



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MÉMOIRE

Présenté à:

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de L'Univers
Département de biologie

Pour l'obtention du diplôme de:

MASTER

Spécialité: Toxicologie Industrielle et Environnemental

Par:

M^r SALEM Abdelhadi

M^r AISSAOUI Houssam

Sur le thème

**Valorisation biologique et analyse statistique sur la
variabilité chimique de l'huile essentielle et de l'hydrolat de
la *Ballota nigra* de la région de Tlemcen.**

Soutenu publiquement le 29/09/2020 à Tlemcen devant le jury composé de:

| | | | |
|--------------------------------------|-----|-----------------------|--------------|
| M ^{me} HADDAM Nahida | MCA | Université de Tlemcen | Présidente |
| M ^{me} BRIKCI NIGASSA Nawal | MA | Université de Tlemcen | Examinatrice |
| M ^{me} TABET ZATLA Amina | MCA | Université de Tlemcen | Encadrante |

Année universitaire: 2019-2020

ملخص:

أصبح البحث عن طرق جديدة للمحافظة على الطبيعة ودون خطورة على الصحة من أهم عوامل التنمية الاقتصادية في الدول الناشئة. حيث أصبحت النباتات العطرية ومشتقاتها والزيوت الأساسية و الحلالات المائية من الموارد المساهمة في السيطرة على خسائر ما بعد الحصاد الناتجة عن الفطريات أثناء التخزين ، ويمكن أن تحل محل المواد الكيميائية التي تظهر عدم فعاليتها ضد قوالب ضارة ومقاومة.

يهدف عملنا إلى تطوير قطاع النباتات العطرية في غرب الجزائر كمبيدات فطريات حيوية ضد العفن الأسود في الطماطم. *Ballota nigra* نبات من عائلة Lamiaceae ، موضوع دراستنا.

وهكذا تم تطوير جزئين رئيسيين ، الجزء الأول كيميائي، و الذي يتكون من دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري والمستخلص المائي لهذا النبات.

والثاني بيولوجي مخصص لتقويم هذه المستخلصات من خلال دراسة أنشطتها المضادة للفطريات في المختبر وفي الجسم الحي على ثمار الطماطم.

الكلمات المفتاحية: *Ballota nigra*، الزيوت الأساسية، الحلالات المائية، الأنشطة المضادة للفطريات، الطماطم.

Résumé:

La recherche de nouvelles méthodes de conservation naturelle et sans danger pour la santé est devenue l'un des facteurs de développement économique les plus importants des pays émergents. Les plantes aromatiques et leurs dérivés les huiles essentielles et les hydrolats sont devenues des ressources contribuant pour le contrôle des pertes post-récolte dues à des champignons lors du stockage, et peuvent substituer avec succès les produits chimiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des moisissures nuisibles et résistantes.

Notre travail a pour objectif le développement de la filière des plantes aromatiques de l'ouest Algérien comme biofongicides contre la pourriture noire des tomates. *Ballota nigra*, plante de la famille des Lamiacées a fait l'objet de notre étude.

Ainsi deux grandes parties ont été développées, la première est chimique, qui consiste à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de cette plante.

La deuxième est biologique consacrée à la valorisation de ces extraits par l'étude de leurs activités antifongiques *in vitro* et *in vivo* sur les fruits des tomates.

Mots clés: *Ballota nigra*, huile essentielle, hydrolat, activités antifongiques, tomates.

Abstract:

The search for new methods natural of conservation and without danger to health has become one of the most important factors of economic development in emerging countries. Aromatic plants and their derivatives essential oils and hydrosols have become contributing resources for the control of post-harvest losses due to fungi during storage, and can successfully substitute chemicals that show their ineffectiveness against harmful and resistant molds.

Our work aims to develop the aromatic plants sector in western Algeria as biofungicides against black rot in tomatoes. *Ballota nigra*, a plant of the Lamiaceae family, was the subject of our study.

Thus two main parts have been developed, the first is chemical, which consists of studying the chemical composition of the essential oil and the hydrosol extract of this plant.

The second is biological devoted to the enhancement of these extracts by studying their antifungal activities *in vitro* and *in vivo* on tomato fruits.

Key words: *Ballota nigra*, essential oils, hydrosols, antifungal activities, tomatoes.



REMERCIEMENTS



Au terme de cette étude, nous commençons d'abord par le remerciement du bon Dieu, de nous avoir donné assez de volonté et de santé pour terminer ce mémoire.



*Nous tenons particulièrement à exprimer nos sincères remerciements à notre encadrante Madame **TABET ZATLA Amina** Maître de conférences au département de Chimie. Pour tous ce qu'elle a fait pour nous, pour ses conseils, sa disponibilité, son aide et son attention particulière, elle a été un vrai exemple de gentillesse. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.*



Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail.



Un grand merci à tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant ce cursus Universitaire.



Grand merci à ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



Vraiment nous vous remercions énormément, et que Dieu vous protège, bénisse, et nous prions Dieu de vous donner la santé et le bien-être.



DÉDICACE

Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed, paix et salut sur lui, le seau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail:

Aux deux êtres les plus chers au monde, ma mère et mon père, pour tout votre amour, votre soutien et votre stimulante fierté. Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je vous porte.

À mes deux chers frères Sid-Ahmed et Ibrahim, et ma chère sœur khawla, j'espère que Dieu vous garde et vous montre le droit chemin.

À mes amis Yasmine, Nour, Walid, Mohamed, et mon binôme Houssam.

À toute la promotion de Master 2, option Toxicologie (2019/2020) Merci également à tous ceux qui m'ont offert un jour ou d'autres, leurs amitiés ainsi que des moments inoubliables.





DÉDICACE

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu le Tout puissant.

À mes chers parents que dieu me les garde. Ma mère d'amour pour m'avoir mis au monde et pour m'avoir accompagné tout le long de ma vie. Je lui dois une fière chandelle. Mon père fidèle celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, merci mon cher pour ton soutien .

Puisse Dieu, le très haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie ;
je vais faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.
je vous aime.

À mes frères Mohamed et Ibrahim et ma petite princesse Kawthar.

À mes tantes spécialement ma chère Nacera, mes oncles, mes cousines, ma grand mère et à toute la famille .

À Zeggai Nour El Houda merci énormément.

À mon ami d'enfance Mimouni Mohamed, mon frère que Dieu vous garde toujours à mes côtés.

À mes amis Dr. Abdelatif, Islam, Yasmine, mon binôme Abdelhadi, merci de ton aide frère.

À Toute la promotion de Toxicologie (2019/2020) sans exception.



Liste des abréviations

B. nigra: *Ballota nigra*

AFNOR: Association Française de Normalisation

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

CPG/SM: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CYA: Czapek Yeast extract Agar

EI: Impact Electronique

FID: Détecteurs à Ionisation de Flamme

HEs: Huiles Essentielles

HYS: Hydrolats

MEA: Malt Extract Agar

PDA: Potato Dextrose Agar

Rdt: Rendement

SM: Spectrométrie de masse

v/v: volume/volume

Qx: quintaux.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

MS: Matière Sèche

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: Les lamiacées | 8 |
| Figure 2 : Photo de <i>Ballota nigra</i> | 9 |
| Figure 3 : <i>Ballota nigra</i> | 10 |
| Figure 4 : Le fruit de la tomate | 14 |
| Figure 5: Coupe transversale de fruit de tomate. | 14 |
| Figure 6: La mouche blanche..... | 17 |
| Figure 7: Le thrip..... | 18 |
| Figure 8: TYLC virus sur les feuilles de la tomate | 19 |
| Figure 9: CMV virus sur la tomate..... | 19 |
| Figure 10: La moucheture bactérienne sur la tomate | 20 |
| Figure 11: Le chancre bactérien sur la tomate | 20 |
| Figure 12: Gale bactérienne sur les feuilles et le fruit de tomate..... | 21 |
| Figure 13: Le Mildiou sur la tomate..... | 21 |
| Figure 14: <i>Verticilliose</i> attaque sur les feuilles de tomate. | 22 |
| Figure 15: <i>Verticilliose</i> attaque sur le fruit de tomate. | 22 |
| Figure 16: Fonte des semis sur la tomate..... | 22 |
| Figure 17: Pourriture grise sur les feuilles des fruits de tomate..... | 23 |
| Figure 18: Pourriture grise sur les fruits de tomate. | 23 |
| Figure 19: Anthracnose sur le fruit de tomate | 23 |
| Figure 20: Symptômes d'Alternariose sur feuilles (A), et fruits (B) de tomate. | 25 |
| Figure 21: Représentation des différents stades de développement des spores et conidiophores d' <i>A. alternata</i> | 26 |
| Figure 22: Culture d' <i>Alternaria alternata</i> sur milieu MEA, PH 5,4, à 30°C, 7 jours. 27 | |
| Figure 23: Observations macroscopiques d' <i>Alternaria alternata</i> (x10). | 27 |
| Figure 24: Montage d'hydrodistillation. | 33 |
| Figure 25: Appareil CPG | 35 |
| Figure 26: Préparation le milieu de culture PDA. | 36 |
| Figure 27: Composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Ballota nigra</i> | 41 |
| Figure 28: Classification hiérarchique ascendante (CHA) des échantillons des huiles essentielles de <i>B. nigra</i> d'Algérie. | 43 |
| Figure 29: Analyse en composantes principales (ACP) de la composition chimique de <i>B. nigra</i> | 44 |
| Figure 30: Composés majoritaires identifiés dans l'extrait d'hydrolat de <i>Ballota nigra</i> 45 | |
| Figure 31: Effet protecteur de l'huile essentielle de <i>B. nigra</i> (HE) et de hydrolat (HY) après 15 jours de stockage | 48 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Composition du fruit de tomate. Les données sont en grammes/ 100g de la matière fraîche consommable | 15 |
| Tableau 2: Répartition de la production de la tomate | 16 |
| Tableau 3: Production annuelle de tomate en régions Ouest..... | 16 |
| Tableau 4: Coordonnées géographiques et rendements des huiles essentielles relatives aux 8 stations de récoltes de <i>B. nigra</i> d'Algérie | 32 |
| Tableau 5: Composition chimique des huiles essentielles de <i>Ballota nigra</i> | 40 |
| Tableau 6: Composition chimique de l'extrait d'hydrolat de <i>Ballota nigra</i> | 45 |
| Tableau 7: Activité antifongique de l'huile essentielle (HE) et de l'extrait d'hydrolat (HY) de <i>B. nigra</i> | 47 |
| Tableau 8: Effet de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de <i>B. nigra</i> sur la protection des tomates contre l'infection causée par <i>A. alternata</i> | 49 |

Table des matières

| | |
|--|----|
| Introduction Générale | 1 |
| Chapitre 1: Synthèse bibliographique | 4 |
| PARTIE A: Généralités sur les huiles essentielles, les hydrolats et la de plante étudiée | 5 |
| 1. Plantes médicinales | 5 |
| 2. Les huiles essentielles..... | 5 |
| 3. Les hydrolats | 6 |
| 4. Etude botanique de la plante étudiée | 7 |
| 4.1 Présentation de la famille des Lamiacées | 7 |
| 4.2 Distribution géographique des lamiacées | 8 |
| 4.3 Monographie de la plante étudiée | 9 |
| 4.3.1 Genre <i>Ballota</i> | 9 |
| 4.3.2 <i>Ballota nigra</i> | 9 |
| 4.3.3 Classification taxonomique et répartition géographique | 9 |
| 4.3.4 Aspects botaniques | 10 |
| 4.3.5 Station et répartition géographique | 10 |
| 4.3.6 Aspects phytochimiques | 11 |
| 4.3.7 Aspects toxicologiques | 11 |
| 4.3.8 Aspects pharmacologiques | 11 |
| 4.3.9 Usages traditionnels | 12 |
| 4.3.10 Etude bibliographique | 12 |
| PARTIE B: Les fruits de tomates et leurs pathologies | 13 |
| 1. Origine et historique | 13 |
| 2. Etymologie | 13 |
| 3. Position systématique | 13 |
| 4. Description botanique..... | 14 |
| 5. Caractéristiques | 15 |
| 5.1 Composition biochimique..... | 15 |
| 5.2 Production mondiale..... | 16 |
| 5.3 La production en Algérie | 17 |

| | | |
|-------|---|----|
| 6. | Maladies et ravageurs de la tomate | 17 |
| 6.1 | Les ravageurs | 17 |
| 6.2 | Les insectes | 18 |
| 6.3 | Les maladies virales | 19 |
| 6.4 | Maladies bactériennes | 20 |
| 6.5 | Les maladies cryptogamiques | 21 |
| 7. | Définition et présentation de la maladie Alternariose | 24 |
| 7.1 | Symptômes et dégâts de la maladie..... | 24 |
| 7.2 | Présentation de l'agent pathogène <i>Alternaria sp.</i> | 25 |
| 7.3 | <i>Alternaria alternata</i> modèle d'étude..... | 26 |
| 7.3.1 | Classification..... | 26 |
| 7.3.2 | Morphologie et caractéristiques | 26 |
| 7.3.3 | Caractères cultureux généraux | 26 |
| 7.3.4 | Aspect microscopique d' <i>Alternaria alternata</i> | 28 |
| 8. | Méthodes de lutte et alternatives naturelles | 28 |
| | Chapitre 2: Matériel et Méthodes | 31 |
| 1. | Provenance et identification du matériel végétal | 32 |
| 2. | Extraction des huiles essentielles et des hydrolats | 32 |
| 2.1 | Extraction des huiles essentielles | 32 |
| 2.2 | Extraction de l'hydrolat | 34 |
| 3. | Calcul du rendement..... | 34 |
| 4. | Caractérisation des extraits d'huiles essentielles et de hydrolats | 35 |
| 4.1 | Analyse chimique par CPG..... | 35 |
| 4.2 | Analyse par CPG/SM..... | 36 |
| 5. | Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et des hydrolats sur la résistance la souche pathogène de <i>Alternaria alternata</i> lors de la conservation des fruits de tomates | 35 |
| 5.1 | Isolement des agents pathogènes | 35 |
| 5.2 | Activité antifongique <i>in vivo</i> | 36 |
| 5.3 | Activité antifongique <i>in vitro</i> | 36 |
| 6. | Analyses statistiques..... | 37 |
| | Chapitre 3: Résultats et Discussion | 39 |

| | |
|---|----|
| 1. Lieux de récoltes et Compositions chimiques des huiles essentielles et des hydrolats de <i>B. nigra</i> | 39 |
| 1.1 Lieux de récoltes des échantillons de <i>Ballota nigra</i> | 39 |
| 1.2 Compositions chimiques des huiles essentielles | 39 |
| 1.3 Variabilité chimique des huiles essentielles de <i>B. nigra</i> et corrélation entre les paramètres environnementaux de l'emplacements des échantillonnages | 43 |
| 1.4 Compositions chimiques des extraits des hydrolats | 45 |
| 2. Activité antifongique des huiles essentielles et des hydrolats | 47 |
| 2.1 Activité antifongique <i>in vitro</i> de l'huile essentielle de <i>Ballota nigra</i> sur les souches fongiques | 47 |
| 2.2 Effet antifongique <i>in vivo</i> de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat sur le développement de la maladie causé par <i>A. alternata</i> | 49 |
| Conclusion | 52 |
| Références bibliographies | 55 |



Introduction générale



Introduction générale

Actuellement, la science confirme que les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique tels que l'industrie alimentaire comme additifs, dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires.

À l'heure actuelle, il existe un intérêt croissant du public, surtout les pays en voie de développement, pour les produits à base de plantes et un retour aux médecines naturelles [1]. Elles trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, et cela est dû à l'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, surtout dans le cas des maladies chroniques, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés [2]. D'ailleurs, cette démarche a été recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) depuis 1970. Sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leurs usages traditionnels [3].

