccinia* sp., *Septoria* sp., *Helminthosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Fusarium* sp., ...), occasionnent des pertes considérables des rendements des cultures, notamment dans les régions caractérisées par une humidité et une température favorables au développement de ces pathogènes, et ils provoquent une altération quantitative et qualitative des produits agricoles. **Aouali et Douici-Khalfi (2020)**, signalent que les céréales peuvent être attaquées par plusieurs agents pathogènes et plus particulièrement les champignons, durant leur cycle de développement.

En plus, au-delà des pertes directes au champ, celles cumulées de la récolte jusqu'à la consommation peuvent varier de 25 à 55%. Parmi ces pertes indirectes, on distingue celles liées à la dégradation de la qualité sanitaire des aliments. Ce cas concerne notamment certains pathogènes fongiques qui contaminent les aliments avec des métabolites toxiques, de faible poids moléculaires, physiquement et chimiquement stables: les mycotoxines. On estime que 25% de la production alimentaire mondiale issue des cultures végétales contiendraient des mycotoxines. Les mycotoxines considérées comme les plus problématiques sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, la patuline, le déoxynivalénol, la zéaralénone, les fumonisines et les toxines T-2 et HT-2. Ces métabolites présentent des toxicités variées : hépatotoxique, cancérigène, neurotoxique, perturbateur endocrinien, immunotoxique ou néphrotoxique. Elles sont produites majoritairement par les espèces fongiques du genre *Aspergillus* et *Penicillium* pour les trois premières, et par les espèces du genre *Fusarium* pour les autres (**Laurent, 2016**).

Nous décrivons brièvement certains parasites fongiques répandus sur les céréales et autres cultures d'intérêts économiques et nutritifs importants : les aspergilli, *Aspergillus* sp. (responsables d'aspergilloses), *Fusarium* sp. (responsables de fusarioses), *Zymoseptoria tritici* (responsable de la tache septorienne du blé STB) et *Botrytis cinerea* (responsable de la pourriture grise d'une gamme très large d'espèces botaniques) :

➤ **Les aspergilloses**, causées par des champignons filamenteux du genre *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. parasiticus*,....) sont fréquentes sur les matières organiques en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales,...., et sont réparties dans le monde entier. Les Aspergilli (*Aspergillus* sp.) peuvent avoir un mode de vie saprophytique sur les débris végétaux et sont bien adaptés à la survie dans le sol sous forme de sclérotés, de conidies ou d'hyphes. L'espèce *Aspergillus niger* est l'une des espèces les plus communes dans l'environnement (sol, plantes, aliments). Ce champignon est responsable de la dégradation de certains fruits et légumes (**Broydé et Doré, 2013 ; Metahni, 2012**). Plusieurs travaux ont montré que cet agent pathogène est très destructif pour certaines espèces végétales (**Pawar et al., 2008 ; Sellal et al., 2012 ; Xu et al., 2015 ; Tawfik et al., 2022**).

Le mode de contamination des cultures par les Aspergilli, diffère d'une espèce botanique à l'autre : par le sol, l'air ou les insectes. Pour l'arachide, dont la partie récoltée est directement en contact avec le sol, la contamination se fait par le sol. Le cotonnier est particulièrement sensible à la contamination lors de la floraison ; le champignon semble entrer au niveau des nectaires et remonter dans la fleur. Quant au maïs, il peut être contaminé à l'anthèse, à travers la colonisation des soies via lesquelles le champignon remonte jusqu'à l'épi, ou via des vecteurs arthropodes directement dans les grains. Les blessures d'insectes sont associées à la présence de champignons et de mycotoxines dans toutes les cultures citées. D'une part, ces blessures permettent l'entrée d'inoculum porté par le vent dans la partie comestible de la plante et, d'autre part, les insectes peuvent être eux-mêmes porteurs d'inoculum (**Broydé et Doré, 2013**).

*Aspergillus niger*, est une espèce très répandue dans le monde entier, elle est à l'origine de la moisissure noire sur les débris végétaux. Elle vit le plus souvent, en saprophyte mais acquiert parfois un pouvoir pathogène. Elle est connue principalement comme l'agent de la moisissure des germes et des plantules (Maïs, Riz, Sorgho, céréales en général), des fruits (banane, ananas, figue, vanille), de la Canne à sucre, du Tabac, des graines de Cotonnier, des graines, germes et plantules

d'arachides... (**Bouhot et Mallamaire, 1965**). **Xu et al. (2015)** ont montré que cet agent pathogène provoque des pourritures racinaires chez certaines plantes.

Les champignons de type *Aspergillus*, produisent des aflatoxines au champ surtout dans les plantes à graines oléagineuses et les noix cultivées en zones tropicales. Deux champignons, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*, sont majoritairement responsables de la présence d'aflatoxines dans le maïs, le coton, l'arachide et les fruits à coque. *A. flavus* est présent dans toutes ces cultures, et *A. parasiticus* surtout dans l'arachide (**Broydé et Doré, 2013**).

➤ **Les fusarioses**, causées par *Fusarium* sp. sont des agents phytopathogènes agressifs connus comme agents fongiques responsables de flétrissement et de maladies vasculaires d'une large gamme de cultures.

*Fusarium graminearum* est un des agents majoritaires responsables de la fusariose des épis des céréales. L'infection des céréales par ces pathogènes amène à des pertes de rendement au champ ainsi que des contaminations des grains par des mycotoxines. L'occurrence de *F. graminearum*, et ses conséquences, sont problématiques : les méthodes de luttés actuelles ne protègent pas contre l'apparition de ce pathogène au champ et contre les contaminations des grains en mycotoxines (**Laurent, 2016**).

*Fusarium roseum* (Link) Sn. et H., fait partie également du groupe des agents responsables de la fusariose des épis, la maladie se manifeste chez le blé par le dessèchement précoce de certains épillets. Les grains issus des épillets contaminés sont envahis par le parasite et prennent une coloration blanche ou rose. La gravité de l'attaque peut être appréciée par le pourcentage d'épillets présentant des symptômes (**Saur et al., 1993**).

La fusariose de l'épi de blé est initiée par le dépôt de spores matures sur des épis de blé en fleur. Ces spores germent, colonisent les anthères extrudées, généralement dans la partie médiane de l'épi, où commence la floraison et où l'humidité est supérieure à celle des autres épillets. Ils entrent dans la fleur et se développent afin de rejoindre la graine en formation, les bractées florales et le rachis. La pénétration dans l'épi peut également avoir lieu en surface des glumes ou via des ouvertures. Le pathogène circule via le rachis et colonise préférentiellement les épillets adjacents et plutôt inférieurs à l'infection. Des spores sexuées et asexuées peuvent ensuite être produites à la surface des plantes infectées ou des résidus de culture lorsque l'humidité est élevée (**Siou, 2013**).

➤ **La pourriture grise**, est causée par le champignon *Botrytis cinerea*. Ce champignon est un polyphage qui s'attaque à une multitude de plantes (fraises, vigne, courgette, tomate, ...). La maladie est assez fréquente sous-serre.

*B. cinerea* est un champignon ascomycète, parasite ou saprophyte. La pourriture grise débute par des nécroses brunes sur les feuilles qui se développent de façon concentrique autour de la tache originale. Les nécroses peuvent apparaître au centre du limbe après un choc ou à la périphérie en cas de dessèchement. Si l'attaque se prolonge, un feutrage grisâtre apparaît donnant aux organes attaqués l'aspect de poussière grise. Au moindre contact, un nuage se soulève emporté par le plus léger souffle de vent. A ce moment-là, la maladie est en train de se transmettre aux plantes voisines sur les boutures florales et les fleurs. Après la naissance d'une petite tache brune sur un ou plusieurs pétales, le champignon provoque la chute des fleurs en quelques jours. Ce champignon peut attaquer tous les organes des plantes hôtes, mais surtout les grappes et les fruits à l'approche de la maturité (Cheriet et al., 2004).

➤ **La tache septorienne du blé**, est l'une des maladies les plus rencontrées sur la culture du blé dans toutes les zones de production, et responsable d'importantes pertes de rendement. La tache septorienne du blé (STB) est causée par le champignon ascomycète *Mycosphaerella graminicola* / *Zymoseptoria tritici* (Allioui, 2015 ; Mejri, 2018). Ce pathogène est présent partout dans le monde, là où le blé est cultivé. Il est considéré comme le pathogène le plus destructif dans les pays du bassin méditerranéen, l'Afrique et l'Amérique du sud. L'importance économique de la septoriose foliaire découle des pertes de rendement importantes qu'elle occasionne sur le blé, surtout quand les trois dernières feuilles sont sévèrement touchées. En Australie, des épidémies importantes ont été enregistrées chez des variétés précoces et les dégâts ont atteint 50% dans les régions à pluviométrie élevée. En Uruguay et au Brésil, les pertes de rendement étaient de l'ordre de 60 et 50% respectivement. Dans les pays européens, les pertes de rendements peuvent atteindre 30 à 40% (Allioui, 2015 ; Bel Hadj Chedli, 2020).

Ce champignon ascomycète filamenteux, se propage à la fois par des spores sexuées (ascospores) et asexuées (pynidiospores) qui sont dispersées respectivement par le vent et par la pluie. La source principale d'inoculum primaire est constituée d'ascospores qui infectent la culture à l'automne. Les pynidiospores interviennent dans la phase épidémique qui a lieu principalement au printemps et au début de l'été. Lorsqu'une spore est interceptée par une feuille, l'infection a lieu si des conditions favorables sont réunies, notamment d'un point de vue microclimatique.

L'infection est suivie par une phase asymptomatique (période de latence). Cette période est relativement longue, soit de 11 à 42 jours, selon les conditions environnementales. La mise en place des structures reproductrices (pycnides) coïncide avec une intensification du développement du champignon qui conduit à la destruction des tissus hôtes (phase nécrotrophe). Les symptômes se présentent sous la forme de lésions nécrotiques contenant des pycnides sombres qui apparaissent au moment de la sporulation. Les pycnidiospores produites dans les pycnides sont libérées dans des cirrhes lorsque l'humidité est suffisamment élevée et peuvent ensuite être dispersées sous l'action de la pluie (**Vidal, 2017**).

La lutte contre les maladies des plantes peut se faire par différentes modalités, notamment la lutte chimique, qui repose sur l'utilisation des pesticides, la lutte physique, qui repose sur l'utilisation de procédés physiques, tels que l'arrachage et l'incinération des parties malades des plantes, la thermothérapie, par utilisation de températures élevées pour détruire les agents pathogènes, l'exposition des produits contaminés à des radiations ionisantes, ... ; la lutte culturale repose sur le choix du matériel végétal indemne de toute contamination et des pratiques culturales appropriées pour limiter et empêcher la contamination des plantes et la dissémination des agents pathogènes. La lutte biologique quant à elle, elle repose sur l'utilisation d'organismes vivants pour combattre les ennemis des plantes. L'utilisation de différentes méthodes combinées, permet de définir le concept de « lutte intégrée ».

La lutte chimique par utilisation de pesticides demeure la plus utilisée. **Cognez (2020)** rapporte que, les pesticides sont les substances employées pour repousser, détruire ou combattre des organismes nuisibles tels des plantes, animaux, champignons ou bactéries qui interfèrent avec les activités humaines. Selon leur cible, il s'agit principalement d'herbicides, de fongicides et d'insecticides.

Selon **Cruz (2015)**, le mot « pesticide » désigne :

- **Les produits phytopharmaceutiques** : qui comprennent, « les substances actives utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes (plantes, animaux, champignons, bactéries) pouvant nuire au développement des cultures ». Ils peuvent être utilisés en agriculture mais aussi pour des usages non agricoles.



- **Les biocides** : qui sont « des substances actives ou des préparations contenant une ou plusieurs substances actives destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action chimique ou biologique ».
- **Les antiparasitaires à usage vétérinaire** : qui peuvent être appliqués sur les animaux domestiques ou d'élevage.

**Aloui (2020)** rapporte que, les produits phytosanitaires contiennent une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. La plupart de ces produits sont, de nature organique dont un petit nombre est extrait ou dérivé des plantes. Les formulations sont en générale composées d'une ou plusieurs substances actives et d'un ou plusieurs adjuvants. La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique, mais capable de modifier des propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation.

La formulation correspond, aussi, à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Obtenue par le mélange des matières actives et des adjuvants elle se présente sous une multitude de formes, solides ou liquides (**Aloui, 2020**).

Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées: les herbicides, les fongicides et les insecticides. À celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots essentiellement), les corvicides et les corvifuges (contre les oiseaux ravageurs de culture et surtout les corbeaux) et enfin les répulsifs (**Merhi, 2008**).

**Cognez (2020)** signale que, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 1000 produits pesticides sont utilisés à travers le monde en agriculture. L'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) rapporte des augmentations régulières des quantités de pesticides utilisées dans le monde depuis les années 1990. L'intensification de l'agriculture, en

réponse au risque de crise alimentaire lié à l'explosion démographique mondiale, en est la principale explication.

Les fongicides agricoles sont parmi les pesticides les plus utilisés, ils permettent de combattre les champignons phytopathogènes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et les récoltes. Les pertes potentielles provoquées par les maladies fongiques sont estimées entre 10 et 30%. En dehors des effets quantitatifs, il existe des champignons pouvant affecter les qualités des productions végétales comme la présence de mycotoxines toxiques pour l'homme, ou des altérations organoleptiques comme la présence de *Botrytis cinerea* sur le raisin (**Batsch, 2011**).

Cependant, les effets non intentionnels des pesticides ne sont pas à démontrer, et beaucoup de travaux ont montré que l'utilisation non raisonnée et la durée d'exposition aux pesticides induits des effets néfastes sur l'environnement, le consommateur et le manipulateur.

Pour préserver les cultures, respecter l'environnement et protéger le consommateur, la recherche de molécules naturelles et biologiques (biopesticides), efficaces, respectueuses de l'environnement et de la santé publique, et biodégradables s'impose depuis plusieurs années, afin de limiter l'emploi de pesticides chimiques et minimiser les risques liés à leur utilisation non raisonnée.

Les extraits de plantes médicinales et aromatiques sont parmi les molécules naturelles qui attirent actuellement l'attention des chercheurs, à cause de leurs effets antimicrobiens et antioxydants, et beaucoup de résultats satisfaisants ont été obtenus pour certaines plantes, notamment celles appartenant à la famille des lamiacées.

