



## Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Biotechnologie et valorisation des plantes »

### THÈME

**Evaluation du potentiel antifongique de l'huile essentielle de  
*Mentha spicata* dans la lutte biologique contre les champignons  
phytopathogènes**

Présenté Par :

**RIADI Fadhila**

**SAIDI Nour El Houda**

Devant le jury composé de :

**BOUZATA Chahira**

**MCB**

**Présidente**

**UCBET**

**GHRIB Imene**

**MAA**

**Examinatrice**

**UCBET**

**DJEKOUN Meriem**

**MCA**

**Promotrice**

**UCBET**

## **Remerciements**

*A l'issu de ce travail ...avant tout ...nous remercions **ALLAH** le tout puissant qui nous donné la volonté, le courage et la patience, qui a éclairé nous chemin pour accomplir ce travail et dépasser toutes les difficultés.*

*Nous tenons à remercier vivement Mme **DJEKOUN Meriem** d'avoir accepté de nous encadrer. Merci pour vos aides, vos conseils judicieux, votre disponibilité et vos orientations qui nous ont permis de mener à bien toutes nos recherches.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude à madame **BOUZATA Chahira** pour l'honneur qu'elle me fait en présidant ce jury.*

*Mes vifs remerciements vont également à madame **GHRIB Imene** pour avoir accepté de faire partie de mon jury en donnant de son temps pour la lecture et la discussion de mon travail.*

*Nous adressons notre profond remerciement à madame **BENALIOUCHE Fouzia**, directrice de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El Kous de la wilaya d'El Tarf, pour nous avoir donné la chance de réaliser ce projet en nous accueillant dans son institut.*

*Nous tenons évidemment à remercier tous les cadres et les ingénieurs de l'INPV d'El Kous, pour leur disponibilité et leur appui technique.*

*Nous remercions s'adressent également à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation durant nos années d'études et plus particulièrement ceux de la Biotechnologie et valorisation des plantes.*

*Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire, de près ou de loin.*

**Fadhila et Nour El Houda**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail particulièrement*

*À mes très chers parents **Baya** et **Kamel**, en guise de gratitude pour tout leur sacrifice, soutien, confiance, compréhension, amour et leurs conseils pendant toutes mes années d'études. Vous êtes les êtres les plus chères à mon cœur, aucun mot ne pourra exprimer ma gratitude et mon estime pour vous.*

*À mon encadreur **Mme DJEKOUN Meriem**, pour ses conseils avisés et ses efforts et le temps qu'elle m'a accordé.*

*À ma chère sœur **Amani** et mon cher frère **Ismail**, Merci pour votre soutien moral qui a été pour moi une source de courage et de confiance.*

*À tous les autres membres de ma grande famille et mes proches **RIADI** et **GHEDJATI**.*

*À toutes mes amies : **Amel, Randa, Marwa, Rayen***

*À ma chère binôme " **Nour El Houda** " pour sa contribution précieuse dans la réalisation de ce travail.*

*À mes camarades de master II Biotechnologie et Valorisation des Plantes.*

*Fadhila*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*À ma très chère mère **FACI Amel**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*À mon encadreur **Mme DJEKOUN Meriem**, pour ses conseils avisés et ses efforts et le temps qu'elle m'a accordé*

*À ma grand-mère **BEN SEBTI Zohra** pour sa bénédiction*

*À tous ceux qui m'aiment et me souhaitent du succès*

*À mon binôme **Fadhila** pour sa contribution précieuse dans la réalisation de ce travail*

*À tous mes camarades de master II Biotechnologie et Valorisation des Plantes*

*Nour El Houda*

# Table des matières

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

<b>Introduction générale</b>	1
<b>I. Revue bibliographique</b>	2
1. Présentation du règne fongique	2
1.1. Généralités	3
1.2. Taxonomie	3
1.3. Les champignons phytopathogènes	5
2. Les huiles essentielles	6
2.1. Définition	6
2.2. Localisation des huiles essentielles	6
2.3. Propriétés physico-chimiques	7
2.4. Composition chimique	7
3. La lutte biologique	8
3.1. Utilisation des huiles essentielles dans la lutte biologique	9
3.1.1. Sur les insectes	9
3.1.2. Sur les adventices	9
3.1.3. Sur les microorganismes	9
3.2. Avantages et inconvénients de la lutte biologique	10
<b>II. Matériel et méthodes</b>	12

1.	Description de la zone d'étude	12
2.	Matériel végétal	13
2.1.	Position systématique	13
2.2.	Noms vernaculaires	15
2.3.	Description botanique	15
3.	Extraction des huiles essentielles	19
4.	Isolement et identification du champignon phytopathogène	19
4.1.	Préparation et mise en culture des échantillons	20
4.2.	Purification des isolats fongiques	20
4.3.	Identification des souches fongiques	21
5.	Evaluation de l'activité antifongique	21
5.1.	Détermination de la CI50	22
5.2.	Détermination de la nature de la fongitoxicité	22
<b>III.</b>	<b>Résultats</b>	23
1.	Caractéristiques de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	23
2.	Identification de l'agent pathogène	23
2.1.	Etude macroscopique	23
2.2.	Etude microscopique	25
3.	Evaluation de l'activité antifongique	27
3.1.	Effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne	23
3.2.	Détermination du pourcentage d'inhibition	28
3.3.	Détermination de la CI50	30
3.4.	Détermination de la nature de la fongitoxicité	30

<b>IV. Discussion générale</b>	31
<b>Conclusion générale et perspectives</b>	35
<b>Références bibliographiques</b>	37

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Organisation phylogénétique des champignons	5
02	Quelques composés terpéniques des huiles essentielles	8
03	Situation géographique de la zone d'étude	12
04	Carte climatique de la région d'El Tarf	13
05	Champ de <i>Mentha spicata</i> dans la région Ben Mhidi - Willaya d'El Tarf	16
06	Parties aériennes de <i>Mentha spicata</i>	17
07	Feuilles de <i>Mentha spicata</i>	17
08	Fleurs de <i>Mentha spicata</i>	18
09	Extraction de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> par hydrodistillation	19
10	Mise en culture des fragments de racines infestées	20
11	Purification des isolats fongiques	21
12	Aspect des colonies de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes sur le milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C	24
13	Aspect des colonies de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes sur le milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C	24
14	Aspect des colonies de la souche fongique isolée à partir de racines de petits pois sur le milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C	25
15	Aspect des spores sous microscope optique de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes (Gr ×10×40)	26
16	Aspect des spores sous microscope optique de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes (Gr ×10×40)	26
17	Aspect des spores sous microscope optique de la souche fongique isolée à partir de racines de petits pois (Gr ×10×40)	27
18	Evolution de la taille des colonies de la souche <i>Alternaria citri</i> exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	27
19	Evolution de la taille des colonies de la souche <i>Fusarium solani</i> exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	28

<b>20</b>	Evolution de la taille des colonies de la souche <i>Fusarium oxysporum</i> exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	<b>28</b>
<b>21</b>	Pourcentages d'inhibition de la souche <i>Alternaria citri</i> exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	<b>29</b>
<b>22</b>	Pourcentages d'inhibition de la souche <i>Fusarium solani</i> exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	<b>29</b>
<b>23</b>	Pourcentages d'inhibition de la souche <i>Fusarium oxysporum</i> exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	<b>30</b>

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Noms vernaculaires de <i>Mentha spicata</i>	<b>15</b>
<b>02</b>	Caractéristiques de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i>	<b>23</b>
<b>03</b>	Valeurs des CI 50 enregistrés	<b>30</b>

---

# **Introduction générale**

---

## Introduction générale

Si les pesticides ont constitué un énorme progrès dans la maîtrise des ressources alimentaires et l'amélioration de la santé publique (en particulier dans la lutte contre les insectes, vecteurs des maladies), le revers de la médaille est apparu rapidement. L'utilisation massive et incontrôlée de ces produits a conduit à leur dissémination dans tous les milieux de l'environnement et pour certains à une persistance sur le long terme.

La prise de conscience du coût environnemental de ces pratiques et les craintes des consommateurs du danger que peuvent constituer les résidus de pesticides pour la santé humaine font naître un intérêt grandissant pour des alternatives de lutte pour la protection des cultures. Parmi les solutions envisagées, l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances à pouvoir antifongique ou antimicrobien. Ainsi les huiles essentielles et les extraits organiques, suscitent un intérêt croissant comme source potentielle de molécules naturelles bioactives pouvant être employées comme alternatives à certaines substances synthétiques (**Bruneton, 1999**).

C'est dans cette optique, que nous nous sommes intéressés à étudier une plante poussant à l'état spontané et très répandue dans la région d'El Tarf : *Mentha spicata*, appartenant à la famille des Lamiacées, à travers l'extraction de l'huile essentielle et l'évaluation de son activité antifongique. Le choix cette plante est basée sur son utilisation fréquente dans les traditions locales culinaires et médicinales.

Ces travaux sont décrits dans le présent manuscrit qui est composé de trois parties essentielles :

- La première partie est construite à partir d'éléments de la bibliographie scientifique sur le règne fongique, en évoquant les champignons phytopathogènes et l'utilisation des huiles essentielles dans la lutte biologique.
- La seconde partie décrit les différentes expérimentations réalisées et les protocoles adoptés. Elle est axée sur l'extraction de l'huile essentielle et l'étude, *in vitro*, du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata*.
- Enfin, la dernière partie sera allouée à la discussion des résultats obtenus, suivie d'une conclusion générale avec les perspectives envisagées.

---

# **Revue bibliographique**

---

## I. Revue bibliographique

### 1. Présentation du règne fongique

#### 1.1. Généralités

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (**Mueller et Schmit, 2007**). On estime à 1.5 millions le nombre d'espèces de champignons vivant sur Terre (**Hawksworth, 2001**). Ce sont des organismes eucaryotes, sporogones et non chlorophylliens, se reproduisant par voie sexuée ou asexuée. Le terme « champignons » regroupe principalement : les levures, les champignons filamenteux (communément appelés moisissures) et les champignons supérieures (ou champignons comestibles) (**Sylvain, 1996**).

Les champignons filamenteux sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif forme un thalle composé de filaments microscopiques, souvent ramifiés, appelés hyphes ; l'ensemble de ces hyphes forme le mycélium. Les hyphes sont entourés par une paroi cellulaire protectrice, qui permet les échanges avec le milieu extérieur. Elle est en générale formée de chitine associée à d'autres constituants (chitosanes, glucanes, protéines) (**Champion, 1997**).

Les champignons filamenteux sont ubiquitaires et très répandus dans la nature, notamment au niveau des végétaux en décompositions, ils sont hétérotrophes, et plus particulièrement absorbotrophes puisqu'ils absorbent les éléments, digères de manière extracellulaire, au travers de leur appareil végétatif présentant une perméabilité pariétale. Ils ne peuvent pas synthétiser de matière organique à partir du gaz carbonique atmosphérique. En effet, ils sont incapables d'assurer la photosynthèse. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement. Ils synthétisent leurs propres nutriments à partir de l'eau et des éléments nutritifs et minéraux qu'ils puisent dans leur environnement. Il joue un rôle important dans le recyclage des matières organiques en puisant leur énergie à partir de ces sources carbonées externes (**Lecellier, 2013**). La plupart des champignons sont mésophiles avec des optimums de croissance variant de 25°C à 35°C (**Nguyen Minh Tri, 2007**).

