



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
Scientifique



Université SAAD DAHLAB BLIDA
Département de Biotechnologie
Laboratoire de recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine: Sciences de la nature et de la vie
Option: Biotechnologie et valorisation des Plantes

Thème

**Essai de culture de la menthe pouliot (*Mentha pulegium L*)
Sous serre en vue d'optimisation du rendement et de la
qualité de ses biomolécules.**

Présenté par:

- BOULOUHA Fatima.
- MAHMOUD Kaouther.

Devant le jury composé de:

Mme Allal L.	Professeur	Présidente	USDB
Mme Moumene S.	MCA	Promotrice	USDB
Mme Faidi N.	MAA	Examinatrice	USDB

Promotion2018/2019

Remerciement

Avant tous, nous remercions LE BON DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail.

*Nous adressons nos sincères remerciements a notre promotrice **Mme MOUMENE S**, maître assistante à L'université de Saad Dahleb Blida, non seulement pour avoir accepté de diriger ce travail, mais aussi pour son enthousiasme communicatif, sa compétence, sa patience et surtout sa disponibilité.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à **Mme ALLAL L.** Maître assistant (A) à la faculté SNV de l'université Saad Dahlab de Blida et **Mme FAIDI N.** Maître assistante (A) à la faculté SNV de l'université Saad Dahlab de Blida, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous voudrions également remercier **M. Abderrahmane**
Pour sa gentillesse et son aide.*

En dernier lieu, nos remerciements sont aussi pour tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à élaborer cette modeste étude.

KAOUTHER ET FATIMA

Dédicace

*Ma première gratitude va au tout-puissant
Allah ﷻ le créateur du tout, pour me donner
la vie, le bénévolence et la force pour accomplir ce
travail.*

*A mes très chers parents **Khalifa** et **Fatíha**
pour leurs dévouement, leurs amours, leurs
sacrifices et leurs encouragements. que ce
travail soit, pour eux, un faible témoignage
de ma profonde affection et tendres.*

A mes frères et leurs enfants.

*A mon fiancé pour m'avoir encouragé et
Surtout supporter.*

*A mes chères amies, **Dounia**, **Sabrina**, **Fatima**
et **Djazia**.*

KAOUTHÉR

Dédicace

Avant tous

Je dédie ce travail à

*Ma chère **maman** Allah yarhamha*

*à Mon cher **père***

De m'avoir laissé libre dans mes choix

D'avoir prié pour moi Je les exprime

Ma profonde reconnaissance pour

Leur amour, leur confiance, leur soutien moral ainsi que pour

Leurs efforts, sacrifices et encouragements durant

Tout mon parcours

*Mes chères sœurs **Zahra, Amína, Radhía,***

*Et à mon frère **Imad** et sa femme **Nour el Houda***

*Et à mon cœur (mon mari) **Mohamed***

*à mes amis **Lília, Línda, Kawther.***

Liste des tableaux

Tableau 1 : Travaux du sol sous serre.....	32
Tableau 2 : Préparation et l'origine des traitements	34
Tableau 3 : caractère organoleptique de trois régions.....	49
Tableau 4 : caractère organoleptique de trois régions à été cultivées de différents traitements aux périodes feuillaison et floraison	49

Liste de figure

Figure 1 : Morphologie de la partie aérienne de <i>Mentha pulegium</i> L	6
Figure 2 : Algue verte <i>Ulva Lactuca</i>	12
Figure 3 : L'Herbier à <i>Posidonia Oceanica</i>	13
Figure 4 : L'Ortie dioïque (<i>Urtica dioica</i> L.).....	15
Figure 6 : Squelette de base des flavonoïdes	25
Figure 7 : Station de récolte montagne de Chréa à Blida	30
Figure 8 : Station de récolte Ballili à Bousmail	31
Figure 9 : Station de récolte montagne de Sidi Ali Bouneb à Tizi Ouzou	31
Figure 10 : Schéma du dispositif expérimental de l'essai de culture de la <i>Menthe pouliot</i>	33
Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols totaux	39
Figure 12 : Protocole de dosage des flavonoïdes	40
Figure 13 : Hauteur des plants cultivés de <i>Menthe pouliot</i> , selon les traitements et selon les stades végétatif (1) et floraison (2)	43
Figure 14 : Nombre des feuilles de <i>menthe p</i> .selon les traitements et selon les stades végétatifs(1), floraison(2).....	44
Figure 15 : Nombre des sommités florales de <i>Menthe pouliot</i> cultivés, selon les traitements et selon les stades végétatif (1) et floraison (2)	45
Figure 16 : Poids frais (a) et sec (b) des plants de <i>Menthe pouliot</i> cultivés et récoltés durant la phase feuillaison (1) et la floraison (2)	46
Figure 17 : Teneurs en chlorophylle des échantillons de plants spontanés de la <i>Menthe pouliot</i> frais selon les régions de récolte	47
Figure 18 : Teneurs en chlorophylle des échantillons de plants cultivés de la <i>Menthe pouliot</i> selon l'effet des traitements	48
Figure 19 : Rendements en huiles essentielles des échantillons de plants <i>Menthe pouliot</i>	50
Figure 20 : Rendements en polyphénols des échantillons de plants de la <i>Menthe pouliot</i> selon les régions l'état cultivé ou/et spontané, selon les traitements et selon le stade de récolte	53
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	54
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	54
Figure 23 : Teneurs en polyphénols des échantillons de plants de la <i>Menthe pouliot</i>	

selon les régions l'état cultivé ou/et spontané, selon les traitements et selon le stade de récolte	56
Figure 24: Teneurs en flavonoïdes des échantillons de plants de la <i>Menthe pouliot</i> selon les régions, l'état cultivé et/ou spontané, selon les traitements et selon le stade de récolte	57
Figure 25: Pourcentage d'activité antioxydante des huiles essentielles des échantillons de la <i>Menthe pouliot</i> spontanée, selon les régions et la vitamine C	59
Figure 26: Pourcentage d'activité antioxydante des huiles essentielles des échantillons de la <i>Menthe pouliot</i> cultivée selon les régions et la vitamine C	60
Figure 27: Activité antioxydante des huiles essentielles des échantillons spontanés de la <i>Menthe pouliot</i> et la vitamine C	61
Figure 28: Activité antioxydante des huiles essentielles des échantillons cultivés de la <i>Menthe pouliot</i> selon les régions, selon les traitements et la vitamine C	62

Liste des abréviations

HE : huile essentielle

% : pourcent

IC50 : concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres

µm : micromètre

G : gramme

ml : millilitre

V : volume

DO : Densité optique

DPPH : 1,1-diphényle-2-picrylhydrozyl

DH : Hydrodistillation

HP : hauteur de la plante

NF : Nombre des feuilles

NS : Nombre des sommités florales

PF : Poids frais

PS : Poids sec de la plante dans la phase feuillaison

C : Chréa

B : Bousmail

T : Tizi Ouzou

O : Ortie

A : Algue

P : Posidonie

t : témoin

Mp : *Menthe pouliot*

Abs : Absorbance

PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales

EAG : Equivalent d'acide Gallique

EQ : Equivalent de la Quercétine

AFNOR : Association Française de normalisation

UDES : Unité de Développement des Equipements Solaires

Résumé :

La présente étude sur les échantillons de plante de *Mentha pulegium* spontanées récoltés de trois localités géographiques d'Algérie : Chréa (Blida), Bousmail (Tipaza), et Montagnes de Sidi-Ali bouneb (Tizi-Ouzou) cultivés sous serre sous l'effet de traitement représenté par le témoin et extraits aqueux préparés à base d'Ortie, d'Algue marine *Ulva* Sp et une plante marine la posidonie.

La récolte des échantillons cultivés à été réalisés en deux phases ; stade végétatif et stade floraison.

Plusieurs parties ont été entamées De cette étude.

Les échantillons spontanés ont servi seulement l'étude histologique, alors que ceux cultivés ont été considérés pour l'évaluation des paramètres de croissances végétatives et de floraison sous l'effet du déférent traitement.

Alors que les échantillons spontanées et cultivés ; ont fait l'Object de l'évaluation des teneurs en chlorophylle, des rendements en huiles essentielles extraites par hydro distillation.

Aussi que l'étude de l'activité anti-oxydante par piégeage des radicaux libres.

L'extraction de l'huile essential donne un rendement plus important dans la région de Tizi-Ouzou il est de ; **0.57%** à l'état spontané, dans l'état cultivé le traitement d'ortie sur la plante selon la phase de floraison donne un rendement plus important dans les deux régions Chréa et Tizi-Ouzou il est de **0.44%**.

La teneur des poly phénols totaux des plantes spontanés de la région de chréa donne un rendement plus important elle est de : **590mgEAG/g** d'extrait.

La teneur des poly phénols totaux des plantes récolté de chréa à l'état cultivé traités par l'extraits d'Ortie donne un rendement de : 681mgEAG/g d'extrait et par l'extrait des posidonies elle de : **681mgEAG/g** selon la phase de floraison.

La teneur en flavonoïdes est plus important dans la région de chréa à l'état spontané elle de **166.9EQ/g** d'extrait.

La teneur en flavonoïdes des plantes cultivé de la région de chréa de la phase floraison est plus important traités par l'extrait d'ortie elle de **1619EQ/g** d'extrait et celles qui sont traité par les posidonies elle de **151EQ/g** d'extrait.

La concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres à l'état spontané de la région de Chréa est de **299ug/ml**, et dans l'état cultivé la concentration est plus importante dans la région de Bousmail de plantes traitées par extrait d'ortie, elle est de **439ug/ml**, et la région de Tizi-Ouzou selon le témoin elle est de **477ug/ml**.

Les mots clés : *Mentha pulegium*, Chréa, Bousmail, Tizi-Ouzou, chlorophylle, huiles essentielles, l'activité anti-oxydante, poly phénols totaux, flavonoïdes, extrait d'ortie , extrait d'algue, les posidonies.

Abstract

The present study on spontaneous *Mentha pulegium* plant samples harvested from three geographical locations in Algeria: Chr  a (Blida), Bousmail (Tipaza), and Sidi-Ali Bouneb (Tizi-Ouzou) grown under greenhouse conditions. treatment represented by the control and aqueous extracts prepared from nettle, seaweed *Ulva Sp* and a marine plant *posidonia*.

The harvest of the cultivated samples has been carried out in two phases; vegetative stage and flowering stage.

Several parts were started from this study.

Spontaneous samples served only histological study, whereas those cultured were considered for evaluation of vegetative growth and flowering parameters under the effect of deferential treatment.

While spontaneous and cultivated samples; have done the Object of the evaluation of chlorophyll contents, yields of essential oils extracted by hydro distillation.

As well as studying the antioxidant activity by trapping free radicals.

The extraction of the essential oil gives a greater yield in the region of Tizi-Ouzou it is of; 0.57% in the spontaneous state, in the cultivated state the treatment of nettle on the plant according to the phase of flowering gives a yield more important in the two regions Chr  a and Tizi-Ouzou it is of 0.44%.

The content of the total poly phenols of the spontaneous plants of the region of Chr  a gives a more important yield it is: 590mgEAG / g of extract.

The content of the total poly phenols of the plants harvested from cultivated chris treated with nettle extract gives a yield of: 681 mg EAG / g extract and the *posidonia* extract of: 681 mg EAG / g according to flowering phase.

The content of flavonoids is more important in the region of Chr  aity in the spontaneous state of 166.9EQ / g of extract.

The flavonoid content of the cultivated plants of the Chr  a region of the flowering phase is more important treated with nettle extract of 1619EQ / g extract and those that are treated by the *posidonies* it of 151EQ / g of extract.

The concentration of 50% inhibition of free radicals in the spontaneous state of the Chr  a region is 299ug / ml, and in the cultured state the concentration is higher in the

Bousmail region of plants treated with extract of nettle, it is 439ug / ml, and the area of Tizi-Ouzou according to the witness it is 477ug / ml.

Key words: *Mentha pulegium*, Chr a, bousmail, Tizi-Ouzou, chlorophyll, essential oils, anti-oxidant activity, poly phenols total, flavonoids, nettle extract, seaweed extract, posidonia.

ملخص

الدراسة الحالية على عينات نباتات نبات النعناع البري منتهيها التي تم حصادها من ثلاثة مواقع جغرافية في الجزائر: شريعة (البليدة) ، وبوسماعيل (تيازة) ، وسيدي علي بونيب (تيزي وزو) نمت تحت ظروف الدفيئة. المعاملة التي يمثلها التحكم والمستخلصات المائية المحضرة من نبات القراص والأعشاب البحرية *Ulva Sp* ونباتات نباتية بحرية.

تم حصاد العينات المزروعة على مرحلتين ؛ المرحلة الخضريّة ومرحلة الإزهار.

بدأت عدة أجزاء من هذه الدراسة.

خدم عينات عفوية فقط دراسة نسيجية ، في حين تم النظر في تلك مثقف لتقييم النمو الخضري والمعلّمت المزهرة تحت تأثير علاج مؤلم.

بينما العينات التلقائية والمزروعة ؛ قد فعلت الهدف من تقييم محتويات الكلوروفيل ، الغلة من الزيوت الأساسية المستخرجة عن طريق التقطير المائية.

وكذلك دراسة نشاط مضادات الأكسدة عن طريق محاصرة الجذور الحرة.

استخراج الزيت العطري يعطي غلة أكبر في منطقة تيزي وزو ؛ 0.57% في الحالة التلقائية ، في الحالة المزروعة ، تعطي معالجة نبات القراص في النبات وفقاً لمرحلة الإزهار غلة أكثر أهمية في المنطقتين شريعة وتيزي وزو ، حيث تبلغ 0.44%.

محتوى مجموع الفينولات بولي من النباتات العفوية في المنطقة المسيحية يعطي غلة أكثر أهمية هو: 590 mgEAG / جم من استخراج.

يعطي محتوى مجموع فينولات بولي الكلية للنباتات التي يتم حصادها من كريس المزروع المعالج بمستخلص القراص غلة قدرها: 681 ملغم / EAG جم ومستخلص 681: posidonia ملغم / EAG جم وفقاً المرحلة المزهرة.

محتوى الفلافونويد هو أكثر أهمية في منطقة المسيحية في حالة عفوية من 166.9 EQ / جم من استخراج.

إن محتوى الفلافونويد للنباتات المزروعة في المنطقة المسيحية في مرحلة الإزهار هو الأكثر أهمية في التعامل مع مستخلص نبات القراص من 1619 EQ / جم وتلك التي يتم علاجها من قبل البوزيدات من 151 EQ / جم من استخراج.

تركيز 50 ٪ تثبيط الجذور الحرة في الدولة العفوية للمنطقة المسيحية هو ug / 299 مل ، وفي الدولة المنقف ، يكون التركيز أعلى في منطقة bousmail للنباتات التي تعامل مع مستخلص من القراص ، هو ug / 439 مل ، ومنطقة تيزي وزو وفقا للشاهد هو ug / 477 مل.

الكلمات المفتاحية : *Mentha pulegium* ، شريعة ، بوسماعيل ، تيزي وزو ، الكلوروفيل ، الزيوت الأساسية ، نشاط مضاد للأكسدة ، مجموع فينولات بولي ، فلافونويدات ، خلاصة نبات القراص ، خلاصة الأعشاب البحرية ، بوسيدونيا.

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1.1. Généralité sur la plante étudiée	4
1.1.1. Origine et géographique	4
1.1.2. Position systématique	4
1.1.3 Nom vernaculaire	4
1.1.4. Description botanique	5
1.1.5. Importance	6
1.2 Culture de la <i>Menthe pouliot</i>	7
1.2.1. Exigence de la culture	7
1.2.1.1. Le photopériodisme	7
1.2.1.2. La température	7
1.2.1.3. Le sol	8
1.2.1.4. L'altitude	8
1.2.1.5. Fertilisation	8
1.2.3. Cycle de végétation de la <i>Menthe pouliot</i>	8
1.2.3.1 phases végétatives	8
1.2.3.2 phases reproductrice	8
1.3. Les traitements utilisés	9
1.3.1. Les Algues vertes (<i>ULVA SP</i>)	9
1.3.1.1. Classification	9
1.3.1.2. Descriptions morphologiques	9
1.3.1.3. Intérêt agronomique	10

1.3.2. Les Posidonies	10
1.3.2.1 Classification	11
1.3.2.2. Descriptions morphologiques	11
1.3.2.3. Intérêt agronomique	12
1.3.3. L’Ortie	12
1.3.3.1. Classification	12
1.3.3.2. Descriptions morphologiques	12
1.3.3.3. Intérêt agronomique	13
1.4. Les métabolites de la plante	14
1.4.1. Les métabolites primaires	14
1.4. 2.Les métabolites secondaires	14
1.4.2.1. Les huiles essentielles	14
1.4.2.1.1 Définitions	14
1.4.2.1.2. Localisations chimiques	15
1.4.2.1.3. Chemotype	15
1.4.2.1.4. Intérêts des huiles essentielles	15
1.4.2.1.5. Applications industrielles des huiles essentielles	16
1.4.2.1.6. Techniques d’extraction des huiles essentielles	16
1.4.2.1.6.1. Extraction par hydro distillation	16
1.4.2.1.6.2. Extraction par entrainement de la vapeur d’eau	17
1.4.2.2. Les poly phénols	17
1.4.2.2.1. Définitions	17
1.4.2.2.2. Localisations	17
1.4.2.2.3. Applications industrielles	17
1.4.2.3. Les flavonoïdes	18
1.4.2.3.1. Définition	18
1.4.2.3.2. Structures	18
1.4.2.3.3. Distributions des flavonoïdes dans les plantes	18
1.5. Activités biologiques des extraits de la plante	19
1.5.1. Activité antioxydante	19
1.5.1.1. Les antioxydants	19
1.5.1.5. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	19

Chapitre II : Matériels et méthodes

2.1. Aperçus de l'expérimentation	21
2.2. Matériel biologique	21
2.3. Méthode d'étude	22
2.3.1. Prélèvement des plantes	22
2.3.2. Essai de culture de la plante étudiée	23
2.3.2.1. Préparation de la serre expérimentale.....	23
2.3.2.2. Travaux du sol.....	23
2.3.2.3. Dispositif expérimental.....	23
2.3.2.4. Techniques culturaux.....	25
2.3.2.4.1. La plantation	25
2.3.2.4.2. Préparation des traitements	25
2.3.2.4.3. Mode d'irrigation	26
2.3.3. Suivi du l'essai de culture	26
2.3.4. Extraction de chlorophylle	27
2.3.5. Récolte, séchage et conservation	27
2.3.6. Étude des métabolites secondaires de la plante	28
2.3.6.1. Extraction des huiles essentielles	28
2.3.6.2. Extraction des polyphénols totaux	29
2.3.6.2.1. Dosage des polyphénols totaux	29
2.3.6.2.2. Dosage des flavonoïdes	30
2.3.7. Étude de l'activité antioxydante	31

Chapitre III : Résultats et discussion.

3.1. Evaluation de la croissance des plants cultivés de la <i>Menthe pouliot</i>	34
3.1.1. Hauteur des plants	34
3.1.2. Nombres des feuilles	35
3.1.3. Nombres de sommités florales	36
3.1.4. Poids des plants	37
3.2. Teneur en chlorophylle des plants de <i>Menthe pouliot</i>	38
3.3. L'extraction des huiles essentielles des plants de <i>Menthe pouliot</i> ...	41
3.3.1. Caractères organoleptiques	41
3.3.2. Rendement en huiles essentielles.....	42

3.4. Extraction des polyphénols totaux	44
3.4.1 Rendements en polyphénols totaux	44
3.4.2. Teneurs en polyphénols et flavonoïdes	46
3.4.2.1. Teneurs en polyphénols totaux	47
3.4.2.2. Teneurs en flavonoïdes	49
3.5. Evaluation l'activité antioxydante	51
3.5.1. Test de piégeage du radical DPPH	51
3.5.2. Détermination des IC50	53
Conclusion	57



Introduction

Introduction

L'histoire des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'homme utilise les plantes depuis des milliers d'années, pour traiter divers maux. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments **Lahrech ,(2010)**.

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotique et abiotique qu'elles peuvent subir. Ces métabolites secondaires possèdent diverses propriétés biologiques. Les huiles essentielles et les polyphénols font partie de ce groupe des métabolites **Quézel et Santa, (1962)**.