Les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales sont parmi les extraits naturels qui ont enregistré beaucoup de succès par leur pouvoir antimicrobien contre plusieurs champignons phytopathogènes. Ce sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par différentes méthodes : par hydrodistillation (**Touré, 2015**), par entraînement à la vapeur et par Micro-ondes (**Randrianarivelo, 2010**), par extraction au CO<sub>2</sub> supercritique (**Bouزيد, 2018**)...

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que : les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées et les Poacées. Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal : les feuilles et

sommités fleuries (ex: lavande, menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex: gingembre), dans les écorces (ex: cannelles), le bois (ex: camphrier), les fruits (ex: citron), les graines (ex: Muscade) et sont contenues dans des structures spécialisées à savoir : les poils, les canaux sécréteurs et les poches. Ce sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpènes volatils et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Lakhdar, 2015**). Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques qui est importante pour attirer les insectes pollinisateurs. En plus, les huiles essentielles jouent un rôle défensif contre les prédateurs et les maladies. Ce rôle est lié à leur activité antibactérienne, antifongique et antivirale assurant une protection des plantes (**Bouziid, 2018**).

Environ 50 000 à 80 000 plantes fleuries sont utilisées à des fins médicales par des personnes du monde entier. Selon l'OMS, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées par 70 à 80 % de la population mondiale pour leurs propriétés médico-thérapeutiques. La famille des *Lamiaceae* est l'une des plus grandes familles de dicotylédones, de nombreuses espèces étant très parfumées en raison de la présence de structures glandulaires externes qui génèrent de l'huile volatile. Cette huile est utilisée dans les secteurs des pesticides, des médicaments, des arômes, de la parfumerie, des arômes et des cosmétiques (**Venkatashappa et Sreenath, 2013**).

Cette famille comprend plus de 3000 espèces qui caractérisent les climats de type méditerranéen (**Hilan et al., 2006**). Parmi les genres de cette famille, figurent les menthes qui sont des plantes vivaces herbacées de 40 à 60 cm. Elles sont vigoureuses et leurs racines souterraines sont envahissantes. Les espèces de la menthe s'hybrident très facilement d'où l'existence de nombreuses variétés (**Benbouali, 2006 ; Šarić-Kundalić, 2009**).

La menthe pommère ou menthe à feuilles rondes (*Mentha suaveolens* Ehrh.), l'une des espèces de *Mentha*, est une plante aromatique au parfum sucré qui pousse près des cours d'eau et dans les zones humides (**Son et al., 2018**). Cette espèce a longtemps été connue sous le nom de *M. rotundifolia* (L.) Huds. Elle est apparue la première fois dans l'espèce *Plantarum* (1753) de Linné, comme une Variété de *M. spicata*. Trois synonymes sont trouvés dans la littérature de 1753 à nos jours: *M. macrostachya* Ten., *M. rotundifolia* (L.) Huds., *M. rotundifolia* auct, non (L.) Huds. Cette menthe colonise les lieux humides le long des fossés, et le bord des chemins. *Mentha suaveolens* L. est principalement une plante de plaine de la région méditerranéenne, de l'Afrique du Nord, mais aussi de l'Europe de l'ouest et de l'Europe centrale. C'est une plante vivace à tiges dressées, à

feuilles épaisses et arrondies, à fleurs blanches ou roses, en glomérules nombreux, disposés eux-mêmes en épis terminaux allongés, grêles, cylindriques, compactes. *Mentha suaveolens* L. présente la diversité morphologique la plus faible de toutes les espèces de la section *Mentha*. Le nombre de chromosomes de cette espèce est de 24 (**Benabdallah, 2017**).

Selon **Leblalta (2018)**, cette espèce est classée comme suit :

<b>Règne</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	: <i>Tracheophyta</i>
<b>Sous embranchement</b>	: <i>Spermatophytes</i>
<b>Classe</b>	: Dicotylédones
<b>Super Classe</b>	: Gamopétales
<b>Ordre</b>	: <i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	: <i>Lamiaceae</i>
<b>Genre</b>	: <i>Mentha</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Mentha rotundifolia</i> (Linné ,1962)

Plusieurs travaux ont porté sur les extraits et les huiles essentielles des espèces de la famille des lamiacées et ont prouvé leurs effets antimicrobiens, notamment *Mentha rotundifolia* (**El Arch et al., 2003 ; Brada et al., 2007 ; Derwiche et al., 2010 ; Riahi et al., 2013 et Leblalta et al., 2020**).

L'objectif visé par cette étude est de déduire le potentiel de rendement en huiles essentielles de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*), de la région de Guelma (Algérie) et de tester ses effets fongicides contre quelques champignons phytopathogènes, notamment, l'agent de la pourriture grise (*Botrytis cinerea*), l'agent de la septoriose des feuilles du blé (*Zymoseptoria tritici*), l'agent de la fusariose des céréales (*Fusarium roseum*) et *Aspergillus niger*, agent de maladies et d'altération de plusieurs produits agricoles, au champ et dans les locaux de stockage.

Le présent document comporte une introduction générale, un premier chapitre qui décrit le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes manipulations réalisées, pour répondre aux objectifs du travail, un deuxième chapitre qui présente les résultats obtenus et leur discussion, et en fin une conclusion.

# *Chapitre 01*

*Matériel et méthodes*

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Objectifs de l'étude

Cette étude vise à déterminer le potentiel de rendement des huiles essentielles de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*) et les caractéristiques physicochimiques et de tester son activité antifongique à l'égard de quelques champignons phytopathogènes, en vue de son utilisation éventuelle comme biopesticide.

### 1.2. Matériel végétal

Cette étude a porté sur les parties aériennes (feuilles et tiges) de l'espèce *Mentha rotundifolia* (**Fig. 01**). Cette espèce a été choisie pour les raisons ci-dessous :

- Son usage thérapeutique traditionnel (Préparation des tisanes et autres), pour le traitement de maladies et d'infections microbiennes.
- Sa grande répartition, comme patrimoine botanique naturel dans de nombreuses régions du pays, plus particulièrement dans le nord Est Algérien.
- Peu d'informations sont disponibles dans la littérature sur les propriétés biopesticides, et plus spécifiquement les activités antifongiques des huiles essentielles de cette plante aromatique.



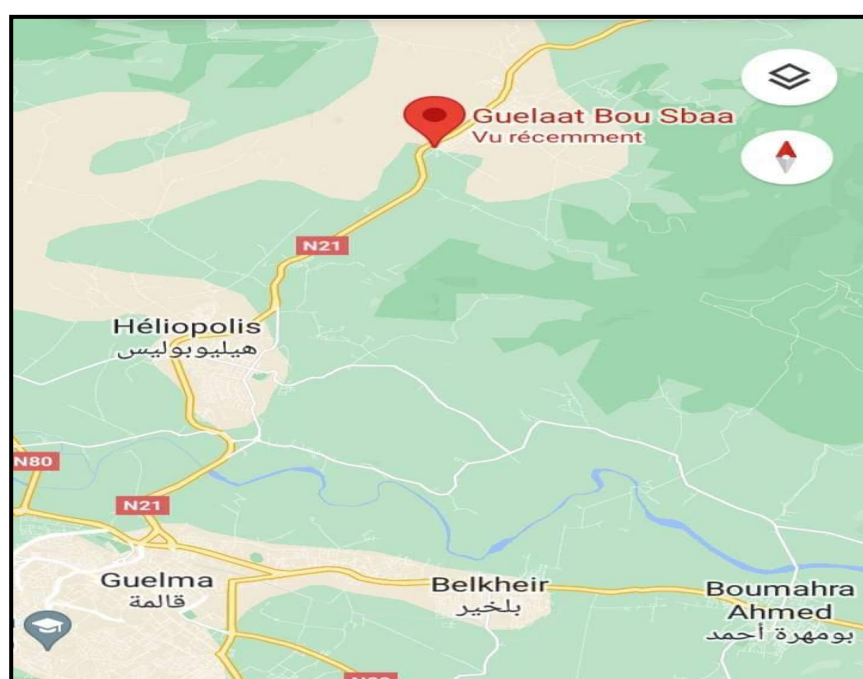
**Figure 01** : Morphologique de *Mentha rotundifolia* (Photo personnelle)

#### 1.2.1. Origine de la plante utilisée

La menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*) utilisée dans cette étude a été collectée de la commune de Guelaat Bou Sbaa wilaya de Guelma.

### 1.2.2. Situation géographique et caractéristiques climatique de la zone de collecte

La wilaya de Guelma se situe au Nord-Est de l'Algérie. Guelaat Bou Sbaa (**Fig. 02**), lieu de collecte de la plante, est l'une des communes de la wilaya de Guelma ; elle se localise à une latitude de 36° 32' 45" Nord, une longitude de 7° 28' 31" Est et une altitude de 353m par rapport au niveau de la mer. Elle se caractérise par un climat méditerranéen avec un été chaud [1].



**Figure 02** : Situation géographique de la zone de collecte  
(Guelaat Bou Sbaa, Guelma) [2]

### 1.2.3 Traitement des échantillons

La plante a été collectée durant la période Février-Mars 2022. Les parties aériennes (feuilles et tiges) ont été nettoyées et séchées à l'ombre dans une chambre bien aérée et à la température ambiante pendant 20 jours (**Fig. 03**).



**Figure 03** : Séchage des parties aériennes utilisées de *Mentha rotundifolia*  
(Les tiges, à gauche, et les feuilles, à droite)

Après le séchage, les échantillons ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique au niveau du laboratoire, puis ils ont été conservés dans des sacs en papier propres jusqu'à l'utilisation.

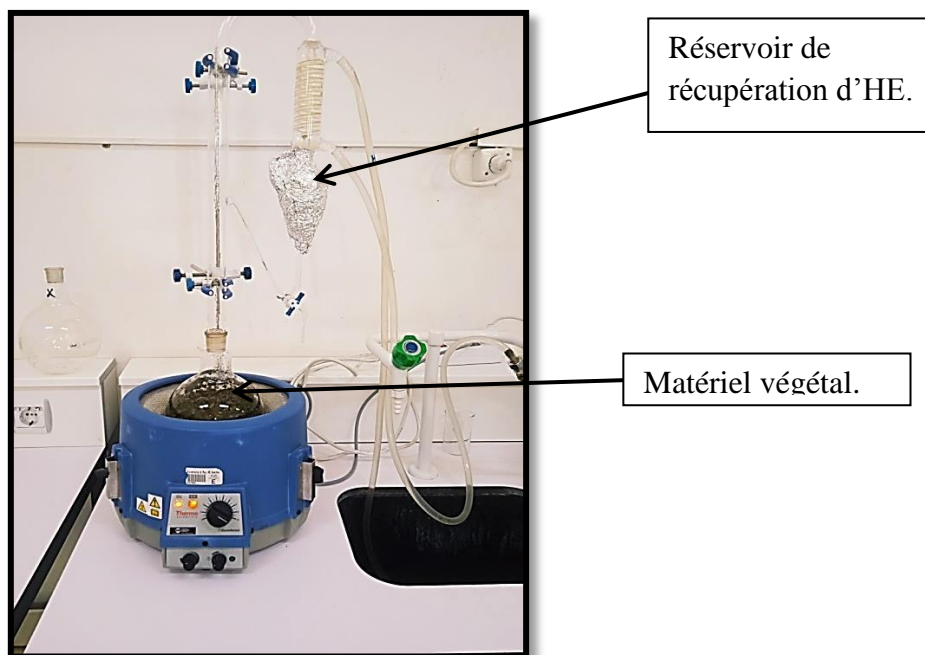
### 1.3. Extraction de l'huile essentielle et détermination du rendement

L'huile essentielle (HE) a été extraite par hydrodistillation en utilisant un appareil de type *Clevenger* (**Fig. 04**) au niveau des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de vie et des sciences de la terre et de l'univers de l'université 8 Mai 1945 de Guelma.

- **Principe de l'hydro-distillation**

Une quantité de 100 g du matériel végétal (feuilles ou tiges) est immergée dans l'eau distillée, dans un ballon de 2 litres, le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon, attaché à un bac contenant de la glace, pendant 3 heures de temps. Les molécules volatiles (HE) s'évaporent et se condensent sous l'effet du froid, dans un réservoir localisé en haut de l'appareil (**Fig. 04**), et en fin de la réaction, l'huile essentielle est récupérée dans des flacons en verre fumés et bien fermés pour éviter son oxydation à la lumière et sa volatilisation. La conservation de l'huile se fait au congélateur, selon les recommandations de **Zahalka (2010)**.





**Figure 04** : Photographie du montage de type *Clevenger* utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (Photo personnelle)

- **Détermination du rendement en huiles essentielles**

Le rendement en huile essentielle est estimé par le rapport des masses de l'huile essentielle et de la matière végétale séchée. Il est exprimé en pour cent (%) selon la formule ci-dessous décrite par **Bousbia (2011)**. Une moyenne de 03 distillations a été retenue, aussi bien pour les tiges que pour les feuilles.

$$\text{Rdt HE} = \frac{\text{MHE}}{\text{MVS}} \times 100$$

Où :

**Rdt HE** : Rendement en huile essentielle (%) ;

**MHE** : Masse de l'huile essentielle (g) ;

**MVS** : Masse de la matière végétale sèche (g).

## 1.4. Caractérisation physicochimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*

Cette partie du travail a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique du département de Génie des Procédés de la Faculté des Sciences et Technologie, Université 8 mai 1945 Guelma, sous la direction du Professeur BENHAMIDA A. Deux séries d'analyses ont été effectuées, des analyses organoleptiques et des analyses physicochimiques, et pour chaque série, un certain nombre de paramètres ont été évalués.

### 1.4.1. Caractéristiques organoleptiques

L'aspect, la couleur et l'odeur sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'une huile essentielle.

### 1.4.2. Caractéristiques physico-chimiques

Comme les propriétés organoleptiques ne donnent que des informations très limitées sur les huiles essentielles, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. Plusieurs paramètres ont été évalués :

#### 1.4.2.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Selon **Jazy (2018)** La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique qui repose sur la séparation des substances chimiques par migration et adsorption sur un support ou phase stationnaire polaire, dans une phase mobile ou éluant, en fonction de leur nature, du pouvoir éluant de la phase mobile, et du pouvoir adsorbant du support.