Depuis quelques années, la valorisation des plantes aromatiques et de leurs dérivés les huiles essentielles et les hydrolats est devenue l'un des facteurs de développement économique les plus importants des pays émergents, d'où la nécessité de suivre ce flot en se basant sur les résultats de nombreux scientifiques qui peuvent apporter une contribution significative au développement de cette filière en Algérie.

D'autre part, les huiles essentielles représentent un outil très intéressant pour l'augmentation de la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles riches en composés antimicrobiens et antioxydants sont considérées comme alternative importante pour le contrôle des pertes post-récolte dues à des champignons et à des lésions physiopathologiques pendant les stockages puisque l'utilisation de fongicides synthétiques présentent des inconvénients importants en raison de leur coût élevé et de leur menace pour la santé humaine [4].

Les huiles essentielles sont un mélange complexe de composés, principalement des monoterpènes, des sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés (alcools, aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones, des phénols et des oxydes), sont censées être responsables de

Introduction générale

nombreux activités: antifongiques, antimicrobiens et herbicides [2, 3]. Certaines huiles essentielles sont très efficace contre les agents pathogènes résistants aux fongicides chimiques [5, 6]. Par exemple, l'application de la vapeur de l'huile essentielle de *Cicuta virosaa* entraîné de faibles pourcentages d'infection pour les tomates cerises inoculés par *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, et *Alternaria alternata* par rapport aux témoins non traité. Des effets similaires de l'huile essentielle d'*Anethum graveolens* ont été signalés par la même équipe pour la suppression des maladies causées par *Alternaria alternata* qui touche les tomates cerise [5].

Le genre *Ballota* fait partie de la famille des Lamiacées. Il est composé d'environ 90 espèces indigènes et répandues dans le monde. Certaines espèces sont utilisés traditionnellement pour le traitement de diverses maladies, par leurs effets antiseptiques, anti-inflammatoires, anti-rhumatismaux et antimicrobiens et aussi pour les nausées, les vomissements et la dyspepsie nerveuse [7, 8]. La composition chimique des huiles essentielles de diverses espèces et sous-espèces de *Ballota* a été largement étudié, il a été signalés que les sesquiterpènes présente la classe principale [9, 10]. Malgré qu'il existent beaucoup de travaux sur la composition chimique et les activités biologiques de l'huile essentielle de *B. nigra*, à notre connaissance, il n'existe aucune étude sur la variabilité chimique de l'huile essentielle de *B. nigra* récoltée dans différentes zones d'Algérie ainsi que l'activité *in vivo* de son huile essentielle et de son hydrolat pour le contrôle de la croissance des maladies fongique causée par *Alternaria alternata*.

Par conséquent, le but de cette étude est d'évaluer:

- i) La variabilité chimiques des huiles essentielles de *B. nigra* Algérien à partir de 8 stations différentes au moyen d'une analyse statistique.
- ii) La caractérisation chimique de l'extrait d'hydrolat.
- iii) L'activité antifongique *in vitro* et *in vivo* de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat.



Chapitre 1: Synthèse bibliographique



PARTIE A: Généralités sur les huiles essentielles, les hydrolats et la de plante étudiée**1. Plantes médicinales**

Une plante médicinale ou encore « drogue végétale » est définie par la pharmacopée comme étant une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses [11], elle renferme un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies [12].

Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques [13].

La phytothérapie désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes comme une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnelles et/ou certains états au moyen de plantes, des parties de plantes ou de préparations de plantes. Ce mot provient de deux mots du grec «*phyton* » qui signifie plante et «*therapein*» qui signifie soigner. En phytothérapie, les plantes sont consommées telles quelles (infusion) ou après transformation (extraits, médicaments à base de plantes...) [14, 15].

2. Les huiles essentielles

Depuis le temps, les huiles essentielles ont occupé une place très importante dans notre vie quotidienne, elles sont utilisées pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à bien longtemps puisque l'homme préhistorique réalisait l'extraction des principes odorants des plantes d'une autre manière. Les huiles essentielles sont donc une source importante dans la recherche des molécules bioactives.

On appelle « huile essentielle » l'huile secrétée par la plante dont elle est extraite. Elle est dite « essentielle » parce qu'elle constitue une substance aromatique naturelle qui est la « quintessence » de la plante. Selon la pharmacopée, une huile essentielle est un produit de composition complexe renfermant en moyenne soixante-quinze molécules actives et principes volatils contenus dans les végétaux.

Se sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, librement solubles dans l'alcool, l'éther. Elles sont souvent liquide à température ordinaire, quelques unes sont en partie cristallisées [16].

Selon la norme AFNOR T75-006 (février 1998), elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche [17].

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans l'agroalimentaire et la parfumerie et même dans le secteur des cosmétiques et dans celui de la santé, par exemple, dans des préparations pharmaceutiques, la phytothérapie et l'aromathérapie. L'industrie alimentaire consomme environ 60 % de la production des huiles essentielles et le reste est utilisé en parfumerie. Environ 300 huiles essentielles entrent couramment dans la fabrication des parfums et des arômes alimentaires, notamment les huiles essentielles de citron, de menthe poivrée et de romarin [18]. Elles sont aussi largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes tels que les infections d'origine virale ou bactérienne ainsi que les troubles humoraux ou nerveux. Plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants en médecine dentaire pour la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. Elles sont également utilisées pour les massages, inhalation ou ingestion. En industrie alimentaire, elles sont utilisées comme conservateurs antioxydant et antimicrobien, pour le fait d'avoir une conservation naturelle de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une meilleure qualité organoleptique, et pour réduire la prolifération des micro-organismes.

3. Les hydrolats

L'hydrolat appelé également l'eau florale ou l'eau aromatique est un sous-produit de l'huile essentielle qui se forme lors de l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur de la matière végétale. Il peut être décrit aussi comme un distillat 100% non alcoolisé [19]. C'est un mélange complexe de composés hydrosolubles, c'est à dire des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile, et il contient aussi des traces d'huile essentielle (moins de 5%). Ils sont utilisés dans les préparations cosmétiques et les boissons.

Il est important de noter que chaque goutte d'hydrolat contient toutes les informations de la plante, et que l'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même plante. L'hydrolat a un parfum et un goût plus ou moins prononcé mais beaucoup moins concentré qu'une huile essentielle.

Le Dr Kurt Schnaubelt dans son ouvrage *Medical Aromatherapy*, explique que l'hydrolat aromatique est constitué de composants hydrosolubles et volatils de la plante ce qui lui donne

un parfum et un goût plus ou moins prononcé mais moins concentré qu'une huile essentielle. Chaque goutte d'hydrolat contient toutes les informations de la plante, cependant, l'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même plante. Les molécules oxygénées hydrophiles sont présente en grandes quantités alors que les composés lipophiles tels que les hydrocarbures terpéniques sont souvent absents. La composition des hydrolats est donc différente de celle des huiles. Certains hydrolats présentent aussi une plus grande proportion de molécules lipophiles comme ceux de *Mentha piperita* ou *Melissa officinalis* [20].

D'autre part, les hydrolats sont très sensibles aux développements des bactéries à cause de leur faible teneur en huile essentielle et à la présence de particules végétales, c'est pour ces raisons qu'ils ne se conservent pas longtemps, seulement de 12 à 24 mois. Il faut obligatoirement les conserver à l'abri de la chaleur, à l'abri de la lumière dans des flacons opaques et à l'abri des variations de température [21].

Aujourd'hui, les hydrolats sont largement utiliser en aromathérapie certains sont utilisées comme compléments d'une thérapie par les huiles essentielles. Du fait qu'ils contiennent une faible quantité en principes actifs donc une faible toxicité par rapport aux huiles essentielles, malgré cela ils présentent certaines activités biologiques intéressantes. Cependant, malgré l'originalité de cet extrait, les chercheurs ne s'y intéressent que très peu, puisqu'il existe un manque réel de données scientifiques traitant cet extrait naturel.

4. Etude botanique de la plante étudiée

4.1 Présentation de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, c'est un nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles de la plante [22]. C'est une famille qui regroupe des plantes du genre herbacées et sous-arbustives réparties dans le monde entier.

La famille des Lamiacées est l'une des premières familles distinguées par les botanistes, les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Cette famille comprend environ de 6700 espèces regroupées dans près de 250 genres [23].

C'est une famille qui est abondante dans la région méditerranéenne, elle compte environ 146 espèces en Algérie, nombreuses sont regroupées sous le nom d'herbes aromatiques [24].

En plus que cette famille est parmi les familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait possédant un pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant très important [25].

Les huiles essentielles extraites des espèces de cette famille sont des sources très riches en terpénoïdes, iridoïdes glycosylés, composés phénoliques, et flavonoïdes [26]. Elles sont utilisées en aromathérapie, en parfumerie et également dans l'industrie des cosmétiques à cause de leurs propriétés hydratantes et souvent antiseptiques [27].

4.2 Distribution géographique des lamiacées

• Dans le monde

Elle est très répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde. La plus grande diversité est rencontrée selon cet ordre: le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine.

• En Algérie

Dans la flore de l'Algérie, les Lamiacées sont représentées par 28 genres et 146 espèces, Certains genres sont identifiés délicatement en raison de la variabilité extrême des espèces [28].

Quelques caractères et quelques espèces avec une corolle à 1 seule lèvre (inférieure) ou à lobes presque égaux :



Tige carrée de *Stachys recta* (épière droite) ; feuilles décussées de *Clinopodium vulgare* (clinopode commun) ; fleurs de *Ajuga reptans* (bugle rampant), *Teucrium pyrenaicum* (germandrée des Pyrénées) et *Lycopus europaeus* (lycope d'Europe)

Quelques espèces avec une corolle à 2 lèvres :



Fleurs de *Glechoma hederacea* (gléchome ou lierre terrestre), *Galeopsis ladanum* (galéopsis intermédiaire), *Rosmarinus officinalis* (romarin), *Lamium galicobdolon* (lamier jaune) et *Salvia verbenaca* (saugue à feuilles de verveine)

Figure 1: Les lamiacées

Du point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'intenses investigations dans le but d'isoler différents types de composés. Parmi les genres qui sont en cause, on peut citer: *Ballota nigra*.

4.3 Monographie de la plante étudiée

4.3.1 Genre *Ballota*

Le genre *Ballota* appartient à la famille des Lamiacées. Ce genre compte environ 26 espèces, qui croissent en Europe, en Asie et en Afrique [29]. Ce sont des gamopétales tétracyclique superovariées à préfloraison généralement imbriquée. La fleur est pétiolée. Les espèces de genre *Ballota* sont des plantes vivaces, poilues, à tige rameuses et feuillées.

4.3.2 *Ballota nigra*

Ces noms vernaculaires: ballote; ballote noire; ballote fétide; ballote puante; marrube noir; marrube fétide.



Figure 2: Photo de *Ballota nigra*

4.3.3 Classification taxonomique et répartition géographique

Règne: Plantae

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiacée

Genre: *Ballota*

Espèce: *Ballota nigra*

Nom binomial: *Ballota nigra*

Nom vernaculaire: Feracioun açoued

La dénomination de cette plante diffère d'un pays à l'autre. Elle est nommée en:

- **France:** ballote noire, marrube noir

- **Italie:** marrubio selvatico
- **Espagne:** marrubio bastardo

4.3.4 Aspects botaniques

La Ballote ou Ballote noire (*Ballota nigra*) fait partie de la 35T famille 35T des 35T Lamiacées 35T. Il s'agit d'une plante herbacée, vivace.

- **Les tiges** tétragones et velues, quadrangulaires, elles atteignent 30 à 85 cm. Elles sont rameuses jusqu'à la base et portent aussi des feuilles opposées [30].
- **Les feuilles** sont vert-sombre, ovales, crênelées ou sinueuses sur les bords, recouvertes de poils sur les deux faces, molles et ridées. Elles ne dépassent pas 40 mm de long sur 30 mm de large. Le pétiole atteint 40 mm.
- **Les fleurs** purpurins, elles sont exceptionnellement blanches, en verticilles fournis, compacts, écartés, souvent pédoncules [31]. Froissée, il émane de la plante une forte odeur nauséabonde rappelant le moisi; sa saveur est âcre et amer [30].



Figure 3: *Ballota nigra*

4.3.5 Station et répartition géographique

La *Ballota nigra* est une plante extrêmement commune en France. Elle est rencontrée dans presque toute l'Europe, en Asie occidentale et en Afrique septentrionale. Elle aime les décombres, les bords de chemins et de haies, les terrains et les lieux incultes. Il s'agit d'une plante rudérale, Elle germe spontanément sur les sols les sols azotés, légers et un peu humides où elle croît par grosses touffes [32].

4.3.6 Aspects phytochimiques

Les scientifiques s'intéressent tout d'abord à *Ballota nigra*, l'espèce la plus étudiée. C'est seulement beaucoup plus tard, dans les années 70, qu'ils élargissent leur recherche en travaillant sur d'autres genres de *Ballota*.

✓ Cependant, les premiers travaux chimiques et pharmacologiques sur *Ballota nigra* ont été accomplis dans les années 30 par Balansard [33]: il a effectué d'une part une recherche de certains principes actifs minéraux sur les cendres, et d'autre part, il a réalisé une recherche sur les liqueurs d'épuisement par l'acétone, par l'eau sodique et par l'eau distillé.

✓ Après deux ans, ce même auteur signale par ailleurs un glucoside hydrosoluble (1,10 g par kg de drogue sèche) et un saponoside acide (2,10 g). En 1959, la présence d'une saponine chez *Ballota nigra* est remise en cause par Zinchenko chercheur à Kiev, il a étudié plusieurs genres de la famille des Lamiacées, et il n'a décelé, en aucun cas, de saponine dans cette espèce [34].

✓ D'autres travaux, plus récents, entre 1970 et 1990, ont été effectués aussi sur *Ballota nigra*.

4.3.7 Aspects toxicologiques

Pour qu'un produit peu être utilisé comme un médicament, il est nécessaire que son activité pharmacologique apparaisse à des doses pour lesquelles la toxicité est négligeable. L'étude d'une drogue doit donc nécessairement comporter des études de toxicité.

En ce qui concerne la ballote, deux études toxicologiques ont été rédigées à ce jour: la première étude réalisée par Joanny en 1982 [35], et une deuxième étude par Mongold et Serrano en 1989 [31].

4.3.8 Aspects pharmacologiques

Ballota nigra présente des propriétés anxiolytiques et antidépressives, c'est pourquoi elle permet de lutter contre la nervosité, l'anxiété, les angoisses, la dépression ainsi que les troubles nerveux notamment chez les femmes au moment de la ménopause. Les sommités fleuries sont utilisées comme antispasmodiques, calmantes des Toux quinteuses, sédatives et anxiolytiques. Elle possède aussi des attributs contre les spasmes digestifs et les quintes de toux (antispasmodique) [30]. La Ballote est également utilisée comme sédatif et un cholérétique.

Les dérivés phénylpropaniques qu'elle contient ont un effet antioxydant, et un certain nombre d'entre eux se lient, avec plus ou moins d'affinité, aux récepteurs de la dopamine, de la morphine et des benzodiazépines par conséquent et puisqu'elle est dénuée de toxicité, il est

possible d'employer la Ballote comme alternative aux benzodiazépines [31]. Elle peut être utilisée chez les enfants et peut être associée au magnésium pour une synergie d'action.

4.3.9 Usages traditionnels

Depuis l'antiquité la Ballote était utilisée traditionnellement, comme vermifuge, antiémétique, sédatif, astringent doux, et stimulant. Elle était employée aussi pour diminuer le vomissement.