Les champignons se reproduisent essentiellement par des spores uni- ou pluricellulaires. On distingue, selon leur origine, les spores sexuées et les asexuées. La forme sexuée, ou

téléomorphe, a pour fonction de maintenir l'espèce et apparait souvent en fin de saison alors que la forme asexuée, dite aussi forme imparfaite ou anamorphe, assure la propagation.

## 1.2. Taxonomie

Le concept d'espèces chez les champignons est une notion alimentant les débats. Ces espèces peuvent être différenciées de différentes façons ; historiquement, les champignons étaient reconnus sur la base de leur morphologie selon le concept morphologique d'espèce (Taylor *et al.*, 2000). La grande majorité des espèces décrites à ce jour reposent sur ce concept, par une analyse des traits phénotypiques (morphologiques et/ou biochimiques) (Taylor *et al.*, 2000 ; Guarro *et al.*, 1999). Les champignons peuvent être également décrits selon leurs habitats, leurs localisations géographiques, selon le concept écologique de l'espèce (Taylor, 2000).

L'application récente du concept phylogénétique de l'espèce, a été favorisée par les progrès des techniques d'analyses moléculaires, et tend à être massivement employée en mycologie. Sur des bases phylogénétiques, l'organisation des champignons en phyla est actuellement revisitée (figure 2) et cinq phyla sont aujourd'hui acceptés (James *et al.*, 2006) :

### ❖ *Chytridiomycota*

Les organismes du phylum Chytridiomycota sont les seuls champignons à posséder des spores uniflagellées (zoospores). C'est la lignée évolutive la plus ancienne des champignons (James *et al.*, 2006). La présence de spores flagellées semble restreindre ces organismes aux aquatiques et dans les sols humides (James *et al.*, 2006). Les organismes de ce phylum sont souvent microscopiques mais peuvent aussi produire un mycélium. La plupart des Chytrides sont saprotrophes, aérobies ou anaérobies ; ils sont capables de dégrader un grand nombre de substrats (Powell, 1993 ; Shearer *et al.*, 2007). Environ 1000 espèces ont été décrites au sein de ce phylum, ce qui correspond à environ 1% des espèces décrites de champignons (Taylor *et al.*, 2004).

### ❖ *Zygomycota*

Les Zygomycota constituent un groupe ancien des champignons ayant divergé après les Chytridiomycota (James *et al.*, 2006 ; Bar-Hen *et al.*, 2008). Ce groupe est formé d'organismes microscopiques hétérogènes (James *et al.*, 2006 ; Tanabe *et al.*, 2000 ; Bar-

**Hen et al., 2008**). Différents modes de vie sont retrouvés, les plus communs étant le saprophytisme et le parasitisme (d'insectes principalement). Plus de 600 espèces ont été décrites à ce jour, ce qui représente moins de 1% des champignons décrits (**Hawksworth 1991 ; Hawksworth & Rossman, 1997 ; Hawksworth, 2001**).

#### ❖ *Glomeromycota*

Historiquement, les organismes de ce phylum étaient placés au sein des Zygomycota, dans l'ordre des Glomérales, un groupe qui regroupait les champignons mycorhiziens à arbuscules (**Morton et Benny, 1990**). L'analyse phylogénétique du gène codant l'ARNr 18S a permis d'ériger un nouveau phylum: les Glomeromycota. A ce jour, 160 espèces ont été décrites en adoptant le 'traditionnel' concept d'espèce morphologique principalement basé sur la morphologie de la paroi des spores. Néanmoins, de nombreux phylotypes ont été découverts par approches moléculaires (**Vandenkoornhuysen et al., 2002**). Toutes les espèces de ce phylum sont des organismes symbiotiques biotrophes stricts de plantes (formant des mycorhizes à arbuscules).

#### ❖ *Dicaryotes (Ascomycota et Basidiomycota)*

Les phyla Ascomycota et Basidiomycota forment le groupe des Dicaryotes et représentent la majorité des espèces de champignons décrites, en l'occurrence 67000 espèces (**Taylor et al., 2004**) sur les 100.000 recensées.

Les organismes du phylum Ascomycota comptent 45000 espèces décrites à ce jour (**Hawksworth 1991 ; Hawksworth, 2001 ; Taylor et al., 2004**) et constituent la quasi-totalité des champignons capables de former des associations lichéniques. Des modes de vie saprophytes et parasites sont également largement répandus. On retrouve également chez ces organismes les champignons utilisés en agroalimentaire (*Saccharomyces cerevisiae*) ou en pharmacologie (*Penicillium chrysogenum*).

Les organismes du phylum Basidiomycota regroupent 22000 espèces décrites (**Taylor et al., 2004**). Leur mode de vie est principalement saprophyte : ce sont d'ailleurs les organismes fongiques ayant les capacités de dégradation de matériels ligno-cellulolytique les plus élaborées (**Hibbet et Donoghue, 2001**). On retrouve également des organismes symbiotiques de plantes ou parasites d'animaux.

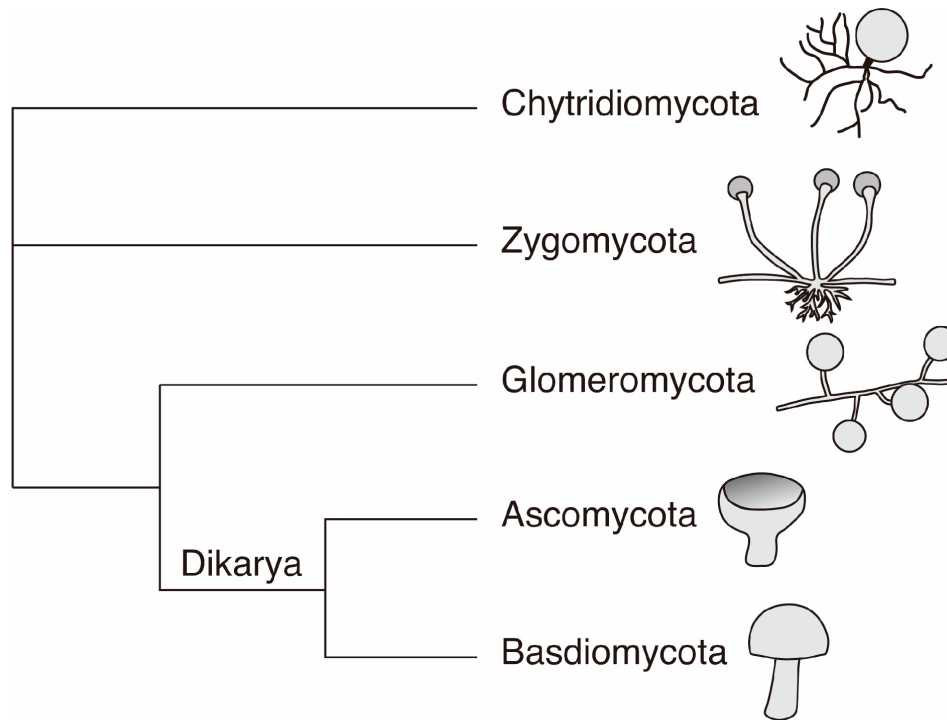


Figure 1. Organisation phylogénétique des champignons (Bindschedler *et al.*, 2016)

### 1.3. Les champignons phytopathogènes

Les atteintes parasitaires de plantes due aux champignons sont qualifiées de maladies cryptogamiques. Celles-ci se manifestent par des réponses visibles et invisibles des cellules et des tissus des plantes. Lorsqu'une plante est atteinte, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont affectées. Des symptômes se développent alors et tout une partie du végétal peut mourir. Ces maladies sont nombreuses. On estime qu'elles peuvent être à l'origine de pertes pouvant aller jusqu'à 40 % des récoltes (Regnault-Roger, 2005).

Dans le cycle de la maladie, on distingue habituellement trois phases qui correspondent à la mise en œuvre des programmes de défense : la phase de contact et de reconnaissance du pathogène, l'activation des cascades de réaction dans les cellules en contact avec le pathogène et d'autres cellules adressant les informations aux autres cellules et même aux autres individus vivant à proximité. Et enfin, la sécrétion de molécules toxiques par le pathogène (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

Les pourritures racinaires et les infections foliaires sont les dommages les plus souvent rencontrés sur les plantes vivaces. Elles se manifestent par des taches, des brûlures, des

rouilles, anthracnoses...etc. la plus part de ces maladies sont causées par des champignons et des bactéries. Des virus et des désordres physiologiques peuvent aussi être impliqués (**Prabhu et al., 1992**).

Les champignons responsables de la hernie du chou ont des spores protégées, en dormance, que restent viables dans le sol pendant environ 40 années. L'organisme responsable du mildiou de la pomme de terre se transmet d'une année à l'autre dur les semences mais se répand d'une plante à l'autre sous forme de spores (**Denni, 2011**).

Les champignons phytopathogènes sont difficilement observables ; seuls les symptômes qu'ils provoquent chez la plantes permettent de les détecter. Ces maladies se manifestent fortement lorsque le climat est chaud et humide. En effet, ces conditions facilitent le déplacement des spores de champignons dans l'air et à la surface des feuilles. Transportées par le sol ou le vent, les spores arrivent à la surface de la plantes où elles peuvent envahir les cellules végétales (**Prabhu et al., 1992**).

Les maladies cryptogamiques sont très diverses et sont classées selon le type de symptômes qu'elles produisent. Au sein de ces groupes, les microorganismes pathogènes peuvent être spécifiques à leur hôte. Ainsi l'organisme responsable de l'oïdium chez le pommier diffère des champignons de l'oïdium, apparemment identique, chez le prunier ou encore le rosier. D'un autre côté, le champignon de la pourriture grise, *Botrytis cinerea*, peut affecter différentes plantes et parties des plantes (**Denni, 2011**).

## **2. Les huiles essentielles**

### **2.1. Définition**

Plusieurs définitions sont disponibles des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (**Bruneton, 1999**). Selon **Afnor (2000)**, les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entrainement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèches.

### **2.2. Localisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en générale dans

des cellules glandulaires spécialisées. Elles sont, ensuite, stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécréteurs, dans des poches sécrétrices et dans des canaux sécréteurs. Les huiles essentielles peuvent être retrouvées dans divers organes: les fleurs (bergamotier, rose,...) les feuilles (citronnelle, eucalyptus,...), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre,...), les fruits (anis, badiane,...), le bois (bois de rose, santal,...), ou les graines (muscade,...).

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (**Belkou, 2005**).

### 2.3. Propriétés physico-chimiques

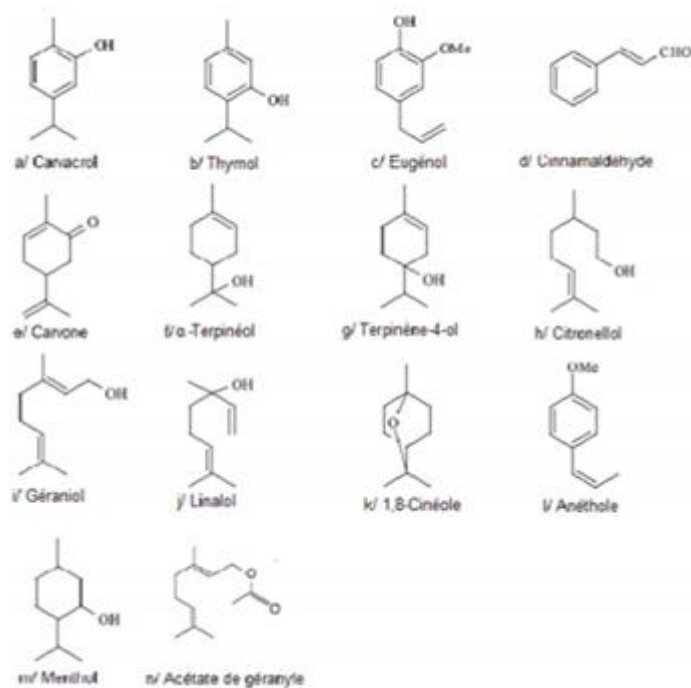
Les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bruneton, 1999**). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

### 2.4. Composition chimique

Les huiles essentielles sont avant tout des composés terpéniques. Du strict point de vue chimique, les terpènes apparaissent comme des polymères d'un carbure d'hydrogène diéthylénique, l'isoprène. Selon le nombre de résidus isoprènes que groupent les composés terpéniques, on distingue :

- Les terpènes simples, formés de deux isoprènes.
- Les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes.
- Les di terpènes, formés de quatre isoprènes.
- Les triterpènes, formés de six isoprènes.
- Les tétraterpènes, formés de six isoprènes (**Benayad, 2008**).