Au cours de ces dernières années, nous assistons à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale **Bruneton, (1994)**

Dans ce but, l'utilisation des plantes représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et/ou antioxydant. Ainsi les huiles essentielles et les extraits organiques, notamment les polyphénols, suscitent un intérêt croissant comme source potentielle de molécules naturelles bioactives pouvant être employées comme alternatives à certaines substances synthétiques **Bruneton, (1999)**

L'Algérie possède d'importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales en raison de la flore spontanée, qui est particulièrement riche en plantes utiles telles que la menthe pouliot... etc. ceci est lié principalement à la diversité de son climat et à la nature de ses sols **Benbouali , (2006)**.

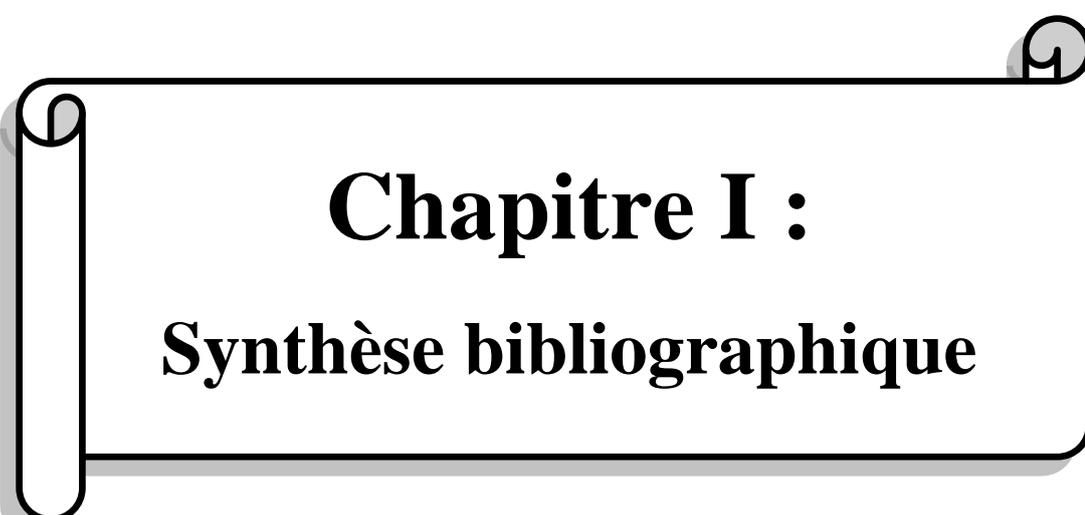
Le choix de ces menthes a été guidé d'une part sur la base de leur large utilisation par les marocains dans leur vie quotidienne et dans la médecine traditionnelle, et d'autre part sur leur richesse en principes actifs très recherchés dans le domaine pharmaceutique, cosmétique, agricole et industriel. Cette richesse en fait d'elles des plantes aromatiques et médicinales par excellence. De même, les HE des menthes en termes d'exploitation est l'une des plus importantes parmi les produits agricoles car plusieurs industries sont dépendantes des produits extraits de la menthe pouliot **El Fadl et al, (2010)**.

Les plantes de la *Menthe pouliot* sont très répandues en Afrique du nord, Algérie, Tunisie et Maroc (D.S.A ;2004).

Les biofertilisants assurent la durabilité environnementale et la croissance des plantes après une utilisation de long terme. Sun et al., (2014).

Selon Delvaille, (2013), l' extrait végétal est en fait un éliciteur et un phytostimulant, il agit comme un répulsif pour les nuisibles et sert à prévenir les maladies. Un éliciteur est une molécule produite par un agent phytopathogène qui va déclencher des mécanismes de défense chez les plantes. C'est un stimulateur des défenses naturelles de la plantes.

Dans ce contexte, notre travail consiste à l'essai sous serre de trois échantillons de la *Menthe pouliot* (*Mentha pulegium*) récoltées des montagnes de Chréa et Tizi Ouzou et de la plaine de littoral de région de Bousmail, en vue l'optimisation de la biomasse de la plante étudiée ainsi que du rendement et l'amélioration de la qualité de ses biomolécules (les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes).



Chapitre I :
Synthèse bibliographique

1. synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur la plante étudiée.

La *Mentha pelugium* est une plante odorante qui appartient à la famille des lamiacées. Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense, fraîche et pénétrante. Le nom de «pouliot» vient du latin pulegium, qui dérive de pulex, la puce car la plante à la propriété d'éloigner les puces **Sivropoulou et al, (1995)**.

1.1.1. Répartition géographique

La *Mentha pelugium* est très répandue dans le bassin méditerranéen ainsi qu'en Europe du sud au Moyen-Orient et dans la péninsule arabique. Elle est très présente au Maroc où elle se rencontre partout dans les endroits humides. Comme elle se trouve également dans les autres pays du Maghreb comme L'Algérie et la Tunisie. Elle est assez commune en Algérie surtout dans le tell. les lieux inondés en hiver **Ait youssef, (2006)**.

1.1.2 Systématique

Selon **Guignard et Dupont (2004)**, la position systématique de l'espèce *Mentha pulegium* est présentée comme suit :

Règne	Végétal
Embranchement	des Phanérogames
Classe	des Eudicots
Ordre	des Lamiales
Famille	des Lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>pulegium</i>

1.1.3. Le nom vernaculaire

Selon **Delille (2007)** et **Ait Youssef(2006)** cette plante a pour :

Nom scientifique : *Mentha pelugium L*

Nom en commun anglais : pennyroyal

Nom en commun français : herbe aux puces, menthe pouliot, herbe de Saint-Laurent, menthe des prés

Nom en arabe : Flio

1.1.4. Description botanique

La *Mentha pelugium* est une petite plante vivace très odorante qui peut atteindre 40 cm de haut **colin, (2007)**, elle est commune dans les régions humides **Delille, (2007)**.

Les tiges : sont rampantes ou dressées pouvant atteindre 30 cm de hauteur. Elles sont rameuses, grêles et de section quadrangulaire, pubescentes et de couleur rougeâtre légèrement velues **Ait Youssef, (2006)**.

Les feuilles : sont opposées, à pétioles courts, simples et de forme ovale. Elles sont longues de 15 mm à 25 mm, plus ou moins dentées sur les bords **Beloued, (2001)**

L'inflorescence est formée de nombreux verticillastres. Ses verticilles sont axillaires denses, feuillés et distants les uns des autres et étagés le long de la tige. Ils diminuent de grosseur au fur et à mesure qu'ils approchent du sommet de la tige **Ait Youssef, (2006)**.

Les fleurs sont perticulées, purpurines, roses, ou blanches réunies par verticilles qui approchent du sommet et forment par leur ensemble des épis droits **Delille, (2007)**.

Le calice est velu, tubuleux à gorge formée par des poils connivent, subilabiés à 5 dents intégrales, ciliées, les deux inférieures plus étroites **Beloued, (2001)**.

La corolle est à pétales soudées. Elle est en forme d'entonnoir, de couleur violet pâle **Ait youssef, (2006)**. **Les étamines** sont au nombre de 4, saillantes et de taille identique. **L'ovaire** est supère, à 2 feuillets et divisé en 4 lobes **Teuscher et al, (2005)**.

Les fruits est un tétrakéne. Chaque akène renferme une graine d'environ 0,5mm de long et elle est d'un brun brillant. **Teuscher et al, (2005)**.

La floraison a lieu en été. Son apparition s'échelonne entre le mois de juillet jusqu'au mois Aout **Beloued, (2001)**.



Figure 1 : morphologie de la partie aérienne de *Mentha pulegium L.*
(www.wikimedia.org)

1.1.5. Importance de la *Mentha pelugium L*

Le caractère aromatique de sa saveur est à l'origine des propriétés apéritives et digestives. Son huile essentielle est à pouvoir insecticide **Teuscher et al, (2005)**, à des propriétés antimicrobiennes sur les bactéries et les champignons **Mahboubi et haggi, (2008)**.

Cette plante connaît plusieurs usages :

Usage médicinale

Elle est utilisée pour éliminer les vers intestinaux. Elle fait baisser la fièvre, et favorise la sécrétion des muqueuses. **Iserin, (1997)**

Usage interne

Elle peut être utilisée sous forme d'infusion, en cas de refroidissement, et de douleur intestinale **Collin, (2007)** ou en décocté dans les cas de gastralgie et ou des diarrhées **Ait Youssef, (2006)**

Par ailleurs, les feuilles fraîches appliquées en cataplasme arrêtent la sécrétion lactée. **Collin, (2007)**. Elle est aussi utilisée par aérosol en inhalation dans les cas de rhume, maux de gorge, de toux, et de bronchites. Elle est considérée comme la plante par excellence des maladies de l'hiver **Teuscher et al, (2005)**

Usage culinaire

Au même titre que la Menthe verte, la *Mentha pelugium* est surtout employée pour agréments les farces et les pâtes relevées **Teuscher et al, (2005)** aussi utilisée en complément ou en remplacement de la menthe douce, dans la préparation du thé. **Collin, (2007)**

Usage industriel

La *Mentha pelugium* est importante en utilisation industrielle comme aromatisant aussi bien pour les produits médicamenteux et de l'hygiène. L'industrie agro-alimentaire est le principal consommateur: liquoristerie (liqueur, sodas, sirops à diluer), confiserie (bonbon, chocolat), et l'industrie de tabacs et la parfumerie **Hammami et Abdesselem, (2005)**.

1.2.1. Exigences de la culture

La culture de la *Mentha pelugium* dépend de plusieurs facteurs :

1.2.1.1. Le photopériodisme

Le photopériodisme modifie la morphologie et la production de la matière sèche. Les durées d'éclairement croissantes provoquent un allongement des feuilles au détriment de leurs largeurs (**GUY ; 1971 in Hnatyszyn et Guais, 1989**). La *Mentha pelugium* exige une journée longue de l'ordre de 16 heures pour fleurir. La croissance végétative de la menthe est diminuée en période froide.

(Photopériode inférieure à 10 heures et températures inférieures à 10° à 25°C, respectivement pour le minimum et pour la maximum). (**Mader , 2001**).

1.2.1.2. La température

La sensibilité de la menthe à la température est accentuée par le caractère vivace de la plante .cette plante entre en repos végétatif pendant l'hiver, mais il est possible qu'elle a besoin de froid. La température maximale de l'ordre de 30°C donné une croissance optimale (**Mader, 2001**).

1.2.1.3. Le sol

Le système racinaire de la menthe est peu profond. Il exige un sol peu compact, perméable et légèrement argileux .Sa culture réussit particulièrement bien dans le sol bien drainé à pH allant de 5,5 à 8 (**Patrick, 1985**).

1.2.1.4. L'altitude

La *Menthe pouliot* peut être cultivée en climat montagnard, tempéré, humide jusqu'à 900-1000m d'altitude et en climat montagnard méditerranéen, à condition d'arroser pendant la sécheresse d'été (**Guilly, 1989**).

1.2.1.5. La Fertilisation

Le sol doit être riche en matière organique, mais et on doit faire des apports en engrais pour favoriser un bon redressement , et obtenir un bon rendement d'une culture de la *Menthe pouliot*, il faut y avoir l'importance des trois grandes éléments nutritifs : l'azote, le phosphore et le potassium (**Mader, 2001**).

1.2.3. Cycle de végétation de la *Mentha pelugium L*

1.2.3.1. Multiplication végétative

Le cycle commence par la germination, les feuilles trifoliées apparaissent ensuite, une nouvelle tige se développe et le premier nœud commencent à se former. (**Melvyn, 1980**)

1.2.3.2. Phase reproductrice

La production de menthe est relativement facile, il suffit de diviser les pieds, ceux –ci produisant des stolons est une tige rampante, dont l'extrémité produit un bourgeon s'enracinant, qui donne à son tour naissance à un autre pied de menthe.

1.3. Généralités sur les traitements utilisés

1.3.1. Les algues vertes

Les algues vertes ou ulvophytes sont un ensemble d'algues dont les pigments essentiels à la photosynthèse sont les chlorophylles a et b. Les plastes de ces algues sont colorés en vert par ces pigments, auxquels des caroténoïdes sont quelquefois associés. Elles regroupent des organismes variés n'appartenant pas à un même groupe évolutif. Elles sont présentes en majorité dans les eaux douces et dans les mers et les océans cependant quelques espèces peuvent être retrouvées sur terre. Les algues vertes sont très riches en calcium et en protéines, possèdent un pouvoir nutritionnel élevé en plus de la présence de vitamines et d'antioxydants. Elles possèdent aussi un pouvoir gélifiant important. (**Garon-Lardiere S. 2004; Laplace C. 2015**)

Ulva Lactuca

Le genre *Ulva Lactuca*, appelée aussi laitue de mer, a été sélectionné «Algue de l'Année 2015» selon l'Institut de chimie inorganique et analytique en Allemagne. Ce sont des algues vertes trouvées dans les océans du monde entier. Elles peuvent se présenter sous forme de rubans ou tubulaires, et peuvent atteindre une taille de 20 à 30 cm. **Wichard T.(2015)**

1.3.1.1. Classification

Le nom complet est *Ulva Lactuca .Agardh A, (1823)*. C'est une algue verte faisant partie avec d'autres espèces du genre *Ulva* , lui-même appartenant à la famille des *Ulvaceae*, l'ordre des *Ulvales*, la classe des *Ulvophyceae* incluse dans la division *Chlorophyta*. **Botany (2001)**

1.3.1.2. Description

Elle se distingue par un thalle très mince (moins d'un dixième de millimètre d'épaisseur), en forme de feuille, de couleur vert émeraude et translucide qui peut virer à la transparence en cas de stress. Ce thalle, présentant un stipe très court, est rigide à la base et plus délicat à proximité des bords de croissance. Ce stipe, appelé aussi crampon par lequel l'algue se fixe

à son support, est constitué par de petits rhizoïdes rigides. (Botany 2001; mediterraneo 2015; SmithsonianTropical research institute 2009)

Ulva Rigida peut se retrouver sous forme de touffes ou le plus souvent de lames solitaires. Ces dernières peuvent être plates ou ébouriffées avec de petites dents microscopiques sur les bords. Ce sont ces bords crénelés qui la distingue de l'espèce *Ulva lactuca*. Botany(2001)

Elles peuvent également être ou non perforées. Leur taille est variable, en moyenne de 30 à 40 cm, et peut même atteindre 1 mètre si elles se trouvent dans des zones eutrophisées.



Figure 2 : Algue verte *Ulva Lactuca* (www.wikimedia.org)

1.3.1.3. Intérêt des Algues en agriculture

En agriculture, les macroalgues brunes et vertes sont utilisées en tant qu'engrais naturel organique afin d'augmenter la croissance des plantes, améliorer le rendement, et augmenter la résistance au stress grâce à leur propriétés antioxydantes. Elles sont également employées pour conditionner le sol en lui assurant une meilleure porosité et de ce fait une meilleure rétention d'eau. Elles permettent, en outre, une meilleure conservation des semences grâce aux fortes concentrations en agar qui a la propriété de les enrober et de les protéger des bactéries et des champignons.(Chouikhi A. 2013; Floc'h J. Y. 2010; Perez R. 1997)

1.3.2. L'Herbier à *Posidonia Oceanica*.

Les herbiers actuels sont installés depuis 8000 à 9000 ans, durant l'Holocène, lors de la dernière remontée d'eau en Méditerranée **Boudouresque et al, (1981)**. Ils recouvrent actuellement une surface estimée entre 25000 et 50000 km² **Pasqualini et al, (1998)**.

Les posidonies ont été largement décrites dans la littérature (**Den Hartog, 1970; Boudouresque & Meinesz, 1982; Cinelli et al., 1995...**). Elles ont la même structure cellulaire et la même morphologie que les autres phanérogames marines.

1.3.2.1. Classification

Posidonia oceanica (Linnaeus) Delile est une phanérogame marine, endémique de la Méditerranée. Elle appartient à l'ordre des Najadales et à la famille des Posidoniacées. Le genre *Posidonia* existait déjà au Crétacé. **Colombo et al. (1983)**

1.3.2.2. Description morphologique

Des racines adventives, une tige enfouie dans le sédiment (ou rhizome) et des feuilles rubanées (en moyenne 7 feuilles) à insertion alterne distique regroupée en un faisceau. Les rhizomes se développent horizontalement (compétition pour l'espace: rhizome plagiotrope) ou verticalement (compétition pour l'accès à la lumière: rhizome orthotrope). **Caye, 1980**. Ces deux types de croissance des rhizomes amènent à la formation de la matte, une formation typique de couches de rhizomes, de racines et de sédiment fortement compactés. La matte peut atteindre plusieurs mètres, son élévation plus ou moins rapide au cours du temps (1 mètre par siècle) peut amener l'herbier à fleur d'eau, constituant ainsi un récif-frangeant puis un récif-barrière. **Caye, (1980)**.



Figure 3 : L'Herbier à *Posidonia Oceanica* (www.wikimedia.org)

1.3.2.3. Intérêt des posidonies en agriculture

Utilisation des posidonies dans agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes, améliore la croissance et augmente le rendement des plantes. **Calvet, (2005) ; Bathily, (2002)**

1.3.3. L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.)

Considérée comme une «mauvaise herbe », l'Ortie est en réalité une plante riche en vitamines et minéraux et pourvue de nombreuses vertus médicinales. Elle est également employée dans d'autres domaines comme l'agriculture, l'art culinaire ou encore le textile. **Dupont (2004)**

1.3.3.1. Classification

L'Ortie dioïque, genre *Urtica*, espèce *dioica*, appartient à la famille des Urticacées (*Urticaceae*, ordre des Rosales, sous-classe des *Rosidaeae* dialycarpellées, classe des *Rosidaeae*). **Dupont (2004)**,

1.3.3.2. Description morphologique

Les Urticacées sont des plantes herbacées élancées à feuilles stipulées opposées par deux et à petites fleurs unisexuées. Les fleurs mâles possèdent quatre sépales et quatre étamines, les fleurs femelles sont formées de quatre sépales et d'un carpelle, et donnent naissance à un fruit sec: un akène. **Sivropoulou et al, (1995).**



Figure 4 : L'Ortie dioïque *Urtica dioica* L. (www.wikimedia.org)

1.3.3.3. Intérêt de l'Ortie en agriculture

Selon **Sivropoulou et al, (1995)**, l'Ortie utilisée comme :

- **Un Insecticide, insectifuge et fongicide naturel :**
 - Il lutte contre les pucerons, les acariens, les champignons, les lichens, le mildiou...

- **Un éliciteur naturel :**
 - Il permet de renforcer les défenses naturelles de la plante en stimulant la production de **substances antibiotiques**, telles que les phytoalexines

Un activateur de croissance

1.4. Métabolites des plantes médicinales

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits " secondaires" dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Jean Jacques M. et al, 2005**).

1.4.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal. Ils se retrouvent dans toutes les espèces végétales (**Buchanan, 2008**).

La chlorophylle, de part sa couleur verte, est le principal pigment contenu dans les plantes. Elle se trouve dans les chloroplastes des cellules végétales. Elle est indispensable pour l'activité photosynthétique de la plante qui consiste à produire de l'énergie chimique (ATP) à partir de l'énergie solaire. En effet la lumière est captée par la chlorophylle.

On distingue plusieurs formes de chlorophylle : A, B, C, D, E et F qui n'ont pas la même structure chimique. Les plus courantes sont les chlorophylles A et B que l'on retrouve chez les plantes supérieures et chez les algues (**Arnon, 1849**).

1.4.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisés et accumulés en petites quantités par les plantes. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: les poly phénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Lutge et al, 2002, Abderrazak et Joël, 2007**)

1.4.2.1. Huiles essentielles

1.4.2.1.1. Définition

Les huiles essentielles sont des extraits volatils et odorants qu'on obtient par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques (fleur, feuille, bois, racine, écorce ou fruit). Elles se forment chez un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (Möller, 2008).

1.4.2.1.2. Localisation dans la plante

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante. Elles se forment dans le cytoplasme des cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré puis, elles s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont à la fin stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante, à savoir, des cellules à huiles essentielles. (Garneau, 2005)

1.4.2.1.3. Les Chémotypes

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera. Ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes. (Laouer, 2004).

1.4.2.1.4. Intérêts des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. (Möller, 2008). Les huiles essentielles sont également utilisées pour massage, inhalation ou ingestion. En plus de leurs utilisations thérapeutiques, les huiles essentielles sont appliquées en cosmétiques (aromatisation des savons, parfumerie... etc.). En industrie alimentaire, elles sont utilisées pour avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure, et pour

réduire la prolifération des micro-organismes. Les huiles essentielles sont utilisées dans les aliments comme conservateurs antioxydants et antimicrobien (Möller, 2008).