- **Méthode de séparation par la CCM**

La séparation des constituants se fait en plusieurs étapes :

- Une ligne de 1.5 cm est tracée (trait horizontal) à la base d'une plaque de CCM (feuille de chromatographie).
- Une goutte d'HE est posée sur la ligne de dépôt avec une pipette pasteur.
- La plaque est placée horizontalement dans la cuve (**Fig. 05**).
- Verser une quantité de solvant (le cyclohexane), son niveau ne doit pas excéder 1 cm.
- Fermer la cuve et attendre jusqu'à la fin de la migration de l'échantillon.
- La plaque est retirée lorsque la migration atteint le niveau du front.

- La visualisation de la plaque se fait à l'aide d'une lampe UV de longueur d'onde = 254 nm (**Fig. 05**).



**Figure 05** : Cuve de CCM (à gauche) et lampe UV utilisée pour la révélation (à droite).

- **Analyse de la plaque CCM et mode de calcul**

Le rapport frontal (Rf): ce facteur symbolisé par Rf est défini comme étant le rapport de la distance entre la tache du produit et l'origine d'une part (d) et la distance entre l'origine et le front de solvant (D) d'autre part (**Berreghioua, 2016**).

$$Rf = \frac{d}{D}$$

#### 1.4.2.2.L'indice d'acide

L'indice d'acide (IA) est défini par le volume de KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans 1 g d'HE. Il est basé sur le titrage des acides libres avec l'hydroxyde de potassium titré, en présence de phénolphthaléine. En ajoutant le KOH alcoolique neutralisé, jusqu'au changement de la couleur au rose dans la solution alcoolique du corps gras si l'acidité est forte (**Amara et al., 2019**).

- **Préparation de la solution KOH**

Une quantité de 11.22 g de KOH a été pesée et versée dans 60 ml d'eau distillée, la dissolution se fait à l'aide d'un agitateur magnétique, puis la solution est versée dans une fiole de 200 ml et complétée jusqu'à 200 ml par l'eau distillée, bien mélangée et versée dans une burette pour titrage.

- **Titration d'HE avec le KOH**

Dans un bécher, 0.2 g d'HE sont pesés, auxquelles sont ajoutés 5 ml d'éthanol 96 %, après agitation, 3 gouttes de phénolphthaléine sont ajoutées, ce dernier est utilisé comme indicateur coloré. Le liquide est ensuite neutralisé avec la solution de KOH (1 mol/L). Le titrage est arrêté au moment du virage de la couleur (**Fig. 06**), et le volume de KOH consommé (V) est noté.

- **Mode de calcul**

L'indice d'acide est donné par la formule suivante (**Fernandez et Chemat, 2012**)

$$I_A = \frac{56,1 \times C \times V}{m}$$

Où :

V = volume de KOH

m = masse d'huile

56.1 = masse de KOH

C = Concentration de la solution de KOH.



**Figure 06:** Solution avant le titrage (à gauche), et après titrage (à droite).

### 1.4.2.3.L'indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une matière est une grandeur qui caractérise le pouvoir qu'a cette matière, à ralentir et à dévier la lumière. L'indice de réfraction d'une matière est mesuré à l'aide d'un réfractomètre (**Fig. 07**). Ce dernier est calculé par le rapport entre la sinuosité de l'angle d'incidence et de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée (**Bourkhiss et al., 2015**).



**Figure 07:** Réfractomètre utilisé pour la détermination de l'indice de réfraction

#### • *Mode opératoire*

- Ouvrir le prisme secondaire puis déposer 2 ou 3 gouttes de l'HE sur la partie centrale du prisme principal;
- Fermer doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince;
- Attendre que la température soit stable pour effectuer la mesure. La valeur de mesure pour un échantillon liquide étant modifiée suivant le changement de température;
- Lire l'indicateur de température pour connaître le degré de mesure réelle, et le joindre sans faute à la valeur mesurée.

• *Méthode de calcul*

Selon **Fernandez et Chemat (2012)**, l'indice de réfraction, est donné par l'équation suivante où la température référence est de  $t=20^{\circ}\text{C}$  pour les huiles essentielles qui ne se trouvent pas à l'état liquide à cette température :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0.0004(t' - t)$$

Où :

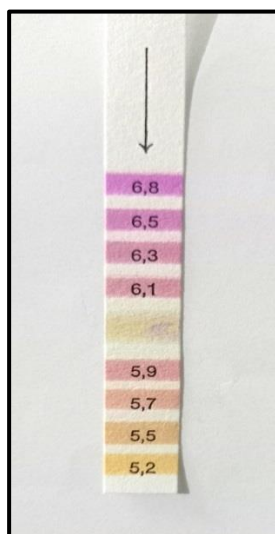
$n_D^{t'}$  est la valeur de lecture, obtenue à la température  $t'$ , à laquelle a été effectuée la détermination. Le résultat est présenté avec quatre décimales.

#### 1.4.2.4. Détermination du pH

Le pH, ou potentiel hydrogène, désigne, en chimie, une mesure de l'activité chimique des ions  $\text{H}^+$  (protons). Plus concrètement, le pH mesure l'acidité ou l'alcalinité d'une solution : à  $25^{\circ}$ , une solution est neutre si son pH est égal à 7 ; en dessous de 7, la solution est acide (et d'autant plus qu'on s'éloigne de 7), au-dessus de 7, la solution est basique (ou alcaline) [3].

• *Mode opératoire*

- Mettre quelques gouttes d'HE de l'échantillon à tester sur un bout de papier pH (**Fig. 08**).
- Après le changement de la couleur du papier, comparer avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.



**Figure 08** : Papier pH

#### 1.4.2.5. La spectroscopie par l'UV-Vis

La spectroscopie ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (200 nm - 400 nm), du visible (400 nm - 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm - 1400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électroniques. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide. Le spectre électronique est la fonction qui relie l'intensité lumineuse absorbée par l'échantillon analysé en fonction de la longueur d'onde (Hamri, 2013). La **figure 09**, présente le modèle de spectrophotomètre utilisé pour l'analyse.



**Figure 09:** Spectroscopie UV-visible de type LANGE DR 6000 utilisé pour l'analyse de l'HE.

- **Mode opératoire**

- Nettoyer la cuve avec le cyclohexane (le solvant utilisé).
- Remplir la cellule de référence avec du cyclohexane et l'introduire dans le spectrophotomètre UV afin d'effectuer une ligne de base.
- Remplir à nouveau la cuve de cyclohexane et ajouter quelques gouttes d'huile essentielle pour l'analyse.
- Placer la cuve remplie dans le spectromètre UV, où elle est traversée par le faisceau lumineux.

#### 1.4.2.6. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie d'absorption infrarouge est une technique qui permet de détecter et caractériser les liaisons chimiques présentes dans un échantillon et les groupements fonctionnels, et les comparer à celle de la littérature (Hollner, 2009).

- **Mode opératoire**

L'analyse a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre de type Perkin Elmer Spectrum one (Fig. 10). Dans un premier temps il faut nettoyer la zone de dépôt par le chloroforme puis une goutte d'HE est versée dans une cuve en cristal et analysée. Le test est piloté par ordinateur et le spectre s'affiche.



Figure 10: Spectrophotomètre à IRTF utilisé pour l'analyse

### 1.5. Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*

L'activité antifongique de cette huile a été testée à l'égard de quatre souches fongiques, in vitro, sur un milieu PDA, par la méthode de diffusion à travers des disques, selon le protocole décrit par Adebayo *et al.* (2013).

#### 1.5.1. Matériel de laboratoire utilisé

Le matériel et les produits utilisés pour le traitement de cette partie sont décrits dans le tableau 01.



**Tableau 01** : Matériel et réactifs utilisés pour le test de l'activité antifongique

Matériel	Réactifs et produits
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Balance de précision</li> <li>- Balance analytique</li> <li>- Autoclave</li> <li>- Bec bunsen</li> <li>- Flacons de 250 ml</li> <li>- Bain marie</li> <li>- Béchers</li> <li>- Anse de platine</li> <li>- Tubes coniques stérile</li> <li>- Vortex</li> <li>- Pipettes pasteur</li> <li>- Cellule malassez</li> <li>- Microscope optique</li> <li>- Boites de Pétri</li> <li>- Micropipettes (100 et 1000) + embouts</li> <li>- Pince</li> <li>- Les disques de papier wattman</li> <li>- Parafilm,</li> <li>- Etuve</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eau distillée</li> <li>- Eau distillée stérilisée</li> <li>- Eau de javel</li> <li>- Alcool (éthanol)</li> <li>- Milieu de culture (PDA)</li> <li>- Eau physiologique</li> <li>- Huile essentielle de la menthe à feuilles rondes (<i>Mentha rotundifolia</i>)</li> </ul>

## 1.5.2. Matériel fongique

### 1.5.2.1. Nature des souches

Quatre souches fongiques phytopathogènes ont fait l'objet de cette étude :

#### ➤ *Aspergillus niger*

*A. niger* est un champignon ascomycète de la classe des Euascomycètes (Eurotiomycètes) et la famille de *Trichomaceae*. C'est l'une des espèces d'*Aspergillus* les plus communes responsables de la pourriture après la récolte des fruits frais, c'est une mycète mésophile : sa température de croissance optimale est de 20-40 °C, avec une bonne croissance à 37 °C. Il peut survivre à 60 °C [4].

#### ➤ *Botrytis cinerea*

C'est un champignon phytopathogène ubiquiste, responsable de la pourriture grise. La maladie causée par cet agent pathogène est économiquement redoutable et importante car ce champignon attaque plus de 230 espèces de plantes (Kadri et al., 2014). Ce champignon comme beaucoup d'autres, connaît une double classification (Ajouz, 2009) :

- une forme parfaite (téléomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetzl. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des *Léotiales*, et la famille des *Sclerotiniaceae*.
- une forme imparfaite (anamorphe), *Botrytis cinerea* Pers. C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, et la famille des *Moniliaceae*.

#### ➤ *Fusarium roseum*

*F. roseum* est un champignon ascomycète appartenant à la classe d'Euascomycètes, famille d'*Hypocreaceae*. *Fusarium* sp. est reconnu surtout pour se développer dans les récoltes des céréales (grains, paille et foin) ; toutefois, plusieurs espèces peuvent être trouvées occasionnellement sur une variété de substrats [5].

#### ➤ *Zymoseptoria tritici*

*Zymoseptoria tritici* est la forme imparfaite (anamorphe) de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé. Cette maladie est présente chez le blé pendant tout le cycle de la plante, dès l'apparition des premières feuilles jusqu'à la formation de la feuille drapeau. La forme parfaite de ce pathogène (téléomorphe) est *Mycosphaerella graminicola* ; c'est un

champignon ascomycète de la classe des Dothideomycètes qui s'attaque principalement au blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.)), blé tendre (*Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*) et triticales (*Triticosecale* spp.) (Bel Hadj Chedli, 2020).

#### 1.5.2.2. Origines des souches

Les quatre souches fongiques utilisées ont été isolées d'organes végétaux (Feuilles, fruits) montrant les symptômes des maladies respectives.

#### 1.5.2.3. Culture et conservation des souches

- **préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture utilisé est le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar), recommandé pour la culture des champignons et les tests d'activité antifongique. Le milieu utilisé a été préparé à base du PDA synthétique (CONDA pronadisa), selon les recommandations du fournisseur (additionné de 2 g d'Agar Agar, pour faciliter le repiquage des souches), dans des flacons de 250 ml. Après agitation le milieu est autoclavé et conservé jusqu'à l'utilisation.

- **Repiquage et conservation des souches**

A partir des souches de référence (souches âgées), et à l'aide d'un scalpel, de petits morceaux de mycélium sont coupés et placés au centre des boîtes contenant le milieu nutritif PDA. Cette méthode a été utilisée pour toutes les souches à l'exception de *Zymoseptoria tritici*, pour laquelle le repiquage est fait en stries. Les boîtes sont ensuite fermées au parafilm et incubées à l'étuve à 24° C pendant 7 jours, puis conservées à +4° C jusqu'à l'utilisation.

### 1.5.3. Evaluation de l'activité antifongique

#### 1.5.3.1. Préparation des suspensions sporales des souches fongiques

Les suspensions des quatre souches fongiques (*Botrytis cinerea*, *Zymoseptoria tritici*, *Aspergillus niger* et *Fusarium roseum*) ont été préparées à partir de cultures jeunes (âgées de 7 jours), par grattage des spores dans les tubes coniques en plastique stériles contenant l'eau physiologique stérilisée, avec l'ajout de 2 gouttes de tween 80, puis l'agitation à l'aide du vortex. La détermination des concentrations a été faite en utilisant la cellule Malassez. Les concentrations retenues sont comme suit :

- Pour *Botrytis cinerea* : une concentration sporale de  $10^4$  spores / ml a été utilisée (Soylu *et al.*, 2010).
- Pour *Fusarium roseum*: une concentration sporale de  $10^5$  spores / ml a été utilisée (Remmal *et al.*, 1993).
- Pour *Aspergillus niger* : une concentration sporale de  $10^4$  spores/ml a été utilisée (Athamnia *et al.*, 2018).
- Pour *Zymoseptoria tritici* : une concentration sporale de  $3 \cdot 10^6$  spores / ml a été utilisée (Perellô *et al.*, 2013).

#### 1.5.3.2. Concentrations (Volumes) d'huile essentielle testée

Pour ce test nous avons procédé à l'application de quatre volumes d'huile essentielle pure : 5  $\mu$ l, 10  $\mu$ l, 20  $\mu$ l, 40  $\mu$ l, en plus du témoin négatif (0  $\mu$ l) traité à l'eau distillée stérilisée.

#### 1.5.3.3. Confrontation Champignons-huile essentielle

La confrontation c'est une technique utilisée dans de nombreux laboratoires de microbiologie pour tester la sensibilité aux agents antimicrobiens (Balouiri *et al.*, 2016). La méthode utilisée pour ce test est la méthode de confrontation directe par diffusion de l'huile à travers des disques de papier wattman de 6 mm de diamètres, déposés sur le milieu solidifié (PDA) inoculé par la suspension sporale. La technique est comme suit :

- Dans un milieu aseptique, couler le milieu PDA dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre,
- Laisser refroidir quelques minutes
- Inoculer les boîtes par les différentes suspensions sporales préparées (100  $\mu$ l/boîte).
- Bien étaler la suspension sporale sur le milieu
- Laisser sécher quelques minutes près du bec bunsen
- Après séchage de la suspension sporale, placer des disques de papier wattman au centre des boîtes, à l'aide d'un emporte-pièce stérilisé.
- Imprégner les disques avec les différentes concentrations (volumes) de l'huile à tester.
- Les boîtes sont fermées au parafilm et incubées dans l'étuve à 24 ° C pendant 5 à 7 jours.

