



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès
Centre d'Etudes Doctorales
"Sciences et Technologies"

Formation Doctorale : Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies

Discipline : Biologie

Spécialité : Physiologie, Pharmacologie, et Santé Environnementale

Laboratoire : Physiologie-Pharmacologie et Santé Environnementale

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

M e r y e m B A K O U R

Recensement des plantes mellifère-médicinales de la région Fès-Meknès : caractérisation phytochimique et propriétés pharmacologiques des pollens des fleurs et du pain d'abeille

Soutenue le 23 Février 2019 devant le jury composé de :

Pr. Abdallah SOULEIMANI	Faculté des Sciences Dhar Mahraz, Fès	Président
Pr. Abdelaziz BOUKLOUZE	Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat	Rapporteur
Pr. Mondher ELJAZIRI	ULB, Bruxelles, Belgique	Rapporteur
Pr. Touria ZAIR	Faculté des sciences Meknès	Rapporteur
Pr. Fatima LAMCHOURI	Faculté Polydisciplinaire, Taza	Examineur
Pr. Abdelfattah ABDELLAOUI	Faculté des Sciences Dhar Mahraz, Fès	Examineur
Pr. Abdelmalek BOUTALEB	Ecole Nationale d'Agriculture, Meknès	Examineur
Pr. Badiaa LYOUSSI	Faculté des Sciences Dhar Mahraz, Fès	Directeur de thèse

Dédicace

Je dédie cette thèse

Aux êtres les plus chers : Mes parents,

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il sera l'accomplissement de tous tes efforts.

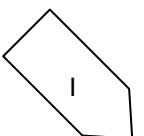
A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui, c'est à vous MES CHÈRES PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde !

A mes chers frères et sœurs

A ma grande famille, mes amis et collègues et tous ceux et toutes celles que j'ai involontairement omis de citer et qui n'en demeurent pas moins chers



Remerciements

On dit que dans un manuscrit de thèse, la page de remerciements est à la rigueur la seule à être lue attentivement après la soutenance. J'espère que ce sera au moins le cas pour celle-ci.

Je tiens tout d'abord à adresser mes profonds remerciements et ma profonde reconnaissance à mon encadrante **Pr: Badiaa LYOUSSI**, pour m'avoir accueillie dans le Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie et santé environnementale. Je vous remercie de la confiance et de la liberté que vous m'avez accordée ainsi que pour les conseils avisés que vous m'avez prodigués. Merci pour la grande compétence et l'humanisme qui vous caractérisent.

Je tiens à remercier très sincèrement les membres de mon jury de thèse, pour l'honneur qu'ils m'ont accordé. En premier lieu, son président **Pr: Abdallah SOULEIMANI** pour la justesse de ses commentaires, son souci de cohérence, mais aussi les agréables discussions que j'ai partagées avec lui. Mes rapporteurs, **Pr: Mondher ELJAZIRI**; **Pr: Abdelaziz BOUKLOUZ** et **PR: Touria ZAIR** : pour la précision de leurs remarques et l'incroyable attention qu'ils ont portée à la lecture de mon document. Mes examinateurs, **Pr: Fatima LAMCHOURI**; **Pr: Abdelmalek BOUTALEB** et **PR: Abdelfattah ABDELLAOUI** pour leur enthousiasme et leur ouverture d'esprit, merci à vous pour avoir accepté de faire parti de mon jury et porté une lecture attentive de ce document.

Je remercie tout particulièrement **Pr Maria GRAÇA CAMPOS**, « Laboratoire de pharmacognosie, faculté de pharmacie, université de Coimbra, campus des sciences de la santé, Azinhaga de Santa Coimbra, Portugal ». Vous resterez à jamais dans ma mémoire un symbole de la gentillesse, de la persévérance, du sérieux, merci encore une fois pour votre soutien permanent. J'espère du fond du cœur que vous trouvez dans cette thèse l'accomplissement de vos efforts et votre contribution à ce travail.

Je tiens à remercier également Pr **Anna Cristina Figuera**, « Département de génie alimentaire, Institut d'ingénierie, Université de l'Algarve, Faro, Portugal ». Soyez assurée de ma profonde estime et de ma sincère gratitude.