1.4.2.1.5. Applications industrielles des huiles essentielles

Huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs. Elles sont largement utilisées en traitement des infections d'origine bactérienne, fongique ou virale. Elles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques, ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies et les infections, notamment les infections respiratoires (Buchbauer et Jirovetz, 1994).

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée des produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure, et à réduire la prolifération des microorganismes (Hammer et al, 1999 ; Lis-Balchin et al, 1998).

Les HE et leurs composant sont utilisé comme arôme alimentaire, le pouvoir antioxydant de ces huile permet de conserver les aliments contres les bactéries qui attaque ces derniers (Burt, 2004 ; Sipailiene et al, 2006). Les huiles essentielles ont aussi des propriétés fongicides ceux qui aident la protection des denrées alimentaires contre les moisissures pendant leurs stockages (Prakash et al, 2012).

1.4.2.1.6. Extraction des huiles essentielles

Il existe différentes méthodes de l'extraction d'huiles essentielles. Les principales sont décrètes ci-dessus :

1.4.2.1.6.1. Extraction par hydro distillation

La plante est mise en contact avec de l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HE se séparent de l'eau par différence de densité, les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées et, en raison de sa plus faible densité, l'huile essentielle se place au dessus de la phase aqueuse. La phase aqueuse contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation ou hydrolat. Bruneton, (1999).

1.4.2.1.6.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le but de cette méthode est d'entraîner avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentín de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle surnageant. **Bruneton, (1999)**.

1.4.2.2. Les Poly phénols

1.4.2.2.1. Définition

Le terme phénolique correspond aux substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Ce nom provient du composé parent le plus simple : le phénol. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal. On compte, à l'heure actuelle, pas loin de 8000 composés (**Bravo, 1998 ; Mompon et al, 1998**).

1.4.2.2.2. Localisation dans la plante

Les polyphénols sont majoritairement présents dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles et les écorces de bois de tous les végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

1.4.2.2.3. Applications industrielles

Les diverses propriétés des polyphénols ont été exploitées, et ont trouvé des applications dans de nombreux domaines: l'agroalimentaire, l'industrie pharmaceutique et la cosmétique. Grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins. Il est désormais possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies pour de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques (**Daglia, 2012**).

1.4.2.3. Les flavonoïdes

1.4.2.3.1. Définition

Les flavonoïdes sont des molécules polysubstituées ubiquitaires chez les plantes, formés à partir des acides aminés aromatiques tels que la phénylalanine, la tyrosine et la malonate. La structure de base des flavonoïdes est le noyau flavane, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles : C6-C3-C6. Respectivement nommés cycle A, cycle B et cycle C. (figure6) (Stalikas, 2007)

1.4.2.3.2. Structure

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base. Ils possèdent un squelette carboné composés de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) reliés entre eux par une chaîne en C3. en formant ainsi l'hétérocycle (Erdman ,2007)

Généralement leur structure est représentée selon le système C6-C3- C6 (Narayana K, 2001), en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana K, 2001).

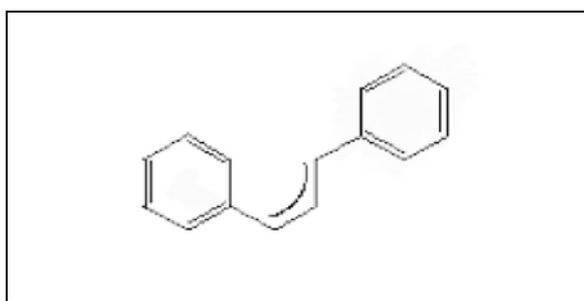


Figure 6: Squelette de base des flavonoïdes. (Bruneton, 1999)

1.4.2.3.3. Distribution des flavonoïdes dans les plantes

Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et du mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines. Les génines seules sont présentes dans les exsudats farineux de certaines plantes, dans les cuticules des

feuilles, écorces et bourgeons ou sous forme de cristaux dans les cellules de certaines Cactaceae et plantes des régions arides (Lhuillier, A, 2007).

1.5. Activités biologiques des extraits de la plante

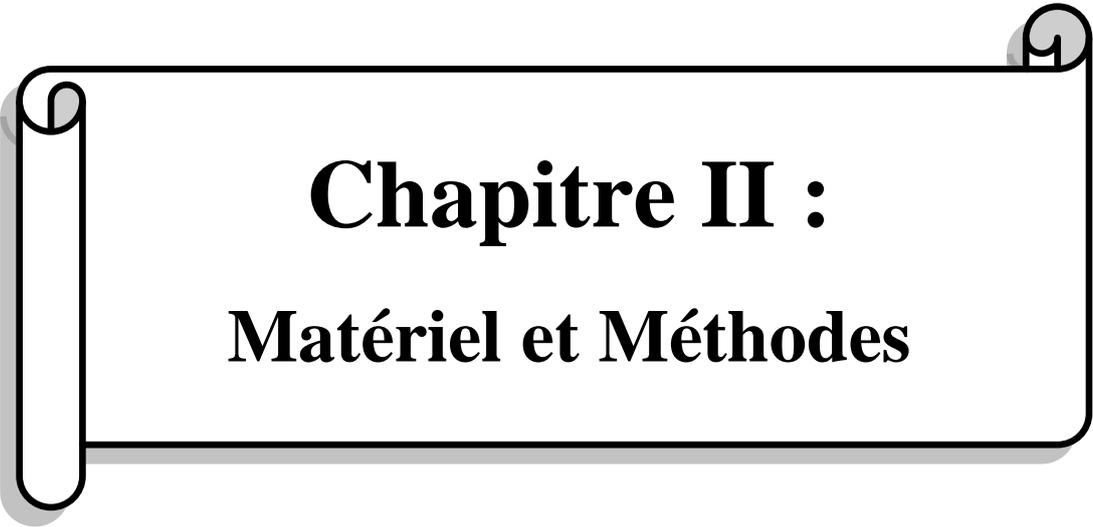
1.5.1. Activité anti-oxydante

1.5.1.1. Les antioxydants

Un antioxydant est toute substance, présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat (Helliwell et Gutteridge, 1999). Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine. Quelques antioxydants sont synthétisés par le corps humain d'autres telles les vitamines et poly phénols, doivent être apportés par l'alimentation (Pincemail et Defraigne, 2004).

1.5.1.2. Évaluation du pouvoir antioxydant

Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant sont nombreuses. Elles peuvent être qualitatives ou quantitatives. La méthode qualitative consiste à repérer l'activité antioxydante des composés relativement peu nombreux. Elle est basée sur une technique de coloration ou décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydant (Li *et al*, 1999).



Chapitre II :
Matériel et Méthodes

2.1. Aperçus de l'expérimentation

Notre étude expérimentale s'est étalée sur une période de six mois, de mois de Décembre 2018 jusqu'à mois de Mai 2019.

Elle repose essentiellement sur un essai de culture sous serre de la *Menthe pouliot* prélevée de trois régions différentes menée sous l'effet des traitements naturels en vue l'optimisation de rendement et la qualité de ses biomolécules.

Elle s'est déroulée dans quatre lieux différents, la serre pédagogique de département de Biotechnologie , la serre en plastique et au niveau de laboratoire de recherche des Plantes Médicinales et Aromatique au niveau de département des Biotechnologies à la faculté de sciences de la nature et de la vie de l'université de Blida 1, et dans UDES.

2.2. Matériel biologique

La plante étudiée concerne la Menthe pouliot les échantillons ont été prélevées de trois régions différentes : la montagne de Chréa à Blida, parcelle de littoral, Ballili à Bouismail, de la montagne de Sidi Ali Bounab à Tizi-Ouzou.



Figure 7: station de récolte montagne de Chréa à Blida.



Figure 8 : station de récolte Ballili à Bousmail



Figure 9: station de récolte Sidi Ali Bounab à Tizi-Ouzou

2.3. Méthode d'étude

2.3.1. Prélèvement des plantes

La récolte des échantillons de la *Mentha pulegium* a été réalisée à partir de différentes régions pendant la période végétative à 10 heures de matin où la température a été modérée

2.3.2. Essai de culture de la plante étudiée

2.3.2.1. Préparation de la serre expérimentale

En premier lieu, nous avons nettoyé la serre en éliminant les mauvaises herbes et les résidus, après nous avons couvert la serre par un film en plastique et placé une porte en fer puis nous avons commencé le travail de sol

La serre a été divisée en quatre blocs, ces derniers ont été de 240X240cm, ils présentent les plants de trois régions. Chaque plante a une profondeur de 10cm ainsi on a prélevé les plantes avec leur sol dans des sachets et on les a mises dans leur bloc qui est irrigué avant la plantation (**annexe 1**).

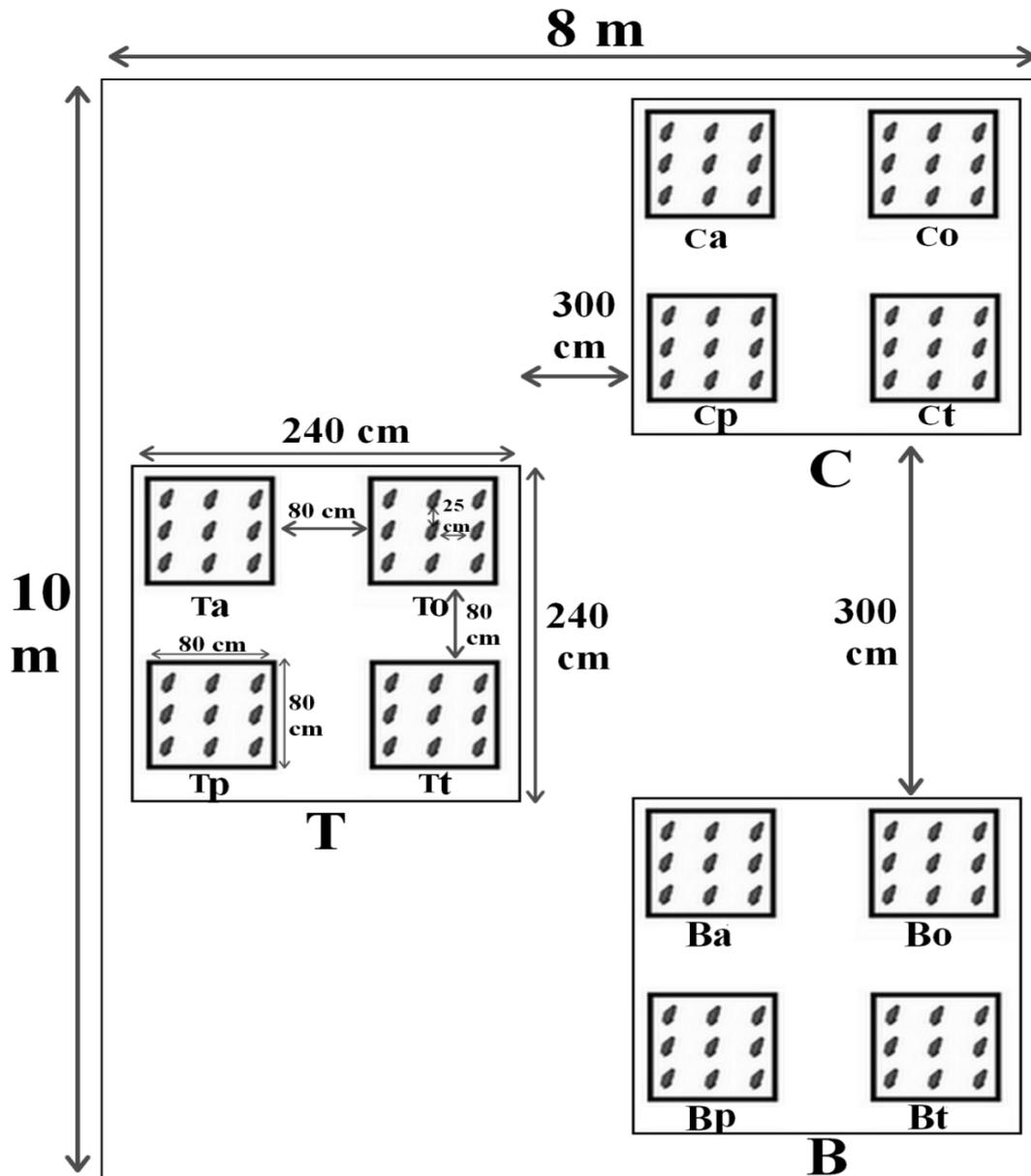
2.3.2.2. Travaux du sol : Les travaux effectués pour le planning suivant :

Tableau 1 : Travaux du sol sous serre.

Travail effectué	Matériel utilisé
Labour profond de 20-30 cm	Fourchette agricole
Préparation de parcelle	Décamètre
Nivellement de parcelle	Râteau
Traçage des blocs aléatoires	La chaux
Pri-irrigation	Manuel
Plantation	Manuel

2.3.2.3. Dispositifs expérimentaux

Notre culture a été réalisée dans la serre sur une superficie de 400m², la serre a été divisée en trois blocs, chaque bloc a été partagé en quatre petits blocs (80cmX80cm) chacun de ces derniers comporte la culture de 9 plants irrigués par les différents traitements. La distance entre les 9 plants était de 25 cm



C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin

Figure 10 : schéma du dispositif expérimental de l'essai de culture de la menthe pouliot

2.3.2.4. Techniques culturaux

2.3.2.4.1. La plantation

La multiplication a été réalisée par bouturage des tiges à partir des échantillonnages des plants de la *Menthe pouliot* récoltés le :15/12/2018 de trois régions d'Algérie : montagne de Chréa à wilaya de Blida ; parcelle de Ballili, région de littoral à Bousmail, montagne de sidi Ali Bounab à Tizi-Ouzou au niveau de la serre pédagogique.

Les tiges de 10cm d'hauteur dépourvues de leurs feuilles ont été mises dans des pots remplis d'eau. (**Annexe 2**)

Après 2 semaines, l'enracinement a été remarquable et les plantules ont été remarquables et les plantules ont été transplantés, donc on a déplacé ces tiges dans des sachets renfermant un substrat préparé à partir de sol et de tourbe à raison de 2/3 de sol avec 1/3 de tourbe. (**Annexe 3**)

La culture irriguée par l'eau de robinet au temps apporté a duré de 2 semaines, après avoir croissance des tiges nous avons les planter directement sur le sol sous serre. (**Annexe 4**)

2.3.2.4.2. Préparation des traitements

On a utilisé trois types de traitements basés à des produits naturels, ils ont été préparés par décoction de 200g de plante sèche dans 1l d'eau, le traitement a été appliqué par arrosage pour 2 stades (végétatif et feuillaison) deux fois par semaine, quantité de 12000 ml de chaque traitement. (**Tableau 4**) (**Annexe 5**).

Tableau 2: Préparation et l'origine des traitements

L'extrait	Nom scientifique	Milieu de vie	Lieu de récolte	Type de traitement	quantité
Algue	<i>Ulva Lactuca</i>	Prairie sous marines	Plage Boumaaza de Bousmail wilaya de Tipaza	Extrait de plante	200g d'extrait dans un 1L d'eau
Ortie	<i>Urtica dioica L</i>	Dans des parcelles	Montagne d'Affroun wilaya de Blida	Extrait de plante	200g d'extrait dans un 1L d'eau
Posidonie	<i>Posidonica Oceanica L</i>	Praires sous marines	La plage de benouda de Wilaya de Tipaza	Extrait de plante	200g d'extrait dans un 1L d'eau

2.3.2.4.3. Mode d'irrigation

Les plantes ont été irriguées par l'arrosage et la pulvérisation par des extraits aqueux deux fois par semaine, compléter à la demande par l'arrosage d'eau de robinet une fois par semaine, la pulvérisation a été réalisé sur la partie aérienne de la plante.

2.3.3. Suivi de l'essai de culture

Au cours de notre expérimentation, une série des mesures et d'observation ont été faites dès le début de la culture. (**Annexe 6**)

Le suivi de la culture a porté sur deux stades phénologiques :

La croissance végétative et stade floraison à cet effet plusieurs paramètres ont été relevés et évalués on distingue :

La hauteur des plantes a été mesurée à l'aide d'une règle, le comptage des feuilles et des sommités floraux a été également réalisés pour chaque plante traitée.

2.3.4. Extraction de chlorophylle

L'extraction consiste à mesurer 0.5 gramme de feuilles fraîches coupées finement et broyée avec 10 à 20 ml d'acétone à 80%, ces derniers ont été prélevés et placés dans des tubes stériles et ont été centrifugés à 5000 jusqu'à 10000 rpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été récupéré et transféré.

La procédure sera répétée jusqu'à ce que le résidu devient incolore. L'absorbance de la solution est lue à 645nm et 663nm contre le blanc représenté par l'acétone.

2.3.4.1. Évaluation de la teneur en chlorophylle

Les concentrations de chlorophylle a, chlorophylle b, et chlorophylle totale ont été calculées selon les formules suivantes décrites par **Arnon, (1949)** :

$$\text{Chlorophylle totale} = 20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})$$

$$\text{Chlorophylle a} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}).$$

$$\text{Chlorophylle b} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}).$$

2.3.5. Récolte, séchage et conservation

Nous avons effectués des récoltes échelonnées soit 2 récoltes au totale (période feuillaison et floraison) de chaque région et de chaque traitement.

Récolte 1 : a été réalisée le **15/03/2019** au stade feuillaison.

Récolte 2 : a été réalisée **18/05/2019** au stade floraison.

Les échantillons des plantes récoltées cultivées et spontanées de chaque traitement en considérant les deux stades phénologiques : stade croissance feuillaison et stade floraison ont été séchées à l'aide d'une énergie solaire dans le centre de développement des énergies renouvelables UDES, pendant quelques heures jusqu'à la stabilisation de la teneur d'eau. (**Annexe 7**)

Après séchage les échantillons ont été récupérés et conservés dans des bocaux en verre, à l'abri de la lumière, afin d'éviter toute contaminations et dégradation de la matière active pour les études ultérieures.

2.3.6. Etude des métabolites secondaires de la plante

2.3.6.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation des échantillons spontanés qui a été réalisée le **15/01/2019** et celle des échantillons cultivés au stade feuillaison a été réalisée le **18/03/2019** et pendant la période du floraison l'extraction a été réalisée le **20/05/2019**.

a. Principe

Une quantité de 30g des parties aériennes séchées de la plante ont été émiettés puis introduites dans un ballon monocol d'un litre rempli de 650 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon, pendant 2h. Ceci engendre la formation de vapeurs chargées des substances volatiles qui traversent le réfrigérant, se condensent puis s'écoulent à l'état liquide, goutte à goutte, dans le tube gradué du clevenger. L'huile essentielle est de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupéré par décantation, elle est alors conservée dans des flacons opaques bien fermés à température de 4°C à 5°C.

b. calcul du rendement

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction de la matière végétale utilisée **AFNOR, (1986)**.

Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, il est calculé selon la formule suivante :

$$R = (V/M) \times 100$$

R : rendement en huile essentielle en pourcentage(%)

V : volume obtenue de l'huile essentielle (ml)

M : poids du matériel sec (g)

2.3.6.2. Les polyphénols totaux

2.3.6.2.1. Extraction et dosage

La préparation des extraits éthanoliques à partir des échantillons de la plante spontanée de la *Mentha pulegium* a été réalisée le **15/05 /2019** et ceux des échantillons de la plante cultivée a été réalisée le 18/05/2019 pendant la période de feuillaison et le **20/05/2019** pendant la période de floraison, ces extraits ont été préparés selon la méthode de **Romani et al, (2006)**.

L'extraction des polyphénols comporte quatre étapes successives .Elle consiste à prélever 15g de poudre de chaque échantillon et les mettre en contact avec 100ml d'éthanol à 96%. Après 24h d'agitation à l'aide d'un agitateur à la température ambiante. Chaque extrait préparé est filtré à travers d'un papier filtre Wattman. Placé dans un entonnoir. L'extrait récupéré est soumis à l'évaporation au rotavapeur réglé à la température de 60°C. Ainsi l'extrait sec obtenu est bien conservé dans un flacon à 4°C jusqu'à son utilisation ultérieure.

Le dosage des composés phénoliques de la plante étudiée est déterminé pour chaque échantillon spontané et/ ou cultivé en considérant les régions, les stades phénologiques et le type des traitements.

Il a été réalisé selon la méthode de Folin- ciocalteu décrite par **Singleton & Rossi (1965)**.les étapes de sa réalisation sont présentées dans la (**figure 11**).

Un blanc a été préparé en mélangeant 0.2ml d'éthanol avec 1ml de réactif de Folin-ciocalteu et 0.8ml de carbonate de sodium.

L'acide gallique a été utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage.