Au début du 16^{ème} siècle, elle avait un effet pour soigner les troubles nerveux tels que la dyspepsie ou les troubles du sommeil en réduisant la nervosité. Ce n'est qu'au début de ce siècle que H. Leclerc l'a employé comme antispasmodique, pour son effet de soulagement des crampes et des maux d'estomacs, et dans le traitement des différents états de perturbations psychique, particulièrement contre l'anxiété [31].

4.3.10 Etude bibliographique

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Ballota nigra* a fait l'objet de peu d'études. L'huile essentielle de *Ballota nigra* de Kurdia est caractérisée principalement par la présence de l'oxyde de caryophyllène (39,43%), le trans-caryophyllène (24,88%), le germacrène D (7,64%), le 1-undécène (4,20%), l'époxyde d'isoaromadendrène (3,25%), et le tridécane-1 (2,81%) [49]. Une autre étude aussi de au nord de l'Iran, montre que les composés majoritaire de l'huile essentielle étaient l'oxyde de caryophyllène (7,9%), l'épi-muurolol (6,6%), δ -cadinène (6,5%) et α -cadinol (6,3%) [36]. Dans l'extrait de l'huile essentielle de *Ballota nigra ssp. Foetida*, caryophyllène (25,1%) et germacrène D (24,2%) étaient les composés principaux [9]. Alors que le germacrène D (18,1%), l'acétate de nérolidol-époxy (15,4%), l'oxyde de sclaréol (12,1%), l'acétate de linalyle (11,5%) et le caryophyllène (10,5%) étaient les principaux composants dans *Ballota nigra ssp. Anatolique* [6].

PARTIE B: Les fruits de tomates et leurs pathologies**1. Origine et historique**

La tomate est une espèce de plante herbacées du genre *Solanum* de la famille des Solanacées, vaste famille de plantes dicotylédones regroupant des plantes herbacées, des arbres, des arbustes ou des lianes. Les solanacées comprennent près de 98 genres et 2700 espèces, occupant une grande diversité de morphologie, d'écologie et d'habitat à l'exception de l'Antarctique, ses membres sont présents sur tous les continents. Elle est originaire du Nord-Ouest de l'Amérique du sud entre les régions du Chili, de l'Equateur et de la Colombie, mais sa domestication s'est effectuée dans le sud du Mexique et au nord Guatemala. Cette espèce compte quelques variétés botaniques, dont la « tomate-cerise » et plusieurs d'autres variétés cultivées (cultivars identifiés par des appellations ou des marques commerciales) [37].

Elle fut découverte en 1554 et elle a été introduite en Europe par les espagnols puis dans le reste du monde. Elle s'est ensuite propagée en Asie du sud et de l'est, en Afrique et en Moyen Orient [38].

En Algérie, la tomate fut cultivée près d'Oran, en 1905 par les espagnols, puis elle s'est étendue vers le centre [39].

2. Etymologie

Le nom de « tomate » est un nom espagnol; sa traduction au nahuatl (langue de la famille uto-aztèque) *tomatl* qui désignait le fruit de la tomatille (*Physalis ixocarpa*). Les botanistes lui ont attribuée le nom *lycopersicum* qui signifie littéralement « pêche de loup », appellation peu alléchante à laquelle on a ajouté au XVIII^e siècle l'adjectif *esculentum* à cause des propriétés gustatives de ce légume-fruit [40].

- Nom scientifique: *Solanum lycopersicum* L., famille des Solanacées. La tomate a aussi été appelée *Lycopersicon esculentum*.
- Noms communs: tomate, pomme d'or, pomme d'amour, poma d'amor (en provençal), pomme du Pérou.

3. Position systématique

Selon Dupont et Guignard, en 2012 [41], et Spichiger et coll, en 2004 [42]. La tomate appartient classification suivante:

Règne: Plantae
Sous règne: Trachenobionta

| | |
|-----------------------|---------------------------------|
| Embranchement: | Magnoliophyta |
| Classe: | Magnoliopsida |
| Sous Classe: | Asteridae |
| Ordre: | Solanales |
| Genre: | <i>Solanum</i> |
| Espèce: | <i>Solanum esculentum</i> Mill. |



Figure 4: Le fruit de la tomate

4. Description botanique

La tomate est une plante herbacée annuelle buissonnante, poilue et aux tiges plutôt grimpantes, sa taille varier de 40 cm à plus 5 mètres selon les variétés et le mode de culture. Ses feuilles sont alternes, simples, et sans stipule. Les fleurs sont de couleur jaune et réunies en inflorescences pentamères, sauf le gynécée qui possède 2 et 5 carpelles [43].

Le fruit de la tomate est une baie plus ou moins grosse, de forme variable et de couleurs variées selon les variétés [44]. Les graines sont réparties dans des loges remplies de gel. La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges.

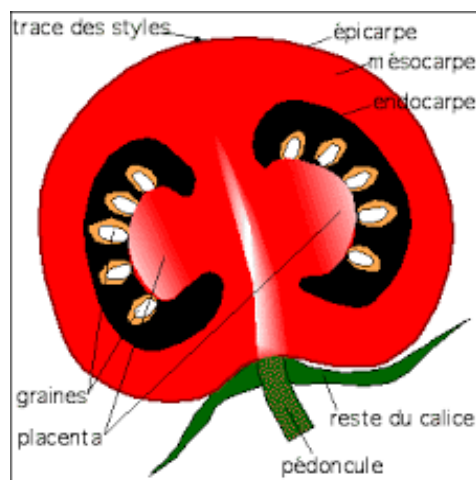


Figure 5: Coupe transversale de fruit de tomate.

5. Caractéristiques

Le fruit est une baie à placentation centrale, elle comporte un nombre de loges carpellaires variables et supérieur à deux [45].

Un fruit charnu renferme des graines appelées pépins entourés d'une sorte de mucilage provenant de l'enveloppe de la graine [46].

Les fruits sont généralement rouges, mais il existe des variétés jaunes violacés et même blanche [47].

5.1 Composition biochimique

La tomate largement consommée, joue un rôle bénéfique dans notre alimentation. Le fruit est majoritairement composé d'eau, environ 95%, et possèdent peu de lipides et protides. La matière sèche des fruits est principalement composée de sucres, environ 50% de la MS [48]. Ce qui en fait un aliment peu calorique, 15 à 20 calories pour 100g. Les Composition biochimiques du fruit de tomate en grammes/ 100g de la matière fraîche consommable est représentée dans le **Tableau 1**:

Tableau 1: Composition du fruit de tomate. Les données sont en grammes/ 100g de la matière fraîche consommable [49].

| Composition | Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g |
|------------------|--|
| Eau | 94,5 g |
| Valeur calorique | 18 kcals |
| Protides | 0,9 g |
| Glucides | 2,8 g |
| Lipides | 0,2 g |
| Provitamine A | 0,38 mg |
| Vitamine B1 | 0,06 mg |
| Vitamine B2 | 0,04 mg |
| Vitamine B6 | 0,11 mg |
| Vitamine C | 15 mg |
| Vitamine PP | 0,7 mg |
| Fer | 0,4 mg |
| Calcium | 10 mg |
| Magnésium | 10 mg |

| | |
|-----------|--------|
| Phosphore | 24 mg |
| Potassium | 280 mg |
| Sodium | 1,2 mg |
| Fibres | Riches |

5.2 Production mondiale

La tomate est cultivée dans presque tous les pays du monde, elle est classée à l'échelle mondiale la troisième espèce cultivée au monde, et le deuxième légume le plus consommé [50]. Sa production est répartie dans toutes les zones climatique, y compris dans des régions relativement froides grâce au développement des cultures sous abri.

Tableau 2: Répartition de la production de la tomate [51].

| Continents | Production annuelle (%) |
|------------|-------------------------|
| Asie | 57% |
| Amérique | 16% |
| Europe | 14% |
| Afrique | 12% |
| Océanie | 01% |

5.3 La production en Algérie

La culture de la tomate occupe une place prépondérante dans l'économie agricole Algérienne. Elle représente 51% de la production totale en produits maraichère [52].

Tableau 3: Production annuelle de tomate en régions Ouest.

| Régions | Production annuelle (QX) |
|----------------|--------------------------|
| Oran | 35.878 |
| Mascara | 129.000 |
| Tlemcen | 211.000 |
| Ain Temouchent | 150.000 |
| Mostaganem | 426.260 |

| | |
|---------------|---------|
| Sidi Belabbes | 54.930 |
| Relizane | 53.200 |
| Tiaret | 64.385 |
| Chlef | 290.520 |

6. Maladies et ravageurs de la tomate

Dés la levée et pratiquement jusqu'à sa récolte, En dépit de son importance, les cultures de tomate sont sujet à des maladies ayant pour cause divers agents pathogènes qui sont classée en catégories [53]:

- Les attaques des ravageurs et des insectes.
- Les maladies bactériennes.
- Les maladies virales.
- Les maladies cryptogamiques.

6.1 Les ravageurs

La tomate est une culture particulièrement sujette aux attaques des ravageurs tels que les aleurodes, pucerons, mineuses, acariens, thrips, noctuelles et punaises constituant les principaux ravageurs en serres [54].

6.2 Les insectes

▪ La mouche blanche « *Trialeurodes vaporariorum* »

L'aleurode des serres (*Trialeurodes vaporariorum*) est un insecte hémiptère, communément appelé mouche blanche qui a une très petite taille (2 mm), l'imago jaune pâle est un parasite des plantes et il est nuisible aux cultures.



Figure 6: La mouche blanche

- **Le Thrips « *Frankliniella occidentalis* »**

L'insecte attaque les plantes de plusieurs manières. Les principaux dommages sont causés lorsque les adultes pondent dans les tissus de la plante. Le thrips des petits fruits (*Frankliniella occidentalis*) est aussi le principal vecteur de la maladie bronzée de la tomate, qui est une maladie virale grave des cultures de tomates, qui provoquent un jaunissement des feuilles.



Figure 7: Le thrip

6.3 Les maladies virales

La tomate peut souffrir d'attaques de grand nombre de virus qui ont été décrits dans le monde avec un ordre de sensibilité différent suivant les climats et les conditions de culture,.... Etc. [55].

- **Stolbur**

Maladie à mycoplasmes, reprise ici dans les maladies à virus car elle a des caractéristiques similaires comme les symptômes de chloroses, prolifération des rameaux, réduction du feuillage, et transmission par les insectes (cicadelles) [56].

- **TYLC Virus (feuilles jaunes en cuillère -TYLCV)**

Virus provoquant la crispation et le jaunissement sur feuilles [56].



Figure 8: TYLC virus sur les feuilles de la tomate

- **CMV Virus**

Le virus de la mosaïque du concombre (**CMV**, sigle de Cucumber mosaic virus).

Une marbrure ou une mosaïque verte à jaune sur les jeunes feuilles. Des déformations foliaires et une réduction du limbe qui peut prendre parfois, comme pour le **TOMV**, un aspect en feuilles de fougères.

Les fruits, comme les feuilles, présentent des symptômes assez variés: des boursouflures, des altérations plus ou moins nécrotiques et annulaires; de couleur olivâtre à brune [57].



Figure 9: CMV virus sur la tomate

6.4 Maladies bactériennes

Le problème bactérien le plus grave est le flétrissement des plants de tomate. La gravité de la maladie est liée à l'état de contamination du sol, sa forte teneur en eau (sol insuffisamment drainé) et à la saison.

- **La moucheture bactérienne**

La moucheture bactérienne est causée par la bactérie *Pseudomonas syringae*.

Sur les fruits il y a présence des petites ponctuations (<2 mm) noires, légèrement en relief, souvent entourées d'une fine auréole verte ou jaune. Les lésions sont superficielles et se

détachent par un simple coup d'ongle. Les infections graves peuvent entraîner une défoliation des plantes [57].



Figure 10: La moucheture bactérienne sur la tomate

- **Le chancre bactérien**

Le chancre bactérien est causé par *Clavibacter michiganensis subsp.* Ces des taches ocellées relativement petites qui peuvent apparaître sur les fruits. Ces taches ont un centre brun pâle et sont ordinairement entourées d'une auréole blanche d'aspect huileux (de 3-6 mm de diamètre). Les infections se propagent par les éclaboussures d'eau, la pluie poussée par le vent et l'eau en fines gouttelettes ou en aérosol accompagnant les épisodes de pluie intense [57].



Figure 11: Le chancre bactérien sur la tomate

- **Gale bactérienne**

Causée par *Xanthomonas campestris pv.*

De nombreuses taches entraînent le dessèchement de folioles et la chute des feuilles. Sur fruit, de petits chancres pustuleux apparaissent et prennent un aspect liégeux [56].



Figure 12: Gale bactérienne sur les feuilles et le fruit de tomate

6.5 Les maladies cryptogamiques

▪ Le Mildiou

Plusieurs champignons parasites sont présents dans plusieurs espèces de plantes qui sont à l'origine du "mildiou", Il se présente sous forme des taches jaunes ou brunes d'aspect huileux.

Se sont de légères tâches foncées avec un point jaune au centre, ils sont visibles sur les feuilles ayant parfois un développement centrifuge et centripède. Sur la face inférieure des feuilles les tâches sont blanches.

Les fruits se couvrent de taches brunes et les feuilles flétrissent [56].



Figure 13: Le Mildiou sur la tomate

▪ La Verticilliose attaque

Causée par *Verticillium albo-atrum*.

Les premiers symptômes visibles de la maladie apparaissent par secteur, généralement sur les feuilles les plus basses d'abord. Puis en haut suivi d'un flétrissement avec un léger brunissement des vaisseaux après une coupe [56].



Figure 14: *Verticilliose* attaque sur les feuilles de tomate.



Figure 15: *Verticilliose* attaque sur le fruit de tomate.

- **La fonte des semis « *Pythium* »**

La fonte des semis peut être provoquée par divers champignons du sol. Parmi eux le genre *Pythium*.

La levée ne se fait pas du tout, ou la jeune la plantule jaunit ou brunit surtout au niveau du sol, devient molle, "pincée" à la base et s'affaisse, puis "disparaît".

Les terreaux, les semences, les pots utilisés peuvent être eux-mêmes infectés [58].



Figure 16: Fonte des semis sur la tomate

- **Botrytis ou pourriture grise**

Causées par *Botrytis cinerea*.

Le botrytis attaque les feuilles, pédoncules, fleurs, sépales, fruits et tige.

C'est un feutrage gris sur les feuilles et sur les fruits [56].



Figure 17: Pourriture grise sur les feuilles des fruits de tomate.



Figure 18: Pourriture grise sur les fruits de tomate.

- **Anthraxnose**

Causée par *Colletotrichum coccodes*.

Les symptômes sont des taches de 1 cm, plus ou moins circulaires avec un centre noirâtre sur les fruits mûrs [40].



Figure 19: Anthracnose sur le fruit de tomate

▪ Alternariose de la tomate

C'est une maladie récente qui se focalise plus spécifiquement sur les moisissures responsables d'altération. De ce fait, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à l'étude de l'alternariose de la tomate.

7. Définition et présentation de la maladie Alternariose

Parmi les maladies *Solanacées*, l'Alternariose qui est une maladie importante est certainement l'une des plus fréquentes et largement distribuée dans le monde [59]. Elle est retrouvée sur tous les continents où ces plantes sont cultivées. Elle affecte surtout les cultures de plein champ, et parfois les cultures qui sont à l'abri du froid. Cette maladie est provoquée par des espèces du genre *Alternaria*.

7.1 Symptômes et dégâts de la maladie

L'Alternariose s'attaque à tous les organes aériens de la tomate et à tous les stades de croissance de la plante [60].

La brûlure alternarienne apparaît généralement sur les feuilles les plus âgées, et en bas de tige. Il s'agit des lésions nécrotiques sombres et petites [61].