Trois répétitions sont effectuées pour chaque concentration (volume) de l'huile testée, et la lecture se fait quotidiennement à partir du 3<sup>ème</sup> jour d'incubation, par examen et mensuration du diamètre de l'halo d'inhibition de la croissance du champignon au voisinage du disque imprégné de l'huile.

#### **1.6. Analyse statistique des résultats**

Les moyennes et les Ecart-type des résultats obtenus ont été calculés par EXCEL Version 2010. Une analyse de la variance ainsi que le test de Dunnett ont été conduits par les résultats obtenus pour les différentes souches à l'aide du logiciel Minitab, version 2018, afin de déduire l'importance des variations entre les volumes de l'huile utilisée, et entre les différents volumes et le témoin négatif (0 µl).

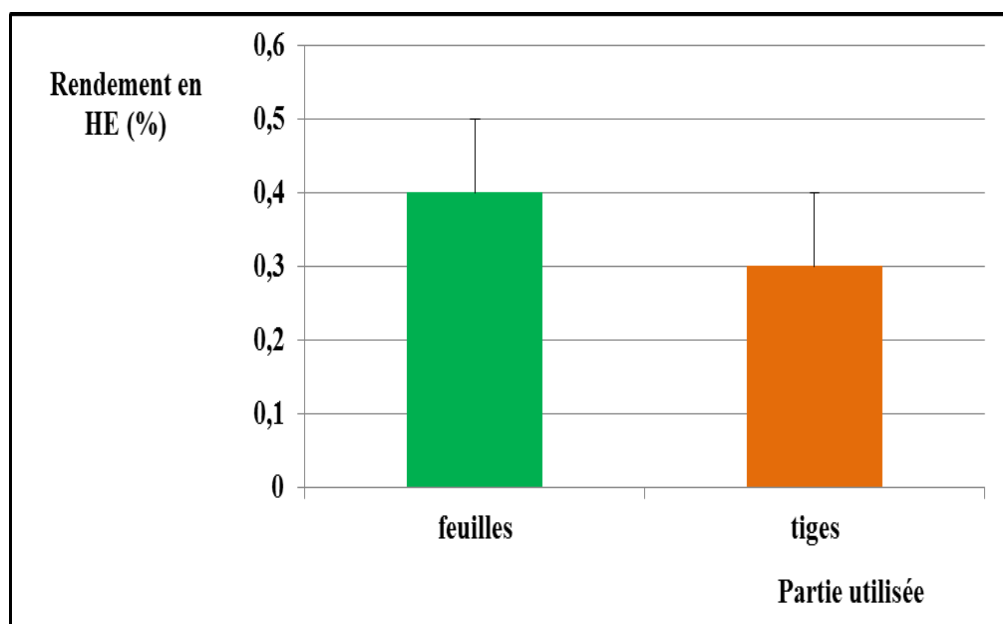
# *Chapitre 02*

*Résultats et discussion*

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Rendement en huile essentielle de *Mentha rotundifolia*

Les résultats du rendement d'huile essentielle de *M. rotundifolia* obtenu par hydrodistillation à partir des feuilles et des tiges sont présentés dans la **figure 11**.



**Figure 11:** Rendements en huile essentielle de *Mentha rotundifolia*

La **figure 11** montre que les rendements obtenus en huile essentielle des feuilles de *M. rotundifolia* (0.4%) est légèrement supérieur à celui des tiges (0.3%).

Ces rendements sont inférieurs à ceux mentionnés par **Taalbi (2016)**, qui a utilisé la même espèce et les mêmes parties, récoltées au niveau de l'Ouest Algérien. Il a obtenu un rendement d'HE de *M. rotundifolia*, compris entre 0.27 et 2.95 %, mais pour la nature des organes, ses résultats sont similaires à nos résultats, et il a obtenu un rendement élevé dans les feuilles par rapport aux tiges.

**Leblalta (2018)** a obtenu un rendement en huile essentielle de 1.27 % pour *M. rotundifolia* collectée en juin dans la région de Sétif et **Boutabia et al. (2020)** ont trouvé un rendement de 1,03 % des parties aériennes récoltées de la région de Souarekh (Nord-Est Algérien), en mai, ces résultats sont supérieurs par rapport au rendement obtenu dans notre étude.

**Iazzourene (2015)** a obtenu un rendement en huiles essentielles de *M. rotundifolia* de 0.7 % et **Brada et al. (2007)**, ont signalé des rendements qui varient de 0,7 % à 0,9 %. **Boughdad et al. (2011)** ont enregistré un rendement moyen de  $0,73 \pm 0,16$  % pour la même espèce.

**Riahi et al. (2013)** ont comparé le rendement d'huile essentielle de *M. rotundifolia* de deux sites (Beja et Bizerte) en Tunisie, et ont montré que le rendement des échantillons de Beja est plus élevé en huile essentielles (1,26 %) par rapport à ceux de Bizerte (1,04 %).

Les travaux de **Bouhabila et al. (2018)**, confirment que les feuilles de *M. rotundifolia* sont plus riches en huiles essentielles que les tiges. Les auteurs ont signalé que le taux des huiles essentielles par rapport au taux des huiles totales différent d'un organe à l'autre. Sur des échantillons collectés de Constantine durant la période d'avril-mai, ils ont trouvé que dans les feuilles les huiles essentielles représentaient 63.2 % du taux des huiles totales, alors que dans les tiges, ils représentaient 22.8 % seulement.

Les différences obtenues dans le rendement des huiles essentielles, d'une étude à l'autre, peuvent être attribuées, selon plusieurs auteurs, au stade végétatif de la plante (la période de récolte), la nature de sol, le climat, ainsi qu'à la méthode d'extraction.

## 2.2. Caractérisation de l'huile essentielle de *M. rotundifolia*

### 2.2.1. Caractéristiques organoleptiques

La détermination des propriétés organoleptiques est une étape nécessaire de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Les paramètres organoleptiques de nos échantillons de l'HE de *M. rotundifolia* sont présentés dans le **Tableau 02**.

**Tableau 02:** Propriétés organoleptiques de l'HE de *Mentha rotundifolia*.

Propriétés	Aspect	Couleur	Odeur
HE de <i>Mentha rotundifolia</i>	Liquide	Jaune foncé	Très forte



Ces caractéristiques sont les mêmes que ceux rapportées dans la littérature, par :

- ✓ **Boutabia et al. (2020)** : pour un échantillon de la même espèce, collecté de la région de Souarekh (Nord-Est de l'Algérie), où l'HE est extraite par la même méthode de distillation.
- ✓ **Riahi et al. (2013)** : pour des échantillons de la Tunisie, Ils ont signalé que l'HE a été de couleur jaunâtre et une odeur de la menthe très forte et persistante.
- ✓ **Brada et al. (2007)** : pour l'HE extraite par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau dans une installation semi pilote, il a signalé les mêmes caractéristiques que celles que nous avons obtenu.
- ✓ **Aichouni et Mouderress (2018)** : ont obtenu une HE de couleur jaune pâle et une odeur pénétrante, extraite par la même méthode.
- ✓ **Benbouali (2006)** : a signalé que l'HE de *Mentha rotundifolia* est de couleur jaune foncé et une odeur propre à la matière végétale.

### 2.2.2. Caractérisation physico-chimique de l'HE de *Mentha rotundifolia*

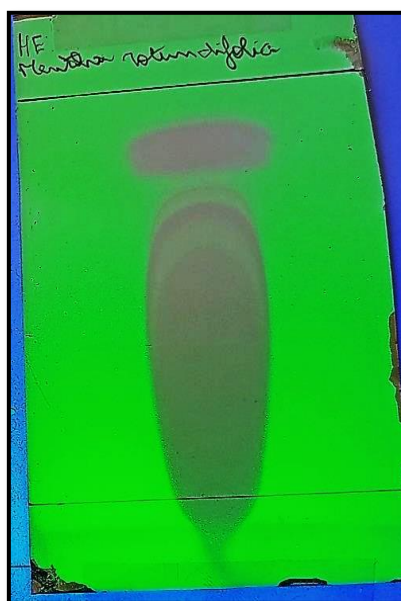
Les huiles essentielles sont caractérisées par leurs propriétés physiques (indice de réfraction,...) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, pH,...).

#### 2.2.2.1. La chromatographie sur une couche mince

La CCM a été effectué sur une plaque chromatographique comme une phase stationnaire et la phase mobile par le solvant (cyclohexane). Les résultats de la chromatographie sur couche mince de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* sont mentionnés dans le **tableau 03** et représentés dans la **figure 12**. Ces derniers portent le facteur de rétention des constituants chimiques et leur migration à la lumière UV (254 nm).

**Tableau 03** : Séparation par CCM des composants de l'HE dans le système d'élution

Le nombre de taches	1	2	3	4
Le rapport frontal	0.3	0.34	0.37	0.5



**Figure 12:** Résultat de la chromatographie sur couche mince de l'HE de *Mentha rotundifolia*

La **figure 12** révèle, la présence de quatre taches bien distinctes, avec des facteurs de rétention (Rf) variés (**Tab. 03**). Ces données montrent la présence de variabilité chimique de notre échantillon, révélant l'existence de quatre espèces chimiques majeurs, indiqués chacun, par une tache bien observé sous la lumière UV.

Cette variation chimique pourrait être confirmée par d'autres méthodes chromatographiques plus précises, notamment la chromatographie en phase gazeuse (CPG).

**Aichouni et Moderres (2018)**, en utilisant la méthode de chromatographie en phase gazeuse (CPG), ils ont pu détecter quatre composants majeurs dans l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*, qui sont : l'oxyde Pipériténone (47%),  $\gamma$ - terpinène (6.74 %),  $\alpha$ -Humulène (5.34%) et  $\beta$ -Caryophellene (5.22%). **Benbouali (2006)**, en utilisant la même méthode, a détecté aussi la présence de quatre espèces chimiques majeures qui sont principalement le Pipériténone avec une teneur de 38,46%, oxyde de pipériténone (15,987%), Furan, 2 - methyl - 5 (3 methyl -1,3 butadiny) avec une teneur de 3,369% et le  $\beta$  - Caryophyllène (2,160%). La méthode de GC-MS (chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse) a permis à **Bouhabila et al. (2018)** de détecter d'autres composants majeurs dans l'HE de *Mentha rotundifolia*, qui sont puligone, oxyde de puligone, Germacrene et Caryophyllene. **Boutabia et al. (2020)**, en utilisant la même

méthode (GC-MS), ont trouvé que les composants majeurs de l'HE de *Mentha rotundifolia* sont l'oxyde de piperitenone avec une teneur de 47.52%, Pulegone (8.44%),  $\alpha$ -gurjunene (3.25 %), limonene (2.81%) et germacrene D (2.01 %). **Brada et al.(2007)**, par le couplage des deux méthodes chromatographiques : le spectromètre de masse et chromatographe en phase gazeuse, ont trouvé que l'oxyde de pipéritone et l'oxyde de piperiténone représentent les chémotypes majoritaires de l'HE de *Mentha rotundifolia*. **Derwich et al.(2010)** avec le même couplage, ont trouvé que le composant majeur de cette huile était le menthol (40,50 %), et d'autres composants présents avec des teneurs appréciables: menthone (5,0 %), Acétate de menthyle (4,50 %), menthofurane (4,20 %), néomenthol (3,80 %), acétate de linalyle (3,50 %), oxydede pipéritone (3,20 %), pipéritone (3,10 %), isomenthone (2,50 %), 1,8-cinéole (2,40 %), linalol (2,0 %), limonène (1,80 %), géraniol (1,70 %), myrcène (1,60 %), acétate de géranyle (1,50 %) et trans-Sabinène hydraté (1,40 %).

**Leblalta et al. (2020)** ont détecté la présence du 3- cyclopentène-1-one, et du 2-hydroxy-3-(3-méthyl-2-butényle) comme constituants principaux de cette huile avec un taux d'environ 89,09 %. Les teneurs restantes étaient des monoterpènes et des sesquiterpènes.

#### 2.2.2.2. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction a été mesuré à la température de 18.8°C à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe. La valeur de 1.474 (**Fig. 13**) a été obtenue, après l'ajustement de la température à 20°C.



**Figure 13** : à gauche, l'indice obtenu pour l'eau et à droite, l'indice obtenu pour l'HE

La valeur d'indice de réfraction de notre échantillon est plus proche de celle obtenue par **Sahnoune et Zebboudj (2019)**, qui ont obtenu un indice de réfraction de 1.464, et de celle obtenue par **Benbouali (2006)**, qui a trouvé une valeur d'Ir de 1.5416, pour l'HE de la même espèce.

#### 2.2.2.3. L'indice d'acide

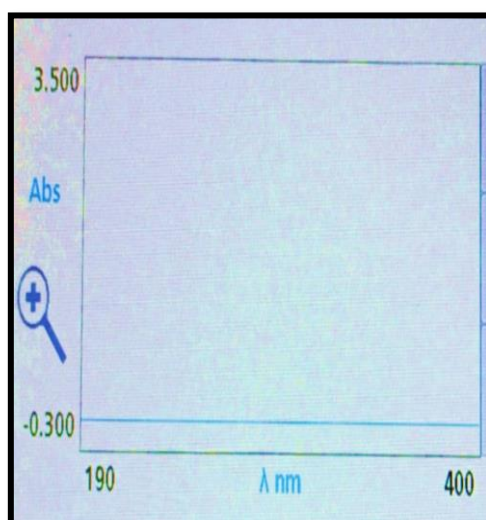
La valeur enregistrée pour l'indice d'acide de l'HE de *M. rotundifolia*, traitée dans notre étude est de 2.805. Cette valeur est supérieure à celles rapportées par **Benbouali (2006)** qui a trouvé un  $I_a=1.78$ , et par, **Sahnoune et Zebboudj (2019)** qui ont trouvé un  $I_a=1.8$ .

#### 2.2.2.4. Le pH

Le pH de l'HE de *Mentha rotundifolia* est de 5.3 ce qui indique que notre HE est acide. Ce résultat est similaire à celui obtenu par **Sahnoune et Zebboudj (2019)** pour des échantillons de la même espèce, récoltés de la région de Boumedfaa (W. d'Ain-Defla), durant la période s'étalant du 11/03/2019 au 07/05/2019.