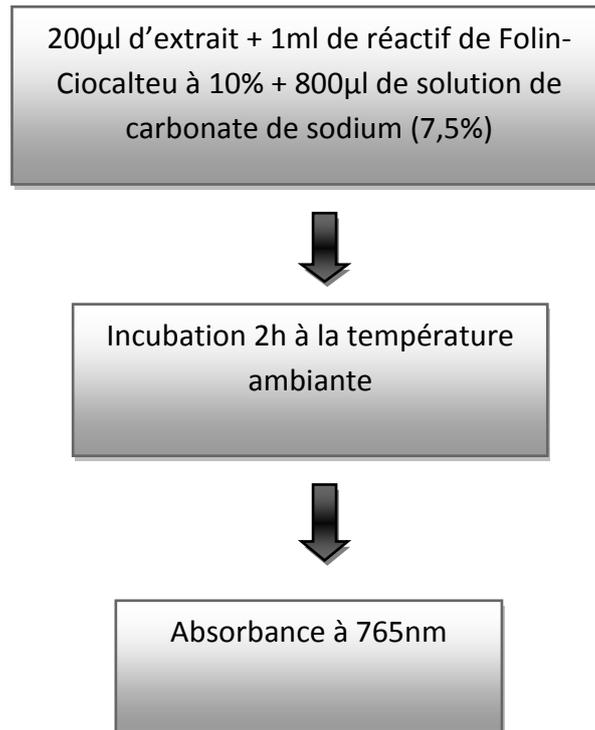


Figure 11 : Protocole de dosage des phénols totaux **Singleton & Rossi, (1965).**

2.3.6.2.2. Dosage des flavonoïdes

Les mêmes extraits secs ayant suivi pour le dosage des poly phénols totaux ont été utilisé pour le dosage des flavonoïdes, mais en se basant sur la méthode adoptée pour **Mimica Dukic. (1992).** (Figure12).

Le blanc d'extrait a été préparé en mélangeant 1 ml d'éthanol avec 1ml d'AlCl₃.

La concentration des flavonoïdes a été déterminée en référant à la courbe d'étalonnage de solution à base de la quercitine préparée à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercitine/g d'extrait.

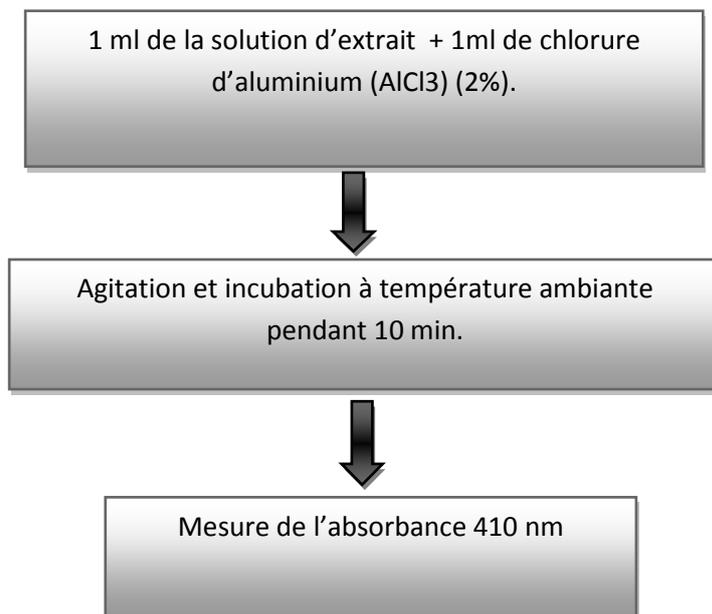


Figure 12 : Protocole de dosage des flavonoïdes. **Mimica Dukic, (1992)**

2.3.7. Etude de l'activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante *in vitro* a été évalué par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH ((1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par **Burits et Bucar, (2000)**.

Elle consiste à prélever 50µl des solutions méthanoliques des huiles essentielles testées. avec différentes concentrations : 200µg/ml, 400µg/ml, 600µg/ml, 800µg/ml et 1000µg/ml. Qui ont été mélangées avec 5ml d'une solution méthanoliques de DPPH à 4%. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température ambiante de laboratoire, l'absorbance a été lue à 517nm.

la vitamine C a été également utilisée comme standard pour la courbe d'étalonnage.

On a déterminé la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité anti-oxydante pour les solutions méthanolique préparées à partir de la vitamine C et celles des huiles essentielles

L'inhibition du radical libre de DPPH exprimé en pourcentage (I%) a été calculé selon la formule décrite par **Sharififar et al. (2007)**.

$$I\% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) / A \text{ blanc} \times 100$$

I : pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH.

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol).

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH* a été inscrite à chaque concentration examinée.

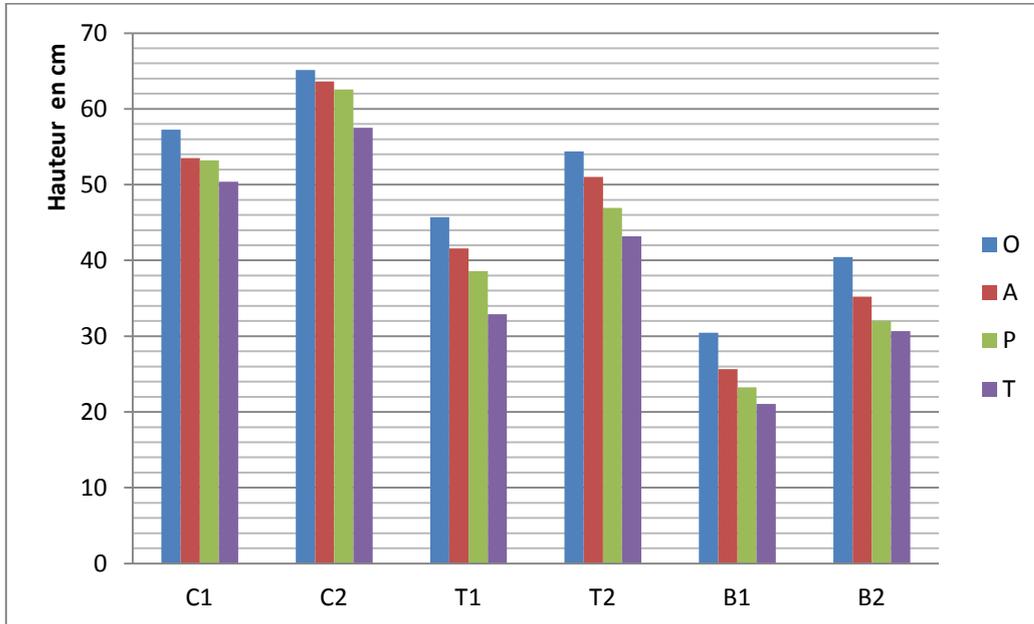
Les concentrations des huiles essentielles et de la vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH* initiale de 50% (**Sharififar et al. 2007**).



Chapitre III :
Résultats et discussion

3.1. Evaluation de la croissance des plantes cultivées de la *Mentha pulegium*

3.1.1. Hauteur des plantes



C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin
(1) stades feuillaison, (2) stades floraisons.

Figure 13 : Hauteur des plants cultivés de *Mentha pulegium* selon les traitements et selon les stades végétatifs (1) et floraison (2).

La hauteur des plantes a connu également une variabilité selon les régions, les stades et les traitements (**figure13**).

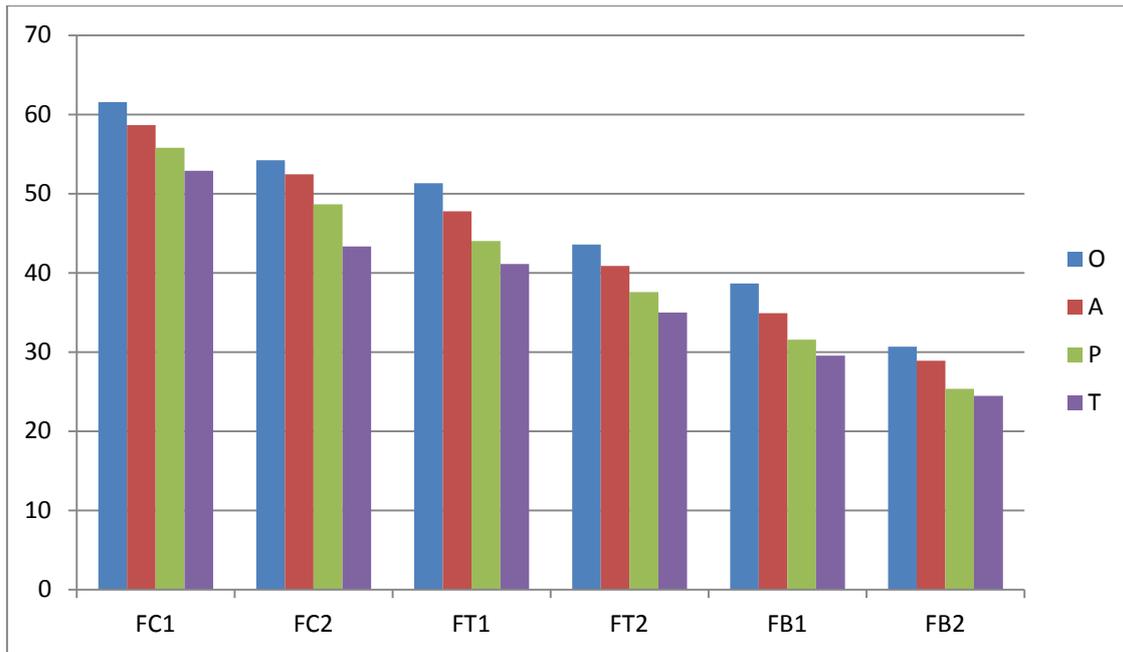
Les échantillons de plantes cultivées de la région de Chréa, a noté des hauteurs de plante plus importantes (57,25cm) par degré moindre ceux de Tizi Ouzou (45,7cm) et plus faible ceux de Bousmail (30,44cm).

Aussi, les plus importantes hauteurs ont été enregistrées durant la phase floraison (65,120cm) mais des hauteurs plus faibles ont été relevées durant le stade végétatif

(21,04 cm) par ailleurs, la variabilité des moyennes des hauteurs a donné un classement dans l'ordre des extrait suivent : ortie (67,25cm), algues (53,48cm), posidonie (53,22cm) témoin (50.38cm)

Les travaux de **Jayaraj et al, (2008)**, ont des résultats similaires concernant la croissance et la hauteur des plantes observant que les plantes qui ont subi le traitement avec un biofertilisants préparé à base d'Ortie ont des hauteurs importantes par rapport aux autres plantes.

3.1.2. Nombres des feuilles de la *Mentha pulegium* cultivée de phase feuillaison 1 et phase floraison 2



C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin
(1) stades feuillaison, (2) stades floraisons

Figure 14 : nombre des feuilles de *Mentha pulegium* selon les traitements et selon les stades végétatif(1), floraison(2)

Le nombre des feuilles, a connu également une variabilité selon les régions, les phases et les traitements (**figure 14**).

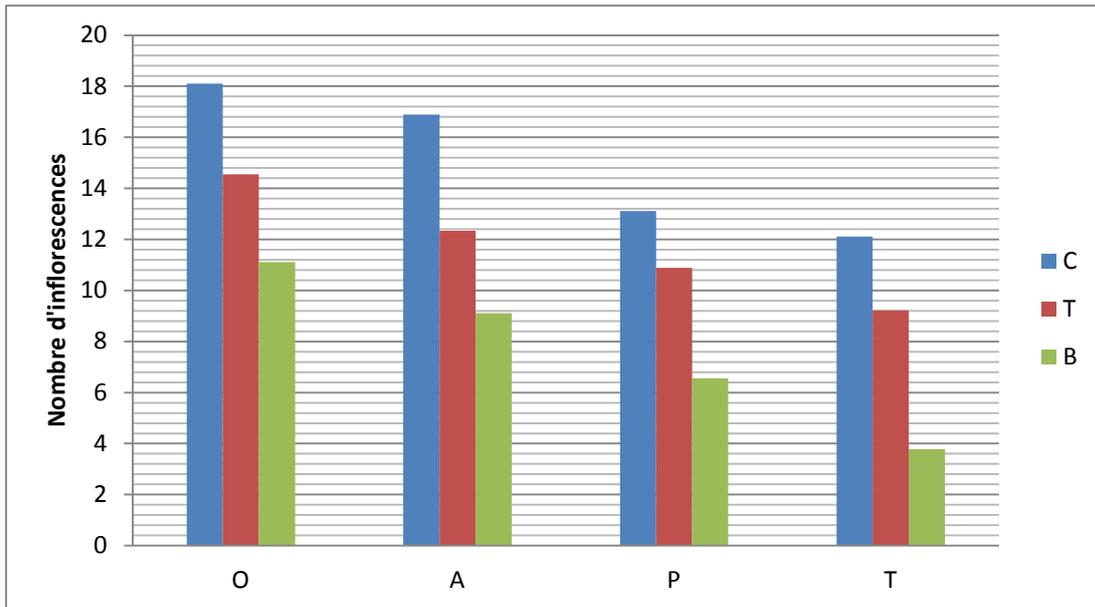
Les échantillons de la plante cultivée de la région Chréa, ont des nombres des feuilles importants (61,55) par degrés moindre ceux de Tizi Ouzou (51,33) et plus faible ceux de Bousmail (38,66) (**figure 14**).

Par ailleurs, la variabilité des moyennes de nombres de feuilles a donné un classement dans l'ordre des extraits suivant :

Ortie (61,55), Algue (58,66), Posidonie (55,77), Témoin (52,88).

Les travaux de **Thirumaran et al, (2009)** ont des résultats similaires avec un biofertilisant préparé à base d'ortie qui a montré un effet important sur la croissance des feuilles du haricot.

3.1.3. Le nombre de sommités florales des plantes cultivées de *Mentha pulegium*



C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin

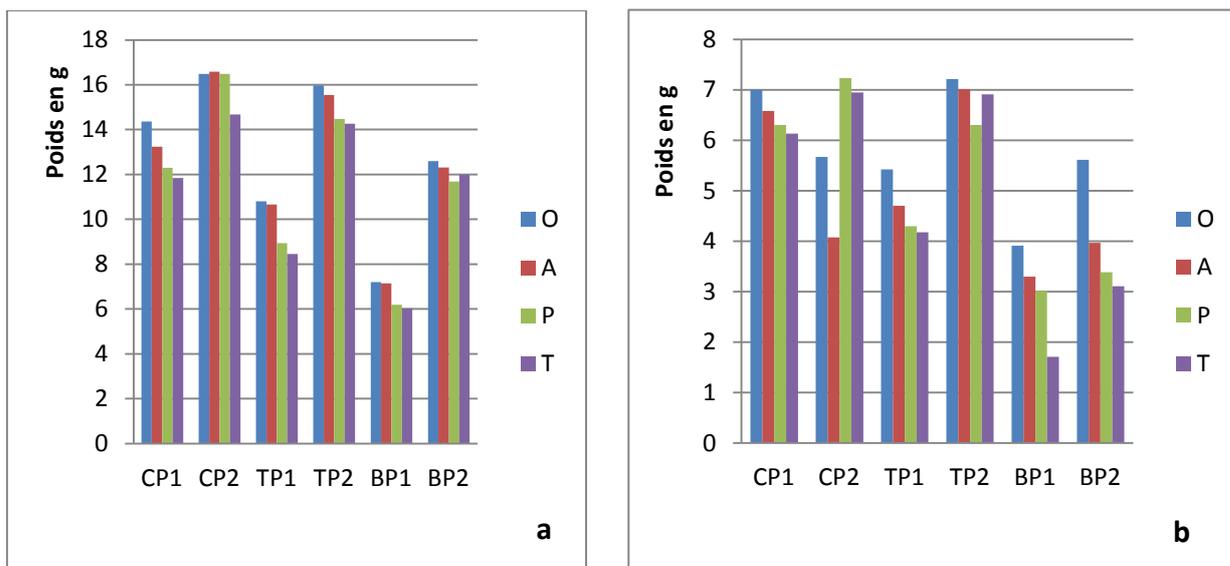
Figure 15 : Nombre des sommités florales de *Mentha pulegium* cultivé selon les traitements

Les sommités florales produites par plante cultivée ont été enregistrées selon la phase floraison, selon les régions et selon les traitements.

La floraison a été plus précoce à l'état spontané, elle a été connue pour les paramètres évalués précédant, le nombre d'inflorescence était en fonction de la région, on distingue le classement dans l'ordre décroissant suivant : Chréa (18,11) Tizi Ouzou (14,55) et Bousmail (11,11) (**figure15**).

Et selon les traitements ortie(18,11), algue (16,88), posidonie (13,11), et le témoin (12,11).

3.1.4. Poids des plants cultivés



(a)poids frais, (b) poids sec

C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin.

(1) stades feuillaison, (2) stades floraisons.

Figure 16 : poids frais(a) et sec (b) des plantes de *Mentha pulegium* cultivées et récoltées durant la phase feuillaison (1) et la phase floraison (2).

Le poids des plantes cultivées a montré également une variabilité selon les états Frais et / ou sec **figure 16 (a)** et **figure 16(b)**.

En effet les poids enregistrés des plants étaient plus importants à l'état frais qu'à l'état sec (16.47g) une variabilité a été notée entre la période de récolte considérée : feuillaison ou / et floraison.

Il est de mieux en ce qui a concerné les traitements à cet effet, le classement établi en fonction des poids frais des plantes selon les traitements, les phases de croissance et selon les régions, on distingue le classement dans l'ordre décroissant suivant :

Cp₂ (16,47g) Tp₂ (15,96g), Bp₂ (12,66 g), Cp₁ (14,36g), Tp₁ (10,8g), Bp₁ (7,2g)

Le classement du poids sec été fait selon le classement des poids frais :

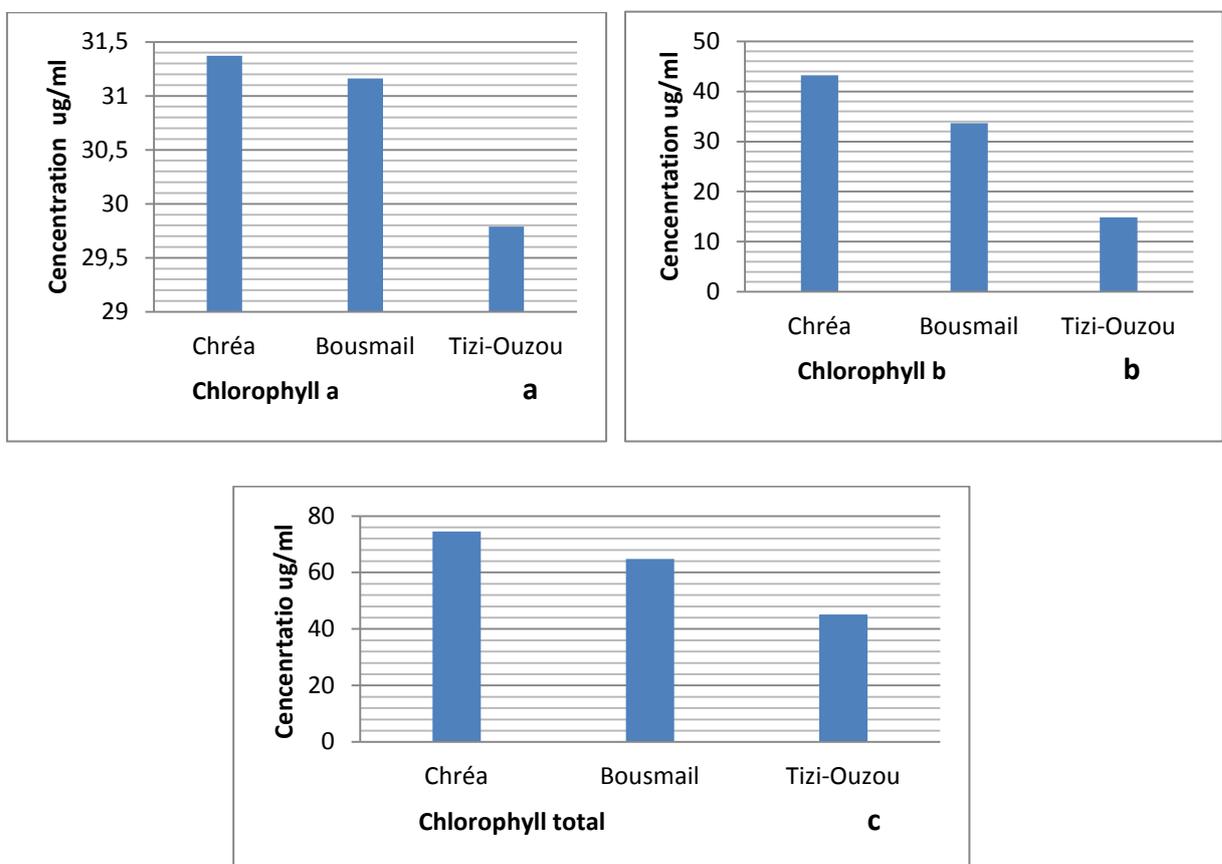
Cp₂ (5,66g), Tp₂ (7,21g), Bp₂ (5,61g), Cp₁ (7g), Tp₁ (5,42g), Bp₁(3,91g)

Figure 16 (a), figure 16 (b)

Les travaux de **Crouch et al, (1990)** ont des résultats similaires à nos résultats qui affirment que le traitement par les extraits d'Ortie a augmenté la croissance végétative et la vigueur globale des plantes.