**Figure 2. Quelques composés terpéniques des huiles essentielles (Kalemba et Kunicka, 2003)**

### 3. La lutte biologique

La lutte biologique vise à contrôler les interactions entre les agents pathogènes et les facteurs biotiques ou abiotiques de l'environnement (**Lepoivre, 1988**). Pour la lutte chimique utilisant des pesticides, elle présente plusieurs inconvénients tels que les problèmes de pollution environnementale qui est aussi considérée comme un problème sérieux pour la santé humaine. De plus, l'utilisation de ces produits de synthèse peut entraîner le développement de souches résistantes (**Ahandagbe et al., 2014**). La recherche d'autres méthodes en prenant en considération d'autres critères que l'efficacité est devenue indispensable. La lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antimicrobiennes, peut constituer une alternative aux produits chimiques (**Maihebiau, 1994**).

Les produits extraits à partir des végétaux sont utilisés comme « biopesticides » contre les ravageurs pour leurs effets répulsifs, de contact ou fumigant (**Hamdani, 2012**). Parmi ces substances naturelles, figurent les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques.

### **3.1. Utilisation des huiles essentielles dans la lutte biologique**

Les huiles essentielles ont été testées sur différentes cibles en protection des cultures : les insectes, les micro-organismes (champignons et bactéries) les adventices et aussi en protection des semences.

#### **3.1.1. Sur les insectes**

Les activités des huiles essentielles décrites sur les insectes sont variées : larvicides, adulticides, répulsifs ou inhibiteurs de croissance. La plupart des huiles essentielles agissent en perturbant la structure de la membrane cellulaire, ou par leurs effets neurotoxiques due à des interactions avec des neurotransmetteurs tel que le GABA et l'octopamine par inhibition de l'acétylcholinestérase (**Deravel *et al.*, 2014**).

#### **3.1.2. Sur les adventices**

Les études publiées sur l'activité des huiles essentielles à effet herbicide sont nombreuses et portent généralement sur des tests d'inhibition de la germination des graines. Les plus actives sont les huiles essentielles à phénols (thymols, carvacrol), à acétones (carvone, pulégone) ou à étheroxydes (eucalyptol ou 1-8-cinéol) (**Solty *et al.*, 2013**).

#### **3.1.3. Sur les microorganismes**

##### **○ Activité bactérienne**

Les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Lamiaceae : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à huiles essentielles riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*,

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001).

#### ○ **Activité antifongiques**

Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus* et *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* (Kalemba et Kunicka, 2003). Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Lamiaceae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge.

Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies, certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukou *et al.*, 1988). Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actifs (Yen et Chang, 2008).

### 3.2. **Avantages et inconvénients de la lutte biologique**

#### ○ **Avantages**

La lutte biologique présente de nombreux avantages. Elle peut être aussi bien utilisée en agriculture conventionnelle qu'en agriculture biologique. Certains biopesticides permettent aux plantes de résister au stress abiotique et ils sont moins toxiques que leurs homologues chimiques (Jovana *et al.*, 2014).

- Certains biopesticides microbiens présentent des bénéfices supplémentaires à leur rôle de protection, Les champignons du genre *Trichoderma* ont la particularité de faciliter l'absorption d'éléments nutritifs du sol par les plantes (Harman, 2011).
- Des biopesticides, comme les pyrèthres, insecticides extraits de la plante *Tanacetum* (*Chrysanthemum*) *cinerariaefolium* ont une action rapide, une faible toxicité contre les mammifères ainsi qu'une faible persistance après leur application (Silverio *et al.*, 2009).
- Les biopesticides améliorent la qualité de vie de travailleurs et offrent aux consommateurs des produits sains

- Leur dégradation rapide diminue le risque de pollution environnementale
- Ils diminuent ou éliminent l'utilisation des pesticides chimiques

- o **Inconvénients**

Certains des avantages écologiques des biopesticides, comme leur faible rémanence ou le fait qu'un produit soit actif contre un faible spectre de nuisibles, peuvent être considérés comme des inconvénients. En effet, ces deux avantages écologiques combinés à leur activité souvent dépendante des conditions climatiques et environnementales rendent les biopesticides moins efficaces que leurs homologues chimiques (**Jovana *et al.*, 2014**). Leur activité est restreinte lors d'une grande pression du ravageur. De plus l'efficacité n'est pas toujours constante d'une production à l'autre.

---

# Matériel et Méthodes

---

## II. Matériel et méthodes

Nous exposerons, dans ce qui suit, les différentes expérimentations réalisées avec les techniques et les protocoles adoptés. Cette étude s'intéresse principalement à l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata*, très répandue dans la région d'El Tarf.

### 1. Description de la zone d'étude

La région d'El Tarf est réputée pour sa nature généreuse, ses zones humides et son environnement. Elle s'étend sur une superficie de 3 339 km<sup>2</sup> (Figure 3).



**Figure 3. Situation géographique de la zone d'étude (Bahroun, 2007)**

Le climat est de type méditerranéen humide, caractérisé par deux saisons de six mois chacune. La pluviométrie peut atteindre les 1200 mm par an, donnant naissance à un réseau hydrique très étendu (rivières, cours d'eau, lacs, lagunes, marres, marécages, deltas...etc) pouvant accueillir plusieurs microclimats (Figure 4).



La menthe verte fait partie du règne des plantes (**Plantae**). C'est une plante terrestre, avec des rameaux dressés, ce qui la fait appartenir à l'embranchement des **Embryophytes (APG III 2009)**. Le sous-embranchement des **Trachéophytes** auxquelles elles sont rattachées forme le clade le plus évolué des Embryophytes : les plantes de ce groupe possèdent un appareil conducteur assurant la circulation des liquides ou sèves (**Carlier-Loy, 2015**).

La menthe verte dépend de la super-classe des **Spermatophytes**. La reproduction de cette section comporte deux innovations majeures : le gamétophyte reste inclus à l'intérieur de la spore et la fécondation n'est plus tributaire de l'eau extérieure (**Carlier-Loy, 2015**).

Sa classe, les **Angiospermes**, est immense et des plus variables. Elle se différencie des gymnospermes par la présence d'un ovaire et d'un fruit, de plus les organes reproducteurs se groupent en fleurs bisexuées et le gamétophyte femelle est le siège d'une double fécondation.

Les **Eudicots**, où l'on retrouve notre menthe, est le plus vaste ensemble des Angiospermes. Ce sont les plantes à fleurs pourvues de 2 cotylédons et d'un pollen à 3 apertures (**Carlier-Loy, 2015**).

Les **Astéridées**, leur sous-classe, est l'un des principaux clades des Eudicots selon la classification phylogénétique **APG III de 2009**. Ce sont les Eudicots à pétales et carpelles soudés : ce qui assure, entre autres, une meilleure protection des organes reproducteurs.

Le clade des Euastéridées de la classification APG III comprend l'ordre des **Lamiales**. La corolle y est zygomorphe, souvent bilabiée, ce qui entraîne la perte de 1 voire 3 étamines.

On retrouve la menthe dans la famille des Lamiacées, une famille assez homogène. La forme de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille, tout comme les feuilles opposées (**Dupont, 2012**).

Enfin le genre **Mentha** se différencie par son inflorescence : les entre-noeuds sont très courts et les feuilles réduites à des bractées, de plus la corolle est quasiment régulière.

La classification des menthes se fait selon la forme générale de l'inflorescence : les fleurs s'organisent en cymes bipares qui se contractent en glomérules ou en verticilles ; **Mentha spicata** fait partie des menthes dont les verticilles forment des épis terminaux. Mais c'est la composition chimique qui permet la classification de celle-ci, par l'huile essentielle : la menthe verte est riche en carvone (**Carlier-Loy, 2015**).

Le nom de l'espèce est toujours suivi par le nom abrégé du premier botaniste qui l'a décrite, il s'agit ici de Linné, abrégé L.

## 2.2. Noms vernaculaires

Le tableau suivant énumère les différentes appellations de la plante *Mentha spicata* :

**Tableau 1. Noms vernaculaires de *Mentha spicata***

<b>Nom botanique</b>	<i>Mentha spicata</i> L., <i>Mentha viridis</i> L.
<b>Nom arabe</b>	نعناع
<b>Nom commun</b>	menthe verte, menthe douce, menthe chewing-gum, menthe des jardins, menthe romaine, menthe sauvage, baume vert,

## 2.3. Description botanique

La menthe verte appartient à la famille des Lamiacées, qui comprend 6500 espèces dispersées sur une aire géographique très étendue. C'est une famille très homogène : une Lamiacée est facile à reconnaître. Ce sont le plus souvent des plantes herbacées et des arbustes producteurs d'huiles essentielles, dont l'odeur se dégage par simple attouchement. En effet, la localisation des huiles essentielles est très externes ; elles se forment dans des poils à essence et se localisent sous la cuticule qui se soulève (**Dupont 2012**). La forme de la fleur (une corolle zygomorphe avec perte de l'étamine supérieure) et la présence d'huiles essentielles signent donc l'appartenance à cette famille. L'appareil végétatif comprenant une tige à section carrée et des feuilles opposées sont aussi des caractéristiques.

La menthe verte est une plante vivace dressée, de moins d'un mètre de hauteur et d'une odeur agréable, forte et très caractéristique (**Teuscher 2005**). C'est une herbe fortement ramifiée, généralement glabre, rameuse et rhizomateuse (Figure 5).

Elle est pourvue d'une racine pivotante qui dure plus de trois ans. Des rhizomes souterrains longs, rampants et chevelus et des stolons qui donnent de nombreuses tiges, assurent sa multiplication végétative.



**Figure 5. *Champ de Mentha spicata* dans la région Ben Mhidi - Willaya d'El Tarf**

Les tiges sont de sections quadrangulaires (carrées), à peu près dépourvues de poils (Figure 6), dressées (orthotropes) et généralement ramifiées (de Monet de Lamarck 1805).



**Figure 6. Parties aériennes de *Mentha spicata***

Le feuillage (Figure 7) est habituellement vert profond sur les deux faces mais les jeunes feuilles sont généralement plus claires. Les feuilles sont gaufrées, sub-sessiles, ovaleslancéolées ou oblongues-lancéolées, de 4 à 9 cm de longueur. Elles sont fortement dentées en scie, pointues et sans poil (Grosjean 1990). Elles sont opposées et décussées par paires à chaque nœud. La base des feuilles embrasse légèrement la tige. Ces feuilles ont une odeur et une saveur aromatique caractéristiques.