- ❖ Sur les feuilles, infectées elles développent des petites taches foliaires brunes plus ou moins circulaires, avec des anneaux concentriques (**figures 20**)[62].
- ❖ Sur les fruits, des taches concaves, bien délimitées, apparaissent à proximité de la cicatrice pédonculaire et des sépales (**figures 20**). La surface des zones infectées des fruits se plisse, elle peut se couvrir d'une moisissure noire, veloutée, assez caractéristique, et on y retrouve des motifs concentriques, comme sur les feuilles [60].

Les fruits en développement sont plus fragiles que les fruits mûres.

Les genres d'*Alternaria* ont été signalés à entraîner des maladies dans près de 400 espèces de plantes; *A. alternata* seul peut infecter plus de 100 sortes de plantes [63], [59]. Ce phytopathogène peut provoquer une défoliation complète et des pertes de récolte dans de courtes périodes de temps [64].



Figure 20: Symptômes d'Alternariose sur feuilles (A), et fruits (B) de tomate.

En Algérie l'Alternariose est une maladie très présente, elle affecte toutes les productions de plein champ et sous les tunnels plastique (serre), les résultats de la défoliation sont importantes, elles favorisent le ralentissement et à la diminution de la production voir même la perte de fruit [65].

7.2 Présentation de l'agent pathogène *Alternaria sp.*

Les *Alternaria* sont des champignons fréquents dans notre environnement. Ils appartiennent aux moisissures atmosphériques. Ils peuvent être isolés de végétaux très divers. *Alternaria* comprend près de 275 espèces [66], avec des modes de vie saprophytes et phytopathogènes qui peuvent affecter les cultures sur champ ou produits végétaux pendant la récolte et post-récolte [67].

Les membres du genre *Alternaria* caractérisent par des conidies septées avec cloisons transversales et longitudinales, les cellules sont multi nucléées (pluricellulaires) de couleur foncée généralement piriformes de tailles variable selon les espèces [59].

7.3 *Alternaria alternata* modèle d'étude

Alternaria alternata se présente comme un champignon phytopathogène provoquant divers symptômes, taches noires, pourritures, rouille, etc., sur les différents organes de la plante.

7.3.1 Classification

La classification taxonomique de l'*Alternata. A sp.* Selon catalogue of life (25 mars 2016).

| | |
|------------------|------------------------|
| Règne: | fungi |
| Division: | Ascomycota |
| Classe: | <i>Dothideomycetes</i> |
| Ordre: | <i>Pleosporale</i> |
| Famille: | <i>Pleosporaceae</i> |
| Genre: | <i>Alternaria</i> |

Espèce: *Alternaria alternata*

7.3.2 Morphologie et caractéristiques

Alternaria alternata est un champignon filamenteux cosmopolite ubiquiste. Communément isolé à partir des plantes, de sols, de nourriture corrompue ainsi que de l'air ambiant des habitations [68]. Caractérisé par des conidies en chaînes simples ou ramifiées, brunes, irrégulières, 20-80 x 9-18µm, plus souvent avec un rostre apical court mais bien différencié [69,70].

Ce parasite pathogène est un champignon de blessures qui touche particulièrement les fruits de tomates et engendre des pourritures poste-récolte désignée.

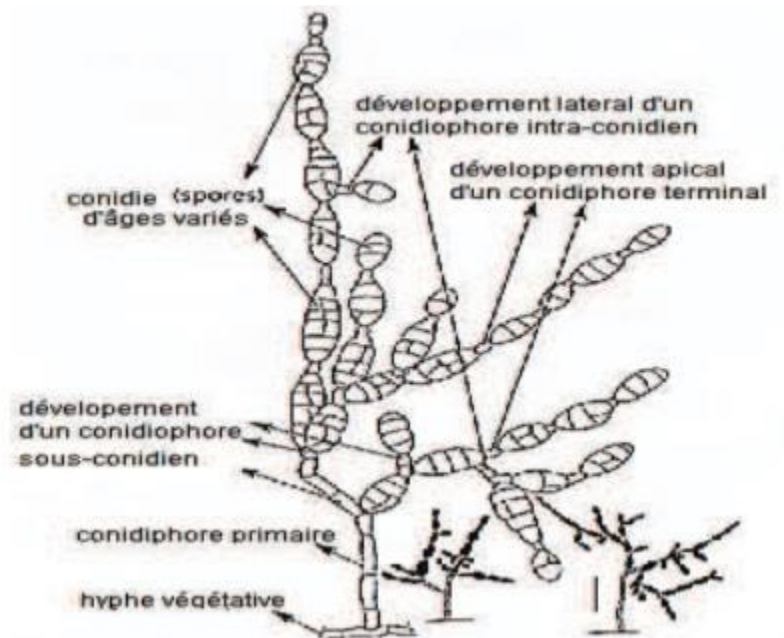


Figure 21: Représentation des différents stades de développement des spores et conidiophores d'*A. alternata*

7.3.3 Caractères culturels généraux

Alternaria alternata peut se cultiver facilement à 30°C dans des conditions aérobies: sur un milieu MEA de pH 5,4. Après 7 jours de culture, les colonies apparaissent noires et duveteuses et présentent une texture épaisse.

En outre, *Alternaria alternata* peut survivre dans un environnement défavorable, en particulier dans des conditions d'anoxie (taux d'oxygène de 0,25%). Ses spores, très résistantes, restent viables pendant plusieurs années.

Dans les conditions de culture favorables, le champignon met en place au bout de quelques jours des structures reproductrices appelées conidies qui assurent sa multiplication asexuée. Les conidies, d'aspect ovoïde et septé, sont produites et portées par des filaments épais et bruns appelés conidiophores. À maturité, les conidies se détachent des conidiophores et assurent ainsi la dispersion ainsi du champignon [71].



Figure 22: Culture d'*Alternaria alternata* sur milieu MEA, PH 5,4, à 30°C, 7 jours.

7.3.4 Aspect microscopique d'*Alternaria alternata*

Au microscope à faible grossissement (x 10), la levure *Alternaria alternata* se présente sous la forme de longs filaments mycéliens (hyphes). Dans cette préparation, les filaments frais ont été colorés au bleu coton lactique. Au milieu des filaments, des structures reproductrices brunes du champignon sont visibles: les conidies. Les conidies sont des spores asexuées qui assurent la reproduction asexuée de la levure [71].

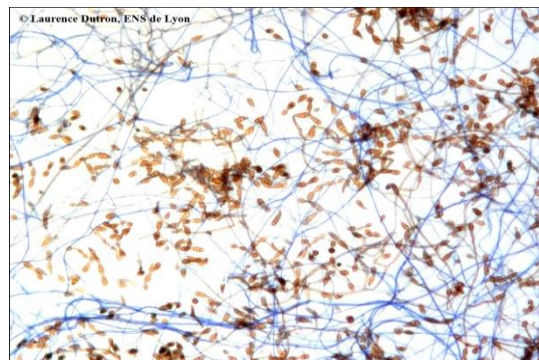


Figure 23: Observations macroscopiques d'*Alternaria alternata* (x10).

8. Méthodes de lutte et alternatives naturelles

Les moisissures sont des agents pathogènes biologiques omniprésents capables d'endommager les aliments en raison de leur capacité de synthétiser une grande diversité d'enzymes hydrolytiques. Ces moisissures provoquent des troubles pathologiques chez les plantes, induisant des pertes économiques considérables pour les producteurs de denrées alimentaires.

Les tomates sont très sensibles à la détérioration fongique, à la fois sur le terrain et pendant le stockage post-récolte. La croissance fongique sur les fruits frais est responsable de la détérioration des aliments et de nombreuses maladies de plantes, qui conduisent à des pertes économiques importantes. Les moisissures dépendent de facteurs abiotiques tels que le pH, la concentration en soluté, l'atmosphère, la température, et le temps...

La lutte contre ces maladies présente un grand intérêt pour les agriculteurs aussi bien sur le plan écologique que sur le plan économique. Parmi les méthodes employées auparavant, un accent particulier est accordé aux luttes chimiques qui causent beaucoup de risque à la santé humaine et à l'environnement. Face à cette ampleur des phénomènes liés à l'utilisation des fongicides et aux différents risques de leurs utilisations, beaucoup d'efforts ont été réalisés afin de mettre au point des méthodes alternatives de lutte naturelles. Dans cette optique, l'utilisation de substances naturelles actives, moins nocive et non polluantes prend diverses formes, cependant, à l'heure actuelle celle qui retient l'attention des chercheurs, c'est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales comme outils de phytoprotection en milieu agricole soit en plein champ ou en serres, par application topique: Les biopesticides à base d'huiles essentielles.

Bien que l'activité *in vitro* des extraits de plantes soit une étape initiale importante dans l'identification des plantes potentielles. Mais une autre question très importante à prendre en compte est la performance *in vivo*.

À cet effet, la confirmation de l'activité *in vivo* est essentielle parce qu'il peut avoir une interaction entre les matrices alimentaires et les composés bioactifs, en diminuant leur efficacité.

En général, il faut prendre des concentrations plus élevées d'huile essentielle ou d'extraits végétaux pour avoir le même effet dans les produits alimentaires que celui noté dans les essais *in vitro*. Ceci peut être expliqué par le fait que lorsqu'ils sont en contact avec la surface des aliments, des substances volatiles hautement hydrophobes actives sont liées par les

composants alimentaires (glucides, lipides et protéines), alors que les autres composants sont coincés par l'intermédiaire du produit à cause de leur affinité avec l'eau. Si tel est le cas, des changements indésirables dans la saveur sensorielle peuvent survenir. Il a été suggéré que les lipides présents dans les aliments peuvent former un revêtement autour du micro-organisme, en le protégeant des agents antimicrobiens. En outre, la faible teneur en eau dans l'alimentation par rapport à des milieux de laboratoire pourrait entraver le transfert des molécules antimicrobiennes au site actif à l'intérieur de la cellule microbienne.

En effets, El-Mogy et Alsanius (2012) [72] ont étudié l'activité de l'huile d'*acaciain vivo* contre *Botrytis cinerea* dans les fraises. Cette huile a inhibé la croissance complète *in vitro* du champignon, à de très faibles concentrations et à une exposition à long terme, ou effets fongicides à des concentrations élevées. L'incidence de la maladie sur les fruits inoculés avec *Botrytis cinerea* et des fruits non contaminées a été considérablement réduite après l'application de l'huile d'*acacia*. La conclusion c'est que ce traitement n'a pas affecté les paramètres de qualité organoleptiques.

Dans le monde entier, la tomate (*Lycopersicon esculentum*) est une culture largement commercialisée, elle est très sensible à l'attaque de plusieurs agents pathogènes, c'est pour cette raison que beaucoup de recherches sont consacrées à l'étude des moyens et méthodes de contrôle des infections de cette plante.

Phillips et coll. (2012) [73] ont montré que l'effet antifongique du mélange 50:50 d'huile essentielle d'orange et de bergamote n'est pas très efficace contre *Alternaria alternata* sur les tomates, car l'incidence de la maladie était très importante après 7 jours de stockage.

Tzortzakos (2010) [6] a étudié l'effet de l'huile d'origan contre la détérioration des fruits de tomate par *Colletotrichum coccodes*, cette étude a montré que le traitement par cette huile a éliminé la viabilité des spores de 22%.

L'activité antifongique des huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), de thym (*Thymus vulgaris*) et de la sarriette (*Satureja hortensis*) *in vitro* dans la pâte de tomate a été évalué par Omidbeygi et coll. (2007) [74]. Ils ont remarqué que l'huile essentielle a inhibé le développement du champignon testé, *Aspergillus flavus*, avec l'huile de thym à 350 ppm et la sarriette à 500 ppm.

Troncoso et coll. (2005) [75] ont constaté que le traitement du poivron vert avec les huiles essentielles des feuilles de chou (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) nécessitait une concentration très élevée pour l'inhibition complète de la maladie causée par *Alternaria alternata* dans les gousses.

Kumar et coll. (2007) [76] ont montré que l'huile de *Citriam brosioides* a été efficace pour le contrôle de la maladie fongique des échantillons de blé.

Phillips et coll. (2012) [73] ont démontré aussi qu'un traitement avec le *Citri* réduit la croissance de *Aspergillus niger* et *Penicillium chrysogenum* sur le grain.

Tabet et coll. (2019) [77] dans leurs études ont constaté que l'huile et l'hydrolat du *Marrubium vulgare* été très efficace pour le contrôle de la maladie fongique causée par *Penicillium expansum* sur les pommes. De même le traitement des fruits de fraise inoculée par l'agent pathogène *Botrytis. cinerea* avec l'huile essentielle et l'hydrolat du *Daucus. carota ssp. sativus* a montré une très importante activité antifongique.

La recherche des alternatives biologiques naturelles est devenue donc une grande préoccupation pour l'industrie alimentaire, à cause des pertes post-récolte importantes dues aux contaminations fongiques. C'est pour cette raison que les organisations de protection de l'environnement s'inquiètent pour l'utilisation des fongicides de synthèse qui peuvent affecter les cultures ainsi que les consommateurs et contaminent le sol et l'eau. La possibilité d'utiliser des composés extraits de plantes ou leurs extraits entiers tels que les huiles essentielles et les hydrolats pour contrôler la contamination par des agents pathogènes est une alternative prometteuse. L'utilisation des plantes aromatiques, historiquement utilisés dans la médecine alternative traditionnelle, dont la sécurité est avérée, donne plus de confiance pour les consommateurs, qui sont de plus en plus intéressés pour l'obtention des «produits verts». De même, il soulève en plus un avantage économique en raison de la possibilité de fournir une utilisation pour une large gamme de plantes.

Nous constatons donc que de nombreuses études ont été consacrées à la recherche de produits naturels ayant une activité antimicrobienne, antioxydante et surtout antifongique; par contre l'activité antifongique des hydrolats a été peu étudiée, ce qui nous incite à effectuer ce travail afin de savoir si l'on peut utiliser les hydrolats pour lutter contre *Alternanria Alternanta*, l'une des maladies importantes qui affectent le fruit de tomate.



Chapitre 2:Matériel et Méthodes



1. Provenance et identification du matériel végétal

Pour étudier la variabilité chimique de l'huile essentielle de *Ballota nigra* par rapport au lieu de récolte. Les parties aériennes de *Ballota. nigra* ont été récoltées dans 8 stations différentes (E₁-E₈) de l'ouest de l'Algérie (Tlemcen) en pleine floraison.

L'identification de la plante a été réalisée par le Docteur **KAZI TANI Choukri** de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, Algérie.

Certaines informations concernant les 8 stations de récolte (origines géographiques, latitudes et longitudes) sont notées dans le **Tableau 4**.

Tableau 4: Coordonnées géographiques et rendements des huiles essentielles relatives aux 8 stations de récoltes de *B. nigra* d'Algérie

| Echantillons | Stations | Coordonnées GPS | Rdt s | Nature des Sols | Climats |
|--------------|--------------|------------------------------|-------|---|---------|
| E1 | Chetouane | 34° 55' 13" N; 1° 17' 23" O | 0.6 | Sol rouge, fersiallitique, haute teneur en eau (riche en argile) | Humide |
| E2 | Koudia | 34° 52' 41" N; 1° 18' 53" O | 0.5 | | |
| E3 | Ain el Houtz | 34° 55' 60" N ; 1° 19' 60" O | 0.5 | | |
| E4 | Ouchebea | 34° 65' 40" N ; 1° 22' 54" O | 0.4 | | |
| E5 | Beni Snous | 34° 38' 35" N; 1° 33' 41" O | 0.5 | Sol brun fersiallitique, provenant d'une roche calcaire. Riche en Mg ²⁺ , Ca ²⁺ et K ⁺ | Humide |
| E6 | Terny | 34° 47' 45" N; 1° 21' 29" O | 0.4 | | |
| E7 | Sid Djillali | 34° 28' 00" N; 1° 34' 60" O | 0.2 | | |
| E8 | Mafrouche | 34° 50' 72" N; -1° 17' 68" O | 0.1 | | |

2. Extraction des huiles essentielles et des hydrolats

2.1 Extraction des huiles essentielles

L'obtention des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareillage du type Clevenger **Figure 24**.