Selon **Mohanty et al, (2013)**, les biofertilisants liquides préparés à partir d'Ortie ont un impact important sur la productivité où les plantes favorisées par les traitements ont les meilleurs résultats concernant le poids sec.

3.2. Teneur en chlorophylles des plants de *Mentha pulegium* à l'état spontané et cultivé



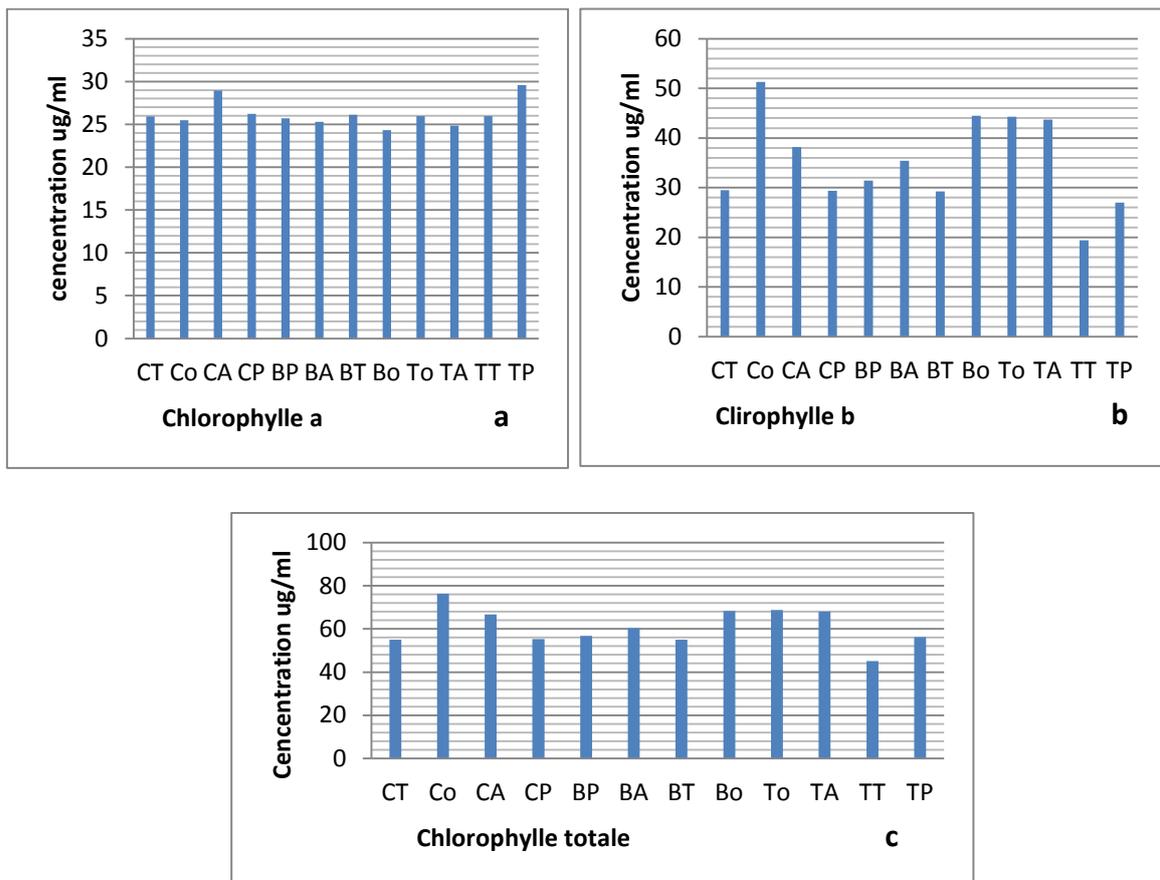
a : Chlorophylle a, b : Chlorophylle b, c : Chlorophylle total.

Figure 17: Teneurs en chlorophylle des échantillons des plants spontanés de la *Mentha pulegium* frais selon les régions de récolte.

Les teneurs de chlorophylle des échantillons de plante fraîche de la *Mentha pulegium* ont montré une variabilité selon le type et selon les régions de récolte.

De fortes teneurs, ont été enregistrées pour la chlorophylle totale où on peut établir le classement des teneurs, selon les régions dans l'ordre décroissant suivant : Chréa (74.56 $\mu\text{g/ml}$) Bousmail (64.78 $\mu\text{g/ml}$) puis Tizi Ouzou (45.09 $\mu\text{g/ml}$) . (**figure 17**).

Dans le même ordre mais par degré moindre , le classement des teneurs de chlorophylle b où on peut citer : Chréa (43.2 $\mu\text{g/ml}$) Bousmail (33.2 $\mu\text{g/ml}$) et Tizi Ouzou (14.84 $\mu\text{g/ml}$) (**figure 17**) aussi, le classement des teneurs de chlorophylle a on peut citer ; Chréa (31.37 $\mu\text{g/ml}$) Bousmail (31.6 $\mu\text{g/ml}$) Tizi Ouzou (29.79 $\mu\text{g/ml}$) (**figure17**).



a : Chlorophylle a, b : Chlorophylle b, c : Chlorophylle total

C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin

Figur 18: Teneurs en chlorophylle des échantillons de plante cultivée de la *Mentha pulegium* selon l'effet des traitements.

Les teneurs en chlorophylle ont également noté une variabilité selon le type de chlorophylle, selon les régions et selon les traitements .Les teneurs étaient plus importantes pour les type de chlorophylle totale et par degré moindre celle du type (b) , les plus faibles teneurs correspondant à la chlorophylle a.

Les teneurs de la chlorophylle totale ont montré des teneurs plus élevées pour la région de Chréa traitée par l'ortie (76.21 µg/ml) et les algues (66.64 µg/ml) et par degré moindre celles issues des échantillons de Bousmail traités par l'ortie (68.3µg/ml) et les algues (60.26 µg/ml) et ceux de Tizi Ouzou (68.71µg/ml) et les algues (68.07 µg/ml), les autres ont montré des teneurs très voisines variaient des valeurs comprises entre (60.26µg/ml) et (66.21µg/ml). une teneur était peu faible pour le Témoin de Tizi Ouzou (45.09µg/ml).

Les échantillons des plantes cultivées ont montré des teneurs en chlorophylle totale plus faible que ceux des échantillons spontanées.

(**Figure 18**) par ailleurs, les teneurs en chlorophylle b était aussi variable, elles varient entre (51.29µg/ml) et (19.4µg/ml).

Les teneurs en chlorophylle totale les plus importantes ont été extraites à partir de l'échantillon de Chréa traité par l'extrait à base d'ortie (51.29µg/ml) et ceux de Bousmail traité par le même extrait (44.5µg/ml) aussi que celui de Tizi Ouzou cultivés sous traitement à base d'ortie (44.26µg/ml) et à base d'algues (43.73µg/ml) (**figure 18**). Les teneurs de la chlorophylle ont été similaires selon les traitements et les algues mais deux teneurs élevées étaient remarquables et plus importantes, elles correspondent aux échantillons de Chréa cultivés sous l'effet d'extrait d'algue (38.15µg/ml) et celui de Tizi Ouzou cultivés sous l'effet d'extrait de posidonie (27.01µg/ml) (**Figure 18**)

Considérant les résultats obtenus dans ce travail, parmi les trois régions, la teneur en chlorophylle de la *Menthe pouliot* de la région de Chréa a été la plus élevée de 74.78µg/ml, dans la région de Bousmail la teneur a été de 64.78µg/ml et dans la région de Tizi Ouzou la teneur a été de 45.09µg/ml. La concentration de chlorophylle peut varier d'une région à une autre.

La variabilité des teneurs en chlorophylle peuvent être traduites par de nombreux travaux et la quantité de chlorophylle a, la chlorophylle b et la chlorophylle totale ont été estimées par l'équation d'**Arnon (1949)**. La teneur la plus élevée en chlorophylle totale (a + b) détectée chez la *Menthe pouliot* est de (82,6 µg / ml).

Ces résultats sont similaires aux travaux de **Blunden, (1997)** qui affirme que le traitement par des concentrations déterminées d'un biofertilisant et d'extrait aqueux améliorent la teneur en chlorophylle au niveau des feuilles.

3.3. L'extraction des huiles essentielles

3.3.1. Caractères organoleptiques

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles de notre échantillon de trois régions à l'état spontané obtenu par hydrodistillation sont présentés dans le **tableau 3**.

Tableau 3: caractères organoleptiques de trois régions.

Région	Aspect	Couleur	Odeur
Blida	Liquide, huileux	Jaune foncée	Forte odeur
Bousmail	Liquide, huileux	Jaune	Forte odeur
Tizi Ouzou	Liquide, huileux	Jaune claire	Très forte odeur

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles de notre échantillon de trois régions à l'état cultivé de différents traitements aux périodes feuillaison et floraison obtenus par hydrodistillation sont présentés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : caractères organoleptiques de trois régions à l'état cultivé de différents traitements aux périodes feuillaison et floraison

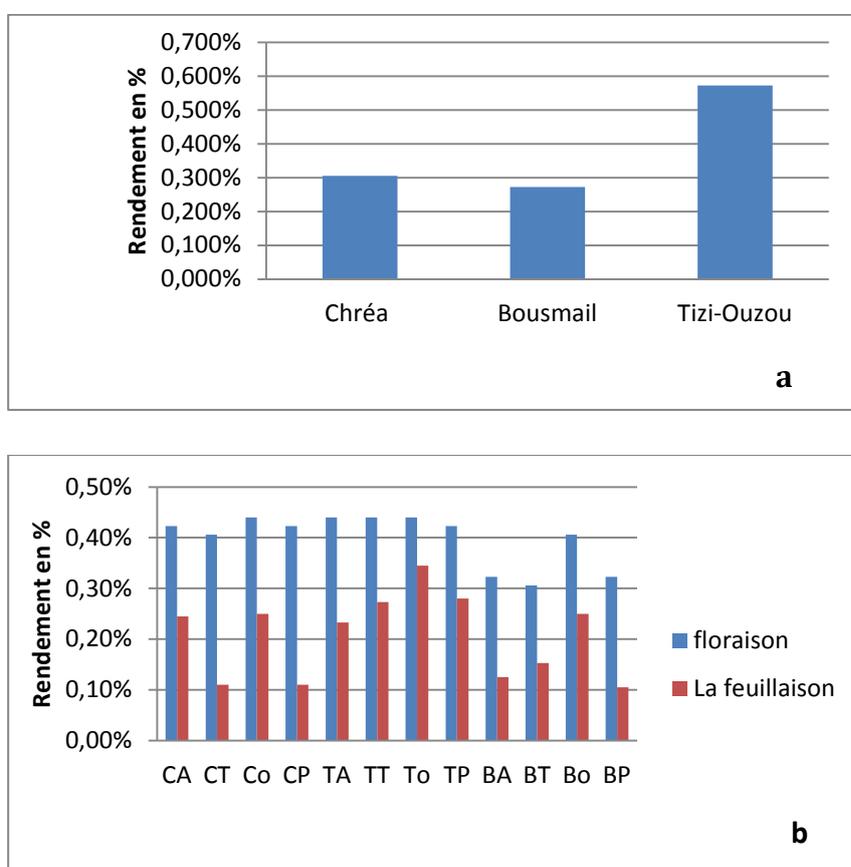
Région	Traitements	Aspect	Couleur	Odeur
Chrèa	CA	Liquide, huileux	Jaune foncée	Forte odeur
	CO	Liquide, huileux	Jaune foncée	Forte odeur
	CP	Liquide, huileux	Jaune foncée	Forte odeur
	CT	Liquide, huileux	Jaune foncée	Forte odeur
Bousmail	BA	Liquide, huileux	Jaune	Forte odeur
	BO	Liquide, huileux	Jaune	Forte odeur
	BP	Liquide, huileux	Jaune	Forte odeur
	BT	Liquide, huileux	Jaune	Forte odeur
Tizi Ouzou	TA	Liquide, huileux	Jaune claire	Très forte odeur
	TO	Liquide, huileux	Jaune claire	Très forte odeur
	TP	Liquide, huileux	Jaune claire	Très forte odeur
	TT	Liquide, huileux	Jaune claire	Très forte odeur

Les caractères organoleptiques trouvés dans notre recherche sont semblable à ceux trouvés par **Larhrech (2010)** qui a travaillé sur l'extraction de la *Mentha pulegium* de la région de Djelfa.

Caractéristiques organoleptiques de l'HE de la *Mentha pulegium* sont en conformité avec celle définie par les normes **AFNOR (2000)**.

3.3.2. Rendement en huiles essentielles :

Les rendements obtenus en HE des échantillons spontanés sont exprimés en (%) par rapport à la matière végétale sèche, les résultats sont montrés dans la **figure 19**



a : état spontané b : état cultivé

C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin

Figure 19 : Rendements en huiles essentielles des échantillons de plants séchés de la *Mentha pulegium*

Le rendement en huile essentielle des échantillons séchés des plantes spontanées récoltées des différentes régions durant le stade végétatif a montré une variabilité selon les

régions où le classement établi a montré dans l'ordre décroissant selon les régions suivants : Tizi Ouzou (0.57%), Chréa (0.3%) Bousmail (0.27%)

Figure19(a), figure 19 (b)

En ce qui concerne les plantes cultivées, leur rendement en huiles essentielles a été moins important que ceux des échantillons spontanés **figure19(b)**. une variabilité a été mise en évidence selon les régions, selon les traitements et selon les stades végétatifs et floraison

Le rendement en HE des échantillons récoltés au stade feuillaison était plus importants que ceux récoltés au stade floraison des échantillons des plantes cultivées **figure 19(b)**.

Aussi une variabilité a également affecté le rendement selon les traitements selon les 2 périodes de récolte.

L'extraction de l'huile essentielle de la *Mentha pulegium* spontanée de trois régions Blida, Bousmail et Tizi Ouzou a donné un rendement 0,10% , 0,09% et 0,19% respectivement.

L'extraction des HE des échantillons de Chréa et Tizi Ouzou cultivés à la phase floraison a donne un rendement important de 0.44%. Ce résultat est nettement inférieur à celui reporté par **Zwaving et Smith (1971)** qui ont obtenus un rendement de 0.95% pour la même plante poussant en Grèce. **Kokkini et al.(2004)** ont étudié la *Menthe pouliot* de plusieurs régions de Grèce dont les rendements en huiles essentielles varient entre 1.0% et 3.8%. La *Menthe pouliot* marocaine étudiée par **Benayad (2008)**, **Derwich et al. (2010)** et **Ait-Ouazzou et al. (2012)** a révélée des teneurs en huile essentielle inférieures aux résultats obtenus dans notre étude évalué à 2.33%, 1.66% et 2.7%, respectivement. Cependant **Zekri et al. (2013)** ont déterminé des rendements allant de 5.29% à 6.2% pour la *Menthe pouliot* du Maroc.

En Algérie, **Beghidja et al (2007)** et **Benabdallah (2008)** ont déterminé les rendements en huile essentielle de la *Menthe pouliot* récoltée dans plusieurs régions de Jijel ainsi que la région d'El Kala. Les valeurs obtenues étaient de 1.16 à 2.19% et 1.45%, respectivement.

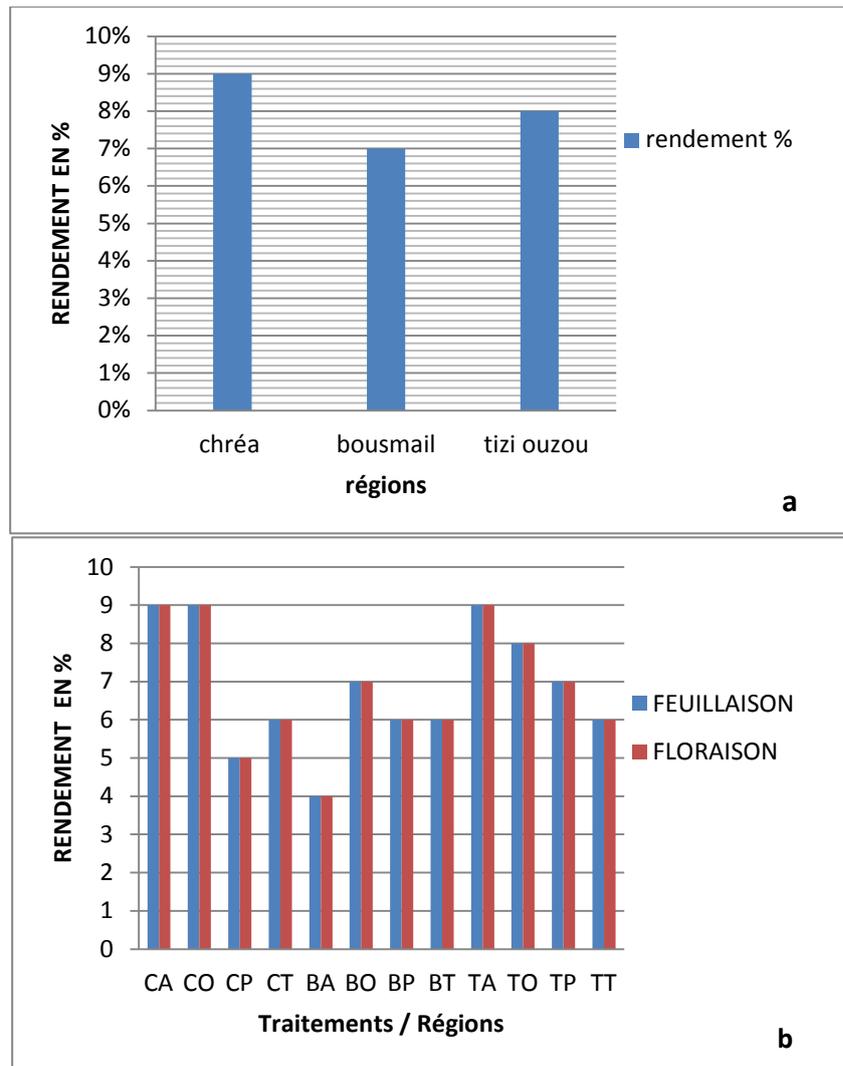
Cette variabilité entre les différents traitements a un rapport avec les différents biostimulans utilisés pour l'arrosage des plants.

Aussi ce rendement est tributaire de plusieurs facteurs : la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation, le régime des vents, les écartements entre plants (un espacement de 60X30 cm avec culture intercalaire (menthe) pour un meilleur rendement (RAO *et al*, 2002), le désherbage ou encore l'apport de la paille. Les amendements minéraux qui contribuent à l'augmentation de la masse végétale et donc celui du rendement en HE, notamment, les engrais organiques en combinaison avec l'azote (160Kg/ha), le temps de séchage (DEMARNE, 1985 et 2004), la nature des traitements, (bio stimulant) utilisés , la technique d'extraction et le cycle végétatif qui influe qualitativement et quantitativement sur le rendement en HE.

3.4. D'extraction des polyphénols

3.4. 1.Rendements en polyphénols totaux

Les rendements obtenus par l'extraction des polyphénols totaux de *Mentha pulegium L* de trois régions à l'état cultivé à la phase feuillaison et phase floraison sont exprimés en (%) par rapport à la matière végétale sèche. les résultats résumés dans la **Figure 20**



a : Rendement en enextrait sec des échantillons de *Menthe pouliot* spontanée

b : Rendement en enextrait sec des échantillons de *Menthe pouliot* cultivée

C, B, T : régions respectivement Chréa, Bouismail, Tizi ouzou.

O, P, A, T : traitements respectivement extraits à base d'Ortie, de Posidonie, d'Algue et Témoins

Figure 20 : Rendements en enextrait sec des échantillons de plants de la *Mentha pulegium* selon les régions, l'état cultivé ou/et spontané, selon les traitements et selon le stade de récolte.