**Figure 7. Feuilles de *Mentha spicata***

Les fleurs sont petites, blanchâtres à mauve, et forment des épis terminaux étroits et pointus (Figure 8). Elles sont zygomorphes et hermaphrodites. Les épis sont peu denses, longs, grêles et discontinus (par étage, espacés les uns des autres). Elles fleurissent de juillet à octobre.

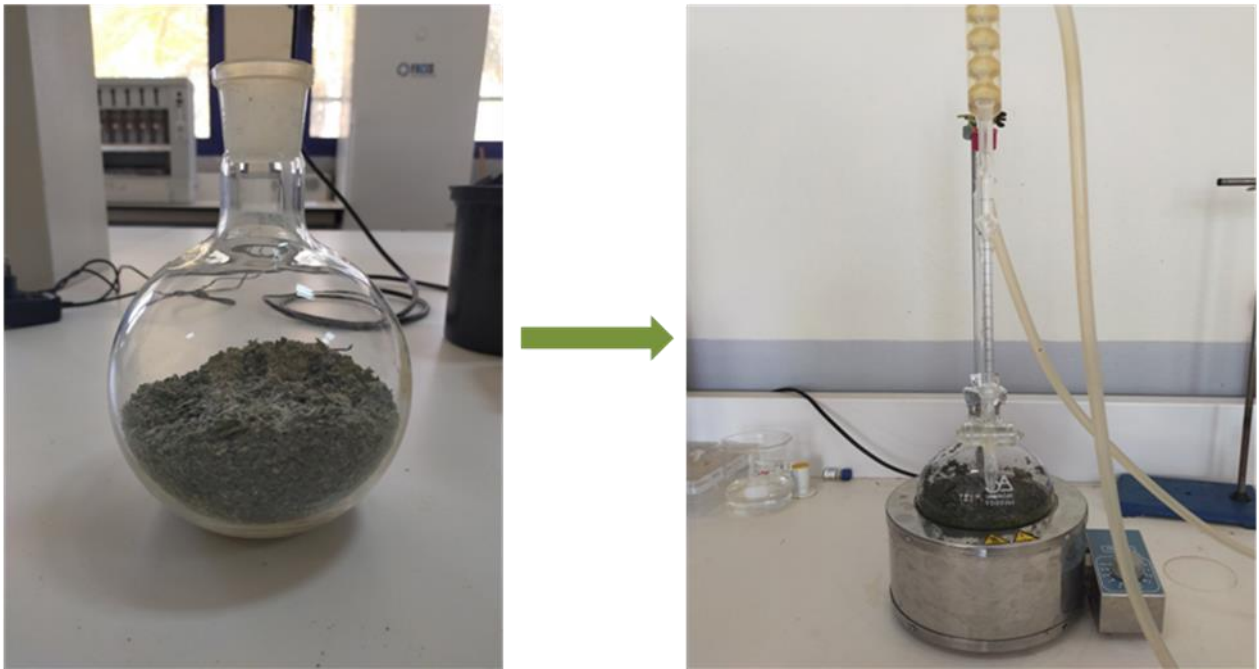


**Figure 8. Fleurs de *Mentha spicata* (Carlier-Loy, 2015).**

### **3. Extraction des huiles essentielles**

La récolte de *Mentha spicata* est réalisée durant le mois de Mars. Les parties aériennes de la plante sont récupérées et nettoyées de la terre et des autres herbes contaminants ; puis séchées à l'air libre.

L'extraction de l'huiles essentielle est effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Figure 9).



**Figure 9. Extraction de l'huile essentielle de *Mentha spicata* par hydrodistillation**

Dans le ballon de l'hydrodistillateur, contenant 650 ml d'eau, un échantillon de 50 g est soumis à l'entraînement à la vapeur d'eau durant 3 heures à une température de 100 °C. Les vapeurs chargées d'huile, traversent un réfrigérant, se condensent et se séparent en deux phases liquides ; une phase aqueuse (eau aromatique) et une phase organique constituée par l'huile essentielle. A la fin de l'hydrodistillation, l'huile essentielle de couleur jaune est récupérée dans un récipient hermétique. Elle est conservée, par la suite, à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à son usage (Chanthaphon *et al.*, 2008).

#### **4. Isolement et identification des champignons phytopathogènes**

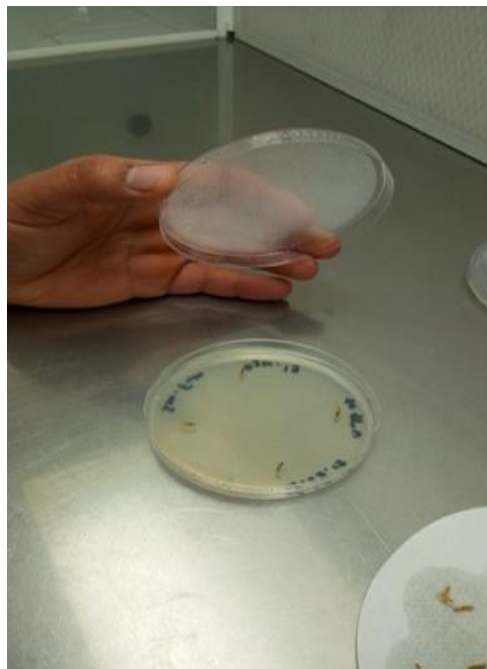
Les souches fongiques sont isolées à partir de racines d'agrumes (citronnier) et de petits pois infectées. Les échantillons nous ont été fournis par l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El Kous. Ils sont issus d'une prospection faite au niveau de la région Est du pays. Le protocole expérimental adopté et utilisé met en évidence 3 étapes clés.

##### **4.1. Préparation et mise en culture des échantillons**

Les échantillons sont lavés soigneusement à l'eau courante et brossés afin d'éliminer la terre. Avec un instrument coupant (type scalpel), préalablement passé à la flamme du bec Bunsen puis refroidi, des fragments de racines sont prélevés dans une zone où l'agent

pathogène est supposé être plus actif (limite de nécrose, de coloration...). Les fragments sont ensuite désinfectés par leur incorporation dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) à 2 % pendant 10 minutes, puis rincés abondamment à l'eau distillée stérile et enfin séchés à l'aide de papier filtre stérile.

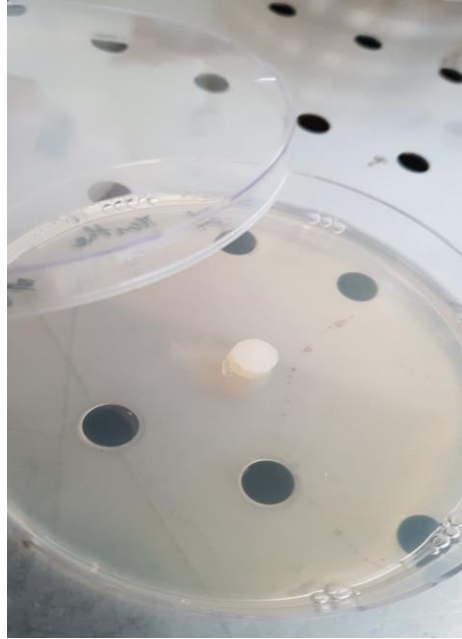
Une fois séchés, les échantillons sont déposés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé spécifique: le milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Ils sont répartis à raison de 4 à 5 fragments par boîte (Figure 10). Les boîtes sont incubées dans une étuve bactériologique à une température de 22°C pendant 7 à 10 jours (**Champion, 1997**).



**Figure 10. Mise en culture des fragments de racines infestées**

#### **4.2. Purification des isolats fongiques**

Elle est réalisée par un repiquage successif en découpant de petits fragments sur la bordure des colonies développées (mycélium). Les fragments découpés sont déposés directement sur le milieu de culture PDA à raison d'un implant par boîte (Figure 11).



**Figure 11. Purification des isolats fongiques**

#### **4.3. Identification des souches fongiques**

L'identification et la détermination des genres et des espèces se fait sur la base de certains caractères morphologiques et cultureux (vitesse de croissance, aspect des colonies, la couleur et la texture du thalle, la pigmentation) et l'observation microscopiques des macroconidies et des microconidies (forme et taille). L'identification est basée sur les clés de détermination des moisissures recommandées par **Botton *et al.* (1990)**, **Messiaen *et al.* (1991)** et **Champion (1997)**.

#### **5. Evaluation de l'activité antifongique**

Les expériences sont réalisées en testant 4 concentrations : 8, 12, 16 et 20  $\mu\text{l/ml}$ . L'objectif de cette expérience est d'apprécier une activité inhibitrice sur la croissance mycélienne. Pour cela, l'huile essentielle de *Mentha spicata* est incorporée aseptiquement dans le milieu de culture maintenu en surfusion (40 à 45°C). Le mélange est ensuite coulé dans les boîtes de Pétri. Des disques mycéliens de 6 mm ont été découpés sur des cultures jeunes et sont ensuite déposés au centre des boîtes de Pétri. En parallèle, un témoin est réalisé de la même façon ou la même quantité de fongicide est remplacée par de l'eau distillée stérile. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C. Après 7 jours d'incubation, le diamètre moyen des colonies est estimé à partir de 2 diamètres perpendiculaires.

Le Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne sera calculé selon la formule de **Pandey *et al.* (1982)**.

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [D_0 - D_{H.E}] / D_0 \times 100$$

Où  $D_0$  est le diamètre moyen des colonies témoins et  $D_{H.E}$  est le diamètre moyen des colonies en présence de l'huile essentielle.

### **5.1. Détermination de la CI 50**

Elle correspond à la concentration de l'huile essentielle qui inhibe la croissance mycélienne de 50 %. La CI50 est calculée graphiquement par régression linéaire.

### **5.2. Détermination de la nature de la fongitoxicité**

Elle est basée sur le transfert d'un fragment mycélien de la boîte de Pétri où l'inhibition par huile essentielle est totale, dans un nouveau milieu PDA dépourvu d'huile essentielle. Cette dernière est considérée comme fongistatique si la croissance de la souche fongique reprend à nouveau et est fongicide ou létal s'il n'y a pas de croissance.

---

# Résultats

---

### III. Résultats

#### 1. Caractéristiques de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

Les critères d'appréciations d'une huile essentielle sont ses propriétés organoleptiques telles que le goût, la couleur et l'odeur. Ces propriétés ne donnent qu'une information très limitée sur cette essence. La qualité d'une essence est définie par des normes fixées. Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale en précisant les conditions opératoires des analyses et en mettant au point des monographies pour la caractérisation des huiles essentielles les plus courantes.

Après extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparé avec ceux des normes **AFNOR (2000)**.