Une quantité de **500 g** de matière végétale a été introduite dans un ballon de 6 litres et mélanger avec une quantité suffisante d'eau distillée (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers), l'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon pendant 5 heures jusqu'à extraction totale de l'huile essentielle, on obtient une huile de couleur jaune qui est conservée par la suite dans un pilulier en verre opaque bien fermée, à 4 °C jusqu'à son analyse avec la **CPG/SM**.

2.2 Extraction de l'hydrolat

Pendant l'hydrodistillation, la vapeur d'eau s'imprègne de toutes les propriétés de la plante et retourne à l'état liquide puis donne **l'hydrolat**.

L'hydrolat a été extrait trois fois avec 200 ml d'éther diéthylique. La phase organique a été séchée sur du Na₂SO₄, et après évaporation nous obtenons l'extrait d'hydrolat de *Ballota nigra*. De même l'extrait d'hydrolat est conservé dans des piluliers en verre ambré à 4°C. L'hydrolat est conservé dans des bouteilles en verre ambré à 4°C.



Figure 24: Montage d'hydrodistillation.

3. Calcul du rendement

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculer par la relation suivante [78]:

$$\text{Rdt (\%)} = [(m / m_0) \times 100]$$

R= rendement de l'huile essentielle en %.

m = poids de l'huile essentielle en gramme.

m₀ = poids de la matière végétale de départ en gramme.

4. Caractérisation des extraits d'huiles essentielles et de hydrolats

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à spectrométrie de masse CPG/SM sont des méthodes très utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles [79].

4.1 Analyse chimique par CPG

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode séparative très largement utilisée dans les laboratoires. Elle est destinée aux substances volatiles, leurs détections sont possibles grâce à un grand nombre de détecteurs très sensibles (ionisation de flamme, thermo-ionique, capture d'électrons, ...). **Figure 25 [80].**

- **Principe de la méthode** [80]

La CPG est une méthode de séparation sur colonne de substances volatiles véhiculées par un gaz inerte appelé gaz vecteur. La nature de la colonne conditionne le type de chromatographie (partage ou adsorption). Le choix de la colonne sera en fonction des propriétés physico-chimiques des composés à séparer. Un chromatographe en phase gazeuse est constitué d'un injecteur, d'un four (dont la température est programmable) contenant la colonne et d'un détecteur.

- **Technique**

Les analyses CPG ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin Elmer Clarus 600 GC. Cet appareil est équipé d'un système de détection d'ionisation à double flamme (FID) et de deux colonnes capillaires de silice fondue (60 x 0,22 mm ID, épaisseur de film 0,25 µm), apolaire Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et polaire Rtx-Wax (polyéthylène glycol). La température du four a été programmée de 60°C à 230°C à 2 °C/min, et elle est ensuite maintenue isothermiquement à 230°C pendant 35 minutes. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 280°C. Les échantillons ont été injectés par fractionnement (1/50), le gaz porteur utilisé était l'hélium (1 mL/min), le volume d'injection était de 0,2 µl. La détermination des indices de rétentions (IR) était réalisée à partir du logiciel Perkin-Elmer.



Figure 25: Appareil CPG

4.2 Analyse par CPG/SM

Le couplage **CPG/SM** en fait depuis longtemps une méthode de référence. Elle s'adresse à des molécules dont la nature est plutôt apolaire et d'un poids moléculaire inférieur à environ **500 Daltons**.

- **Technique (les conditions)**

La technique d'analyse des échantillons était réalisée à l'aide d'un analyseur quadripolaire Perkin-Elmer Turbo Mass, couplée à un Perkin-Elmer Auto system XL, équipé de deux colonnes capillaires de silice fondue (60 m x 0,22 mm d.i; épaisseur du film: 0,25 μm), polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), les mêmes conditions de CPG décrites ci-dessus, étaient mises œuvre à l'exception d'une scission de 1/80. Les spectres de masse à impact électronique (EI) ont été acquis dans les conditions suivantes: température de la source ionique 150 °C, ionisation énergétique 70 eV, plage de masse 35-350 Da (temps de balayage: 1s).

5. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et des hydrolats sur la résistance la souche pathogène de *Alternaria alternata* lors de la conservation des fruits de tomates

5.1 Isolement des agents pathogènes

Le champignon utilisé dans ce travail est un espèce fongique responsable des pourritures des tomates, la souche utilisée dans cette étude appartient au genre de moisissure: *Alternaria alternata*, elle a été isolée des parties infectées des tomates puis déposées sur les milieux de culture PDA dans des boîtes de Pétri. **Figure 26 [81]**.

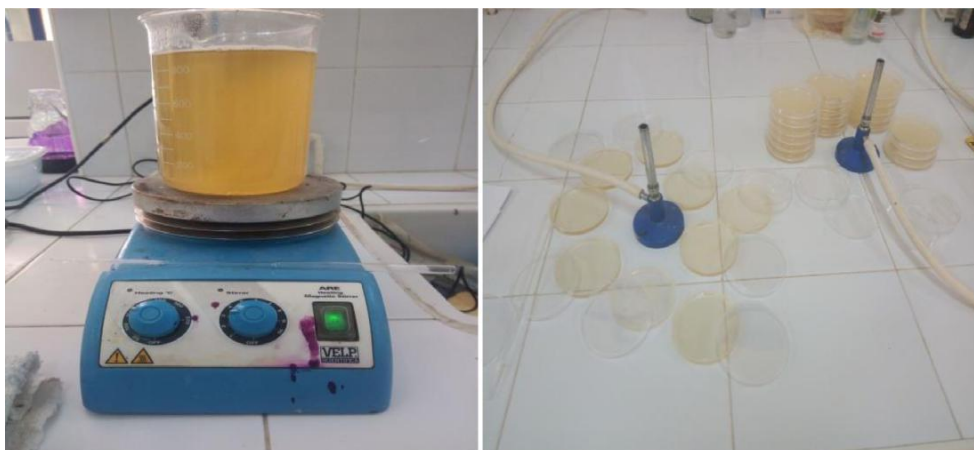


Figure 26: Préparation le milieu de culture PDA.

5.2 Activité antifongique *in vivo*

La méthode de Tabet et al. [82] a été utilisée pour déterminer les effets préventifs et protecteurs de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Ballota nigra* sur les tomates inoculée (activité protectrice) et non inoculée (activité préventive).

- Pour chaque test, quatre tomates ont été sélectionnées de taille uniforme.
- Les tomates sélectionnées pour les expériences ont été lavées à l'eau, trempées dans de l'éthanol (70%) pendant 2 min, rincées deux fois avec l'eau bidistillée (10 min chacun) et séchées à l'air.
- La surface de fruit de tomate a été inoculée avec un clou stérilisé à la flamme à une profondeur uniforme de 3 mm.

5.3 Activité antifongique *in vitro*

L'activité antifongique des huiles essentielles et de l'hydrolat a été testée contre les souches fongiques. Le mode opératoire utilisé était basé sur une méthode publiée par Tabet et al. [82] qui suit le protocole suivant:

- Nous avons pipetées aseptiquement dans des boîtes de Pétri en verre de 9 cm contenant 9,5 ml de PDA fondu des aliquotes d'extraits dissouts séparément dans 0,5 ml de DMSO à 10% (v/v) pour obtenir les concentrations requises des extraits d'huiles essentielles (10, 20 et 30 mL / L) et des extraits d'hydrolat (5, 10 et 15 mL / L).
- En suivant la même procédure, des contrôles sans extraits ont été inoculés. Les plaques ont été scellées avec un film de polyéthylène et incubé à une température de 27 °C.
- Le traitement a été évalué chaque jour durant 7 jours en mesurant la moyenne de 2 diamètres perpendiculaires de la colonie.

- Tous les tests ont été répétés trois fois.
- Le pourcentage d'inhibition de la croissance radiale des champignons testés par les huiles et les extraits d'hydrolats comparé à ceux des témoins a été calculé au 7^{ème} jour en utilisant la formule suivante [83]:

$$(I\%) = [DC-DT] / DC \times 100$$

Où DC et DT sont respectivement, des diamètres moyens de la colonie fongique de contrôle et de traitement.

6. Analyses statistiques

Les études statistiques ont été menées avec le logiciel R (R Foundation –Institute for Statistics and Mathematics, Autriche). Les Analyses en Composante Principale (ACP) ont été réalisées avec des matrices de type Pearson en utilisant la fonction « PCA ». Les Classifications Ascendante Hierachique (CAH) et les dendrogrammes résultants ont été obtenue avec des matrices de dis similarités calculées en distance euclidienne et la méthode d'agrégation choisie systématiquement est le lien moyen (package « classif »).



Chapitre 3: Résultats et Discussion



1. Lieux de récoltes et Compositions chimiques des huiles essentielles et des hydrolats de *B. nigra*

Notre étude bibliographique minutieuse menée sur les espèces de *Ballota nigra*, affirme que cette plante a fait l'objet de quelques études. Ceci nous a incités à nous pousser de près à l'étude de la composition chimique de son huile essentielle et son hydrolat.

1.1 Lieux de récoltes des échantillons de *Ballota nigra*

Les 8 échantillons de *Ballota nigra* ont été collectés à Tlemcen dans deux régions différentes. La première zone caractérisée par les sols rouge, fersiallitiques, des climats humides et avec altitudes variant de 574 à 795 m (E₁-E₄).

La deuxième zone caractérisée par un sol fersiallitique brun originaire de roche calcaire et riche en Mg²⁺, Ca²⁺ et K⁺ et avec des altitudes varié de 835 à 1470 m (E₅-E₈) [84].

Des informations concernant les lieux de récolte ont été regroupées dans le **Tableau 4**. Les huiles essentielles de *B. nigra* recueillies auprès de huit stations ont été extraites par hydrodistillation et analyser par GC-MS.

Les rendements variaient de **0,1% à 0,6%**.

1.2 Compositions chimiques des huiles essentielles

L'analyse de l'huile essentielle de *B. nigra* des huit échantillons par les techniques GC-FID et GC-MS est rapportée dans le **Tableau 5**. Cette analyse a permis l'identification de 38 composés avec un pourcentage d'identification de 90,6 à 96,8% de la composition chimique totale.

Les principales classes de composants qui ont été identifiés sont: vingt sesquiterpènes, quatre monoterpènes, dix aliphatiques et trois composés diterpéniques ont été identifiés. Les huiles essentielles ont été dominées par le sesquiterpène composés dans lesquels les hydrocarbures (48,4-81,8%) représentés un pourcentage supérieurs à celui des composés oxygénés (4,8-14,8%).

La composition chimique des différents échantillons a été dominée par le E-β-caryophyllène (4,8-20,1%), E-β-farnésène (3,3-21,3%), β-bisabolène (8,1 à 33,2%), α-humulène (2,1 à 11,6%), géranyle linalol (1,1-8,2%), pentacosane (1,5-8,5%), α-cadinol (0,1-6,8%), (E) -phytol (0,1-6,5%) et éicosane (0,1-6,3%) (**Tableau 5**). Les structures chimiques de quelques composés majoritaires de l'huile essentielle sont représentées dans la **Figure 27**.

Tableau 5: Composition chimique des huiles essentielles de *Ballota nigra*.

| N° ^a | Composés | IRIa ^b | Ria ^c | Rip ^d | Huiles essentielles | | | | | | | | Identification ^e |
|-----------------|------------------------------|-------------------|------------------|------------------|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|-----------------------------|
| | | | | | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 | |
| 1 | Octen-3-one | 956 | 953 | 1293 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | RI/MS |
| 2 | 1-Octen-3-ol | 959 | 960 | 1446 | 0.2 | 0.2 | 4.1 | 3.1 | 3.1 | 0.4 | 3.5 | 1.8 | RI/MS |
| 3 | Myrcene | 976 | 976 | 1159 | 1.0 | 1.0 | 1.7 | 2.1 | 1.1 | 0.1 | 0.5 | 0.1 | RI/MS |
| 4 | Nonanal | 1083 | 1082 | 1394 | 0.1 | 0.1 | tr | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.5 | 1.4 | RI/MS |
| 5 | Linalool | 1081 | 1085 | 1544 | 1.2 | 1.2 | 1.4 | 1.3 | 0.6 | 0.2 | 0.9 | 0.4 | RI/MS |
| 6 | α -Thujone | 1089 | 1098 | 1396 | 0.1 | 0.1 | tr | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.6 | 0.3 | RI/MS |
| 7 | Decanal | 1185 | 1185 | 1498 | 0.2 | 0.2 | tr | tr | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | RI/MS |
| 8 | Undecanal | 1256 | 1251 | 1603 | 0.1 | 0.1 | tr | tr | 0.1 | Tr | 0.6 | 0.2 | RI/MS |
| 9 | Eugenol | 1331 | 1334 | 1780 | 0.1 | 0.1 | tr | tr | 0.1 | 0.1 | 0.6 | 0.5 | RI/MS |
| 10 | α -Copaene | 1379 | 1376 | 1488 | 2.1 | 2.1 | 2.2 | 3.2 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | RI/MS |
| 11 | β -Bourbonene | 1385 | 1383 | 1515 | 0.5 | 0.5 | 0.6 | 0.5 | 0.5 | 0.3 | 0.4 | 0.3 | RI/MS |
| 12 | β -Elemene | 1388 | 1387 | 1589 | 0.6 | 0.6 | 0.9 | 0.8 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.6 | RI/MS |
| 13 | Tetradecane | 1400 | 1401 | 1400 | 0.7 | 0.7 | 0.6 | 0.5 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | RI/MS |
| 14 | E- β -Caryophyllene | 1424 | 1420 | 1591 | 20.1 | 20.1 | 17.3 | 18.3 | 8.2 | 7.9 | 5.3 | 4.8 | RI/MS |
| 15 | β -Copaene | 1431 | 1433 | 1581 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.3 | 0.4 | 0.3 | 0.5 | 0.4 | RI/MS |
| 16 | Trans- α -Bergamotene | 1432 | 1436 | 1580 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.2 | Tr | 0.2 | 0.4 | RI/MS |
| 17 | E- β -Farnesene | 1448 | 1451 | 1665 | 21.1 | 21.1 | 19.5 | 21.3 | 7.6 | 8.1 | 3.3 | 5.7 | RI/MS |
| 18 | α -Humulene | 1456 | 1453 | 1665 | 11.6 | 11.6 | 10.5 | 11.2 | 3.5 | 2.1 | 2.3 | 2.1 | RI/MS |
| 19 | β -Ionone | 1466 | 1465 | 1936 | 0.8 | 0.8 | 0.6 | 0.5 | 0.7 | 0.7 | 2.1 | 3.3 | RI/MS |
| 20 | α -Curcumene | 1471 | 1471 | 1769 | 0.5 | 0.5 | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 1.2 | 0.6 | RI/MS |
| 21 | Germacrene-D | 1480 | 1476 | 1704 | 0.6 | 0.6 | 0.8 | 0.7 | 1.6 | 2.3 | 1.6 | 1.3 | RI/MS |
| 22 | Bicyclogermacrene | 1494 | 1492 | 1727 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.4 | 0.3 | 0.2 | RI/MS |
| 23 | β -Bisabolene | 1500 | 1503 | 1720 | 8.1 | 8.1 | 8.8 | 7.7 | 33.2 | 32.9 | 28.6 | 26.2 | RI/MS |
| 24 | δ -Cadinene | 1516 | 1516 | 1752 | 4.7 | 4.7 | 4.5 | 5.2 | 2.4 | 1.9 | 1.1 | 1.2 | RI/MS |
| 25 | Spathulenol | 1557 | 1567 | 2119 | 0.8 | 0.8 | 1.1 | 1.2 | 0.8 | 0.5 | 0.1 | 0.3 | RI/MS |
| 26 | Caryophyllene oxide | 1576 | 1570 | 1980 | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 4.3 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.5 | RI/MS |
| 27 | Humulene epoxide II | 1601 | 1594 | 2044 | 0.7 | 0.7 | 1.5 | 0.2 | 0.7 | 0.4 | 1.5 | 0.4 | RI/MS |
| 28 | τ -Muurolol | 1634 | 1635 | 2143 | 3.1 | 3.1 | 2.5 | 2.2 | 1.2 | 0.4 | 4.3 | 3.3 | RI/MS |
| 29 | α -Cadinol | 1645 | 1642 | 2231 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 4.2 | 3.2 | 6.8 | 3.3 | RI/MS |
| 30 | β -Bisabolol | 1653 | 1646 | 2140 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.7 | Tr | 1.3 | 1.8 | RI/MS |
| 31 | α -Bisabolol | 1672 | 1674 | 2217 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.6 | 0.1 | RI/MS |
| 32 | Heptadecane | 1700 | 1701 | 1700 | 0.3 | 0.3 | 0.4 | 0.2 | 0.3 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | RI/MS |
| 33 | Nonadecane | 1900 | 1901 | 1900 | 0.5 | 0.5 | 1.6 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.3 | 0.5 | RI/MS |
| 34 | Geranyl linalool | 2019 | 2013 | 2537 | 1.7 | 1.7 | 2.8 | 1.1 | 6.6 | 7.6 | 7.2 | 8.2 | RI/MS |
| 35 | (Z)-Phytol | 2080 | 2090 | 2572 | 0.4 | 0.4 | 0.6 | 0.5 | 0.2 | 0.7 | 0.5 | 1.5 | RI/MS |