Les rendements en extrait sec étaient plus importants pour les plantes à l'état spontané que l'état cultivé (9%, 7% et 8%), Cependant, une augmentation remarquable a été enregistrée pour quelques traitements et selon les régions. Les fortes teneurs ont été relevées pour les plantes cultivées sous les traitements d'ortie et d'algues pour la région de Chréa (9%), et Tizi ouzou (9%et 8%), mais, seulement à base d'ortie pour la région de Bouismail (7%).

Par ailleurs la variabilité dans les rendements de ces métabolites n'a pas affecté les stades de récoltes. Les teneurs étaient toutes similaires au stade végétatif (9%) et au stade floraison (9%) (**Figure 20**).

La variabilité des rendements en polyphénols pour les échantillons de la plante étudiée peut être élucidée par les travaux de recherche suivants :

L'extrait méthanolique de *M. pulegium* a fait objet de quelques études, dont le rendement a été similaire au notre. Notamment celle de **Khaled-Khodja et al. (2014)** qui ont pu en déterminer un rendement de 12.12% d'extrait méthanolique de la *Menthe pouliot* de la région de Bejaia.

Les rendements en extrait sec peuvent être influencés par plusieurs paramètres et dépendent entre autre de la composition chimique et les caractéristiques physiques de la matière végétale ainsi que la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée selon **Lee et al. (2003)**.

Dai et Mumper(2010) ont souligné que le méthanol est le solvant le plus largement utilisé pour l'extraction des substances phénoliques des Lamiacées. **Cakir et al. (2006)** et **Sharififar et al. (2009)** ont rapporté dans leurs études sur les composés phénoliques de *Teucrium* que le méthanol a donné un rendement en extraits plus élevé que l'acétone, le chloroforme, l'eau et l'éther de pétrole.

3. 4.2. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnage respectivement de l'acide gallique et de la quercétine (**Figure 21**) et (**Figure 22**).

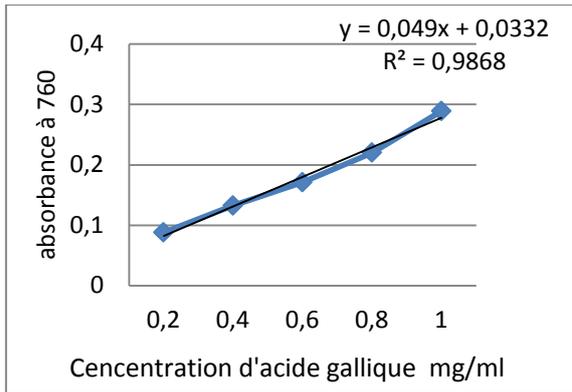


Figure 21: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

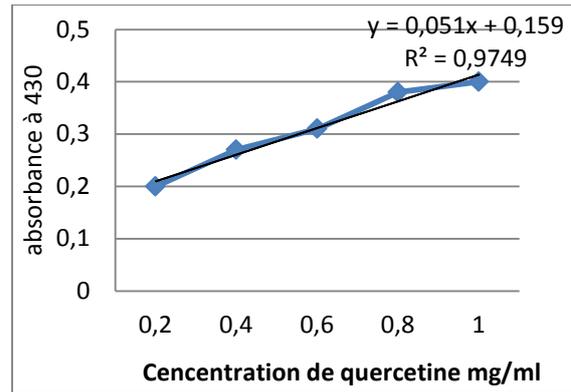
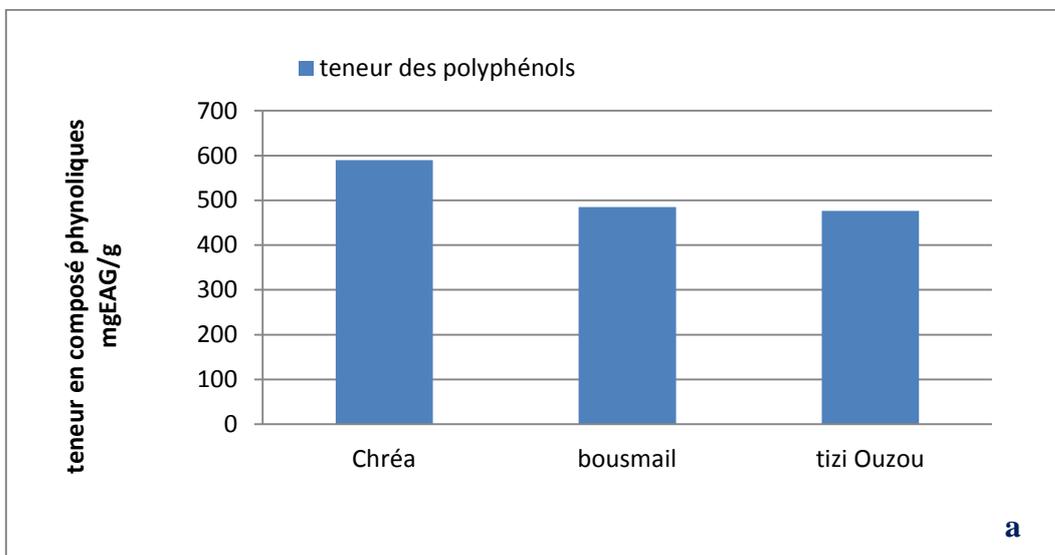
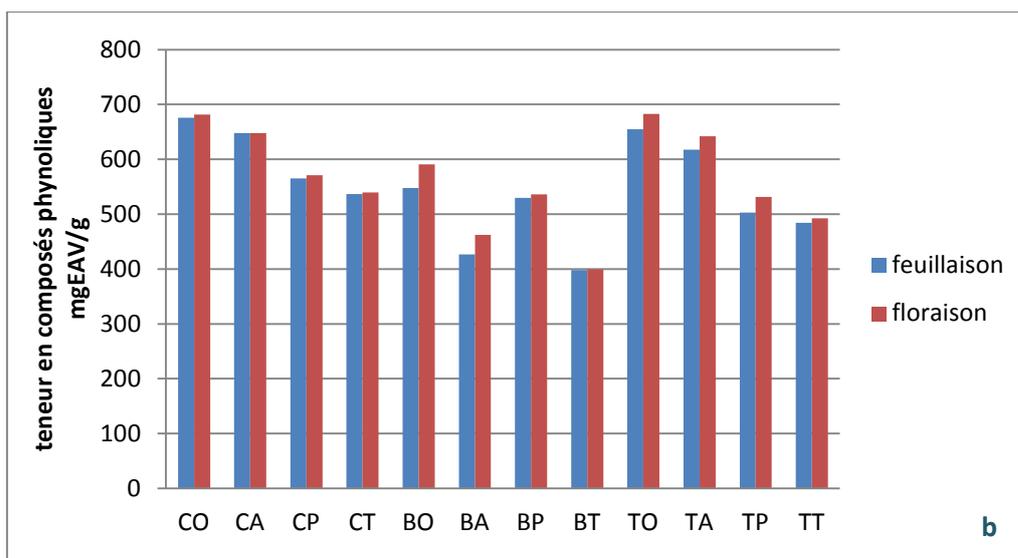


figure 22 : courbe d'étalonnage de quercetine

3.4.2.1. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de la *Mentha pulegium L*, exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par g d'extrait. Sont représentées dans la (figure 23)





a : teneurs en polyphénols totaux des échantillons de Menthe pouliot spontanée

b : teneurs en polyphénols totaux des échantillons de Menthe pouliot cultivée

C, B, T : régions respectivement Chréa, Bouismail, Tizi ousou.

O, P, A, T : traitements respectivement extraits à base d'Ortie, de Posidonie, d'Algue et Témoins

Figure 23 : Teneurs en polyphénols des échantillons de plants de la Menthe pouliot selon les régions, l'état cultivé ou/et spontané, selon les traitements et selon le stade de récolte

Les teneurs en polyphénols des extraits à base d'échantillons de plantes étudiés ont montré une variabilité selon leur état spontané ou cultivé. Les teneurs en polyphénols étaient plus importantes pour les échantillons de Chréa (675.5mgEAG/g d'extrait), par degré moindre ceux de Bouismail (547.95mgEAG/g d'extrait) et à de faibles teneur pour les échantillons de plants récoltés de Tizi ousou (655.1mgEAG/g d'extrait).

Les taux ont montré une augmentation nette pour les plants cultivés en les comparant aux plantes spontanées (590mgEAG/g d'extrait, 484.69mgEAG/g d'extrait et 476.53mgEAG/g d'extrait)

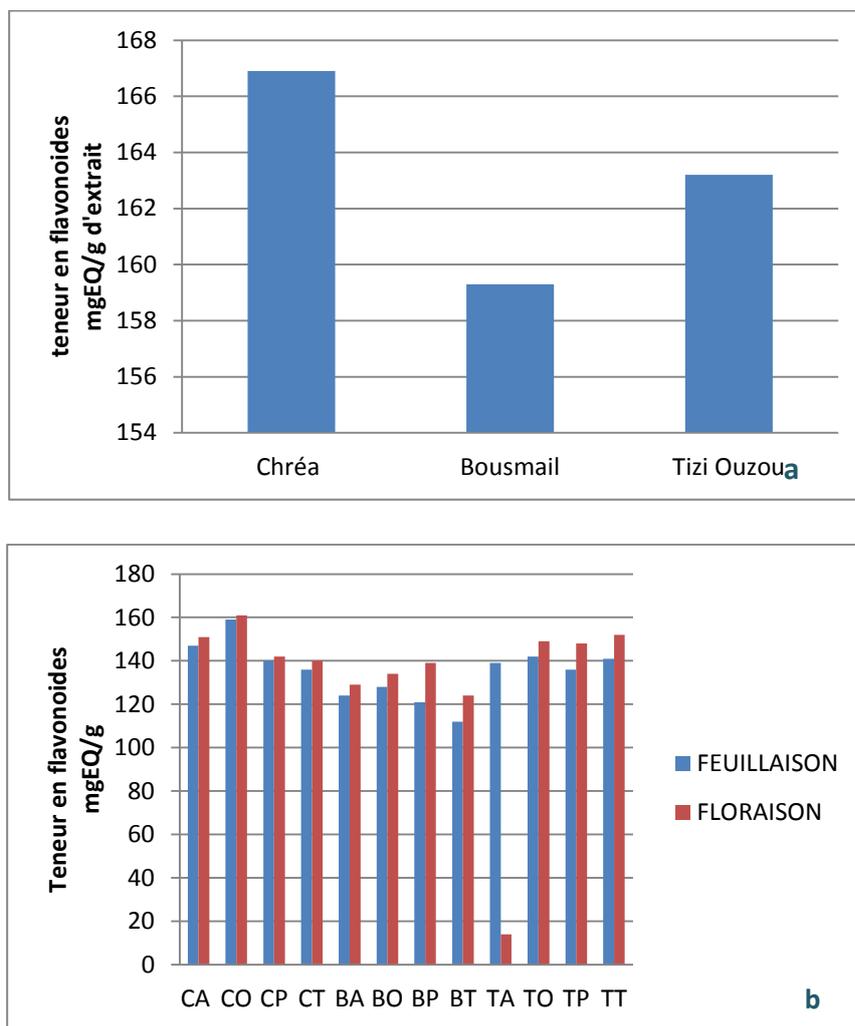
Une augmentation des teneurs en polyphénols a affecté l'ensemble des échantillons cultivés traités comparés aux échantillons témoins (675.5mgEAG/g d'extrait et 484mgEAG/g d'extrait).

L'augmentation a été également notable en phase de floraison qu'en phase végétative (675.5mgEAG/g d'extrait et 681.5mgEAG/g d'extrait). Les teneurs en polyphénols ont été plus fortes pour les traitements à base d'algues et d'ortie pour les échantillons de plants récoltés de Chréa (675.5mgEAG/g d'extrait et 624mgEAG/g d'extrait), de Bouismail

(547.95mgEAG/g d'extrait et 426.53mgEAG/g d'extrait) ainsi que de Tizi ousou (655.1 mg EAG/g d'extrait et 617.34mgEAG/g d'extrait) (Figure 3).

3.4.2.2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats spectrophotométriques nous à parmi aussi de quantifier le taux des flavonoïdes selon la courbe d'étalonnage de la quercitene. Exprimées en mg équivalent quercetine /g d'extrait sec.



a : teneurs en flavonoïdes des échantillons de Menthe pouliot spontanée

b : teneurs en flavonoïdes des échantillons de Menthe pouliot cultivée

C, B, T : régions respectivement Chréa, Bouismail, Tizi ousou.

O, P, A, T : traitements respectivement extraits à base d'Ortie, de Posidonie, d'Algue et Témoins

Figure 24 : Teneurs en flavonoïdes des échantillons de plants de la *Menthe pouliot* selon les régions, l'état cultivé ou/et spontané, selon les traitements et selon le stade de récolte

Les teneurs en flavonoïdes étaient plus importants pour les échantillons de plants à l'état spontané que l'état cultivé (166.9mgEAG/g d'extrait, 159.3mgEAG/g d'extrait et 163.2mgEAG/g d'extrait) La variabilité des teneurs en ces métabolites a été notée selon les traitements pour les plants cultivés où l'ortie et l'algue ont montré des taux plus élevés pour les cas des échantillons de Chréa (159mgEAG/g d'extrait et 147mgEAG/g d'extrait), Tizi ouzou (142mgEAG/g d'extrait et 139mgEAG/g d'extrait) et Bousmail (128mgEAG/g d'extrait et 124mgEAG/g d'extrait). Les teneurs étaient plus importantes au stade floraison qu'au stade végétatif mis à part, les échantillons de plants cultivés sous l'effet du traitement à base d'algue pour la région de Tizi ouzou (14mgEAG/g d'extrait).

La variabilité des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes peuvent être traduits par de nombreux travaux.

La concentration des polyphénols totaux pour l'extrait éthanolique de *Menthapulegium* reste très élevée par rapport à celle rapportée par l'autre travail scientifique. **Karray-Bouraoui et al. (2010)** ont rapporté que les composés phénoliques contenus dans *M. pulegium* de Tunisie ont montré des taux de polyphénols totaux équivalents à 20.1 jusqu'à 56.6 mg EAG/g d'extrait.

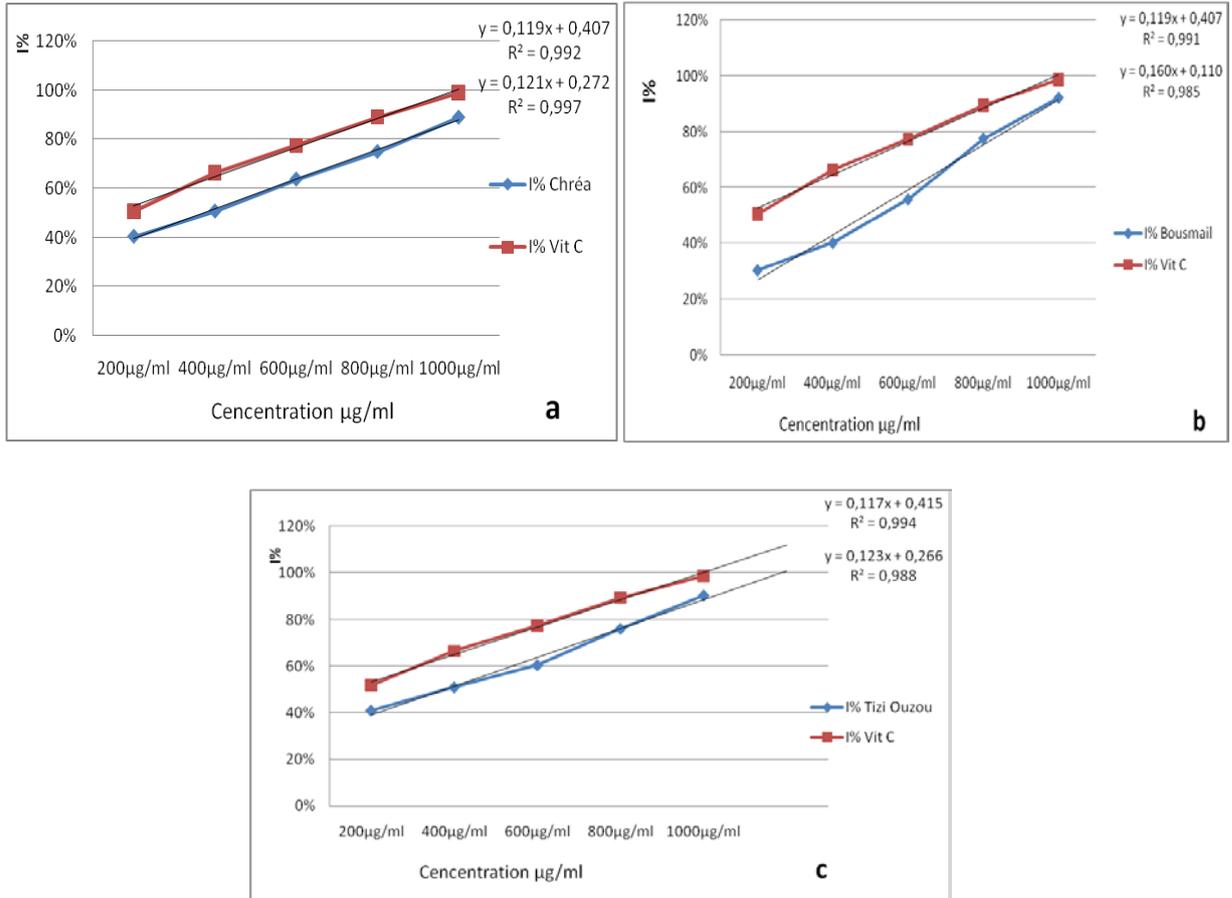
Les travaux de **Hajlaoui et al. (2009)** et **Hajlaoui et al. (2015)** contenus dans *M. pulegium* à révélé une quantité de composés phénoliques totaux relativement faible d'une valeur de 37.4 mg EAG/g et 62.06 mg EAG/g d'extrait, respectivement. De même, l'extrait méthanolique de *M. pulegium* de Bejaia a montré un taux en phénols totaux de 72.84 mg EAG/g d'extrait d'après **Khodja et al. (2014)** alors que, **Stagos et al. (2012)** ont rapporté des teneurs plus élevées en polyphénols totaux (138mg EAG /g) pour le même extrait de plante récolté de Grèce.

D'autres études rapporté que la quantité de polyphénols dans les plantes dépend des facteurs biologiques (génotype, organes et ontogenèse, agents pathogènes...), des conditions édaphiques et environnementales (température, salinité, stress hydrique, rayonnement U.V et l'intensité lumineuse), de la solubilité des composés phénoliques, et leurs interactions (**Macheix, 1996 ; Ksouri et al., 2008**).