**Tableau 2. Caractéristiques de l'huile essentielle de *Mentha spicata***

Caractéristiques	Normes AFNOR	Résultat obtenu
<b>Aspect</b>	Liquide mobile et limpide	Liquide mobile
<b>Couleur</b>	Presque incolore à jaune pale	Incolore
<b>Odeur</b>	Fraîche, plus ou moins mentholée	Fraîche, mentholée

#### 2. Identification des agents pathogènes

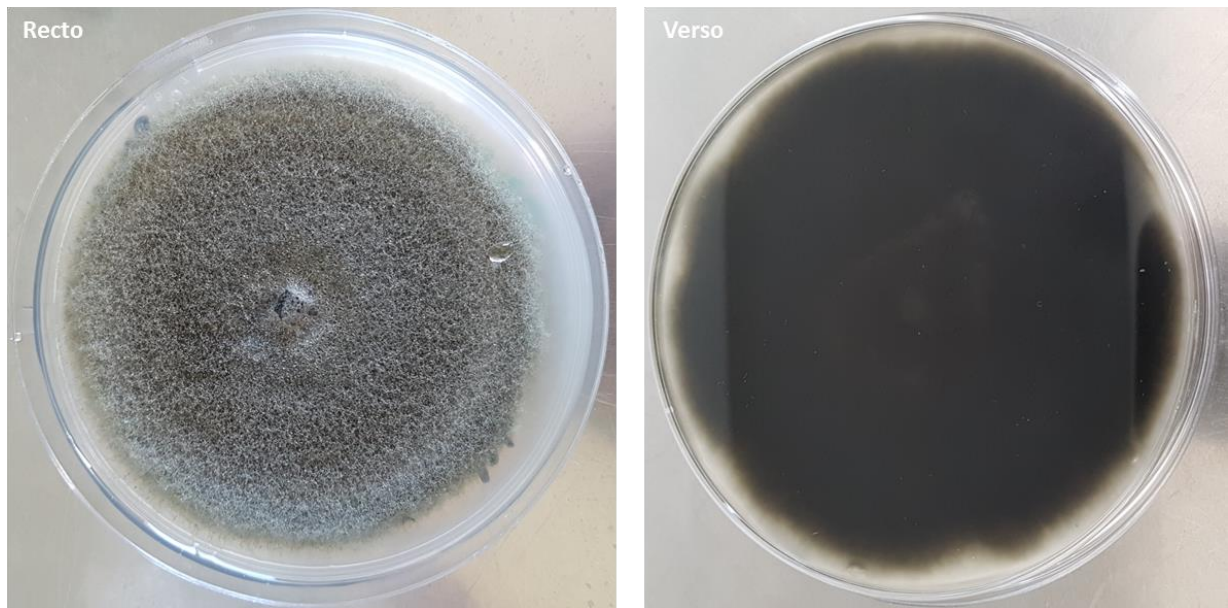
##### 2.1. Etude macroscopique

L'isolement est réalisé à partir de racines d'agrumes (citronnier) et de petits pois infectés. Après la phase d'incubation, les isolats fongiques ont été prélevés et purifiés.

En se basant sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères culturaux et la morphologie microscopique (la taille, la forme et l'arrangement des conidies sur le conidiophore), établies par **Botton *et al.* (1990)**, **Messiaen *et al.* (1991)** et **Rémi *et al.* (1997)**, il s'est avéré que les isolats fongiques appartiennent au genre *Fusarium* et *Alternaria*.

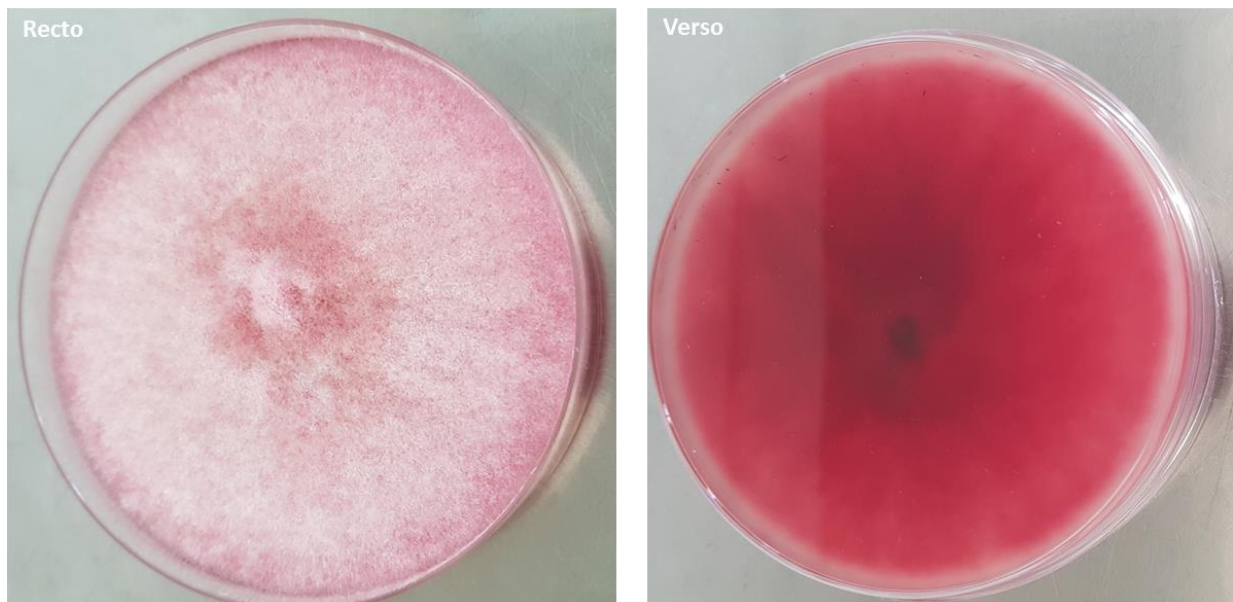
Sur milieu PDA, la croissance des souches est rapide allant de 5 à 7 jours et se traduit par la production d'un mycélium dense et aérien (cotonneux). La couleur du mycélium dépend l'espèce isolée.

- Racines d'agrumes



**Figure 12. Aspect des colonies de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes sur le milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C**

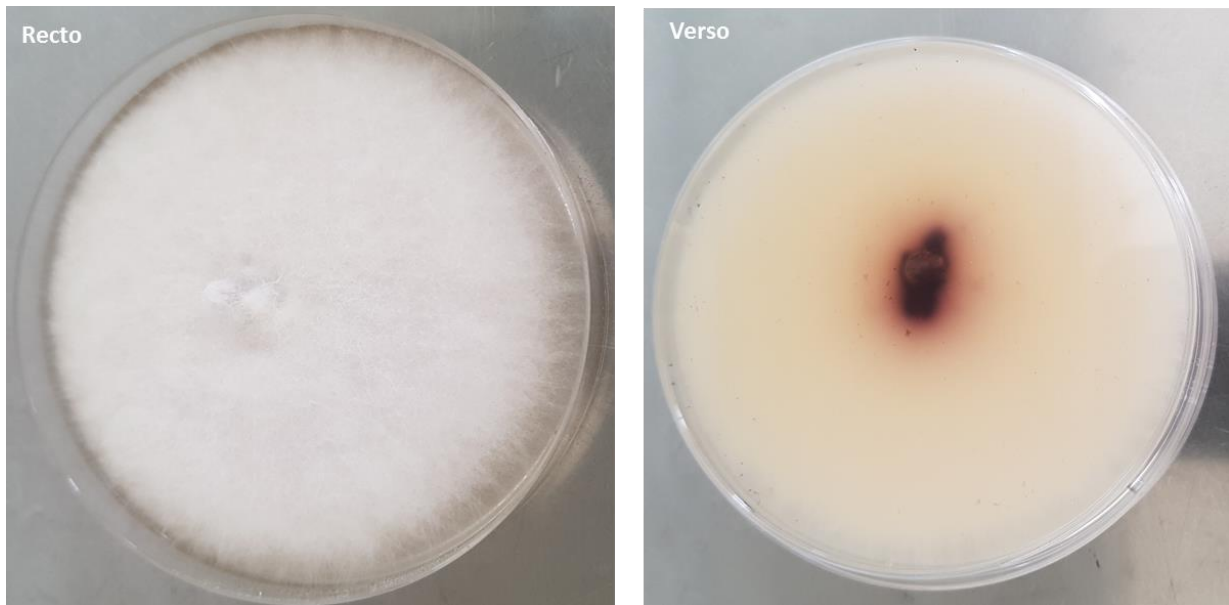
La colonie est noire et duveteuse et présente une texture épaisse (Figure 12)



**Figure 13. Aspect des colonies de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes sur le milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C**

Le mycélium est dense. La couleur de la colonie est rosée et rouge carmin au verso (Figure 13).

- **Racines de petits pois**



**Figure 14. Aspect des colonies de la souche fongique isolée à partir de racines de petits pois sur le milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation à 25°C**

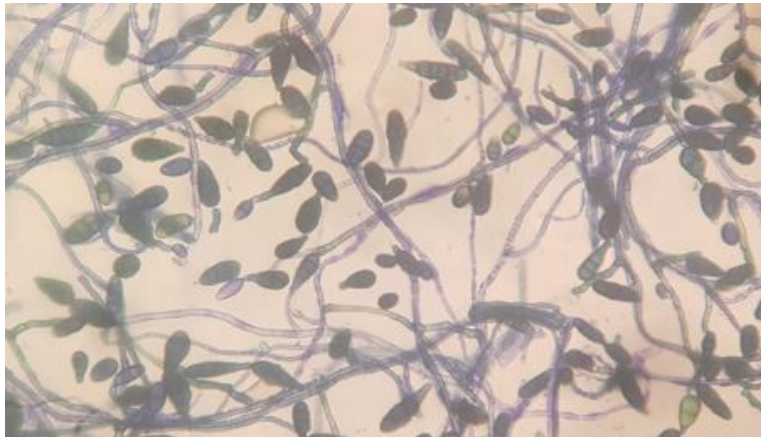
Le mycélium est très dense d'une couleur blanchâtre au recto d'une couleur jaune à fauve au verso (Figure 14).

## 2.2. Etude microscopique

L'identification de l'espèce est basée sur l'observation des préparations microscopiques (la présence, la taille et l'arrangement des microconidies et des macroconidies).

- **Racines d'agrumes**

Au milieu des filaments, des structures reproductrices du champignon sont visibles : les conidies. Ces dernières sont ovoïdes. Elles portent à leur extrémité un bec court. Ces spores sont divisées par des cloisons (ou septas) transversales. Les chaînes de conidies (simples ou ramifiées) sont produites à l'extrémité de bâtonnets appelés conidiophores (Figure 15).



**Figure 15. Aspect des spores sous microscope optique de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes (Gr  $\times 10 \times 40$ )**

L'observation microscopique montre un mycelium septé. Les macroconidies sont de taille variable avec 3 à 4 cloisons (Figure 16)



**Figure 16. Aspect des spores sous microscope optique de la souche fongique isolée à partir de racines d'agrumes (Gr  $\times 10 \times 40$ )**

▪ **Racines de petits pois**

La production de spores est plus ou moins abondante. Les spores sont divisés en 2 cloisons, présentent une petite taille et ne sont pas incurvés (Figure 17).



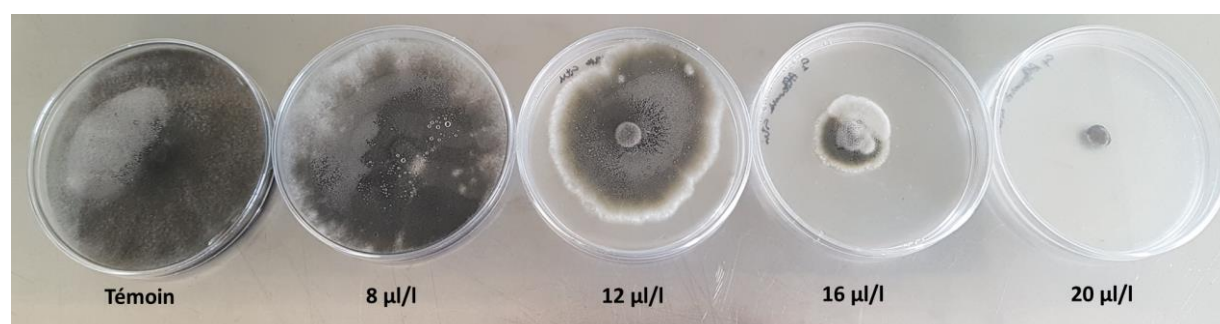
**Figure 17. Aspect des spores sous microscope optique de la souche fongique isolée à partir de racines de petits pois (Gr  $\times 10 \times 40$ )**

La comparaison de ces caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques avec les clés d'identification recommandées par **Botton *et al.* (1990)**, **Messiaen *et al.* (1991)** et **Rémi (1997)**, permet d'assigner les isolats fongiques provenant des racines d'agrumes aux espèces *Alternaria citri* et *Fusarium solani* et celle provenant des racines de petits pois à *Fusarium oxysporum*.