| N° ^a | Components | RIIa ^b | Ria ^c | Rip ^d | Huiles essentielles | | | | | | | | Identification ^e |
|----------------------------|-------------|-------------------|------------------|------------------|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|-----------------------------|
| | | | | | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 | |
| 36 | Eicosane | 2100 | 2101 | 2100 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.2 | 3.2 | 4.5 | 5.5 | 6.3 | RI/MS |
| 37 | (E)-Phytol | 2107 | 2117 | 2617 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 4.2 | 6.5 | 3.2 | 3.8 | RI/MS |
| 38 | Pentacosane | 2500 | 2499 | 2500 | 1.9 | 1.9 | 2.1 | 1.5 | 7.8 | 8.2 | 7.5 | 8.5 | RI/MS |
| Total identification % | | | | | 92.4 | 91.2 | 91.2 | 91.1 | 95.1 | 92.6 | 94.5 | 91.6 | |
| Monoterpene hydrocarbons | | | | | 0.1 | 1.0 | 0.5 | 0.9 | 1.1 | 0.1 | 0.5 | 0.1 | |
| Oxygenated monoterpenes | | | | | 2.1 | 1.1 | 1.2 | 1.1 | 0.6 | 0.1 | 1.1 | 0.2 | |
| Sesquiterpene hydrocarbons | | | | | 74.7 | 81.8 | 81.8 | 81.8 | 59.2 | 57.9 | 48.4 | 48.5 | |
| Oxygenated sesquiterpenes | | | | | 9.1 | 8.7 | 8.7 | 8.7 | 7.8 | 4.8 | 14.8 | 9.7 | |
| Oxygenated diterpenes | | | | | 2.4 | 2.4 | 2.4 | 1.7 | 11.0 | 14.8 | 10.9 | 13.5 | |
| Non-terpenic compounds | | | | | 4.1 | 6.1 | 6.5 | 6.1 | 15.4 | 14.9 | 18.8 | 19.4 | |

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1). ^b Retention indices of literature on the apolar column (RIIit) reported from König *et al* [18]. ^c Retention indices on the apolar Rtx-1 column (RIa). ^d Retention indices on the polar Rtx-Wax column (Rip). ^e RI: Retention Indices; MS: Mass Spectra in electronic impact mode; Ref.: Compounds identified from literature data [18].

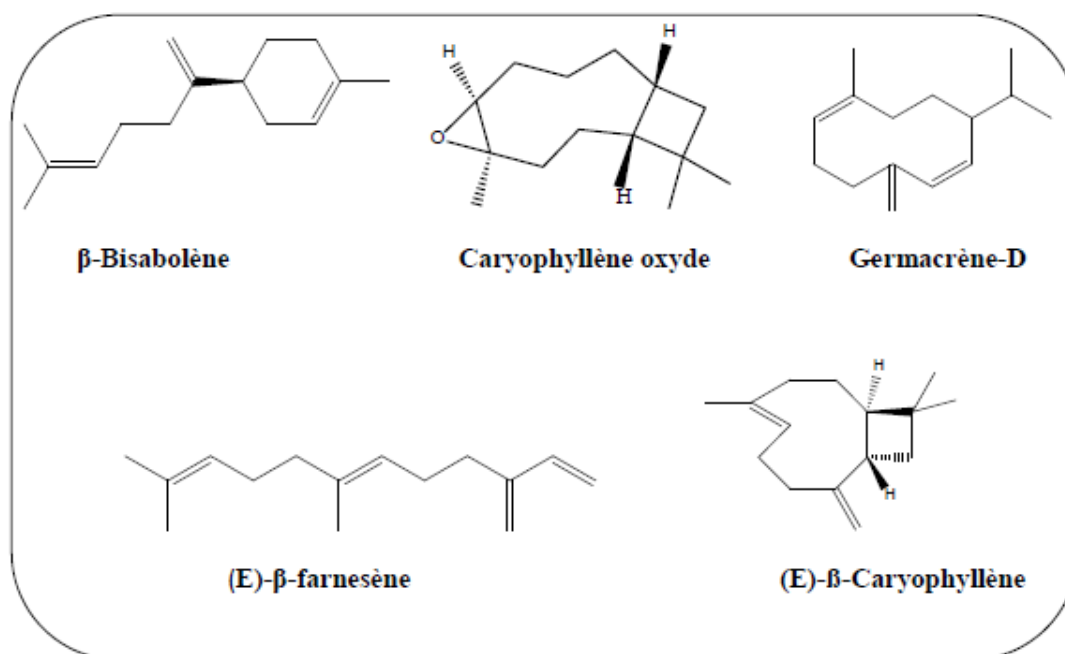


Figure 27: Composés majoritaires de l'huile essentielle de *Ballota nigra*.

La composition chimique de l'huile essentielle de *B. nigra* de différents pays ont déjà été étudiés. En 2003, Bader et al. [9] ont remarqué que le β -caryophyllène et la germacrène D étaient les composés majoritaires de l'huile essentielle de *B. nigra subsp. foetida* de la Jordanie. L'étude de Semnani et al. [30] a montré que l'huile essentielle de *B. nigra* de l'Iran était caractérisée par l'oxyde de caryophyllène, ϵ - α -muurolool, δ -cadinène et α -cadinol.

Le β -caryophyllène, germacrène D et α -humulène ont été les principaux composants de l'huile essentielle de *B. nigra* collectés en Serbie [85], tandis que Fraternali et Ricci [10] ont montré que l'huile essentielle de *B. nigra subsp. foetida* collectée en Italie est constituée principalement par le β -caryophyllène, l'oxyde de caryophyllène et germacrène-D.

Dans un autre rapport sur les espèces de *B. nigra subsp. Uncinata* et *subsp. anatolica* collectées en Turquie, les principaux composants sont l'oxyde de caryophyllène, acide hexadécanoïque, β -caryophyllène, respectivement [86].

Cette différence dans la composition chimique de l'huile de *B. nigra* peut être due à une série de facteurs, comme le climat, le sol, l'altitude et la géographie facteurs [87,88].

1.3 Variabilité chimique des huiles essentielles de *B. nigra* et corrélation entre les paramètres environnementaux de l'emplacement des échantillonnages

Afin d'étudier la variabilité chimique des huiles essentielles de *B. nigra* de l'ouest Algérien, une étude a été menée sur la variabilité chimique sur 8 stations différentes, qui a été discutée à l'aide d'une analyse statistique en composantes principales (ACP) et une l'analyse en grappes (CHA, dendrogrammes) pour identifier les relations possibles entre la composition des huiles essentielles et l'origine géographique des échantillons. Onze composés considérés comme discriminants ont été sélectionnés.

Les représentations de l'ACP et de la CHA montrent l'existence de deux principaux groupes des huiles essentielles (Figures 28 et 29).

Le groupe I comprend quatre échantillons notés (E₁-E₄) qui ont été produits à partir de spécimens récoltés de Chetouane, Koudia, Ain el Houtz et Ouchebe poussant sur un sol rouge, fersiallitique et riche en eau. Ce groupe est caractérisé par une forte teneur en E- β -caryophyllène (17,3-24,6%), E- β -farnésène (19,5-22,9%) et α -humulène (10,5-13,3%).

Alors que **le groupe II** comprend également quatre échantillons notés (E₅-E₈) provenant des stations de Beni Snous, Terny, Sid Djillali et Mafrouche poussant sur un sol brun fersiallitique, originaire d'une roche calcaire, riche en Mg²⁺, Ca²⁺ et K⁺ et des climats

humides, est caractérisé par des quantités plus élevées de β -bisabolène (26,2-33,2%) et de faibles quantités de géranyl linalool (6,6-8,2%) et de pentacosane (7,5-8,5%).

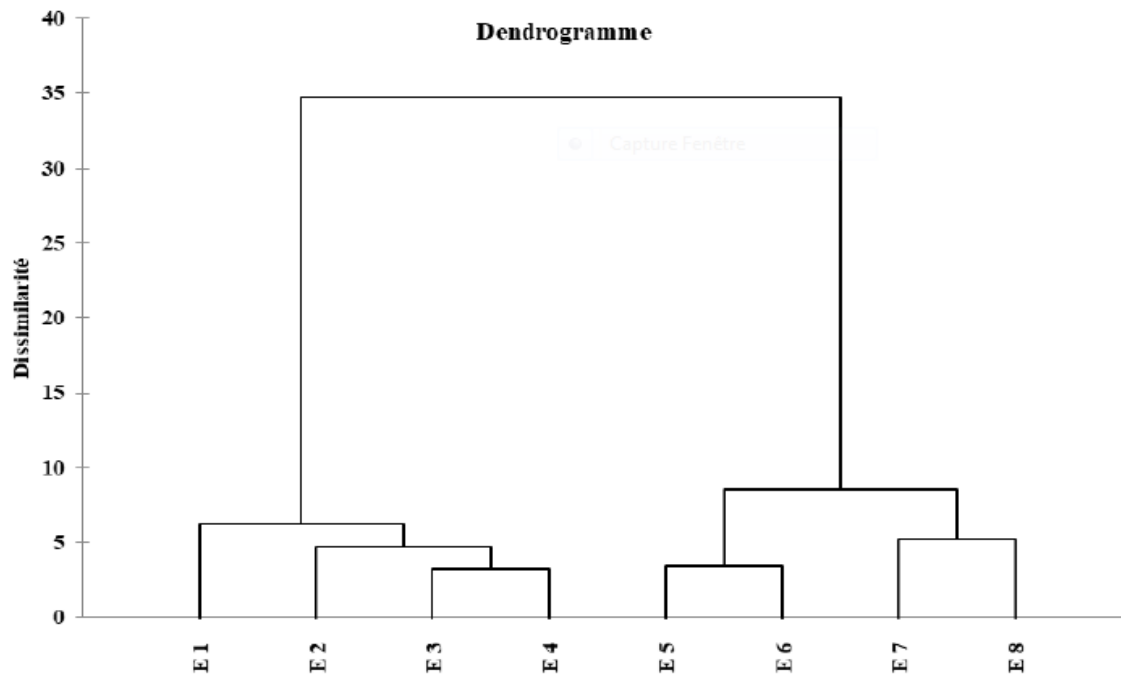


Figure 28: Classification hiérarchique ascendante (CHA) des échantillons des huiles essentielles de *B. nigra* d'Algérie.

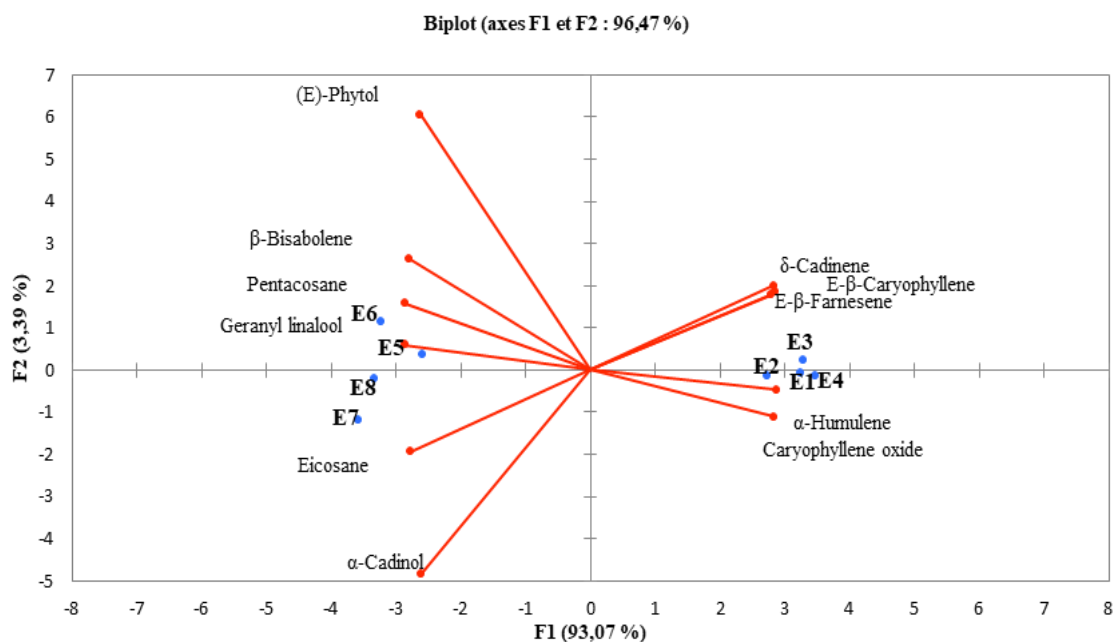


Figure 29: Analyse en composantes principales (ACP) de la composition chimique de *B. nigra*

Les analyses des composants principaux (ACP) ont montré que les pourcentages des composés diffèrent d'une région à une autre, et ceci est dû aux paramètres environnementaux des sites d'échantillonnage.