3.5. Evaluation l'activité antioxydante

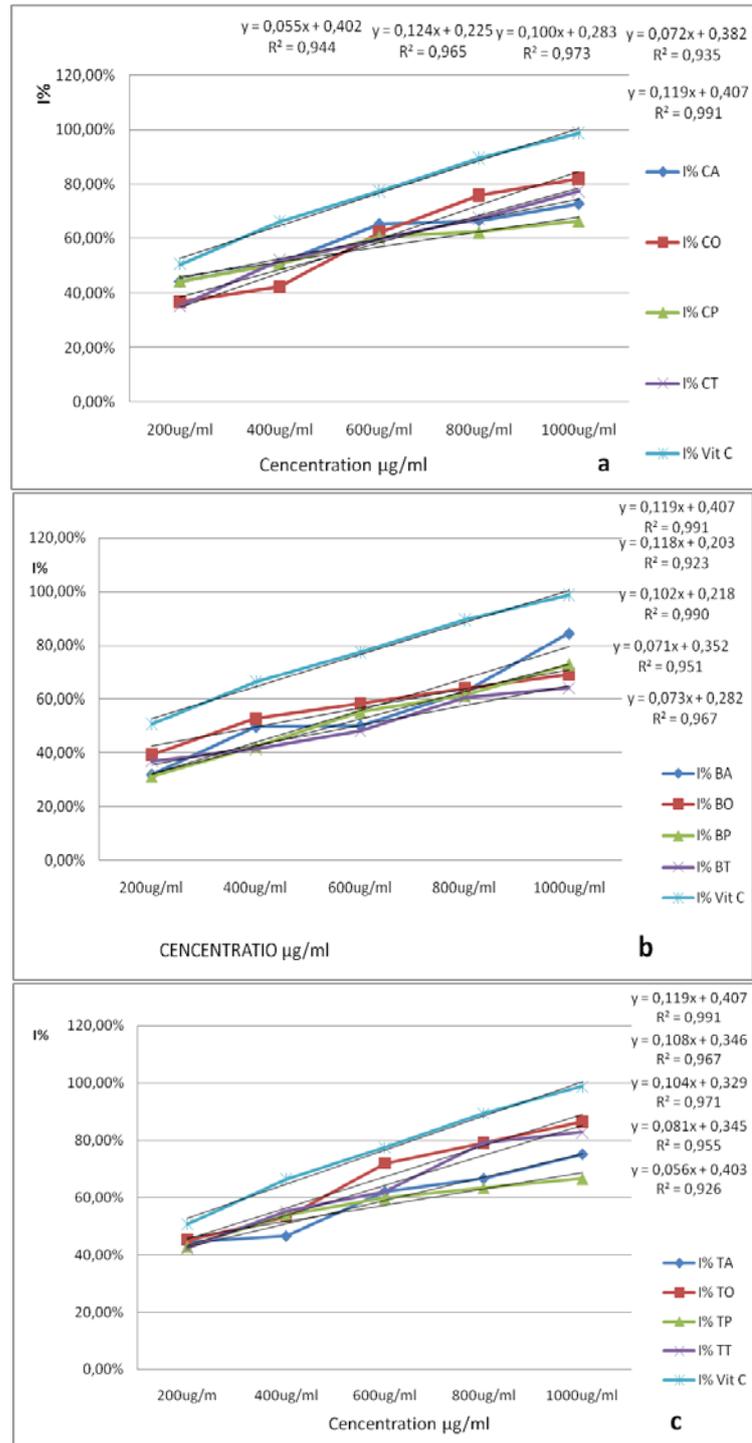
3.5.1. Test DPPH mesuré au spectrophotomètre

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes du pourcentage d'inhibition antiradicalaire pour chaque extraits des plantes spontanées et cultivées et pour chaque traitement. Ces résultats sont représentés dans la **Figure(25)** et **Figure (26)**



- a : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes spontanées de la région de Chréa
- b : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes spontanées de la région de Bousmail
- c : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes spontanées de la région de Tizi Ouzou

Figure 25 : pourcentage d'activité antioxydante des HE des échantillons de la *Menthe pouliot* spontanés selon les régions et la vitamine C



a : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes cultivés de la région de Chréa
 b : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes cultivés de la région de Bousmail
 c : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes cultivés de la région de Tizi Ouzou
 C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.
 A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Temoin

Figure 26: pourcentage d'activité antioxydante des HE des échantillons de la Menthe pouliot cultivés selon les régions, les traitements et la vitamine C.

D'après les résultats obtenus on a remarqué que :

Les HE des échantillons spontanés ont montré un pourcentage d'inhibition plus important par rapport aux HE des échantillons cultivés, ceci est indiqué par l'allure des graphes. A une concentration de 1000 μ g/ml d'extrait les pourcentages d'inhibition sont l'ordre de 88.87% et 80.45% pour les HE des échantillons spontanés et cultivés respectivement .

Les HE des échantillons spontanés de Chréa et Tizi Ouzou ont montré un pourcentage d'inhibition plus important par rapport aux HE des échantillons de Bousmail avec des pourcentages d'inhibition dans 1000 μ g/ml de 82% et 78% respectivement.

A une concentration de 1000 μ g/ml d'extrait , les pourcentages d'inhibition de l'extrait d'ortie, d'algue et posidonie sont de l'ordre de 82.03% , 70.80% ,77.58% respectivement.

3.5.2.Détermination d' IC50

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration d'huile essentielle, ou d'acide ascorbique nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notant que plus l'IC50 est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante. Les résultats des propriétés antioxydantes des huiles essentielles des plantes étudiées et de la vitamine C sont présentées dans la **figure 27** et **28**. L'activité est exprimée sous la forme de valeurs d'IC50.

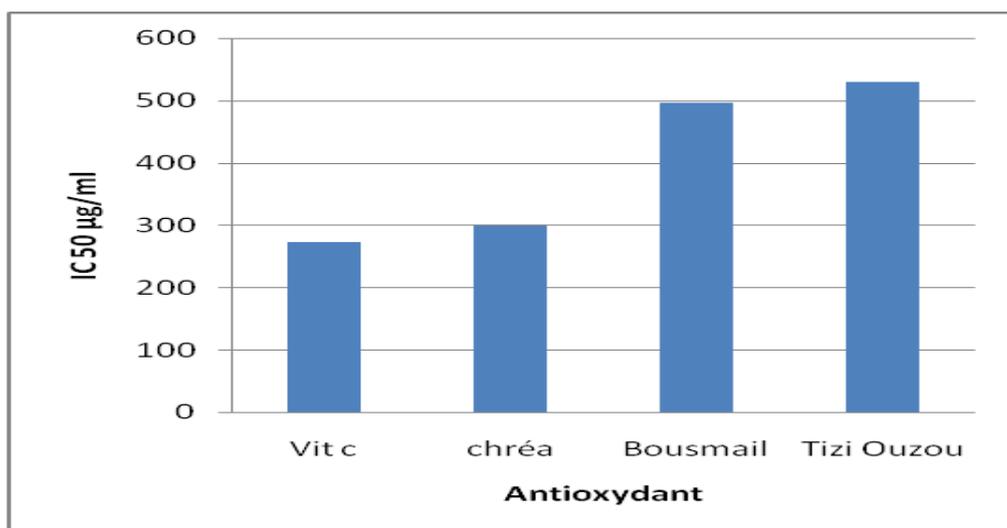
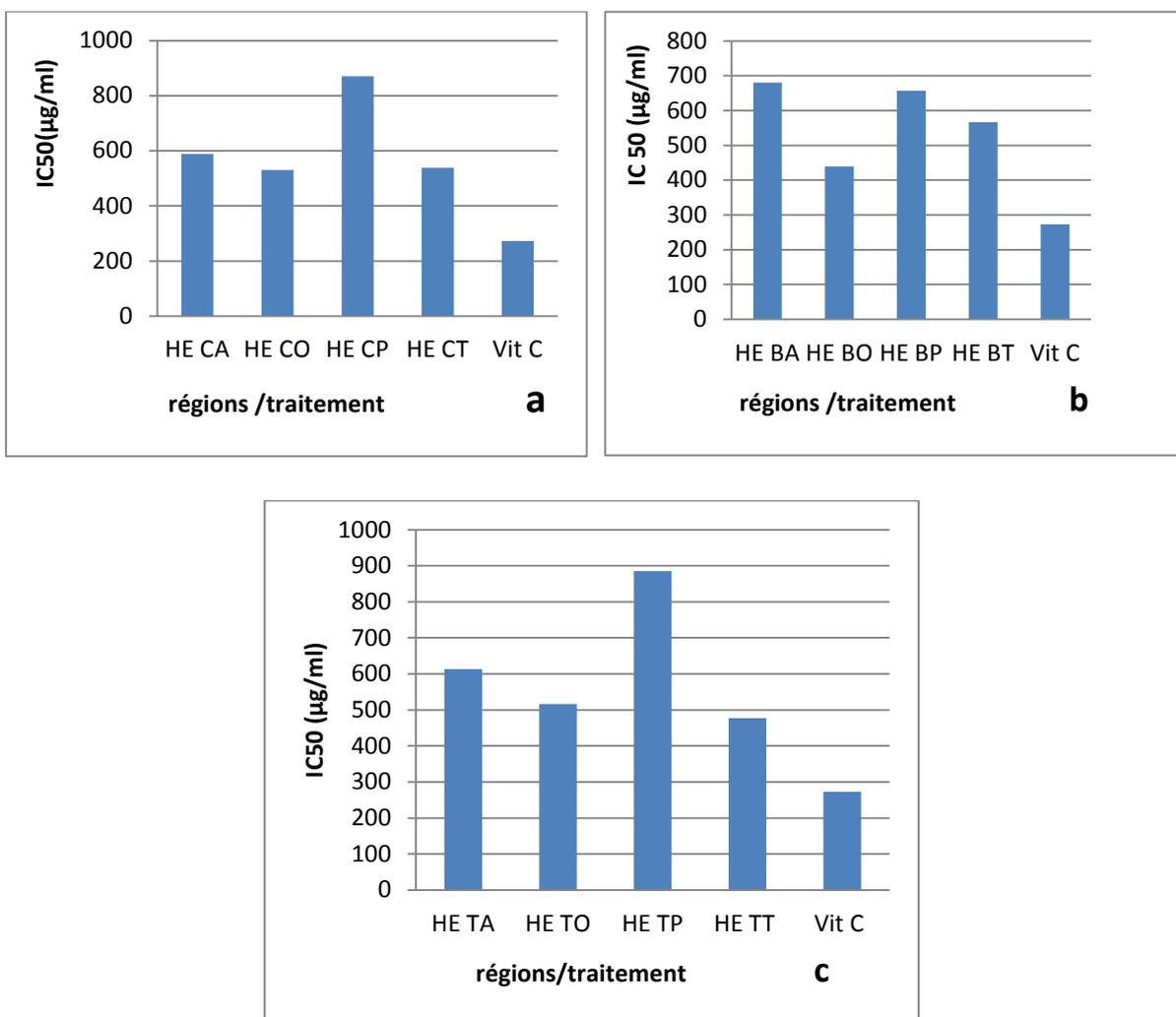


Figure 27: Activité antioxydante des HE des échantillons spontanés de la *Menthe pouliot* selon les régions et la vitamine C.



a : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes cultivés de la région de Chréa

b : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes cultivés de la région de Bousmail

c : pourcentage des activité antioxydante des HE des plantes cultivés de la région de Tizi Ouzou
C, B, T : région respectivement Chréa, Bousmail, Tizi Ouzou.

A, O, P, T : traitement respectivement extrait à base d'Algue, d'Ortie, de posidonie, et de Témoin

Figure 28 : Activité antioxydante des HE des échantillons cultivés de la *Menthe pulegium* selon les régions, selon les traitements et la vitamine C.

Les HE de *M. pulegium L* spontanées de Chréa a montré une capacité antiradicalaire modérée avec une $IC_{50} = 299.02 \mu\text{g/ml}$. D'autre part, l'huile essentielle de Tizi Ouzou et Bousmail ont présenté une très faible activité antioxydante avec une $IC_{50} = 549 \mu\text{g/ml}$ et $500 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Tandis que l'antioxydant de référence, la vitamine C, présente un pouvoir antioxydant plus important $IC_{50} = 272 \mu\text{g/ml}$.

Les HE *M. pulegium L* cultivée de trois régions qui a été traitée par l'extrait d'Ortie et le témoin ont montré une capacité antiradicalaire modérée avec $IC_{50} = 439 \mu\text{g/ml}$ et 477

$\mu\text{g/ml}$ respectivement. D'autre part, les HE des échantillons traités par l'extrait d'Algue et l'extrait de posidonie ont présenté une très faible activité antioxydante avec une $\text{IC}_{50} = 680 \mu\text{g/ml}$ et $885 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

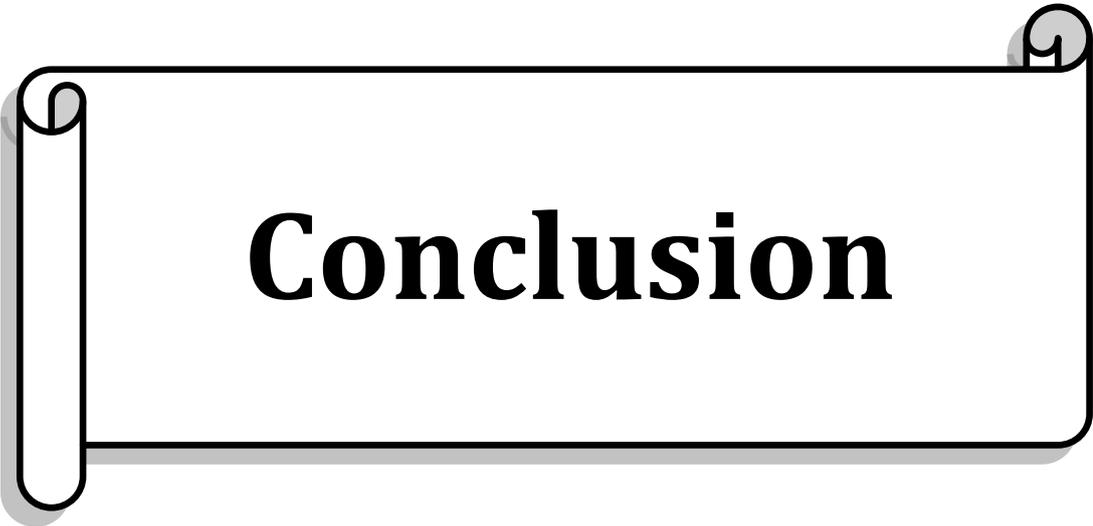
Des études antérieures ont rapporté une grande variation dans l'activité antioxydante des huiles essentielles de *M. pulegium* L. **Hajlaoui et al. (2009)** ont rapporté une forte capacité antioxydante de l'huile essentielle ($\text{IC}_{50} = 10 \mu\text{g/ml}$). Le composé majoritaire de cette huile est le pulégone (61.11%), s'est révélé être un bon antioxydant (**Ruberto et Baratta, 2000**), ceci peut donc expliquer le fort pouvoir antioxydant de cette huile essentielle contrairement à la notre où nous avons noté l'absence totale du pulégone.

Le même constat pour l'huile essentielle de *M. pulegium* L. d'Iran qui s'est avéré posséder une faible capacité antioxydante ($\text{IC}_{50} = 14736 \mu\text{g/ml}$).

Aussi, de forts pouvoirs antioxydants de l'extrait ont été rapportés dans plusieurs travaux.

Stagos et al. (2012), **Khaled-Khodja et al. (2014)** et **Hajlaoui et al. (2015)** ont noté une valeur d' IC_{50} de $28 \mu\text{g/ml}$, $51 \mu\text{g/ml}$ et $33.53 \mu\text{g/ml}$ dans leurs travaux respectifs.

Cette variabilité est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique des huiles essentielles (**Ruberto et al., 2000**).



Conclusion

Conclusion :

Le présent travail a visé la production en masse et l'amélioration de la qualité pour une meilleure valorisation de la menthe pouliot; plante médicinale et aromatique très prisée par l'industrie pour ses multiples vertus.

A cet effet trois échantillons de plants spontanés de *Mentha Pulegium* ont été récoltés de trois régions d'Algérie : de la montagne de Chréa (Blida), de la Montagne de Sidi Ali Bouneb (Tizi-Ouzou) et de la parcelle de Ballili (Bousmail). Un essai de leur culture a été entrepris sous serre et sous l'effet des produits naturels préparés par décoction à partir d'une plante spontanée : l'Ortie, d'une algue marine : *Ulvasp.*, et d'une plante aquatique marine : la Posidonie, en présence de témoin représenté par l'eau de robinet. Tous ces intrants biologiques ont été utilisés par arrosage des plants une fois par semaine. L'irrigation par l'eau de robinet a été apportée en cas de besoin.

Cette étude a fait l'objet d'évaluation des paramètres de croissance des plants cultivés en considérant les phases : feuillaison et floraison. Les plantes spontanées et cultivées récoltées séparément lors des phases précitées ont été sujettes à l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation où les rendements ont été calculés pour l'ensemble des échantillons. L'extraction et la détermination des rendements et des teneurs a porté également sur les trois types de chlorophylle ainsi que, les polyphénols totaux et les flavonoïdes sans compter évaluation de l'activité anti-oxydante et ceci pour les deux types de plants : spontané et cultivé et selon les deux phases considérées.

concernant les paramètres de croissance les plus importants en nombre de feuilles dans la région de Chréa (61.55) sous l'effet de traitement à base d'ortie en phase floraison.

par ailleurs les hauteurs des plantes les plus importants dans la région de Chréa (57.25) sous l'effet de traitement à base d'ortie en phase floraison.

aussi pour les sommités floral des plantes les plus importants dans la région de Chréa (18.11) sous l'effet de traitement à base d'ortie

Pour les poids frais et sec des plantes cultivées sont plus importants dans la région de Chréa (.16.47), (5.66) sous l'effet du traitement à base d'ortie en phase floraison

par ailleurs l'analyse des résultats des paramètres physiologiques ont montré une teneur en chlorophylle totale dans la région de Chréa il est de (74.56) sous l'effet de traitement a base d'ortie.

Le rendement en huiles essentielles a été plus important à l'état spontané dans la région de Tizi-Ouzou (0.57%) mais, par degré moindre (0.44%) pour l'état cultivé des régions de Chréa et de Tizi-Ouzou sous l'effet de traitement à base d'Ortie en phase de floraison.

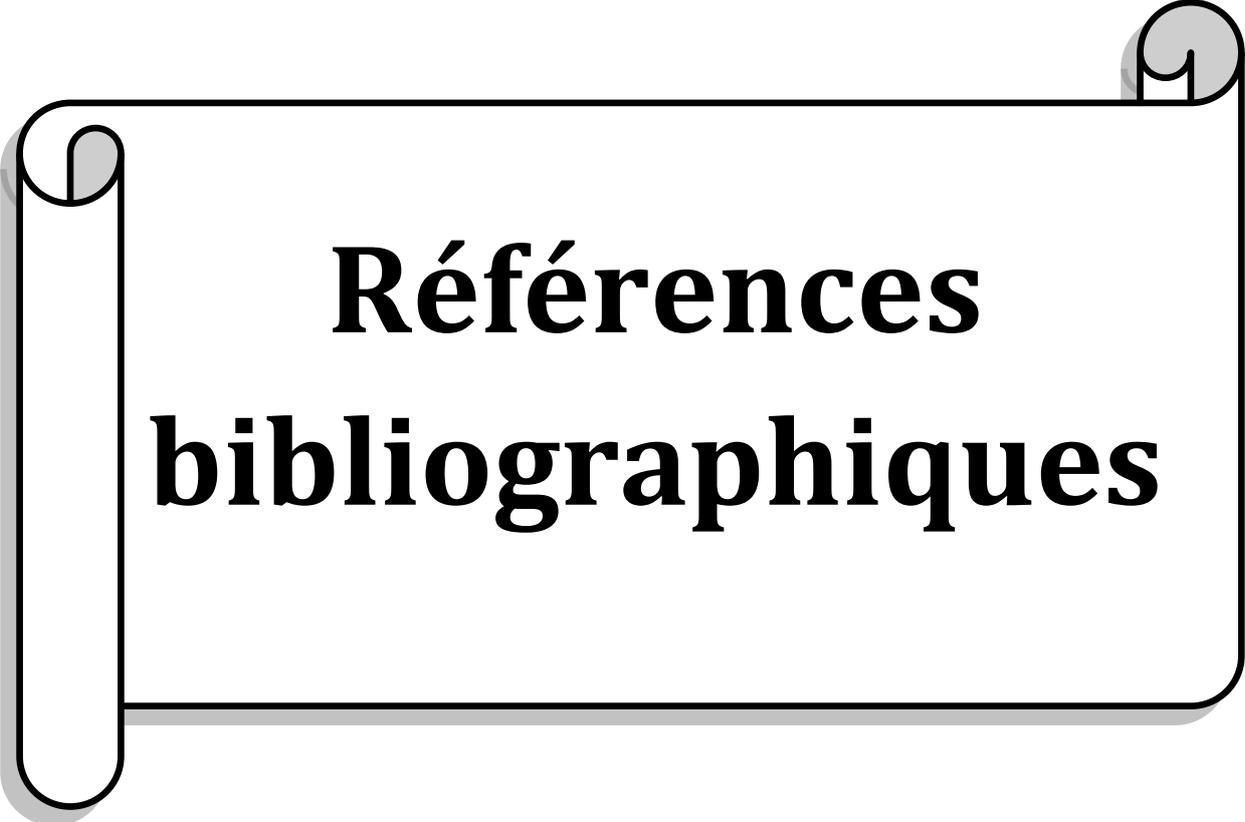
L'activité anti-oxydante des radicaux libres a été nettement améliorée en culture des plants. Le pouvoir antioxydant le plus important a été enregistré pour l'état spontané des plants récoltés de la région de Chréa (299.02µg/ml) et pour l'échantillon cultivé de la région de Bousmail sous l'effet du traitement préparé à base d'Ortie (439µg/ml).

Les teneurs en poly phénols totaux ont connu une amélioration nette en culture. Les plus importantes valeurs enregistrées pour l'état spontané correspondent à la région de chréa (590mgEAG/g d'extrait) alors que des valeurs plus importantes ont été relevées pour l'échantillon cultivé de la même région mais sous l'effet du traitement préparé à base d'ortie (681 mgEAG/g d'extrait).