### 3. Evaluation de l'activité antifongique

#### 3.1. Effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne

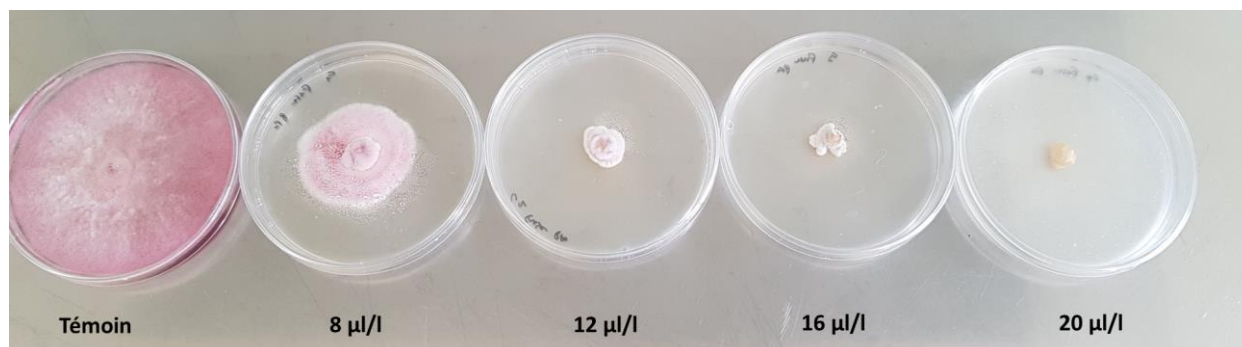
Nos résultats montrent une diminution progressive des diamètres des colonies (Figures 18, 19 et 20).



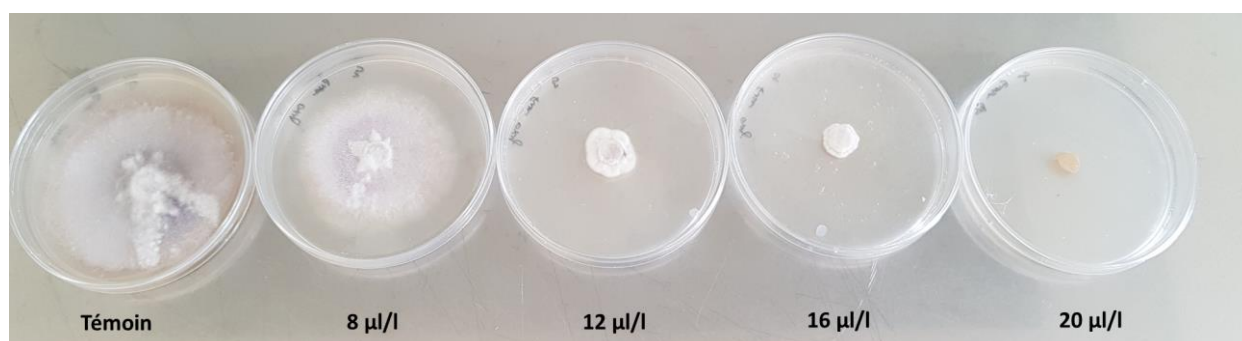
**Figure 18. Evolution de la taille des colonies de la souche *Alternaria citri* exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Mentha spicata***

L'espèce *Alternaria citri* semble être la plus sensible au traitement à l'huile essentielle de *Mentha spicata*. En effet, la croissance mycélienne est totalement inhibée à plus forte

concentration (20  $\mu\text{l/l}$ ). Quant aux colonies des espèces *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*, le diamètre atteint les 0.8 cm pour la concentration 20  $\mu\text{l/l}$ , comparé aux colonies témoins qui sont de l'ordre de 8 et 8.5 cm respectivement.



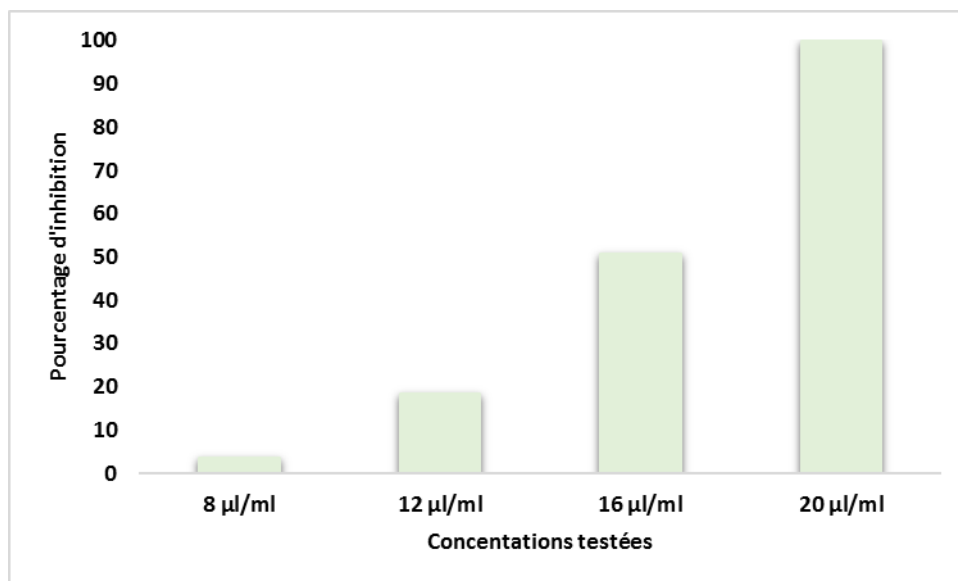
**Figure 19. Evolution de la taille des colonies de la souche *Fusarium solani* exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Mentha spicata***



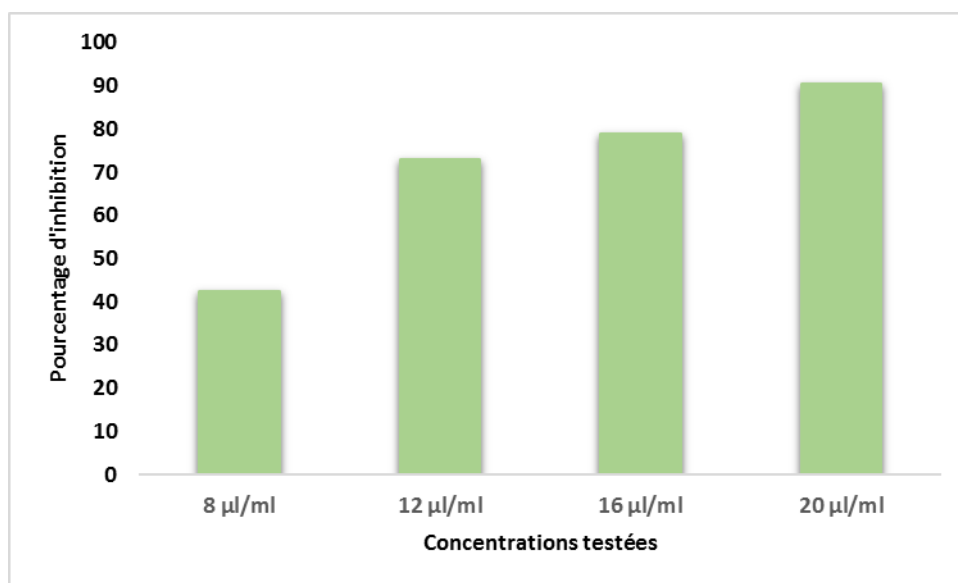
**Figure 20. Evolution de la taille des colonies de la souche *Fusarium oxysporum* exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Mentha spicata***

### 3.2. Détermination du pourcentage d'inhibition

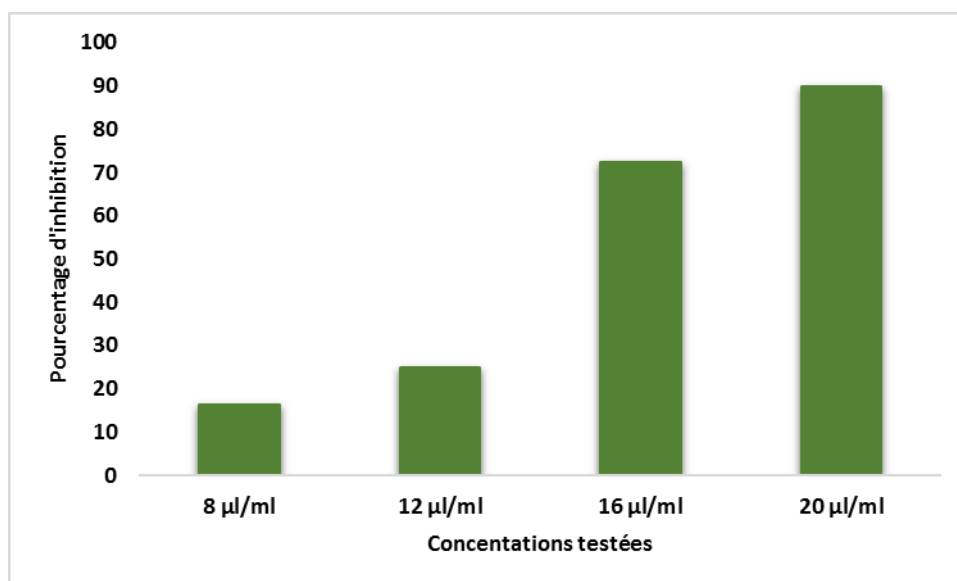
L'effet inhibiteur est dose-dépendant et proportionnel aux concentrations testées (Figures 21, 22 et 23). En effet, un taux d'inhibition de 100% est enregistré pour la souche *Alternaria citri* exposée à la plus forte concentration de l'huile essentielle de *Mentha spicata* (20  $\mu\text{l/ml}$ ) et ce après 7 jours de traitements. Cette même concentration génère des taux d'inhibition de l'ordre de 90% chez les deux pathogènes *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*.



**Figure 21.** Pourcentages d'inhibition de la souche *Alternaria citri* exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Mentha spicata*



**Figure 22.** Pourcentages d'inhibition de la souche *Fusarium solani* exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Mentha spicata*



**Figure 23.** Pourcentages d'inhibition de la souche *Fusarium oxysporum* exposée aux concentrations croissantes de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

### 3.3. Détermination de la CI50

Les CI50 enregistrées dans cette étude se situent entre 8 et 15 µl/l. Elles montrent une sensibilité des trois phytopathogènes à l'action de l'huile essentielle de *Mentha spicata*

**Tableau 3.** Valeurs des CI 50 enregistrés

Espèces	CI50 (µl/l)
<i>Alternaria citri</i>	15.50
<i>Fusarium solani</i>	8.72
<i>Fusarium oxysporum</i>	13.83

Le phytopathogène *Fusarium solani* s'avère être la souche la plus sensible avec une CI50 de l'ordre de 8.72 suivi de *Fusarium oxysporum* et *Alternaria citri* avec des valeurs respectives de 13.83 et 15.50 µl/l.