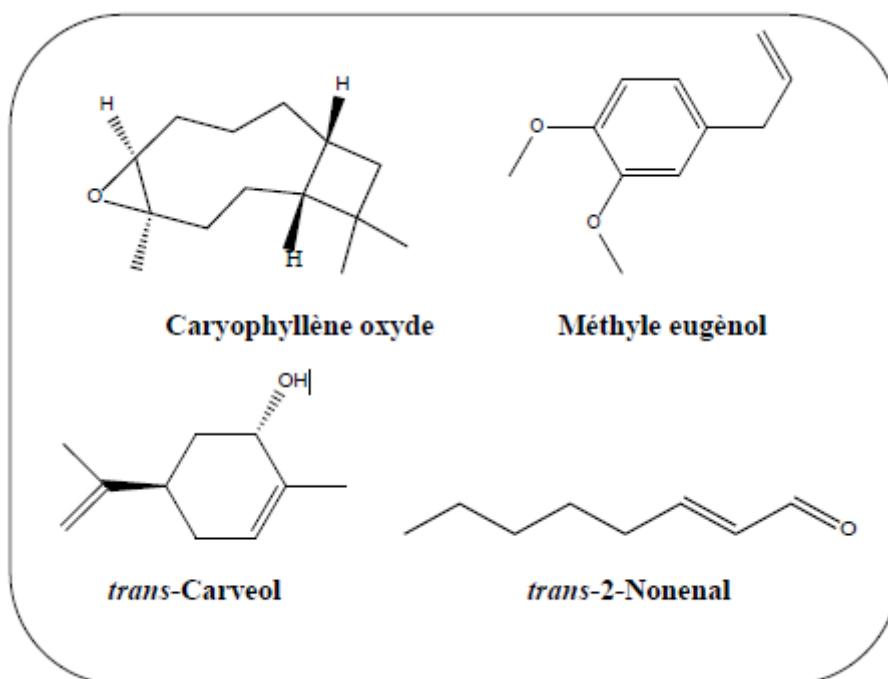
1.4 Compositions chimiques des extraits des hydrolats

Préparé par une extraction liquide-liquide, l'extrait d'hydrolat collectif des échantillons des 8 stations a également été analysé par GC (RI) et GC / MS.

Sept composants, représentant 97,6% de la composition totale des extraits ont été identifiés (**Tableau 6**). Les structures chimiques de quelques composés principales de l'extrait d'hydrolat sont représentées dans la **Figure 30**.

Tableau 6: Composition chimique de l'extrait d'hydrolat de *ballota nigra*.

| C | Composantes | IRIa ^b | Ria ^c | Rip ^d | HY | Identification ^e |
|---|---------------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------|-----------------------------|
| 1 | Octen-3-one | 956 | 959 | 1292 | 0.5 | RI. MS |
| 2 | Linalool | 1086 | 1082 | 1544 | 0.6 | RI. MS |
| 3 | <i>trans</i> -2-Nonenal | 1135 | 1136 | 1530 | 3.1 | RI. MS |
| 4 | α -Terpineol | 1176 | 1180 | 1690 | 2.1 | RI. MS |
| 5 | <i>trans</i> -Carveol | 1200 | 1190 | 1825 | 3.6 | RI. MS |
| 6 | Eugenol | 1331 | 1336 | 2008 | 75.2 | RI. MS |
| 7 | Caryophyllène oxide | 1576 | 1570 | 1980 | 12.5 | RI. MS |
| | Total % | | | | 97.6 | |
| | Oxygenated monoterpenes | | | | 81.5 | |
| | Oxygenated sesquiterpenes | | | | 12.5 | |
| | Non-terpenic compounds | | | | 3.6 | |

**Figure 30:** Composés majoritaires identifiés dans l'extrait d'hydrolat de *Ballota nigra*

L'extrait d'hydrolat de *B. nigra* était dominé par un pourcentage important d'eugénoï (75,2%), suivi de l'oxyde de caryophyllène (12,5%), trans-carveol (3,6%), trans-2- nonénal (3,1%) et α -terpinéol (2,1%).

La composition chimique de l'extrait d'hydrolat était constituée essentiellement de composés oxygénés, tandis que les composés hydrocarbonés sont très faibles en raison de leur faible solubilité dans l'eau. D'autre part, l'eugénoï a été présent en forte quantité dans l'extrait d'hydrolat, alors que, dans l'huile essentielle le pourcentage était faible.

Il est important de noter qu'aucun travail n'a été effectué jusqu'à maintenant sur la composition chimique de l'extrait d'hydrolat de *B. nigra* et ce présent travail est le premier.

2. Activité antifongique des huiles essentielles et des hydrolats

2.1 Activité antifongique *in vitro* de l'huile essentielle de *ballota nigra* sur les souches fongiques

Cette étude a été menée pour identifier et évaluer les moyens de lutte naturels contre les maladies fongiques des tomates.

Les résultats présentés dans le **Tableau 7** montrent l'activité antifongique de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *B. nigra* contre *A. niger*, *P. expansum* et *A. alternata*. L'activité des deux extraits variait en fonction de leur concentration et du type de champignons.

L'huile essentielle a montré une activité inhibitrice importante contre deux des trois champignons testés avec un pourcentage d'inhibition de 100 et 88,88% pour *A. alternata* et *P. expansum* respectivement, à une concentration de 30 mL/L. Cependant, l'effet de l'huile essentielle est inférieur contre *A. niger* (**Tableau 7**).

Tableau 7: Activité antifongique de l'huile essentielle (HE) et de l'extrait d'hydrolat (HY) de *B. nigra*.

| Microorganismes testés | Pourcentage d'inhibition | | | | | |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | HE (mL/L) | | | HY (mL/L) | | |
| | 0 | 20 | 30 | 5 | 10 | 15 |
| <i>A. niger</i> | 00 ± 00 ^a | 00 ± 00 ^a | 12.4 ± 2.3 _a | 16.2 ± 0.9 _a | 27.5 ± 2.9 _a | 54.0 ± 5.2 _a |
| <i>P. expansum</i> | 58.41 ± 1.3 ^b | 84.44 ± 2.8 ^b | 88.88 ± 2.4 ^b | 26.4 ± 2.9 _a | 67.5 ± 1.2 _b | 84.0 ± 3.2 _b |
| <i>A. alternata</i> | 98.2 ± 2.5 _c | 100 ± 00 ^c | 100 ± 00 ^c | 100 ± 00 ^c | 100 ± 00 ^c | 100 ± 00 ^c |

L'extrait d'hydrolat présentait la meilleure activité antifongique *in vitro* en comparant à celle de l'huile. À une concentration de 15 mL/L, les pourcentages d'inhibitions étaient 100, 84 et 54% contre les souches *A. alternata*, *P. expansum* et *A. niger*, respectivement.

L'huile essentielle de *B. nigra* est essentiellement constituée de mélanges complexes de sesquiterpènes, des composés non terpéniques et des composés diterpéniques.

Il a été démontré que l'activité antifongique des huiles essentielles est principalement corrélée à leurs composés majoritaires. Par exemple, le caryophyllène est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires et antifongiques [89, 90]. Dans les études menées sur la croissance des champignons, ça a été montré que le β -caryophyllène possédait un effet inhibiteur sur la croissance de la souche de *S. aureus* [91]. Les sesquiterpènes tels que β -caryophyllène et α -humulène isolés de l'huile essentielle de *Cordia verbenacea* ont montré une activité anti-inflammatoire dans l'œdème de la patte de rat [90].

Dans certaines cas, les activités biologiques des huiles sont plus élevées que ceux des principaux composés [92, 93], et ceci peut être dû à des effets synergiques entre les différents composants. En plus que beaucoup de composés mineurs présent dans l'huile de *B. nigra* présentent des activités antifongiques, tels que l'oxyde de caryophyllène connu par des activités anti-inflammatoire et antifongique [94], le linalool était efficace pour l'inhibition de la croissance de *C. albicans* [95].

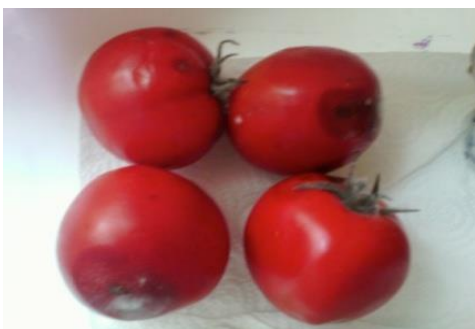
D'autre part, l'activité antifongique de l'extrait d'hydrolat de *B. nigra* contre toutes les souches de champignons étudiées est probablement due à la présence de l'eugénol, qui est connu pour son effet antifongique [96].

2.2 Effet antifongique *in vivo* de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat sur le développement de la maladie causé par *A. alternata*

En raison des résultats prometteurs des tests *in vitro*, l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *B. nigra* ont été choisis pour déterminer les effets protecteurs des fruits de tomate contre l'infection causée par *A. alternata*. La **figure 30** montre l'efficacité de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat *in vivo*, pour le contrôle de la croissance du champignon, *A. alternata*, sur les tomates stockées à température ambiante pendant 15 jours.



Tomates traitées par l'HY



Tomates traitées par l'HE



Contrôles

Figure 31: Effet protecteur de l'huile essentielle de *B. nigra* (HE) et de l'hydrolat (HY) après 15 jours de stockage

Selon les résultats de traitement des tomates avec l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat avec des concentrations de 0,2 mL/L d'air pour l'huile essentielle et 0,1 mL / L d'air pour l'hydrolat Nous avons remarqué une activité protectrice très intéressante contre la pourriture noire des tomates jusqu'au 15^{ème} jour stockage, par rapport au contrôle (**Tableau 8, Figure 31**).

Tableau 8: Effet de l'huile essentielle et de l'extrait d'hydrolat de *B. nigra* sur la protection des tomates contre l'infection causée par *A. alternata*

| jours ^a | PDI ^c (%) | | |
|--------------------|-------------------------------|----------------------|------------------|
| | Contrôle positif ^b | HE (0.2 mL/L Air) | HY (0.1 mL/L) |
| 1 th | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a |
| 2 th | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a |
| 4 th | 20 ^b | 0 ^a | 0 ^a |
| 8 th | 40 ^c | 0 ^a | 0 ^a |
| 12 th | 100 ^c | 0 ^a | 0 ^a |
| 15 th | 100 ^c | 1 0 a | 20 ^b |

On sait que les souches fongiques sont les causes de différentes maladies transmises par le sol, qui affectent principalement les feuilles et les tiges. *Alternaria spp.* sont les souches les plus fréquentes dans les zone fortement humide et peuvent affecter directement le fruit [97].

L'huile essentielle de *B. nigra* réduit considérablement les tomates inoculées par *A. alternata* (**Figure 30**). La croissance de micro champignon a été inhibée de 90% jusqu'à 15 jours de stockage.

Comme nous avons cité ci-dessus, l'effet protecteur de l'extrait d'huile essentielle et d'hydrolat de *B. nigra* est probablement dû à leur richesse en sesquiterpènes et en eugénol, respectivement.

Les résultats de l'utilisation de l'extrait d'hydrolat pour contrôler la croissance fongique et le développement de la maladie causée par *A. alternata* sont encourageants et indiquent que cet extrait naturel peut être utilisé comme une alternative efficace dans la gestion post récolte des fruits de tomates.

Une enquête préliminaire a révélé que l'eugéno1 à 150 à 160 mg / litre de produit est acceptable à partir d'un point de vue organoleptique, car l'odeur n'est pas forte [96]. Dans notre travail, nous avons testé l'activité antifongique de l'eugéno1 à 0,1 mg/ litre, qui est en dessous du niveau provoquant des effets toxicologiques potentiels.



Conclusion



Conclusion

Les plantes aromatiques et leurs dérivés les huiles essentielles et les hydrolats sont devenues des ressources contribuant pour le contrôle des pertes post-récolte dues à des champignons lors du stockage, puisque l'utilisation des fongicides synthétiques présente beaucoup d'inconvénients en raison de leur coût élevé et de leur menace pour la santé humaine.

En effet, l'Algérie dispose d'une très grande variété végétale et possède de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle qui ne sont pas encore valorisées. *Ballota nigra* est l'une de ces dernières, c'est une plante de la famille des Lamiacées qui a fait l'objet de notre présente étude.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui a pour objectif le développement de la filière des plantes aromatiques de l'Ouest Algérien comme biofongicides d'une part et d'autre part l'étude chimique d'une plante très utilisée en médecine traditionnelle: *Ballota nigra*.

L'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *Ballota nigra* ont été analysés par CPG-IR et CPG/SM pour leur composition chimique et tester pour leurs activités antifongiques contre des champignons phytopathogènes provoquant la détérioration des fruits de tomates.

38 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle. Elle a été dominée par le β -bisabolène (8,1 à 33,2%), le E- β -farnésène (3,3-21,3%), le E- β -caryophyllène (4,8-20,1%), α -humulène (2,1 à 11,6%), géranyle linalool (1,1-8,2%), pentacosane (1,5-8,5%), α -cadinol (0,1-6,8%), (E)-phytol (0,1-6,5%) et éicosane (0,1-6,3%).

L'extrait d'hydrolat de *B. nigra* était dominé par une grande quantité d'eugénol (75,2%), suivi de l'oxyde de caryophyllène (12,5%), trans-carveol (3,6%), trans-2-nonénal (3,1%) et α -terpinéol (2,1%).

L'analyse de l'extrait de l'hydrolat *Ballota nigra* montre que sa composition est très différente de celle de l'huile essentielle, il est caractérisé par la présence des composés oxygénés quantitativement très faibles dans l'huile essentielle.

L'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat ont montré une forte activité antifongique *in vitro* contre les agents phytopathogènes *Penicillium expansum* et *Alternaria alternata* responsable des maladies fongiques des tomates avec des pourcentages d'inhibition allant jusqu'à 100 %. Le traitement des fruits de tomate infectés par *Alternaria alternata* *in vivo* par l'huile essentielle et l'hydrolat a montré que de faibles concentrations ont été nécessaires pour l'absence de toute

Conclusion

infection sur les tomates. Cette activité peut être corrélée avec la composition chimique de l'huile essentielle et l'hydrolat qui sont riches en composés sesquiterpéniques et en eugénol respectivement.

Au terme de cette étude et en fonction des résultats obtenus; l'huile essentielle et l'hydrolat de *Ballota nigra* pourraient devenir un traitement biologiques et naturels efficaces et inoffensifs utilisés dans la gestion post-récolte des fruits de tomate contre les maladies fongiques.

Bien que l'ensemble des résultats obtenus se révèlent promoteurs. Un certain nombre de pistes de recherche sont à notre portée et méritent d'être exploitées à l'avenir tels que:

- ✓ L'exploitation de ces huiles et dans l'industrie agro-alimentaire en substituant les fongicides chimiques de conservation par des fongicides naturels.
- ✓ Réalisation d'une étude de toxicité de ces huiles essentielles et hydrolats *in vivo* sur un modèle animal.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- [1]. Hostettmann, K., Kizu, H., Tomimori, T. Molluscicidal Properties of Various Saponins. *Planta Med.*, **1982**, 44: 34-35.
- [2]. Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A. L' utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc *Phytothérapie.*, **2007**, 5: 194–203
- [3]. Bérubé-Gagnon, J. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Piceamariana*. Mémoire de l'université de Québec., **2006**.
- [4]. Schnaubelt, K. Essential oil therapy according to traditional Chinese medical concepts. *Int J Aromather.*, **2005**; 15: 98-105.
- [5]. Tian, J., Ban, X., Zeng, H., He, J., Huang, B., Wang, Y. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicutavivosa* L. var. *latisecta* Celak. *Int J Food Microbiol.*, **2011**; 145: 464-470.
- [6]. Tzortzakis, N.G. Ethanol, vinegar and *Origanum vulgare* oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. *Int J Food Microbiol.*, **2010**; 142: 14-18.
- [7]. Kazemizadeh, Z., Amini, T., Nazari, F., Habibi, Z. Volatile constituents of *Ballotanigrasubsp. anatolica* from Iran. *Chem Nat Compd.*, **2009**; 45(5): 737-738.
- [8]. Tipirdamaz, R., Guvenc, V. Seed fatty acids composition of *Ballotacristata*. *Chem Nat Compd.*, **2004**; 40(3): 291-292.
- [9]. Bader, A., Caponi, C., Cioni, P.L., Flamini, G., Morelli, I. Composition of the essential oil of *Ballota undulata*, *B. nigra* ssp. *foetida* and *B. saxatilis*. *Flavour Fragr J.*, **2003**; 18(6): 502-504.
- [10]. Fraternali, D., Ricci, D. Essential oil composition and antifungal activity of aerial parts of *Ballota nigra* ssp. *foetida* collected at flowering and fruiting times. *Nat Prod Commun.*, **2014**; 9(7): 1015-1018.
- [11]. Lorrain, E. 100 questions sur la phytothérapie. *Ed. La boétie, Italie.*, **2013**.
- [12]. Schauenberg, P., Paris, F. Guide to medicinal plants. Guildford., **1977**; Lutter worth Press. 349.
- [13]. Omar, A., Mohammed El haykle, M. Plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installation connaissance D'Alexandrie., **1993**, 13-134
- [14]. Larousse, médicale. 3^{ème} Ed Larousse, Boulogne, France., **2001**.
- [15]. Gazengel, J-M., Orecchioni, A-M. Le préparateur en pharmacie. 2^{ème} édition. Ed., **2013**.
- [16]. Funk & Wagnalls. Encyclopédie britannique Funk & Wagnalls., **2004**. URL <http://www.Funkandwagnalls.com>.