La teneur en flavonoïdes a été également affectée où les plantes spontanées récoltées de la région de Chréa ont montré la plus importante teneur (166mgEQ/g d'extrait) à des teneurs avoisinantes ont été relevées pour les plants cultivés de la région de Chréa sous l'effet du traitement préparé à base d'Ortie (161mgEQ/g d'extrait), et légèrement moins faibles pour ceux cultivés sous l'effet du traitement préparé à base de la posidonie (151mgEQ/g d'extrait) , durant la phase de floraison .

Plusieurs perspectives s'ouvrent à la recherche :

- Il est important de rechercher d'autres chemotypes de la menthe pouliot en Algérie ,
- Installer d'autres essais de culture sous l'effet d'autres biostimulants,
- Produire des semences biologiques et installer des pépinières de plants pour une culture à grande échelle de Menthe pouliot en Algérie.
- Faire l'analyse chimique des métabolites secondaires particulièrement les huiles essentielles pour sélectionner le meilleur chémotype algérien spontané et cultivé et faire ressortir le meilleur biostimulant selon les deux phases : végétative et floraison.
- Valoriser les biomolécules de cette plante dans l'industrie.



**Références
bibliographiques**

- **Abderrazak M. & Joël R., (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris. 177 p avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges. B. (1999) Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3- kinase. General Pharmacology. **32**:
- **Ait Youssef M., 2006 :** plantes médicinales de Kabylie, Edition : IBIS PRESS, Pais, pp : 215-219 ; ISBN : 978-9961-57-259-7. 349p
- **Baba aissa, F., 1999.** Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie, Ed. Librairie moderne-Ruiba .pp. 46-47.
- **Baba Alissa, F., 2000.** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba. pp. 46.
- **BADIAGA M., 2011-** Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologique de *Nauclea latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au mali. Thèse de doctorat en chimie organique. Université de bamaco Mali. p183.
- **Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Reduit, Mauritius. 83-94.
- **Beghidja N., Bouslimani N., Benayache F., Benayache S. & Chalchat J.C., (2007).**Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria. *Chem. Nat. Comp.* 43: 481-483.
- **Bellakhdar, J., 1978.** Médecine traditionnelle et toxicologique Ouest Saharienne,
- **Beloued A., 2001 :** plantes médicinales d'Algérie. OPU, Alger, 270
- **Beloued, A., 2001.** Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des publications universitaires. Biological Sciences. 6(3): 191–198.
- **Benabdallah A., 2008.** Contribution à l'étude histologique, phytochimique et antimicrobienne d'une plante aromatique et médicinale: *Mentha pulegium* L. Thèse de Magister, Département de Biologie, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
- **Boizot N. & Charpentier .J.P., (2006)** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés
- **Botany., 2001.** Algae: Native *Ulva Rigida* C Agardh 1823 : University of Hawaii at Manoa.
- **BOUAL Z., 2009-** Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien). Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah Ouargla. p80.
- **Boud et A. M., 2000.** L'usine chimique. 9èmeconférence de l'université de tous les

- **Boullard, B., 2001.** Dictionnaire : plantes médicinales du monde. (*Réalités et Croyances*)
- **Bravo L., 1998.** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 56(11): 317-333
- **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes Médicinales. Ed. Tec & Doc,
- **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd. Ed. Tec & & Doc, Lavoisier, Paris
- **Bruneton, J., 1993.** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- **Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris. pp.1120.
- **BUCHANAN., 2008-** Métabolites secondaires. Cap. 24. p32.
- **Burits M., & Bucar F.,(2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, p:323–328
- **Chouikhi A., 2013.** Potential applications of marine seaweeds and pharmacological activities of their metabolites: A review. *International Congress of the Populations & Animal Communities*:40.
- **Collin F., 2007 :** identifier les fleurs du Maroc Atlantique par leur couleur, rabat, p 154
- **Collin, S., Crouzet, J., (2011).** Polyphénols et procédés. Lavoisier. pp. 6, 11.
- **Couic-Marinier F. et Lobstein A.,(2013) :** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l’officine. *Actualités pharmaceutiques critical review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 9: 345-373
- **Crouch, I.J. and van staden., (december 1992)** Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants of applied phycology, vol. 4, n°4, 291-296
- **Crozier A., Clifford M.N. & Ashihara H., (2006).** Plant secondary metabolites: occurrence, cultivadas. *Instituto Plantarum.* pp. 512. Chemonics International, “Strategie nationale de developpement du secteur des plantes aromatiques et medicinales.” *Agriculture & Agrobusiness Integres, Mission USAID/Maroc, 2008.*[65] "http://
- **Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G., (2003).** The effectiveness of plant essential activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *J. Essent. Oil Res.* 18: 698-703. activity. *J. Flavour and Fragrance*, 9, 125 – 129. *Anal.* 1: 25-34
- **Dai J. & Mumper R.J.,(2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* **15**: 7313–7352.
- **Delarmelina, C., 2005.** Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. *J. of Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1999, 1120p*

efficacy in food system. *Food Res. Int.* 49: 201–208. Egypt and its antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plant.* 9: 183–195.

- **Delille L., 2007** : les plantes aromatiques en Algérie, Ed Berti, Alger, 163p
- **Dellile, L., 2007.** Les plantes médicinales. *Chem.* 72(2): 145-171.classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal commision's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university.contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Ed. Techniques Nord-africaines, Rabat.
- **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A. & Capasso F., (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 65 (4): 337-53.diseases. *Curr. Opin. Lipidol.* 16: 1–8.Doc, Lavoisier, Paris. Documentaire, Techniques d'analyse, Dossier : P1092, vol. TA1.
- **Dubois G.E., Grosbay G.A. & Saffron P., (1977).** Non-nutritive sweeteners: Taste-structure Ed. *ESTEM.* pp.348.
- **Dubois, G.E., Grosbay, G.A., Saffron, P., (1977).** Non nutritive Sweeteners : Taste structure relation sips with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195, 397-399.
- **El Fadl A. and N. Chtaina., (2010).** Etude de base sur la culture de la menthe du Maroc. Programme Régional de lutte intégrée contre les organismes nuisibles (Integrated Pest Management) au Proche Orient. Office National de sécurité sanitaire des produits alimentaires (ONSSA).
- **El Gharras H., 2009,.** Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *Int.*
- **El-Ghorab A.H., 2006.** The chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil from essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Ann. bot.* 71 (1): 43-50.*Ethnopharmacology*, 97, 305-311.étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, université Paul Verlaine, Metz. fertilization on Peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil composition and its biological *Fitoterapia*, 48, 191 -214. food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and in vivo France.
- **Erdman, J., Balentine., J.D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Foits, J., Harnly., (2005).** flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North Americaflavonoids workshop, Washington. *Journal of Nutrition*, 137, 718 -737.
- **Garon-Ladiere S., 2004.** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). : 332.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M. & Orecchioni A.M., (2001).** Le préparateur en pharmacie.
- **Guignard, J. L., Dupont, F., (2004).** Botanique : Systématique moléculaire. 13ème éd. Masson. pp. 237.
- **Gully. G., 1989** Les menthes cultivées. 1ère partie: Le matériel végétal et lieux de culture. *Pep. Hort. Mar. Revue horticole*, N° 296.

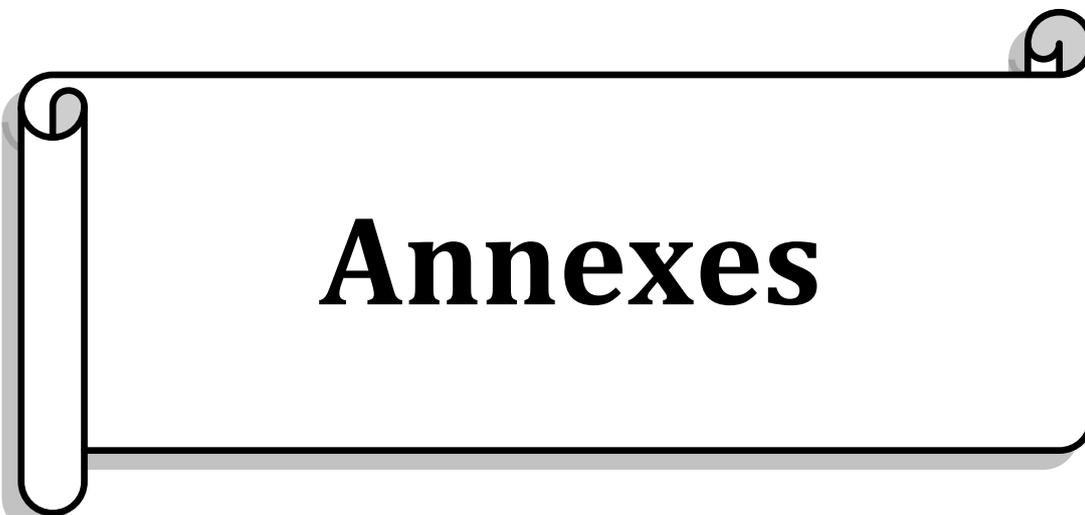
- **Hajllaoui H., Trevelsi N. Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R et Bakhrouf A., (2009):** Biological activities of the essential oils and menthol extract of two cultivated mint species (*Mentha logifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J Microb Biot*, 25,227-2238.
- **Halliwell B., 1995.** Antioxydant characterisation. Methodology and mechanism. 49: 1341-1348.
- **Hammami.S Et Abdesselem M., (2005)** -Extraction et analyse des huiles essentielles de la menthe poivrée de la région de Ouargla. Thèse IngUniv Blida P69.
- **Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V., (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extract.
- **Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J.,** Haworth press , New York. p: 51.
- **Heimeur, N., Idrissi Hassani, L.M., Amine Serghini, M., (2004).** Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *Reviews in Biology and Biotechnology*, 3, 37-42
- **Hmamouchi M., 2001.** Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. 2eme. Ed. 389 p. Hort. Mar. Revue horticole, N° 296.
- **Hutzler P., Fishbach R., HellerW., Jungblut T. P., Reuber S., Schmitz R., Veit** individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson.*
- **ISERIN P., 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2. Ed. Larousse. Londres. 143-225-226p.
- **ISERIN. P., 2001-** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed ISBN. 70p.
- **J. Food Sci. Technol.** 44(12): 2512-2518. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25: 2227–2238.
- **Jayaraj, J., A., rahman, M. and punja, Z, K., (october 2008),** seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot, *Crop protection*, Vol.27, n °101360-1366.
- **JEAN B, LAVOISIER., (2009)** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4ème édition. Paris. p1243
- **Karaali A.,Boyacioğlu D., Güneş G. et Özçelik B., (2004).** Flavonoids in fruit and Lavoisier, Paris Lavoisier, Paris. 211p.
- **Korichi S., 2007 :** Etude du comportement de la menthe poivrée « *Mentha piperita* » sous palmeraies dans la région de ouargla. Université Kasdi Merbah – ouargla.
- **Lahrech., 2010 :** extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha Pulegium L.* ET DE *Saccocalyx satureioides*. Tests D'activités antimicrobiennes et antifongiques. Mémoire pour L'obtention du diplôme de Magister, Université d'Oran Es-Sénia, p88.

- **Laplace C., 2015** TM, Peltre M.C., Lambert E., Rodriguez S., Vergon J.P.. Guide pratique de détermination des algues macroscopiques d'eau douce et de quelques organismes hétérotrophes
- **Lemordant, D., Boukef, K., Bensalem, M., (1977)**. Plantes utiles et toxiques de Tunisie. L'extraction par pression à froid ou expression : (tpehuilesessentiellesetsante.e-monsite.com)
- **Lhuillier, A., 2007** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches agauria salicifolia Hook.f ex Oliver, Agauria polyphylla Baker (Ericaceae), Tambourissa trichophylla Baker (Monimiaceae) et Embelia concinna Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
- **Lis-Balchin M., Buchbauer G., Hirtenlehner T. & Resch M., (1998)**. Antimicrobial Activity
- **List P. H., Horhammer L., Roth H. J., et Schmid W., (1980)** . Hagers Hundbuch der Pharmazeutischen Praxis, 4. Aufl., Bde. Ibis VIII, Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- **Lorenzi, H., Matos, F. J. A., (2002)**. Plantas medicinais do Brasil : Nativas e exóticas
- **Lutge U., Kluge M. & Bauer G., (2002)**. Botanique 3 ème Ed : Technique et documentation.
- **Macheix J.J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C., (2005)**. Les composés phénoliques des malgaches : Agauria salicifolia Hook.f ex Oliver, Agauria polyphylla Baker (Ericaceae),
- **Mahboubi and G. Haggi., (2008)**. "Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 119, no. 2, pp. 325–327, **Manach C., Mazur A. & Scalbert A., (2005)**. Polyphenols and prevention of cardiovascular
- **Marfak, A., 2003** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.
- **Marfak, A., 2003** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite
- **Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli E., (1994)**. Effects of planting time and mineral Masson. pp. 237.
- **MELVYN., 1980-** Mint production in the Midwestern United States. Cooperative estention menthe poivrée de la région d'Ouargla. Thèse IngUniv Blida P69.
- **Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., (2000)**. The effects of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.*, 52, 673-839.
- **Milane, H., 2004** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- **Mohanty, D .,adhikary,S.P.and chattopadhyay,G.N., (2013)**, seaweed liquid fertilizer (slf) and its role in agriculture productivity, the Ecoscan. International quarterly journal of environmental sciences, special issuz, vol III 147-155.

- **Möller K., 2008.** La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Ed. UNICO, Paris.
- **Moure A., Cruz J.M., Franco D., Manuel Dominguez J., Sincero J., Dominguez H.,** moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat ès science. EPFL, Lausanne, Suisse.
- **Muanda F.N., 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et menthes de corse et de kumquats. Thèse de Doctorat, université de Corse, France méridionales. Ed.CNRS, Paris-France, 12, 801-802. *Microbiol.* 27(4) : 207-210
- **Naczki M. & Shahidi F., 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A.* 1054: 95-111.
- **Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R.,(2001).** Bioflavonoid
- **Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R., et Krishina D.R., (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.* 33: 2-16.
- **NESSMANN. P., 1994-**Un voyage au coeur du jardinage (Manuel du jardinage). Genève 592 p.
- **NESSMANN. P., 1994-**Un voyage au coeur du jardinage (Manuel du jardinage). Genève 592 p. north America flavonoids workshop may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.* 137 (3 suppl): 718 s-737 s.
- **Nunez M.J. & Carlos Parajo J., (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food odorata). J. Supercrit. Fluids.* 33(3): 223-233. other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86(6): 985-990. ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat.
- **Paris M. & Hurabielle M., (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1: ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat Paris pp 533-536.
- **Patrick. L., 1985-** de la menthe en Seine-Maritime?. Chambre d'Agriculture de la Seine-Maritime.phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'INRA.* pp: 79-82. Pibiri M.C., 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation
- **Payraastre, Garneau F.-X., (2005).** Le matériel végétal et les huiles essentielles (Laseve-UQAC, Chicoutimi ed.). généralités, monographies. Ed. Masson, généralités, monographies. Ed. Masson, Paris.
- **Piquem., 2008.**Les flavonoïdes (en ligne) :[http://www.detoursante.com/index.php?plants by confocal laser scanning microscopy](http://www.detoursante.com/index.php?plants%20by%20confocal%20laser%20scanning%20microscopy). *Journal of experimental botany.*, 49 (323) : 953
- **Platzer N., 2002.** Application de la RMN à la détermination des structures. Base polytechnologiques et universitaires romandes, Collection Biologie, Lausanne. pp: 4-5, 192. pp.136, 196.

- **Prakash B., Singh P., Kedia A. & Dubey N.K., (2012).** Assessment of some essential oils as *Protection*, 22, 39 – 44
- **Quezel, F., Santa, S., (1963).** Nouvelle flore de l'algérie et des régions désertiques
- **Rai M. K., Acharya D. & Wadegaonkar P., (2003).** Plant derived-antimycotics: Potential of relationships for some new simple dihydrochalcones. *Science*. **195**: 397-399.
- **Roger. S., 1984-** Essence de menthe dans le monde. Communication au 1er colloque international sur les plantes aromatiques et médicinales du Maroc. Rabat, Mai 1984.
- **Salzer U.J., 1977.** The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- a savoirs. France. P1-16.
- **Seidemann J., et Wurzmittel-Lexikon B., (1997).** Behr's Verlag, Hamburg. Service des affaires économiques. service. Michigan State University. P 1-18.
- **Sharififar F. , Moshafi M.H. , Mansouri S.H., Khodashenas M. & Khoshnoodi M., (2007).** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora Boiss.* *Food Control* 18, p: 800–805.
- **Sijelmassi, A., 1991.** Les plantes médicinales du Maroc. *2ème Ed. Le fenec.*
- **Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A., (2006).** Antimicrobial species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine.
- **Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., (1995).** Antimicrobial activity of mint essential oils. *J Agric. Food Chem.*, 43, 2384 - 2388.
- **Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., (1995).** Antimicrobial activity of species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. World
- **Sutour S., 2010.** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de tambourissa *trichophylla Baker* (Monimiaceae) et *Embelia concinna Baker* (Myrsinaceae).
- **Teixeira Duarte, M. C., Mara Figueira, G., Sartoratto, A., Rehder, V. L. G., (1984).** the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Strasbourg. structure and role in the human diet.* Ed. Blackwell Publishing Ltd, UK. sur les plantes aromatiques et médicinales du Maroc. Rabat,
- **Teuscher E, Anton R, et Lobstein A., (2005) :** plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc. Lavoisier, Paris, 552p
- **Thèse de doctorat. Toulouse.Tomi F., Bradesi P., Bighelli A. & Casanova J., (1995).** Computer-aided identification of Turkey vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. *European végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* Ed. Presses
- **W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J.,**

- **W., Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Rizenthaler C., Meyer D., Lepierre C., Pollet B. et Legrand M., (1994)** . Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. 16 (4): 1446-1465.
- **Werker E., Putievsky E., Ravid U., Dudai N. & Katzir I., (1993)**. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* (Lamiaceae)
- **Wichard T., 2015**. Algal of the year 2015: The Sea Lettuce *Ulva* only gets into shape with the right bacteria. Website of the Phycology Section of the German Botanical Society:
- **Williamson G. ET Burrows J., (2007)**. Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI world J. Microbiol. Biotechnol. 25: 2227–2238
- **Wu J.H., Wang X.H., Yi Y.H. & Lee K.H., (2003)**. Anti-AIDS agents 54. A potent anti-HIV
- **YOUSSEF A.N., 1990-** Dictionary of Medicinal plants, Librairie du Liban 160 p.
- **Zargari A., (1990)**. Herbal Medicines. Publication of Tehran University, Tehran, pp. 14–18

A decorative scroll graphic with a black outline and a light gray shadow. The scroll is unrolled, showing the word "Annexes" in a bold, black, serif font. The scroll has a small circular detail at the top right corner, suggesting a binding or a rolled-up edge.

Annexes

Annexe 1 : Les étapes de travail du sol



Figure29 : Serre expérimentale avant et après désherbage.



Figure30 : Laboure manuel du sol.



Figure 31 : Ratissage du sol.



Figure 32 : Traçage des blocs expérimentaux

Annexe 2 : Bouturage des tiges



Figure 33 : Bouturage des tiges.

Annexe 3 : Déplacement des tiges dans des sachets



Figure 34 : Déplacement des tiges dans des sachets

Annexe 4 : déplacement des plants vers le sol sous serre



Figure35: déplacement des plants vers le sol sous serre.

Annexe 5: stockage des traitements (extraits aqueux d'Ortie, d'Algue et de posidonie) et d'eau.



Figure36 : Conservation des extraits aqueux.



Figure37: La réserve d'eau

Annexe 6 : suivi de la culture





Figure 38 : Le suivi de la culture a porté sur deux stades phénologiques

Annexe 7 : technique de séchage à l'aide d'énergie solaire



Figure 39 : séchage à l'aide d'énergie solaire

Annexe 8 : Matériel utilisé :

- Pipette pasteur,
- Portoir,
- Seringue,
- Tube à essai
- papier filtre
- plaque chauffante
- Papier aluminium,
- Becher.
- Barreau magnétique,
- Crayon marqueur,
- Ecouvillon,
- Etiquette,
- Erlenmeyer,
- Ballon de 1000 ml
- Ependourffe
- Clevenger
- Chauffe ballon
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre

❖ **Réactif :**

- Eau distillé
- Acétone
- Folin-ciocaltau
- Carbonat de sodium
- Ethanol
- Méthanol