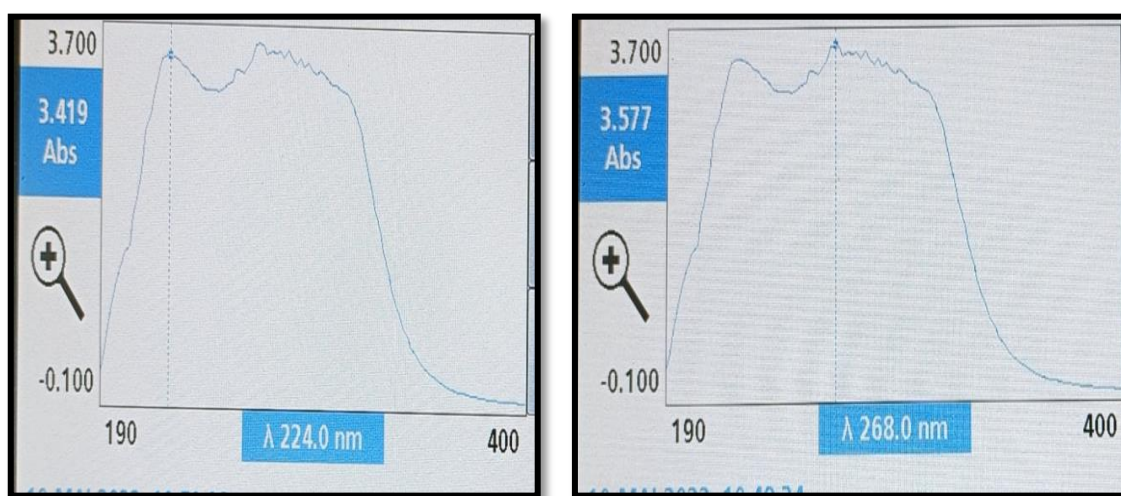
#### 2.2.2.5. Analyse de spectroscopie à l'UV-vis

La spectroscopie à l'UV visible est une méthode qui permet de détecter les longueurs d'onde à une bande d'absorption caractéristique d'HE. L'étalonnage de l'appareil a été effectué par le cyclohexane (**Fig. 14**).



**Figure 14** : Etalonnage de l'appareil UV-Vis.

Les résultats obtenus pour notre échantillon sont affichés dans la **figure 15**. Ils indiquent la présence de deux pics maximums d'absorption : l'un de 3.419 obtenu à 224 nm et l'autre de 3.577 obtenu à 268 nm, ce qui indique la présence de deux composants principaux dans l'HE de *Mentha rotundifolia*. En comparant ces résultats avec ceux obtenus par la CCM, on constate l'absence de deux autres composants principaux, qui n'appartiennent pas au domaine d'UV.



**Figure 15** : Spectres UV –Vis montrant les pics d'absorption au niveau des deux valeurs de  $\lambda$  pour l'HE de *Mentha rotundifolia*

Le spectre enregistré dans un intervalle de 200 à 400 nm montre deux larges bandes d'absorption maximales, la première située à 224 nm, pourrait correspondre à l'existence d'une molécule de composant majeur portant deux doubles liaisons et la deuxième, située à 268 nm, pourrait être un autre composé majeur de l'HE de *Mentha rotundifolia*. Selon **Leblalta (2018)**, et selon les résultats des travaux cités ci-dessus, les composants majeurs de l'HE de *M. rotundifolia* diffèrent d'une zone de collecte à une autre.

### 2.2.2.6. Analyse de la structure par spectroscopie Infra-Rouge à transformée de Fourier (IRTF)

L'IRTF est une technique qui permet de caractériser les différents pics de spectre correspondant à un groupement chimique fonctionnel présent dans l'HE : alcool, aldéhyde, cétone, acide..., ainsi que les liaisons entre les carbones d'une chaîne, par indication des principales bandes de vibration et en s'appuyant sur les tables fournies.

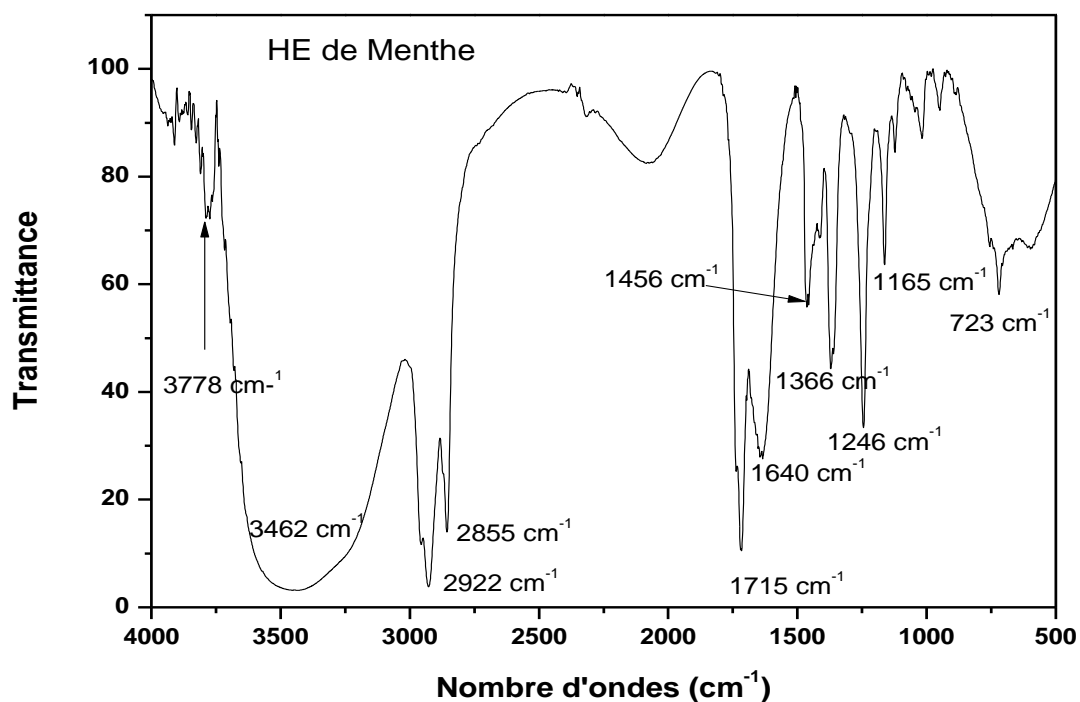
Dans la littérature, l'étude de trois grands domaines du spectre permet de repérer les groupements fonctionnels importants (Belgharbi, 2020) :

- **La région 4000 - 1500  $\text{cm}^{-1}$**  contient les bandes de vibration longitudinale des principaux groupements C-H, O-H, C=O, N-H, ... Pour OH et N-H, on observe souvent des bandes plus ou moins larges en raison de l'existence de liaison hydrogène.
- **La région 1500 - 1000  $\text{cm}^{-1}$**  contient entre autres, la bande d'étirement longitudinal de la liaison C-O c'est par ailleurs, une zone appelée « empreinte digitale » car on y trouve de nombreuses absorptions correspondant aux déformations angulaires de la molécule.
- **La région 1000 – 600  $\text{cm}^{-1}$**  correspond aux déformations angulaires des liaisons C-H des composés éthyléniques et des cycles aromatiques.

Le spectre de l'IRTF obtenu dans notre étude pour l'HE de *M. rotundifolia* a permis d'enregistrer plusieurs pics d'absorption dont les plus importants sont présentés dans la **figure 16** :

- Une bande située à 3772  $\text{cm}^{-1}$  pourrait correspondre à un groupement C-H.
- Des bandes plus ou moins larges ont été observées à 3462  $\text{cm}^{-1}$  et 1715  $\text{cm}^{-1}$ , qui pourrait être attribuées à l'élongation de la liaison hydroxyle (O-H) de l'acide carboxylique ou des alcools liés.
- Elongation de la liaison (C-H) avec une bande à 2922  $\text{cm}^{-1}$  qui correspond aux alcanes.
- Une bande située à 2855  $\text{cm}^{-1}$  pourrait correspondre à la liaison du groupement carbonyle (C=O).

- Elongation de la liaison (C-O) avec une bande entre  $[1000-1500]$   $\text{cm}^{-1}$  dans notre spectre. Cette liaison située à 1456, 1366, 1246 et 1165  $\text{cm}^{-1}$ . Elle pourrait être correspondante aux déformations angulaires.
- Une autre bande située à 723  $\text{cm}^{-1}$  entre  $[700-800]$   $\text{cm}^{-1}$  de vibration de déformation de la fonction aromatique.



**Figure 16** : Spectre IRTF de l'HE de *Mentha rotundifolia* enregistré dans la région 4000 - 500  $\text{cm}^{-1}$

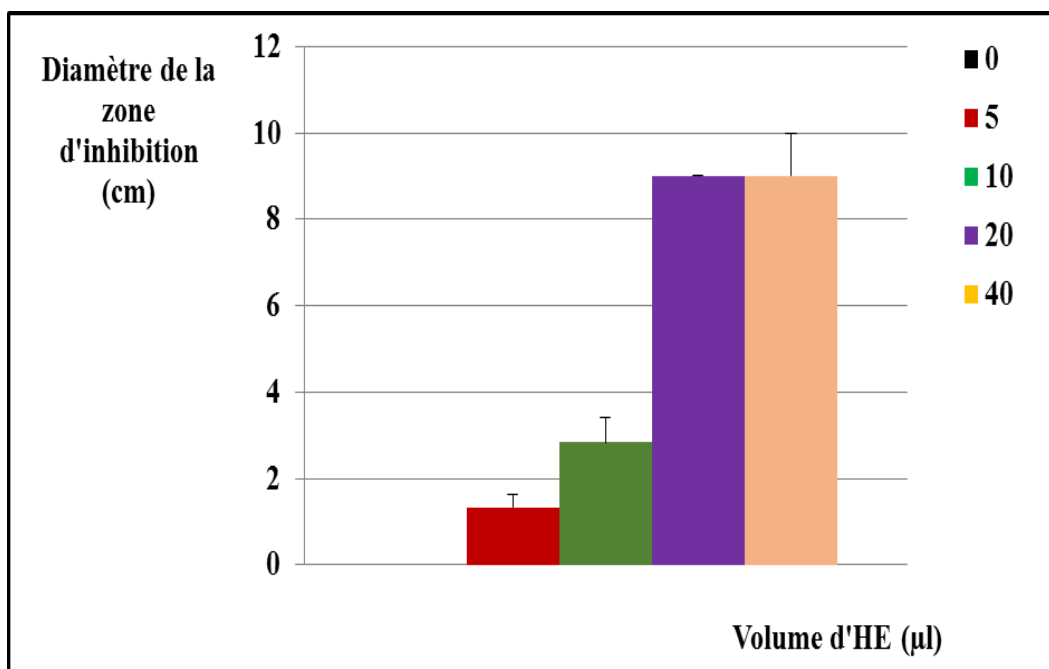
L'ensemble de ces résultats indiquent la présence de différents groupements fonctionnels principalement les alcanes, l'acide carboxylique ou des alcools liés, groupement carbonyle. Ces résultats sont adéquats avec les résultats d'analyse de la CCM.

En comparant nos résultats à ceux rapportés par **Sahnoune et Zebboudj (2018)**, nous remarquons que l'HE de notre étude est très riche en alcanes.

## 2.3. Analyse de l'activité antifongique d'HE de *Mentha rotundifolia*

### 2.3.1. Effets de l'huile testée sur *Aspergillus niger*

Les résultats des tests réalisés *in vitro*, de l'activité d'huile essentielle testée sur la croissance d'*Aspergillus niger* sont représentés dans la **figure 17**.



**Figure 17:** Résultats du test de confrontation d'*Aspergillus niger* et l'HE de *Mentha rotundifolia*.

La menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*) a montré une activité antifongique très élevée sur *Aspergillus niger* ; d'où nous avons noté une inhibition totale de la croissance du champignon aux volumes 20 μl et 40 μl / disque. Au volume 5 μl nous avons noté un diamètre de 1.6 cm et 2.3 cm à 10 μl (souche très sensible même à de faibles doses de l'HE).

L'analyse de la variance (**Tab. 04**) a affiché des différences très hautement significatives entre les volumes pour l'huile de la menthe et *Aspergillus niger*, et le test de Dunnett a montré des différences significatives entre le témoin et tous les volumes testés pour cette huile (**Tab. 05**).



**Tableau 04:** Résultat de l'analyse de la variance pour *Aspergillus niger* confronté à l'huile de la menthe (*Mentha rotundifolia*)

Sources de variations	DL	SC	CM	Valeur F	Valeur de P
Volumes d'HE.	4	220,600	55,1500	661,80	0,000***
Erreur	10	0,833	0,0833		
Total	14	221,433			

**DL** : Degrés de liberté

**SC** : Somme des carrés des écarts

**CM** : Carré moyen

**F** : Valeur observée de F de Fisher

**P** : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

\*\*\*  $p < 0.001$  : Différences très hautement significatives.

**Tableau 05 :** Résultat du test de Dunnett pour *Aspergillus niger*/HE de *Mentha rotundifolia*

Volume d'HE	0 $\mu$ L	5 $\mu$ L	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L	40 $\mu$ L
$\bar{X} \pm \sigma$	0,00 $\pm$ 0,00	1,33 $\pm$ 0,28	2,83 $\pm$ 0,57	9,00 $\pm$ 0,00	9,00 $\pm$ 0,00
		*	*	*	*

\* : différence significative ( $\alpha = 0.05$ ).

**Riahi et al. (2013)** et **El Arch et al. (2003)** ont signalé que l'huile essentielle de *M. rotundifolia* possède une activité antifongique forte sur *Aspergillus niger*.

**Sahraoui et Siouani (2020)** ont étudié les activités biologiques de *Globularia alypum* et *Mentha rotundifolia* et ont signalé que l'activité antifongique des différentes parties de *Mentha rotundifolia* contre *Aspergillus niger* peut être importante ou faible selon la concentration et le type de l'extrait, aqueux et éthanolique des échantillons.