Références bibliographiques

- [17]. **AFNOR**. Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1–Echantillonnage et méthode d'analyse 471. Tome 2–Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 Tome 2–Volume 2. Monographie relative aux huiles essentielles, 663., **2000**.
- [18]. **Bordas, A., Bermejo, E.** Les huiles essentielles un nouveau regard sur les plus anciensremèdes et cosmétiques connus.,**2012**.
- [19]. **Joanna, H.** Le Guide des huiles essentielles et leurs applications thérapeutiques. *Le courrier du livre*.,**2012**.
- [20]. **Piochon, M.** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: Composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire de maitrise, Université du Québec à Chicoutimi Canada.,**2008**.
- [21]. **Sommerard, J.C., Mary, R.** Eaux florales, un nouvel art de vivre Broché., **2012**.
- [22]. **Bouhaddouda, N.** Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Menthapulegium*. thèse doctorat, univ. Annaba. **2016**, 24.
- [23]. **Miller, R., Conville, M. Mc. Woodrow, I.** Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrumgrayi* (Lamiaceae). *Phytochemistry*.,**2006**, 67(1):43-51.
- [24]. **Lahrech, K.** Extraction et analyses des huiles essentielles de *menthapulegium*. L. et de *saccocalyx satureioide*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques. **2010**.
- [25]. **Gherman, C.,Culea,M.,Cozar, O.** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. *Talanta*.,**2000**;53(1):253-262.
- [26]. **Benayache, F.** Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret. Université constantine 1 faculté des sciences exactes. Algérie.,**2013**.
- [27]. **H. Lahsissene, H., Kahouadji, A., Hseini, S.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de zaër (maroc occidental). *Lejeunia Rev. Bot.*, **2010**.
- [28]. **Bendif, H.** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajugaiva* (L.) Schreb., *Teucriumpolium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (Boiss. & Reut.). **2017**.
- [29]. **Coste, H.** flore descriptive et illustrée de la France , de la Corse et des contrées limitrophes. Librairie scientifique et technique Albert Blanchard, Paris., **1998**
- [30]. **Chantal Ollier.** La Ballote noire, Le moniteur des pharmacies.,**2013**.,(2966):64(http://www.acppav.org/pmb/opac_css/doc_num.php.explnum_id=182).

Références bibliographiques

- [31]. **Mongold, J.J., Camillieri, S., Serrano, J.J., Taillade, C., Masse, J. P., Susplugas, P.** 1991. Étude expérimentale de l'activité psychotrope de *Ballota nigra*. *Phytotherapy, journal de phytomédecine et phytopharmacie.*, 1991, (36/37): 5-12.
- [32]. **Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. WEBB (DA.)**-Flora europeae- Tome III, Univ. Press, Cambridge., 1993, 149-151.
- [33]. **Balansard, J.** -La Ballote fétide: étude chimique et phannacodynamique -Thèse de doctorat en pharmacie, Marseille., 1934.
- [34]. **Zinchenko, T.V.**-Preliminary chemical investigation of some plants of the family Labiatae - Inst. Farm. Zh0, 1959, 14 (6):47-51.
- [35]. **Joanny, M.F.** La Ballote fétide: étude botanique et pharmacologique - Thèse de doctorat en pharmacie, Clermont-Ferrand, 1982.
- [36]. **Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., Akbarzadeh, M.** The essential oil composition of *Ballota nigra*. *J. Chem Nat Compd.*, 2007, 43 (6):722-3.
- [37]. **Jaramillo, J., Rodriguez, V., Guzman, M., Zapata, M.** Technical manual: Good Agricultural Practices in the Production of tomato under protected conditions. FAO., 2007.
- [38]. **Shankara, J.** Recombinant glutathione –S- transterase a major allergen form *alternaria* clinical use allergy patients. *Molecular Immonology.*, 2005, 43 (12): 1927-1932.
- [39]. **Latigui, A.** Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse Magister. INA El-Harrach., 1984.
- [40]. **Naika, S., De Jeud, J.V.L., De jeffau, M., Hilmi, M., Vandam, B.** La culture de tomate, production, transformation et commercialisation. Ed. Wageningen, Pays-Bas., 2005, 105.
- [41]. **Dupont, F., Guignard, J.L.** Abrégés de pharmacie. Botanique – Famille des plantes., 2012.
- [42]. **Spichiger, R.E., Vincent, V., Figeat, S.M., Jeanmonod, D.** - Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3^{ème} édition. Lausanne: Presses polytechnique et universitaires romandes, Français., 2004, 413.
- [43]. **Abbayes, H., Chadefaud, M., Ferre, Y., Feldmann, J., Gausсен, H., Grasse ,P., Leredde, M., Ozenda, P., Prevot, A.** Botanique Anatomie _ Cycles evolutifs_ systématique. Masson et Cie.8: 52-65., 1963.
- [44]. **Renaud, V.** Tous les légumes courants, rares ou méconnus cultivables sous nos climats., 2003, 49:549-565.

Références bibliographiques

- [45]. **Indrea**. Lucarivapractice de legumi cultura partea, 2 tipo agronomica clycynapoca., **1989**,18.
- [46]. **Polese, J.M.** La culture de la tomate. Ed Artémis, **2007**, 95.
- [47]. **Roumane, M.** Essai de micropropagation *in vitro* de la tomate hybride F1, Mémoire, université de Mostaganem ITA, **1993**, 24-25.
- [48]. **Blanc, D.** "The influence of cultural practices on the quality of production in protected cultivation with special references to tomato production." *Acta Horticulturae.*, **1986**, 191: 85-98
- [49]. **Grasselly, D., Navez, B. Letard, M.** Tomate, pour un produit de qualité. Lavoisier., **2000**, 25-35.
- [50]. **De Broglie, L., A. Guérout, D.** Tomates d'hier et d'aujourd'hui. Lavoisier., **2005**,15-20.
- [51]. **Faostat.** Organisation de la nation unie pour l'alimentation et l'agriculture:<http://www.faostat.fao.org/>.**2012**.
- [52]. **Nechadi, S., Benddine, F., Moumen, A., Kheddami, M.** Etat des maladies virales de la tomate et stratégie de lutte en Algérie. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 32, pp.21–24. *New Zealand J. Agric. Res.*, **2002**, 8:450-478.
- [53]. **Moulay, S.** Contribution à l'étude du Fusariose de la tomate sur le littoral Algérois, 49. *Mémoire d'ingénieur agronome INA El harrach.* **1986**.
- [54]. **Ferrero, M.** Le système tritrophique tomate-tétranyques-tisserands-*Phytoseiulus Longines*. Etude de la variabilité des comportements alimentaires du prédateur et conséquences pour la lutte biologique. Thèse de doctorat. Université de Valencia. **2009**, 116.
- [55]. **Messiaen, C.M.** Les variétés résistantes. Méthodes de lutte contre les maladies et ennemies des plantes. *Edition INRA. Paris.*, **1981**, 374.
- [56]. **Snoussi, S.A.** Étude de base sur la Tomate en Algérie. Rapport de mission .FAO. Rome., **2010**, 53.
- [57]. **Cip.** Principales maladies: Insectes et Nématodes des solanacées. Centre International de la Pomme de terre. Ed. Apartado. Lima-Pérou., **2004**, 75-124.
- [58]. **Laumonier.** Les cultures légumières et maraichères, tome III, *Paris: Ed J.-B Bailliere.*,**1979**, 66-127.
- [59]. **Rotem, J.** The genus *Alternaria*, biology and pathogenecit y. APS press, St. Paul, Minnesota.,**1994**,326.
- [60]. **Blancard, D., Laterrot, H., Marchoux, G., Candresse, T.** Les maladies de la tomate. INRA. **2009**.

Références bibliographiques

- [61]. Sherf, A.F., Macnab, A.A. Vegetable Diseases and Their Control. 2^{ème} (ed). Wiley-ieee. 1986.
- [62]. Ryckman, D. L'alternariose: le point sur la question., 2006.
- [63]. Simmons, G.G. *Alternariathemes and variation. Mycotaxon.*, 1993, 48: 109-140.
- [64]. Chaerani, R. Voorrips, R.E. Tomato early blight (*Alternariasolani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance (review). *J Gen Plant Pathol.*, 2006, 72: 335-347.
- [65]. Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles., Fiche technique. Valorisées des cultures maraichères et Industrielles. La culture de tomate. Ed. I.T.C.M.I, Staoueli, Alger., 2010, 3-4.
- [66]. Simmons, E.G. *Alternaria. An Identification Manual: CBS Biodiversity Series No. 6.* CBS, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands., 2007, 775.
- [67]. Logrieco, A., Moretti, A., Solfrizzo, M. *Alternaria* toxins and plant diseases :an overview of origine, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal.*, 2009., 2 (2): 129-140.
- [68]. Criquet, S., Calvert, V. Imepumr CNRS 6116. Planche Tp mycologie. 2008.
- [69]. Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, PH., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. *Paris Milan Barcelone Mexico. Deuxième edition.* 1990, 2meEd. Masson. 426p.
- [70]. Barnett, H.L., Barry, B., Hunter. *Illustrated genera of imperfect fungi.*, 1972, 209.
- [71]. Laurence, D. Morphologie de la levure *Alternaria alternata.*, 2012.
- [72]. El-Mogy, M. M., Alsanis, B. W. Cassia oil for controlling plant and human pathogens on fresh strawberries. *Food Control* 28, 157–162., 2012, 157–162.
- [73]. Phillips, T.B0, Bonney, R., Shirk, J. What is our impact? Toward a unified framework for evaluating outcomes of citizen science participation. In: Dickinson, JL and Bonney, R (eds.), *Citizen science: Public participation in environmental research*, Ithaca, NY: Cornell University Press., 2012, 82–95.
- [74]. Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., Naghdibadi, H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste *Food Control*, 2007, 18: 1518-1523.
- [75]. Troncoso, X.G., Macknik, S.L., Martinez-Conde, S.N. Novel visual illusions related to Vasarely's 'nested squares' show that corner salience varies with corner angle *Perception*, 2005, 34: 409-420.
- [76]. Kumar, R., Kamra, D. N., Neeta Agarwal., Chaudhary, L. C. *In vitro* methano genesis and fermentation of feeds containing oil seed cakes with rumen liquor of buffalo. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2007, 20 (8): 1196-1200.

Références bibliographiques

- [77]. Tabet Zatl, A., Dib, M.A., Djabou, N., Ilias, F., Costa, J., Muselli, A. Antifungal activities of essential oils and hydrosol extracts of *Daucus carota subsp. sativus* for the control of fungal pathogens, in particular gray rot of strawberry during storage, *Journal of Essential Oil Research.*, **2017**, 29: 391-399.
- [78]. Akrou, A., Chemli, R., Chreif, I., Hammami, M. Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour and Fragrance Journal* ., **2001**,16: 337-339.
- [79]. Mariott, P.J., Shellie, R., Cornwell, C. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *J. Chromatogr. A.*, **2001**, 936, 1-22.
- [80]. Humbert, L., Lhermitte, M. Molécules indétectables par chromatographie en phase gazeuse. In *Annales de Toxicologie Analytique.*, **2005**. (17): 57-62. EDP Sciences.
- [81]. Barnett, H.L., and Hunter, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Edition, *The American Phytopathological Society*, St. Paul Minnesota., **2006**.
- [82]. Tabet Zatl, A., Dib ,M.A., Djabou ,N., Ilias, F.,Costa, J & Muselli, A. Antifungal activities of essential oils and hydrosol extracts of *Daucus carota subsp. sativus* for the control of fungal pathogens, in particular gray root of strawberry during storage, *Journal of Essential Oil Research.*, **2017**. 29, 391-399.
- [83]. Pandey, D.K., Tripathi, N.N., Tripathi, R.D. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptissu aveolens*. *J Plant Dis Prot.*, **1982**, 89: 344-349.
- [84]. Collignon, B. Hydrogeologies appliquees des aquifères karstiques des monts de Tlemcen. Ph.D dissertation. Avignon University.,**1986**.
- [85]. Vukovic, N., Sukdolak, S., Solujic, S., Niciforovic, N. Antimicrobial activity of the essential oil obtained from roots and chemical composition of the volatile constituents from the roots, stems, and leaves of *Ballota nigra* from Serbia. *J Med Food.*,**2009**; 12(2): 435- 441.
- [86]. Kaya, A., Kürkcüoğlu , M., Dinç, M., Doğu, S. Compositions of the essential oils of *Ballota nigra* subsp. *uncinata* and subsp. *Anatolica* from Turkey. *Indian J Pharm Educ.*, **2017**; 51(3): 185-189.
- [87]. Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S.,Radice, M., Bruni, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.*, **2005**; 91(4): 621-632.
- [88]. Pirbalouti, A.G., Hashemi, M., Ghahfarokhi, F.T. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Ind Crop Prod* 2013; 48: 43-48.

Références bibliographiques

- [89]. Sabulal, B., Dan, M., Kurup, A.J.R., Pradeep, N.S., Valsamma, R.K., George, V. Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: chemical characterization and antimicrobial activity. *Phytochemistry*, **2006**; 67(22): 2469-2473.
- [90]. Fernandes, E.S., Passos, G.F., Medeiros, R., da Cunha, F.M., Ferreira, J., Campos, M.M., Pianowski, L.F., Calixto, J.B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *Eur J Clin Pharmacol.*, **2007**; 569(3):228-236.
- [91]. Dahham, S.S., Tabana, Y.M., Iqbal, M.A., Ahamed, M.B., Ezzat, M.O., Majid, A.S., Majid, A.M. The Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Sesquiterpene β -Caryophyllene from the Essential Oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules*. **2015**; 20(7): 11808-11829.
- [92]. Lahlou, M. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr J.* **2004**; 19(2): 159-165.
- [93]. Shaalan, E.A.S, Canyon, D.V., Bowden, B., Younes, M.W.F, Abdel-Wahab, H., Mansour, A.H. Efficacy of botanical extracts from *Callitris glaucophylla*, against *Aedes aegypti* and *Culex annulirostris* mosquitoes. *Trop Biomed.*, **2006**; 23: 180-185.
- [94]. Yang, D., Michel, L., Pierre, Chaumont. J., Millet-Clerc, J. Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an *in vitro* experimental model of onychomycosis. *Mycopathologia.*, **1999**; 148: 79-82.
- [95]. D'auria, F.D., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., Mazzanti, G. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Med Mycol.*, **2005**; 43(5): 391-396.
- [96]. Campaniello, D., Corbo, M.R, Sinigaglia, M. Activité antifongique d'Eugénol contre les espèces de *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium*. *J Food Protect.*, **2010**; 73(6): 1124-1128.
- [97]. Foolad, M.R., Panthee, D.R. Marker-assisted selection in tomato breeding. *Crit Rev Plant Sci.*, **2012**; 31(2): 93-123.