### 3.4. Détermination de la nature de la fongitoxicité

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne est relancée après la période d'incubation suggérant ainsi un effet fongistatique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* vis-à-vis des phytopathogènes *Alternaria citri*, *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*.

---

# Discussion générale

---

#### IV. Discussion générale

De nombreuses études récentes concernant des plantes du genre *Mentha*, sous forme d'extraits ou d'huiles, ont montré le potentiel antimicrobien de diverses espèces trouvées dans de nombreuses régions du monde. Le but de ce travail est de démontrer l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* contre des bio-ravageurs alimentaires isolés à partir de racines d'agrumes et de petits pois, à savoir, *Alternaria citri*, *Fusarium solani* et *Fusarium solani*.

Les concentrations testées ont permis d'apprécier un effet inhibiteur dose-dépendant et proportionnel aux concentrations testées. Le diamètre des colonies des espèces *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* passe d'environ 8.5 cm chez les témoins à 0.8 cm pour la concentration 20 µl/l. Chez l'espèce *Alternaria citri*, une inhibition totale de la croissance mycélienne a été appréciée pour la plus forte concentration. De plus, l'exposition des phytopathogènes à l'huile essentielle de *Mentha spicata* génère des pourcentages d'inhibition de l'ordre 90% chez *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* et de 100% chez *Alternaria citri* lorsque celles-ci sont exposées à la concentration 20 µl/l.

L'efficacité d'autres espèces du genre *Mentha* a été testée sur d'autres phytopathogènes. En effet **Hmiri et al., (2011)** et **Yakhlef (2020)** ont démontré l'effets inhibiteur des extraits de *Mentha pulegium* sur des souches fongiques de *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* et *Fusarium culmorum*, responsables de nombreuses maladies en post-récolte des fruits et le flétrissement du blé.

Nos résultats corroborent ceux d'autres recherches qui ont clairement démontré le pouvoir antifongique notable des huiles essentielles de menthe et qui présentait une fongitoxicité très importante sur plusieurs espèces fongiques (**Lahlou et al., 2005 ; Ouraïni et al., 2007, Hajlaoui et al., 2009**).

L'inhibition de la croissance des filaments de la souche testés est due l'empêchement de la germination des conidies par les composés volatils de l'huile de la lavande. La germination des conidies est la première étape essentielle dans la séquence d'opérations menant à l'établissement d'un tube germinatif et d'un hyphe, par la suite. Le processus commence par l'hydratation suivie de l'action des enzymes lytiques telles que le chitinase et  $\alpha$  et  $\beta$  -

glucanases. Ceci décompose la paroi cellulaire des conidies épaissie pour permettre l'apparition du tube digestif initial. Une fois que cet événement a lieu, il y a un équilibre entre les systèmes lytiques et synthétiques d'enzymes nécessaires pour la prolongation normale des hyphes. Un déséquilibre dans l'un ou l'autre système d'enzymes mène à l'inhibition et/ou à l'empêchement de croissance (McEwan, 1994).

Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles sont difficiles à attribuer à un composé spécifique à cause de leur complexité et variabilité. En général, l'activité antimicrobienne est principalement expliquée par la présence de mono et sesquiterpènes avec des cycles aromatiques et des groupes hydroxyles phénoliques capables de former des liaisons d'hydrogène avec les sites actifs des enzymes cibles (Rojas *et al.*, 2007). Selon Hassane *et al.* (2011), les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de plusieurs plantes aromatiques et médicinales sont attribuées à leur profil chimique et surtout aux alcools terpéniques ; notre huile est riche en ces composés tels que 1,8-Cineole, 1-Nonen-3-ol, 1-Borneol, 4- Terpeneol, 1-Octen-3-ol.

L'effet antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* pourrait être attribué à sa composition chimique riche en monoterpènes oxygénés. Ces composés sont connus pour leur capacité à inhiber la croissance mycélienne. Dans leur étude, Marei et Abdelgalei (2018) ont évalué les effets inhibiteurs de six monoterpènes sur la croissance mycélienne de huit espèces fongiques phytopathogènes. Tous les monoterpènes testés ont provoqué une inhibition de la croissance mycélienne. Cependant, l'effet antifongique dépendait du composé spécifique et de l'espèce fongique testée.

Dans une autre étude réalisée sur deux espèces de menthe cultivées (*Mentha longifolia* et *Mentha pulegium*), les huiles essentielles des deux plantes, dont la composition chimique est très abondante en monoterpènes oxygénés (> 50 % de la composition totale des deux huiles), ont montré une forte activité antimicrobienne contre les 16 micro-organismes testés. D'autre part, l'activité antifongique de l'huile essentielle pourrait être due à la présence d'oxyde de caryophyllène (sesquiterpène oxygéné). Ce composé majeur est connu pour son utilisation comme conservateur dans les aliments, les médicaments et les cosmétiques. Abi-Ayad *et al.*, 2011, dans leur étude menée pour évaluer la sensibilité de certaines souches de moisissures aux huiles essentielles de *Pinus halepensis*, dont l'oxyde de caryophyllène est le constituant

principal (52 %) ; ont observé une activité antifongique contre les souches de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifera*

Les mécanismes par lesquels les huiles essentielles peuvent inhiber les micro-organismes impliquent différents modes d'action et en partie peut-être en raison de leur caractère hydrophobe. En conséquence, elles sont imbriquées dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, les rendant plus perméable, ce qui conduit à la fuite du contenu des cellules vitales, la dépréciation des systèmes enzymatiques bactériens peut aussi être un mécanisme d'action potentiel (**Edris, 2007**). De même, pour les champignons un nombre d'effets et d'hypothèses ont été rapportés : il s'agit notamment de l'inhibition de la sporulation, la germination, l'allongement des hyphes et la perturbation des parois et des membranes cellulaires (**Cavanagh et al., 2007**).

En général, les principaux composants reflètent assez bien les caractéristiques biophysiques et biologiques des huiles essentielles dont elles ont été isolées. L'amplitude de leurs effets étant uniquement fonction de leur concentration lorsqu'elles ont été testées seules ou comprises dans huiles essentielles (**Hajlaoui et al., 2009**). Cependant, il est possible que d'autres molécules mineures modulent l'activité des composants principaux.

Sachant que l'activité antifongique n'est pas générale pour tous les types de moisissures, certains d'entre eux peuvent consommer les terpènes en tant que source de carbone, les dégrader ou les transformer, ce qui peut expliquer l'inefficacité de certaines de ces molécules (**Heyen et Harder, 1995**). De plus certaines espèces fongiques se montrent plus résistantes que d'autres. **Millon et al. (2002)** attribue ceci, au fait que ces souches développent des mécanismes de résistance aux molécules antifongique présentes dans l'extrait des huiles essentielles. Parmi ces mécanismes la capacité à switcher ou à changer de phénotype " Switch phénotypique ".

La synthèse de tous ces résultats, suggère que l'activité antimicrobienne de *Mentha spicata* vis-à-vis des isolats fongiques *Alternaria citri*, *Fusarium solani* et *Fusarium solani* est due, d'un côté, à la présence chez cette plante des principales familles des composés chimiques susceptibles de conférer les propriétés antimicrobiennes à une plante qui sont notamment les dérivés phénoliques et les flavonoïdes. Et d'un autre coté, à l'effet antimicrobien du menthol qui pourrait avoir entraîné, au moins partiellement une perturbation

de la fraction lipidique de la membrane plasmique du microorganisme entraînant des altérations de la perméabilité de la membrane et une fuite des matériaux intracellulaires. (Mickiené *et al.* 2011).

---

# **Conclusion générale**

---

## Conclusion générale et perspectives

Le développement de biocides naturels efficaces aiderait à réduire l'impact négatif des composés synthétiques, tels que la contamination des aliments par les résidus de pesticides, la résistance aux ravageurs et la pollution de l'environnement. À cet égard, les composés naturels peuvent être utilisés comme alternatives sûres pour la gestion des maladies des plantes cultivées causées par des champignons phytopathogènes et la lutte antiparasitaire après récolte. L'utilisation des huiles essentielles ouvre une voie prometteuse dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée contre les ravageurs.

Dans l'optique de valider l'utilisation des espèces végétales du genre *Mentha* et de chercher des alternatives aux substances chimiques de synthèse, notre travail s'est articulé autour de l'évaluation des propriétés antifongiques d'une plante appartenant au genre *Mentha* en se basant essentiellement sur son abondance dans l'Est de l'Algérie.

La plante aromatique *Mentha spicata* poussant à l'état spontané dans la région d'El Tarf a été récoltée en Mars 2022. L'huile essentielle contenue dans les parties aériennes a été extraite par hydrodistillation. L'activité antifongique de cette huile a été évaluée par la technique de dilution en milieu solide sur des champignons phytopathogènes : *Alternaria citri*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*. La confrontation des isolats fongiques aux concentrations croissantes de l'huile essentielle a révélé que *Mentha spicata* exerce un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne, affichant des taux d'inhibition allant de 90% à 100% pour la plus forte concentration.

En somme, l'huile essentielle de *Mentha spicata* nécessite encore des études complémentaires pour déterminer si elle peut avoir une valeur dans le contrôle des phytopathologies et si le traitement est utilisable à l'échelle industrielle.

Dans le but de proposer une formulation bio-fongicide commerciale et d'approfondir les recherches concernant la relation entre la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles, il serait intéressant de :

- Valoriser les résultats obtenus par des essais sur le terrain en testant l'huile essentielle sur des plantes entières en serre, dans les champs et rechercher d'autres possibilités de formulation (fumigation et pulvérisation).

- Recenser et localiser l'espèce *Mentha spicata* afin d'élaborer une carte de répartition à travers la wilaya d'El Tarf.
- Etudier des facteurs influençant la composition chimique de l'huile essentielle à savoir, les facteurs environnementaux (la localisation géographique, le climat, la saison de collecte, les conditions de plantation), les facteurs propres à la plante (le géotype et les stades phénologiques) et les conditions de conservation de l'huile essentielle (température et durée de stockage).
- Fractionner des différents constituants de l'huile essentielle afin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets antimicrobiens et l'éventuelle synergie entre elles.

---

# Références bibliographiques

---

## Références bibliographiques

**-A-**

**Abi-Ayad M., Abi-Ayad F.Z., Lazzouni H.A., Rebiahi S.A., Ziani-Cherif C., Bessiere 2011.** Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil. Journal of Medicinal Plants Research 5 (22) : 5433 - 5436.

**Afnor. 2000.** Huiles essentielles, échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2).

**Ahandagbe S.G.A., Ahoton L., Agbaka A. et Bokonon-Ganta, A. H. 2014.** Etude de quelques paramètres biologiques de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) candidat potentiel pour la lutte biologique contre *Bactrocera dorsalis* (Drew Tsuruta et White) au Benin. EPAC/UAC.

**-B-**

**Bahroun S. 2007.** Impact des eaux usées urbaines et industrielles sur les eaux naturelles dans la région d'El Tarf. Mémoire de Mgister. Université d'Annaba. Algérie.

**Bar-Hen A., Mariadassou M., Poursat M.A., Vandenkoornhuysse P. 2008.** Influence function for robust phylogenetic reconstructions. Molecular Biology and Evolution. 25:869 - 873.

**Belkou H., Beyoud f. et Taleb Bahmed Z. 2005.** Approche de la composition biochimique de la menthe verte (*Mentha spicata* L) dans la région de Ouargla. Mémoire de DES. Université Ouargla. Algérie.

**Benabdellah 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. Université de Constantine. Algérie.

**Benayad N. 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V - Agdal, Maroc.

**Bindschedler S., Cailleau G., and Verrecchia E. 2016.** Role of fungi in the biomineralization of Calcite. Minerals. 6: 1 - 19.

**Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. 1990.** Moississures utiles et nuisible importance industrielle. 2<sup>ème</sup> édition .maosson collection biotechnologies. p.34 - 42.

**Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (4eme Ed.) Tech et doc/Lavoisier, Paris.

## **-C-**

**Carlier-Loy, P. 2015.** *Mentha spicata*: description et utilisations en thérapeutique et en agriculture comme antigerminatif sur la pomme de terre. Thèse de Doctorat. Université de Picardie Jules Verne. France.

**Cavanagh H M.A. 2007.** Antifungal activity of the volatile phase of essential oils: a brief review. Natural product communications 2(12) : 1297 - 1302.

**Champion. R. 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. Éditions Quae.

**Chanthaphon, S., Chanthachum, S. and Hongpattarakere, T. 2008.** Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against foodrelated microorganisms. Songklanakarin Journal of Science Technology. 30(1) : 125-131.

## **-D-**

**De Monet de Lamarck J.B., De Candolle A.P. 1805.** Flore française ; ou, descriptions succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France, 3e édition, Ed Chez H. Agasse. Paris 1805.

**Dupont F., Guignard J.L. 2012.** Botanique : Les familles de plantes, Elsevier. Masson. Issy-les-Moulineaux.

**Denni N, 2011.** Effet fongicide des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum*. Mémoire de Master. Université de Jijel. Algérie.

## **-E-**

**Edris A. E. 2007.** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A Review. Phytotherapy research. DOI: 10.1002/ptr.

## **-G-**

**Grosjean F. 1990.** Etude botanique, physicochimique et pharmacologique de *Mentha pulegium* L. et *Mentha viridis* L. var Nahnah ; Comparaison de l'activité antifongique des huiles essentielles. Thèse de pharmacie. Université de Besançon. France. 165 p.

**Guarro J., Gené J., Stchigel A.M. 1999.** Developments in Fungal Taxonomy. Clinical Microbiology Reviews. 12: 454 - 500.

**-H-**

**Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., Bakhrouf, A. 2009.** Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 25: 2227 - 2238.

**Hamdani D. 2012.** Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques du bruché du Haricot, *Ecologie et biodiversité animales des écosystèmes continentaux*. Tizi Ouzou. 32 p.

**Harman G. 2011.** Trichoderma not just for biocontrol anymore. *Phytoparasitica*. 39: 103-108.

**Hawksworth D.L. 1991.** The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. *Mycological Research*. 95: 641 - 655.

**Hawksworth D.L. 2001.** The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*. 105: 1422 - 1432.

**Hawksworth D.L., Rossman A.Y. 1997.** Where are all the undescribed fungi? *Phytopathology*. 87: 888 - 891.

**Heyen U. and Harder J. 1995.** Geranic acid formation, an initial reaction of Gram-bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 25:259 - 270.

**Hibbet D.S., Donoghue M.J. 2001.** Analysis of character correlations among wood decay mechanisms, mating systems, and substrate ranges in homobasidiomycetes. *Systematic Biology*. 50: 215 - 242.

**Hmiri, S., Amrani, N., & Rahouti, M. 2011.** Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Tanacetum annuum* L. vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. *Acta Botanica Gallica*, 158(4) : 609 - 616.

**-J-**

**James T.Y., Kauff F., Schoch C.L., Matheny P.B., Hofstetter V., ... et al. 2006.** Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*. 443: 818 - 822.

**Jovana D., François K., Philippe J. 2014.** Les biopesticides complémentaires et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 18(2), 220-232.

**-K-**

**Kalemba D., Kunicka A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10 : 813-829.

**-L-**

**Lahlou N., Mounchid K., Aboussaouira T., Habti N., Belghazi L., Fellat-Zarrouk K., Tantaoui-Elaraki A., Rachidai A., Ismaili-Alaoui M.M., 2005.** Study of the cytotoxicity of *Mentha pulegium* essential oil: varying biological tests. *Les Cahiers de la recherche. Serie A* 6 : 7 - 16.

**Lecellier A. 2013.** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de Doctorat. Université de Reims. France.

**Lepoivre p., Semal J. 1988.** La lutte biologique en phytopathologie végétale. *Traité de pathologie végétale*. Ed Presse agronomique de Gembloux, Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation N°25. Biologie médicale. Paris édition: 465- 487.

**-M-**

**Maihebiau P. 1994.** La nouvelle aromathérapie, biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne 635p.

**Marei G.I.Kh., Abdelgalei S.A.M., 2018.** Antifungal potential and biochemical effects of monoterpenes and phenylpropenes on plant pathogenic fungi. *Plant Protection Science* 54 : 9 - 16.

**McEwan M. 1994.** The antifungal effects of plant essential oils and their production by transformed shoot culture. Dr thesis, Strathclyde Institute of Biomedical Sciences, University of Strathclyde, Glasgow, Scotland.

**Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F. and Lafon R. 1991.** Les maladies des plantes maraîchères. INRAA, Paris.

**Mickienė R., Ragažinskienė O., Bakutis B. 2011.** Antimicrobial activity of *Mentha arvensis* L. and *Zingiber officinale* R. essential oils. *Biologija*. 57(2) : 92-97.

**Milon L., Piarroux R., Monod M., Meillet D. 2002.** Physiopathologie de la candidose oropharyngée au cours de l'infection par le VIH. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 32 (12) : 696 - 703.

**Morton J.B., Benny G.L. 1990.** Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae,

and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon. 37: 471 - 491.

**Mueller G.M. and Schmit J.P. 2007.** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? Biodiversity and Conservation. 16: 1 -5.

## **-N-**

**Nguyen Minh Tri M. 2007.** Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisée dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam- Etude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. France.

## **-O-**

**Ouraïni D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M.A., Belabbas M. A., 2007.** Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus satureioides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. Phytothérapie 1:6 - 14.

## **-P-**

**Pandey D.K., Tripathi N.N., Tripathi R.D. and Dixit, S.N. 1982.** Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of Hyptis suaveolens/Fungitoxische und phytotoxische Eigenschaften des ätherischen Öis von Hyptis suaveolens. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. The Journal of Plant Diseases and Protection. 89 : 344 - 349.

**Pauli A. 2001.** Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journal of Aromatherapy. 11: 126-133.

**Prabhu, A.V., Khelfane K. et Bekal S. 1992.** Compilation des maladies fongiques des plantes en Algérie. Univ. Tizi-ouzou. OPUP, 85p.

## **-R-**

**RAMSAR. 2010.** Manuel 1 : Utilisation rationnelle des zones humides. Manuel RAMSAR 4ème édition.

**Regnault-Roger C., Fabres G. et Philogène B.J.R. 2005.** Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement.

**Rojas J., Velasco J., Rojas L. B., Díaz T., Carmonac J. and Morales A. 2007.** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Baccharis latifolia* pers. and *B. prunifolia* H. B. &K. (Asteraceae). Natural Product Communications. 2(12) : 1245 -1248.

**-S-**

**Silverio F., de Alvarenga E., Moreno S. and Picanco M. 2009.** Synthesis and insecticidal activity of new pyrethroids. *Pest Management Sciences*. 65: 900-905.

**Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R. and Gniazdowska, A. 2013.** Allelochemicals as bioherbicides—Present and perspectives. In *Herbicides-Current research and case studies in use*. IntechOpen.

**Sylvain D. 1996.** Dégradation de la caféine par *Aspergillus sp* et *Penicillium sp*. Etude physiologique et biochimique. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier. France.

**-T-**

**Tanabe Y., O'Donnell K., Saikawa M., Sugiyama J. 2000.** Molecular phylogeny of parasitic Zygomycota (Dimargaritales, Zoopagales) based on nuclear small subunit ribosomal DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 16: 253 - 262.

**Taylor J.W., Spatafora J., O'Donnell K., Lutzoni F., James T., Hibbett D.S., Geiser D., Bruns T.D., Blackwell M. 2004.** The Fungi. In *Assembling the Tree of Life* (Joel Cracraft, Michael J. Donoghue eds). Oxford University Press.

**Teuscher E., Anton R., Lobstein A. 2005.** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Ed Tec & Doc, Paris.

**-V-**

**Vandenkoornhuysen P., Husband R., Daniell T.J., Watson I.J., Duck J.M., Fitter A.H., Young J.P.W. 2002.** Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology*. 11: 1555 - 1564.

**Voukou D., Kokkini S. and Bressiere J.M. 1988.** *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece Distribution, volatile oil yield, and composition. *Economy Botanic*. 42:407 - 412.

**Yakhlef, G., Hambaba, L., Pinto, D. C., & Silva, A. M. 2020.** Chemical composition and insecticidal, repellent and antifungal activities of essential oil of *Mentha rotundifolia* (L.) from Algeria. *Industrial Crops and Products*, 158, 112988.

**-Y-**

**Yen T.B., Chang S.T., 2008.** Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresource of Technology*. 99: 232 - 236.

## Résumé

La lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles ayant un effet pesticide peut être une alternative aux produits chimiques de synthèse ; parmi ces substances se trouvent les extraits de plantes aromatiques et en particulier les huiles essentielles.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata*, vis-à-vis de souches fongiques isolées partir de plantes infestées à savoir, *Altarnaria citri*, *Fusarium solani*, *Fusarim oxysporum*.

Les résultats obtenus illustrent l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur la croissance mycélienne des souches fongiques des taux d'inhibition allant de 90% à 100%. Le phytopathogène *Fusarium solani* s'avère être la souche la plus sensible avec une CI50 de l'ordre de 8.72 µl/l.

Mots clés : *Mentha spicata*, huile essentielle, activité antifongique, lutte biologique.

## Abstract

Biological control by the use of natural substances having a pesticidal effect can be an alternative to synthetic chemical products; among these substances are the extracts of aromatic plants and in particular essential oils.

The objective of this study is to evaluate the antifungal activity of the essential oil of *Mentha spicata*, against fungal strains isolated from infested plants, namely *Altarnaria citri*, *Fusarium solani*, *Fusarim oxysporum*.

The results obtained illustrate the inhibitory effect of the essential oil of *Mentha spicata* on the mycelial growth of fungal strains with inhibition rates ranging from 90% to 100%. The phytopathogen *Fusarium solani* turns out to be the most sensitive strain with an IC50 of around 8.72 µl/l.

Keywords : *Mentha spicata*, essential oil, antifungal activity, biological control

## ملخص

يمكن أن تكون مكافحة البيولوجية عن طريق استخدام المواد الطبيعية التي لها تأثير مبيد للآفات بديلاً للمنتجات الكيميائية الاصطناعية؛ من بين هذه المواد مقتطفات من النباتات العطرية والزيوت الأساسية على وجه الخصوص.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الفعالية المضادة للفطريات للزيت العطري من النعناع البري مقابل السلالات الفطرية المعزولة من النباتات المصابة وهي *Altarnaria citri*، *Fusarium solani*، *Fusarim oxysporum*.

توضح النتائج التي تم الحصول عليها التأثير التثبيطي للزيت العطري من *Mentha spicata* على النمو الفطري للسلالات الفطرية بمعدلات تثبيط تتراوح من 90% إلى 100%. تبين أن العامل الممرض للنبات *Fusarium solani* هو أكثر السلالات حساسية حيث يبلغ تركيز IC50 حوالي 8.72 ميكرو لتر / لتر.

الكلمات المفتاحية: *Mentha spicata*، زيت عطري، نشاط مضاد للفطريات، مكافحة البيولوجية.