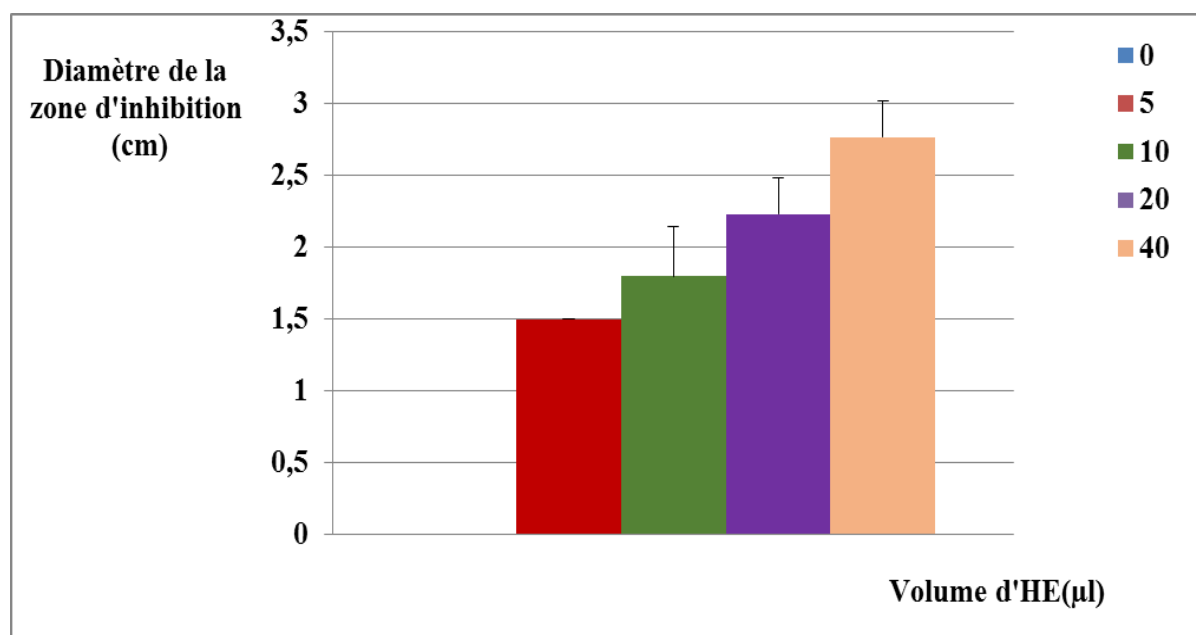
**Sissinto Adjovi et al. (2022)** ont testé l'activité antifongique d'HE de *Mentha spicata* et ont révélé une inhibition totale de la croissance d'*Aspergillus flavus* par aromagramme avec 0,5  $\mu$ l, mais, aucun effet n'a été noté sur la croissance d'*Aspergillus novoparasiticus*.

Selon le même auteur, l'huile essentielle des feuilles de *M. piperita* n'a montré aucune inhibition de la croissance des souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus novoparasiticus* par les trois méthodes d'évaluation (méthode de diffusion sur disque, méthode de diffusion en puits, micro-atmosphère).

L'huile essentielle de *M. pulegium* L. a été testée par **Abou et Fareh (2017)** sur *Aspergillus Niger*, *Aspergillus flavus* et *Fusarium moniliforme* et les résultats obtenus ont montré qu'*Aspergillus niger* est la souche la plus sensible à cette huile. Une inhibition totale de la croissance mycélienne est obtenue à la concentration de 0.25 % de cette huile.

### 2.3.2. Effets de l'huile testée sur *Botrytis cinerea*

Les résultats des tests réalisés *in vitro*, de l'activité d'huile essentielle testée sur la croissance de *Botrytis cinerea* sont représentés dans la **figure 18** :



**Figure 18:** Résultats du test de confrontation de *Botrytis cineria* et l'HE de *Mentha rotundifolia*.

Une activité antifongique importante de l'huile essentielle de *M. rotundifolia* a été enregistrée contre *Botrytis cinerea*, les diamètres des zones d'inhibition sont très élevés et dépassent les 8 mm pour tous les volumes testés, ce qui permet de déduire que cette espèce fongique est très sensible à cette HE.

Les résultats de l'analyse de la variance (**Tab. 06**) ont montré des différences très hautement significatives entre les volumes de l'huile de la menthe à feuilles rondes et *Botrytis cinerea*, et le test de Dunnett (**Tab. 07**) a montré des différences significatives entre le témoin et tous les volumes testés pour cette huile.

**Tableau 06 :** Résultat de l'analyse de la variance pour *Botrytis cineria* confronté à l'huile de la menthe (*Mentha rotundifolia*)

Sources de variation	DL	SC	CM	F	P
Volume d'HE	4	13,0627	3,26567	66,20	0.000***
Erreur	10	0,4933	0,04933		
Total	14	13,5560			

**DL :** Degrés de liberté

**SC :** Somme des carrés des écarts

**CM :** Carré moyen

**F :** Valeur observée de F de Fisher

**P :** Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

**\*\*\* p < 0.001 :** Différences très hautement significatives.

**Tableau 07:** Résultats du test de Dunnett pour *Botrytis cinerea* /HE. de *Mentha rotundifolia*

Volume d'HE	0µL	5µL	10µL	20µL	40µL
$\bar{x} \pm \sigma$	0.00 ± 0.00	1,5 ± 0,00	1.8 ± 0,34	2.23 ± 0.25	2.76 ± 0.25
		*	*	*	*

\* : différences significatives ( $\alpha = 0.05$ )

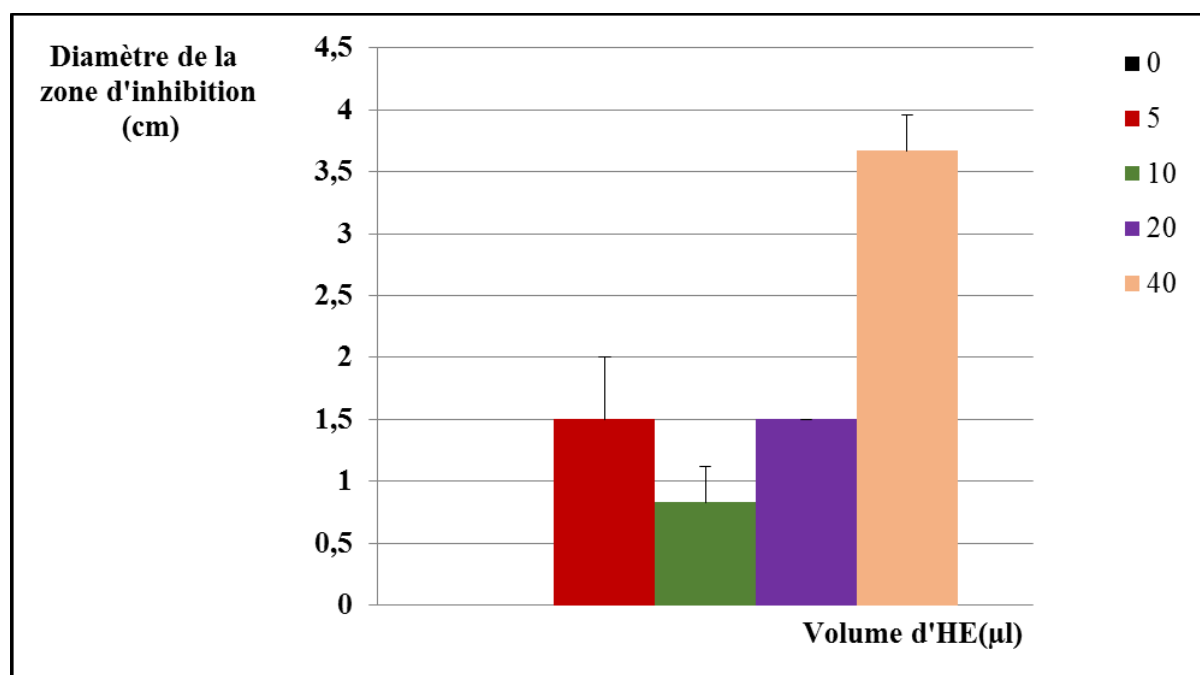
Des résultats similaires ont été enregistrés par **Hmiri et al. (2011)** qui ont testé *in vitro* l'activité antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte, ils ont trouvé que l'huile essentielle de *M. pulegium* a exercé une remarquable activité inhibitrice sur le champignon *Botrytis cinerea*.

**Nouiri et Touahri (2016)** ont signalé que, *Botrytis cinerea* a montré une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *M. spicata*.

**Aoun (2019)** a signalé que *Botrytis cinerea* est sensible à des concentrations élevées des huiles essentielles de *Mentha spicata*.

### 2.3.3. Effets d'huile testée sur *Fusarium roseum*

Les résultats du test réalisé *in vitro*, de l'activité antifongique de l'huile essentielle testée sur la croissance de *Fusarium roseum* sont représentés dans la **figure 19**.



**Figure 19** : Résultats du test de confrontation de *Fusarium roseum* et l'HE de *Mentha rotundifolia*.

Un pouvoir antifongique important de l'HE testée a été enregistré sur la souche de *Fusarium roesum* utilisée dans cette étude. Des diamètres relativement élevés (supérieurs à 8 mm) ont été notés pour tous les volumes testés de l'HE ; pour 40 µl d'HE, le diamètre de la zone d'inhibition est de l'ordre de 3.7 cm.

Les résultats de l'analyse de la variance (**Tab. 08**) ont montré des différences très hautement significatives entre les volumes pour l'huile de la menthe et *Fusarium roseum*, et le test de Dunnett (**Tab. 09**) a montré des différences significatives entre le témoin et tous les volumes testés pour cette huile.

**Tableau 08** : Résultat de l'analyse de la variance pour *Fusarium roseum* confronté à l'huile de la menthe (*Mentha rotundifolia*)

Sources de variations	DL	SCE	CM	Valeur F	Valeur de P
Volumes d'HE	4	22,1667	5,54167	66,50	0,000***
Erreur	10	0,8333	0,08333		
Total	14	23,0000			

**DL** : Degrés de liberté

**SC** : Somme des carrés des écarts

**CM** : Carré moyen

**F** : Valeur observée de F de Fisher

**P** : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

\*\*\* **p < 0.001** : Différences très hautement significatives.

**Tableau 09** : Résultats de test de Dunnett pour *Fusarium roseum* /HE. de *Mentha rotundifolia*

Volume d'HE	0µL	5µL	10µL	20µL	40µL
$\bar{X} \pm \sigma$	0.00 ± 0.00	1,5 ± 0,00	0,83 ± 0,34	1.5 ± 0.25	3.66 ± 0.25
		*	*	*	*

\* : différences significatives ( $\alpha = 0.05$ )

**Leblalta (2018)** a testé l'activité antifongique de l'HE de *Mentha rotundifolia* sur deux champignons (*Fusarium oxysporum*, et *Alternaria alternata*) et a signalé une forte activité antifongique d'HE sur ces champignons.

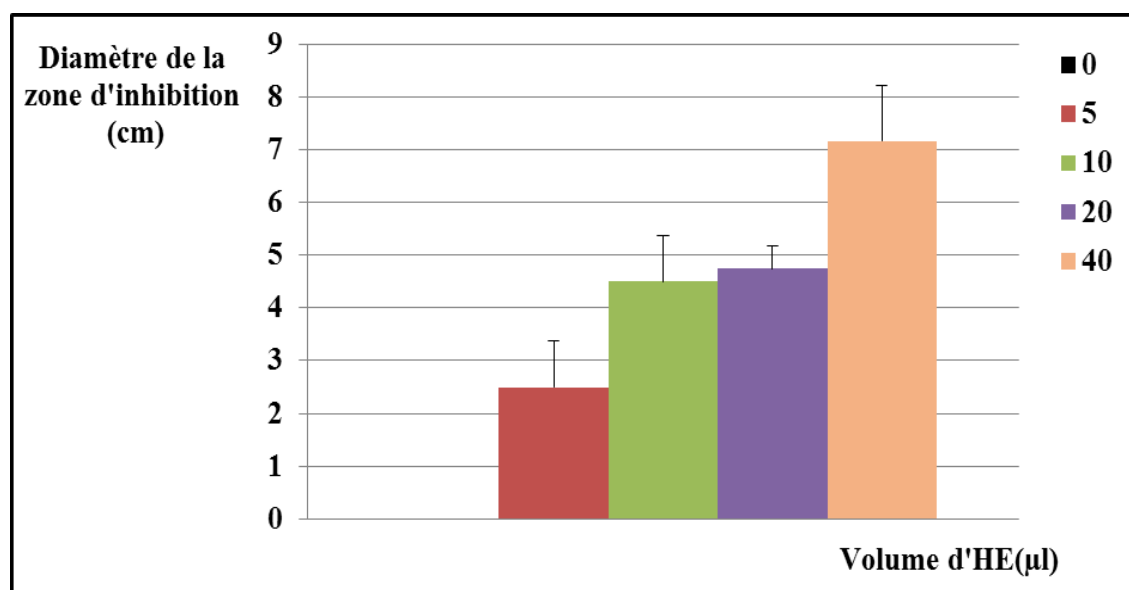
**Sahraoui et Siouani (2020)** ont testé l'activité antifongique de *Mentha rotundifolia* sur *Fusarium sp* et ont signalé que son pouvoir antifongique contre ce pathogène peut être important ou faible selon la concentration et le type de l'extrait soit aqueux et éthanolique des échantillons.

**Goudjil (2016)** a démontré que l'huile essentielle de *Mentha piperita* a exercé une inhibition totale signalée à des concentrations de 0,5 % et 0,75 % de *Fusarium Moniliforme*, *Fusarium Oxysporum* et *Fusarium Solani*.

**Uwineza et al. (2018)** ont testé l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Eugenia aromatica* et *Cedrus atlantica* sur *Fusarium culmorum* et *Bipolaris sorokiniana* et ont signalé que *Fusarium culmorum* est très sensible aux concentrations 1,25 ml/L et 0,650 ml/L de l'HE de *Mentha pulegium*.

#### 2.3.4. Effets d'huile testée sur *Zymoseptoria tritici*

Les résultats des tests réalisés *in vitro*, de l'activité antifongique d'huile essentielle testée sur la croissance de *Zymoseptoria tritici* sont représentés dans la **figure 20**.



**Figure 20** : Résultats du test de confrontation de *Zymoseptoria tritici* et l'HE de *Mentha rotundifolia*.

Selon les résultats obtenus, nous remarquons, une activité antifongique importante d'huile essentielle sur *Zymoseptoria tritici*, même pour les volumes faibles de l'HE (5µl), où nous avons enregistré des diamètres supérieurs à 2 cm, et cette souche est désignée donc en tant que souche très sensible à cette huile selon la classification établie par **Ponce et al. (2003)**, qui signalent que la sensibilité des souches aux différentes HE, est indiquée par le diamètre de la zone d'inhibition de sa croissance en présence de l'huile essentielle :

- Une souche est considérée non sensible si le diamètre de l'halo de la zone d'inhibition est inférieur à 8 mm.
- Une souche est considérée sensible si le diamètre de l'halo de la zone d'inhibition est de 9 à 14 mm.
- Une souche est considérée très sensible si le diamètre de l'halo de la zone d'inhibition est de 15 à 19 mm.
- Une souche est considérée extrêmement sensible si le diamètre de l'halo de la zone d'inhibition est supérieur à 20 mm.

L'analyse de la variance conduite par les résultats obtenus (**Tab. 10**) a affiché des différences très hautement significatives entre les volumes pour l'huile essentielle de la menthe et *Zymoseptoria tritici*, et le test de Dunnett a montré des différences significatives entre le témoin et tous les volumes testés pour cette huile (**Tab. 11**).

**Tableau 10** : Résultat de l'analyse de la variance pour *Zymoseptoria tritici* confronté à l'huile de la menthe (*Mentha rotundifolia*)

Sources de variations	DL	SC	CM	Valeur F	Valeur de P
Volume d'HE	4	86,567	21,6417	28,70	0,000***
Erreur	10	7,542	0,7542		
Total	14	94,108			

**DL** : Degrés de liberté

**SC** : Somme des carrés des écarts

**CM** : Carré moyen

**F** : Valeur observée de F de Fisher

**P** : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

\*\*\* **p < 0.001** : Différences significatives.

**Tableau 11** : Résultat du test de Dunnett pour *Zymoseptoria tritici*/HE de *Mentha rotundifolia*

Volume d'HE	0 $\mu$ L	5 $\mu$ L	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L	40 $\mu$ L
$\bar{x} \pm \sigma$	0.00 $\pm$ 0.00	2.5 $\pm$ 0,866	4.5 $\pm$ 1,323	4.75 $\pm$ 0.43	7,167 $\pm$ 1.04
		*	*	*	*

\* : différences significatives ( $\alpha = 0.05$ )

**Hmiri et al. (2011)** ont signalé que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a un effet antifongique sur les ascomycètes (*Alternaria alternata* et *Penicillium expansum*), et *A. alternata* a été plus sensible à cette huile, et sa croissance a été inhibé à partir d'une concentration de 156  $\mu$ l/l et la concentration de 300  $\mu$ l/l a été suffisante pour provoquer une inhibition totale de la croissance de *P. expansum*.

Une activité antifongique élevée a été signalée sur *Candida albicans* (Ascomycète) par l'HE de *Mentha pulegium* (**Lahrech, 2010**).



# *Conclusion*

## Conclusion

Ce travail a visé la détermination du potentiel de rendement en huiles essentielles et ses caractéristiques physicochimiques, ainsi que le pouvoir antifongique d'une espèce végétale aromatique de la région de Guelma (Nord-Est d'Algérie), la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*).

L'extraction des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et feuilles) a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type *Clevenger*, le rendement obtenu pour les feuilles était  $0.4 \pm 0.1$  % ; et pour les tiges  $0.3 \pm 0.1$  %, ce qui permet de dire que les feuilles de cette plante sont plus riches en huiles essentielles que les tiges, et ce résultat concorde avec les informations rapportées dans la littérature pour cette plante aromatique.

Les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle obtenue, montrent que cette dernière est d'un aspect liquide, de couleur jaune foncé et d'une odeur très forte. Elle se caractérise par un indice acide de 2.805, un indice de réfraction de 1.473 et un pH de 5.3.

L'analyse par CCM a permis d'indiquer la présence de quatre composants majeurs, et indique que cette l'huile pourrait être riche en oxyde Piperitenone,  $\gamma$ - terpinène,  $\alpha$ .Humulène et  $\beta$ . Caryophellene.

L'analyse par UV-Vis a confirmé les résultats obtenus de l'analyse par CCM mais deux espèces chimiques seulement sont apparus, les deux autres sont probablement des composés qui ne figurent pas dans l'intervalle du spectre d'UV.

L'analyse d'IRTF a prouvé la présence d'une richesse en liaisons caractéristiques des composés de la famille des alcanes, l'acide carboxylique, des alcools, et des groupements carbonyle. Ces analyses démontrent la présence d'une richesse des composants chimiques d'huile essentielle en molécules chimiques.

L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* par la méthode de confrontation directe a montré que cette HE a enregistré un effet important contre les quatre champignons phytopathogènes : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium roseum*, et *Zymoseptoria tritici*.

A l'issue de la présente étude, il serait intéressant de compléter ce travail par :

- ✓ L'extraction des huiles essentielles par d'autres méthodes telles que l'extraction par micro-onde, pour optimiser le rendement en HE de cette plante.
- ✓ L'identification des composants des huiles essentielles par l'usage d'autres techniques plus précises, notamment la chromatographie en phase gazeuse.
- ✓ L'application de ces huiles essentielles sur les mêmes espèces fongiques *in vivo*.
- ✓ L'évaluation du pouvoir antifongique de cette huile sur d'autres champignons phytopathogènes.
- ✓ L'utilisation des extraits de cette espèce pour évaluer l'activité antifongique ; en vue d'optimiser au maximum la valorisation de cette espèce spontanée.

# *Résumés*

## **Résumé**

Les effets néfastes des pesticides sur la santé publique et sur l'environnement ont été rapportés par plusieurs auteurs, ceci a nécessité le besoin de recherche de molécules naturelles pour la protection des cultures et la préservation des rendements. Cette étude qui entre dans ce contexte vise la valorisation d'une espèce de plante aromatique très répandue dans la région de Guelma (Nord-Est Algérien), la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*), par la détermination de son potentiel de rendement en HE, et ses caractéristiques physicochimiques, et la détermination de son activité antifongique à l'égard de quatre champignons phytopathogènes : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium roseum* et *Zymoseptoria tritici*. Les rendements obtenus sont de l'ordre de  $0.4 \pm 0.1$  % pour les feuilles et  $0.3 \pm 0.1$  % pour les tiges. La chromatographie sur couche mince (CCM), la spectroscopie à l'UV-Vis. et à infra rouge (IRTF) nous ont permis de déduire que cette HE comporte une variété d'espèces chimiques. Les tests relatifs au pouvoir antifongique ont montré que toutes les souches testées ont montré une grande sensibilité à l'HE de *M. rotundiifolia*.

**Mots clés :** Huile essentielle, *Mentha rotundifolia*, rendement, caractérisation physicochimiques, activité antifongique, champignons.

## **Abstract**

The harmful effects of pesticides on public health and on the environment have been reported by several authors, which have necessitated the need for research for natural molecules for crop protection and yield preservation. This study which enters in this context aims at the valorization of an aromatic plant, widespread in the region of Guelma (North-East of Algeria), the round leaf mint (*Mentha rotundifolia*), by determining its EO yield potential, and its physicochemical characteristics, and testing its antifungal activity against four plant pathogenic fungi : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium roseum* and *Zymoseptoria tritici*. The yields obtained are  $0.4 \pm 0.1\%$  for the leaves and  $0.3 \pm 0.1\%$  for the stems. Thin layer chromatography (TLC), UV-Vis spectroscopy, and infrared (IRTF) allowed us to deduce that this EO contains a variety of chemical species. Antifungal tests showed that all strains tested showed high susceptibility to *M. rotundifolia* EO.

**Key words** : Essential oil, *Mentha rotundifolia*, yield, physicochemical characterization, antifungal activity, fungi.

## الملخص

أكدت العديد من الدراسات ان الاستعمال المفرط للمبيدات ينجم عنه تأثيرات جانبية مضرّة للبيئة و الصحة العمومية ، مما يستوجب ضرورة البحث عن مركبات طبيعية لوقاية النباتات من الآفات و الحفاظ على المحاصيل الزراعية. تهدف هذه الدراسة، التي تدخل في هذا السياق، إلى تثمين أحد أنواع النباتات العطرية المنتشر بشكل كبير في منطقة قالمة (شمال شرق الجزائر)، نعناع مستدير الاوراق (*Mentha rotundifolia*) من خلال تحديد قدراته لإنتاج الزيوت الأساسية، مع تحديد خصائصها الفيزيائية والكيميائية واختبار مفعولها المضاد للفطريات الممرضة للنبات : *Aspergillus niger, Botrytis cinerea, Fusarium roseum, Zymoseptoria tritici*. أظهرت النتائج أن مردود الزيوت الأساسية في الأوراق  $0.1 \pm 0.4$  % و  $0.1 \pm 0.3$  % للسيقان . و سمحت لنا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM والتحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية UV-Vis و الأشعة تحت الحمراء IRTF باستنتاج أن الزيوت المستخلصة تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية. كما أظهر اختبار المفعول المضاد للفطريات أن جميع السلالات التي تم اختبارها لها حساسية تجاه الزيوت الأساسية ل *Mentha rotundifolia*

**الكلمات المفتاحية :** زيوت أساسية, الإنتاج, الخصائص الفيزيائية و الكيميائية , النشاط المضاد للفطريات, فطريات, *Mentha rotundifolia*.

*Références  
bibliographiques*



## Références bibliographiques

- **Abou N. et Fareh K. (2017).** Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques, option Biotechnologie et protection des végétaux, Département des Sciences Biologiques, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj-Bou-Arreidj : 39p.
- **Adebayo O.; Dang T.; Bélanger A. et Khanizadeh S. (2013).** Antifungal studies of selected essential oils and a commercial formulation against *Botrytis cinerea*. *Journal of Food Research*, vol. 2 (1): 217- 227.
- **Aichouni C. et Mouderrès F. (2018).** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. Récoltée dans deux régions Mekhatria et Bathia. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master en science agronomique, option Production Animale, Département Sciences Agronomiques, Université Djilali Bounaama, Khemis Miliana : 29p.
- **Allioui N. (2015).** Structure et diversité génétique d'une population algérienne de l'agent causal de la septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola*). Thèse de Doctorat en biologie végétale, option phytopathologie. Département de biologie. Université Badji Mokhtar, Annaba : 220 p.
- **Aloui N. (2020).** Etude de la biodégradation de quelques pesticides par des bactéries isolées de différentes niches écologiques de la wilaya d'Ouargla. Thèse de Doctorat en Sciences biologiques, option Ecologie saharienne. Département de biologie. Université de Ghardaïa : 148p.
- **Aouali S. et Douci-khalfi A. (2020).** Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie: symptômes, développement et moyens de lutte. Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC-BP16), El-Harrach, Alger : p.8
- **Aoun B. (2019).** Activité fongicide des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Ocimum basilicum* et *Mentha spicata* sur les champignons phytopathogènes du pois et de la fève. Mémoire de Master en sciences biologiques, option Microbiologie appliquée, Département des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Khider, Biskra : 43p.

- **Athammia I. ; Djaibet C. et Zaghdoudi C. (2018).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Thymus capitatus* L. sur des agents d'Otomyose : cas d'*Aspergillus niger*. Mémoire de Master en sciences biologiques. Département de biologie. Université 08 Mai 1945 de Guelma : 18p.
- **Batsch D. (2011).** L'impact des pesticides sur la santé humaine. Thèse de Doctorat en Sciences pharmaceutiques, Département de pharmacie, Université de Henri Poincaré - NANCY 1, France : 165p.
- **Bel Hadj Chedli R. (2020).** Spécificité de *Zymoseptoria tritici* en Tunisie. Thèse de Doctorat en sciences agronomiques, option Science de la Production Végétale. Université de Carthage : 120p.
- **Belgharbi H. (2020).** Etude de l'effet inhibiteur de corrosion de l'huile essentielle de Cyprès : Extraction, caractérisation et application. Mémoire de Master en Génie des Procédés, option Génie des Procédés des Matériaux. Département : Génie des Procédés. Université 8 Mai 1945, Guelma : 60p.
- **Benabdallah A. (2017).** Etude écophysiological, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie).Thèse de Doctorat en Biologie végétale, option Ecophysologie et Biotechnologie Végétale. Département de Biologie et Ecologie Végétale. Université des Frères Mentouri Constantine 1 : 151p.
- **Benbouali M. (2006).**Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales : "*Mentha rotundifolia* & *Thymus vulgaris*".Mémoire de Magister en Génie des procédés, Département de Génie des procédés. Université Hassiba Ben Bouali, Chlef: 133p.
- **Bencharif A. et Rastoin J. (2007).** Concepts et Méthodes de l'Analyse de Filières Agroalimentaires : Application par la Chaîne Globale de Valeur au cas des Blés en Algérie. Working paper (CIHEAM, CIRAD.INRA, Sup. AGRO. Associé IRD), N° 7: 24p.
- **Ben Mbarek K. et Boubaker M. (2017).**Manuel de grandes cultures-Les céréales. Édition universitaires européennes : 230 p.
- **Bessaoud O. (2018).** «Géostratégies alimentaires en Méditerranée : L'enjeu céréalié» : L'Algérie et le marché des céréales.*Acadimié d'agriculture de la France* : 26p.

- **Boughdad A.; Elkasimi R. et Kharchafi M. (2011).** Activité biologique des huiles essentielles de *Mentha* sur *Callisibruchus maculatus* f. (Coleoptera, Bruchidae). AFPP-Neuvième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture montpellier (conference paper) : 11p.
- **Bouhout D et Mallamaire A. (1965).** Les principales maladies des plantes cultivées au Sénégal. Tome I. Grande Imprimerie Africaine DAKAR : 498p. [Disponible sur : [https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/2021-10/10955.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/2021-10/10955.pdf) ].
- **Bourkhiss M.; Chaouch A.; Ouhssine M.; Bourkhiss B. et Rassam A. (2015).** Étude physicochimique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (VAHL) masters du plateau central marocain physicochemical study of the essential oil of *Tetraclinis articulture* (VAHL) masters from moroccan central plateau. *Les technologies de laboratoire*, Vol. 9, N°37 : p.3.
- **Bousbia N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de Doctorat en chimie, ENSA El-Harrach (Algérie)/ Université d'Avignon, France : 128p.
- **Boutabia L.; Telailia S.; Guenadil F. et Chefrou A. (2020).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Mentha pulegium* L. and *Mentha suaveolens* Ehrh. growing in north-east of Algeria. Tom. XXVII, Issue 2, Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie: 143-148.
- **Bouzi D. (2018).** Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse de Doctorat en sciences biologiques, option Microbiologie .Département de microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif 1 :105p.
- **Brada M.; Bezzina M.; Marlier M.; Carlier A. et Lognay G. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* vol.11 (1) : 3-7.
- **Broydé H. et Doré T. (2013).** Effets des pratiques agricoles sur la contamination des denrées par les mycotoxines issues de *Fusarium* et *Aspergillus* spp. *Cah Agric* vol. 22, N°3 : 182-94. Doi : 10.1684/agr.2012.05.
- **Cheriet M.; Messelouh F. et Zentout N. (2004).** Essai d'isolement et de purification de *Botrytis cinerea* et évaluation de De l'efficacité de quelques fongicides sur ce champignon. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures (D .P..S) en biologie, Option Microbiologie. Département de Biochimie- Microbiologie. Université de Jijel : 57p.

- **Cognez N. (2020).** Exposition résidentielle aux pesticides pendant la grossesse et santé du jeune enfant. Thèse de Doctorat en Biologie Santé, option Épidémiologie, Analyse de Risque, Recherche Clinique. Université Rennes 1, France: 165p.
- **Cruz M. (2015).** Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols : développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde. Thèse de Doctorat en sciences chimiques, option Chimie analytique et environnementale. Université de Bordeaux. France : 481p.
- **Derwich E.; Benziane Z. et Boukir A. (2010).** Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia* from Morocco. *Electronic Journal of environmental, Agricultural and Food Chemistry*, vol. 9 (1): 19-28.
- **Djermoun A. (2009).** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie* : 45-53.
- **El Arch M., Satrani B.; Farah A.; Bennani L.; Boriky D.; Fechtal M.; et al. (2003).** Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, vol.150 (3) : 267-274. Doi : 10.1080/12538078.2003.10515996.
- **Fernandez X. & Chemat F. (2012).** La chimie des huiles essentielles Tradition et innovation. *Vuibert*, France : 274p.
- **Hamri S. (2013).** Etude thermophysique de la diffusion de molécules de bas poids moléculaire dans des réseaux de polymères acryliques. Thèse de Doctorat en physique. Département en physique .Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen : 161p.
- **Hilan C., Sfeir R., Jawish D. & Aitour S. (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des *lamiaceae*. *Lebanese Science Journal*, Vol. 7, N° 2 : p.14.
- **Hmiri S.; Rahouti M.; Habib Z.; Satrani B.; Ghanmi M. et Eljjouri M. (2011).** Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 80 : 824-836.

- **Hollner S. (2009).** Développement de nouveaux traitements de protection à base d'acide carboxylique pour la conservation d'objets en fer du patrimoine culturel. Thèse de Doctorat en Physique et Chimie de la Matière et des Matériaux. Université Henri-Poincaré Nancy Paris : 202p.
- **Goudjil M.B. (2016).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de Doctorat en génie des procédés, option génie des procédés et environnement. Département de Génie des Procédés, Université Kasdi Merbah, Ouargla : 160p.
- **Iazzourene G. (2015).** Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (*Myrtus communis L.*), de la carotte sauvage (*Daucus carota L. subsp. carota*) et de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia L.*).Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach, Alger : 145p.
- **Jazy M. (2018).** Chromatographie Sur Couche Mince Et Activité Antiradicalaire d'extraits de *Pupalia Lappacea (L.) Juss. Amaranthaceae. European Scientific Journal, Vol.14, N°3: 1857-7881.*
- **Kadri O.; Ouazzani Touhami A.; Benkirane R. et Douira A. (2014).** Pouvoir pathogène de *Botrytis cinerea* sur *Catharanthus roseus* à différents stades végétatifs. *Journal of Applied Biosciences: 6338-6351.*
- **Lakhdar L. (2015).**Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggrigatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro .Thèse de Doctorat en Sciences Odontologiques .Université Mohammed V de Rabat, Maroc : 164p.
- **Laurent B. (2016).** Base génétique et potentiel d'évolution de la pathogénicité de *Fusarium graminearum*, bio-agresseur fongique des céréales. Thèse de Doctorat en Sciences agricoles. Université de Bordeaux, 2016. France : 277p.
- **Leblalta A. (2018).** Activités insecticide et antifongique des extraits et de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia (Linné, 1762)*.Thèse de Doctorat en Agronomie, option Protection des végétaux. Département des sciences agronomiques. Université Ferhat Abbas Sétif 1 :133p.
- **Leblalta A.; Harzallah D.; Cherrad S. et Demirtaş I. (2020).** Antifungal Activity of *Mentha rotundifolia* Essential Oil against *Fusarium oxysporum*.

*International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, Vol. 4 (1): 56-68.

- **Lepoivre P. (2003).** Phytopathologie. 1<sup>ère</sup> éd., éd. Boeck : université de Boeck, Belgique : 426p.
- **Mejri S. (2018).** Efficacités et modes d'action de nouveaux simulateurs de défenses des plantes sur le pathosystème blé-*Zymoseptoria tritici*. Thèse de Doctorat en Sciences agricoles, option Ingénierie des Fonctions Biologiques, Université du Littoral Côte d'Opale. France : 195p.
- **Merhi M. (2008).** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de Doctorat en Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition. Université de Toulouse : 140p.
- **Metahni A. (2012).** Déposition et réenvol de spores fongiques : contribution à la compréhension du risque nosocomial aérotransmis. Thèse de Doctorat, Ecole normale supérieure de Lyon - ENS LYON. France : 175p.
- **Pawar N. V.; Patil V.B.; Kamble S. S. et Dixit G. B. (2008).** First Report of *Aspergillus niger* as a Plant Pathogen on Zingiber officinale from India. *Plant Dis.* Sep. 92(9):1368. Doi: 10.1094/PDIS-92-9-1368C.
- **Perello A.; Noll U.; Slusarenko A.J. (2013).** In vitro efficacy of garlic extract to control fungal pathogens of wheat: 9p.
- **Ponce A.G.; Fritz R.; Valle D. et Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm-Wiss-U-Technol.*, vol. 36: 679-684.
- **Randrianarivelo R. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans* », Alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de Doctorat en Biochimie Fondamentale et Appliquée, option Biochimie (Biotechnologie -Microbiologie), Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée. Université d'Antananarivo, Madagascar: 179p.
- **Riahi L.; Elferchichi M.; Ghazghazi H.; Jebali J.; Ziadi S.; Aouadhi C. et al. (2013).** Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, vol.49: 883-889.

- **Sahnoune H. et Zebboudj S. (2019).** Etude des extractions d'huile essentielle à partir d'une plante *Mentha rotundifolia* L. de la région d'Ain Defla. Mémoire de Master en Chimie, option Chimie pharmaceutique, Département des Sciences de la Matière, Université Djilali Bounaâma, Khemis Miliana : 45p.
- **Sahraoui I. et Siouani I. (2020).** Diversité des activités biologiques de quelques plantes médicinales *Globularia alypum* L. et *Mentha rotundifolia* L. Mémoire de Master en Sciences biologiques, Option Biotechnologie végétale, Département Des Sciences de La Nature et de la Vie, Université L'Arbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi : 68p.
- **Šarić-Kundalić B., Fialova S., Dobeš C., DOBEŠ C., ÖLZANT S. et al. (2009).** Multivariate Numerical Taxonomy of *Mentha* Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *Rev. Sci Pharm*, vol. 77: 851-876.
- **Saur L., Benacef N. et Morlais Jy. (1993).** Relation entre les symptômes de fusariose de l'épi et la perte de rendement chez le blé tendre. *Agronomie, EDP Sciences*, vol.13 (9) : 829-833.
- **Sellal Z.; Dahmani J.; Benkirane R.; Ouazzani Touhami A. et Douira A. (2012).** Etude de la mycoflore associée à *Pyrus mamorensis* Trabut, arbre endémique de la forêt de la Mamora (Maroc). *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, N° 3: 71-86.
- **Siou D. (2013).** Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de Doctorat en Sciences agricoles. Université Paris Sud 11, Paris, France: 182p.
- **Soylu E.M.; Kurt Ş. and Soylu S.; (2010).** In vitro and in vivo antifungal activities of essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International journal of food microbiology*, vol.143: 183-189.
- **Son D.; Kim M.; Woo H.; Park D. et Jung E. (2018).** Anti-thermal Skin Aging Activity of Aqueous Extracts Derived from Apple Mint (*Mentha suaveolens* Ehrh.) in Human Dermal Fibroblasts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*:7p.
- **Tawfik E.; Alqurashi M.; Aloufi S.; Alyamani A., Baz L. et Fayad E. (2022).** Characterization of Mutant *Aspergillus niger* and the Impact on Certain Plants. *Sustainability*, 14,1936. <https://doi.org/10.3390/su14031936>.
- **Taalbi A. (2016).** Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia*

(Domrane) de l'ouest algérien. Mémoire En vue de l'obtention du Master en chimie, Option Molécules Bioactives, Synthèse et Application, Département de Chimie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen : 50p.

- **Touré D. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse de Doctorat en biochimie, option Chimie- Biologie, Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire: 116p.
- **Uwineza M. S.; El yousfi B. et Lamiri A. (2018).** Activités antifongiques in vitro des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Eugenia aromatica* et *Cedrus atlantica* sur *Fusarium culmorum* et *Bipolaris sorokiniana*. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, N° 12: 19-32.
- **Venkateshappa S.M. et Sreenath K.P. (2013).** Potential medicinal plants of *lamiaceae*. *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, 3(1): 82-87.
- **Vidal T. (2017).** Intérêt de la diversité architecturale des plantes cultivées pour limiter la progression épidémique de maladies foliaires à dispersion pluviale : cas de la septoriose au sein d'associations variétales de blé. Thèse de Doctorat en Agriculture, alimentation, biologie, environnement, santé (ABIÉS), option Sciences agricoles. Université Paris Saclay (COMUE), France : 111p.
- **Xu M. L.; Yang J. G.; Wu J. X.; Chi Y. C. et Xie L. H. (2015).** First Report of *Aspergillus niger* Causing Root Rot of Peanut in China. *Plant Dis.* Feb. 99(2): 284. Doi: 10.1094/PDIS-05-14-0530-PDN.
- **Zahalka J. P. (2010).** Les huiles essentielles. Ed. Dauphin, Paris : 367p.

### Sites Internet

[1]. <https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Guelma--Guellat-Bou-Sbaa--Guellat-Bou-Sbaa>  
(Consulté le 17/04/2022).

[2].  
<https://www.google.com/maps/place/Guelaat+Bou+Sbaa/@36.5511889,7.4851969,13z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x12f06878960c0759:0x2e7549a453eccb64!8m2!3d36.5472384!4d7.4755306> (consulté le 13/05/2022)

[3]. <https://www.dictionnaire-medical.fr/definitions/534-ph/> (Consulté le 15/05/2022)



[4]. <https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/aspergillus-niger> (Consulté le 14/05/2022)

[5]. <https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/fusarium-spp> (consulté le 14/05/2022)

## Résumé

Les effets néfastes des pesticides sur la santé publique et sur l'environnement ont été rapportés par plusieurs auteurs, ceci a nécessité le besoin de recherche de molécules naturelles pour la protection des cultures et la préservation des rendements. Cette étude qui entre dans ce contexte vise la valorisation d'une espèce de plante aromatique très répandue dans la région de Guelma (Nord-Est Algérien), la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia*), par la détermination de son potentiel de rendement en HE, et ses caractéristiques physicochimiques, et la détermination de son activité antifongique à l'égard de quatre champignons phytopathogènes : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium roseum* et *Zymoseptoria tritici*. Les rendements obtenus sont de l'ordre de  $0.4 \pm 0.1$  % pour les feuilles et  $0.3 \pm 0.1$  % pour les tiges. La chromatographie sur couche mince (CCM), la spectroscopie à l'UV-Vis. et à infra rouge (IRTF) nous ont permis de déduire que cette HE comporte une variété d'espèces chimiques. Les tests relatifs au pouvoir antifongique ont montré que toutes les souches testées ont montré une grande sensibilité à l'HE de *M. rotundiifolia*.

**Mots clés :** Huile essentielle, *Mentha rotundifolia*, rendement, caractérisation physicochimiques, activité antifongique, champignons

## Abstract

The harmful effects of pesticides on public health and on the environment have been reported by several authors, which have necessitated the need for research for natural molecules for crop protection and yield preservation. This study which enters in this context aims at the valorization of an aromatic plant, widespread in the region of Guelma (North-East of Algeria), the round leaf mint (*Mentha rotundifolia*), by determining its EO yield potential, and its physicochemical characteristics, and testing its antifungal activity against four plant pathogenic fungi : *Aspergillus niger*, *Botrytis cenerea*, *Fusarium roseum* and *Zymoseptoria tritici*. The yields obtained are  $0.4 \pm 0.1\%$  for the leaves and  $0.3 \pm 0.1\%$  for the stems. Thin layer chromatography (TLC), UV-Vis spectroscopy, and infrared (IRTF) allowed us to deduce that this EO contains a variety of chemical species. Antifungal tests showed that all strains tested showed high susceptibility to *M. rotundifolia* EO.

## الملخص

أكدت العديد من الدراسات ان الاستعمال المفرط للمبيدات ينجم عنه تأثيرات جانبية مضره للبيئة و الصحة العمومية ، مما يستوجب ضرورة البحث عن مركبات طبيعية لوقاية النباتات من الآفات و الحفاظ على المحاصيل الزراعية. تهدف هذه الدراسة، التي تدخل في هذا السياق، إلى تمييز أحد أنواع النباتات العطرية المنتشرة بشكل كبير في منطقة قالمه (شمال شرق الجزائر)، نعناع مستدير الاوراق (*Mentha rotundifolia*) من خلال تحديد قدراته لإنتاج الزيوت الأساسية، مع تحديد خصائصها الفيزيائية والكيميائية واختبار مفعولها المضاد للفطريات الممرضة للنبات : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium roseum* , *Zymoseptoria tritici*. أظهرت النتائج أن مردود الزيوت الأساسية في الأوراق  $0.4 \pm 0.1$  % و  $0.3 \pm 0.1$  % للسيقان . و سمحت لنا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM والتحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية UV-Vis والأشعة تحت الحمراء IRTF باستنتاج أن الزيوت المستخلصة تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية. كما أظهر اختبار المفعول المضاد للفطريات أن جميع السلالات التي تم اختبارها لها حساسية تجاه الزيوت الأساسية ل *Mentha rotundifolia*

**الكلمات المفتاحية :** زيوت أساسية، الإنتاج، الخصائص الفيزيائية و الكيميائية، النشاط المضاد للفطريات، فطريات، *Mentha rotundifolia*.