Mille mercis à Pr **Isabel C. F. R. Ferreira**, « Centre de recherche sur la montagne (CIMO), Institut polytechnique de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Bragança, Portugal ». Pour la collaboration fructueuse avec vous, je vous prie de recevoir l'expression de ma plus profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier également **Angela Fernandes, Lillian Barros**, « Centre de recherche sur la montagne (CIMO), Institut polytechnique de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Bragança, Portugal » et **Marina Stokovic**, « Université de Belgrade, Département de physiologie végétale, Institut de recherche biologique "Siniša Stanković", Bulevar Despota Stefana Belgrade, Serbie ». Recevez ici le témoignage de ma profonde gratitude et de mon admiration.

Je remercie infiniment Dr **Noori S. Al-Waili** « New York Soins médicaux pour la néphrologie, Richmond Hill, États-Unis » pour votre soutien et l'engagement que vous avez témoigné à mon égard durant cette thèse. Je mesure la chance que j'ai eue de bénéficier de votre expérience.

Je remercie Pr **Bouchra OUMOKHTAR**, « Laboratoire de microbiologie, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Fès, Maroc ». Je mesure la chance d'avoir pu passer 6 mois à vos côtés en tant qu'au stagiaire. Votre professionnalisme, votre disponibilité, votre expérience et votre patience ont été un grand soutien pour moi. Recevez ici le témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde estime.

Un immense merci à Dr: **Hammas Nawal** et Dr : **El Fatemi Hinde** « Laboratoire d'anatomie Pathologie du centre hospitalier universitaire de Fès pour leurs aides », Je voudrais remercier tous les membres du laboratoire pour leur accueil et particulièrement Dr: Hammas Nawal pour leur savoir-faire et leur gentillesse.

Je remercie infiniment Pr : **ELBOUAZZAOUI Mohamed** pour leur aide, Soyez assuré de ma profonde gratitude.

Merci à Pr **Smail aazza** pour votre soutien et le partage de votre savoir- faire, Reçez ici le témoignage de ma reconnaissance.

Merci à Mr **Said hlali** pour la traduction du résumé de cette thèse en Amazigh.

Merci à Mme Amina ELOUJGLI pour votre aide

Bien sûr, que serait une thèse sans d'autres thésards et stagiaires avec qui j'ai partagé cette expérience. Merci à **Nawal EL-MENYIY, Asmae ELGHIOUIZI, Salma ELFETRI, soukaina el guendouz**, Merci pour les bons moments que j'ai partagés avec vous.

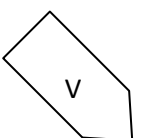
Merci également à **Youssef El AMINE, Hassan LAAROUSSI, Driss OUSSAID, Tarik ELARAJ, Redouan ELHASKOURY, Nihimi NZOYIKORERA, Houda ELMSELEK, Najoua SOULO, Amal Taroq, Fatima KAMARI, et ABOULGHAZI Abderrazak.**

Je remercie les apiculteurs pour leur implication dans cette thèse et leur transmission de la passion de l'apiculture et des abeilles

AVANT PROPOS

Les travaux de la présente thèse ont été effectués dans les laboratoires suivants:

1. Laboratoire de Physiologie-Pharmacologique et Santé environnementale, Faculté des sciences Dhar Elmehraz, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès
2. Laboratoire de microbiologie, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Fès, Maroc.
3. Institut d'ingénierie, Département de génie alimentaire, Université de l'Algarve, Faro, Portugal.
4. Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, Université de Coimbra, Campus des sciences de la santé, Azinhaga de Santa Coimbra, Coimbra, Portugal.
5. Centre de recherche de Montanha (CIMO), Institut polytechnique de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Bragança, Portugal.
6. Institut de recherche biologique "SinišaStanković», Département de physiologie végétale, Université de Belgrade, Boulevard Despota Stefana Belgrade, Serbie



Liste des articles publiés dans des journaux indexés

1. **Bakour, M.**; Al-Waili, N. S.; El Menyiy, N.; Imtara, H.; Figuera, A. C.; Al-Waili, T.; Lyoussi, B. Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity. *J. Food Sci. Technol.* **2017**, *54*, 4205–4212, doi: 10.1007/s13197-017-2889-9. **(Impact factor: 1.797)**.
2. **Bakour, M.**; Soulo, N.; Hammas, N.; Fatemi, H.; Aboulghazi, A.; Taroq, A.; Abdellaoui, A.; Al-Waili, N.; Lyoussi, B. The Antioxidant Content and Protective Effect of Argan Oil and Syzygium aromaticum Essential Oil in Hydrogen Peroxide-Induced Biochemical and Histological Changes. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 610, doi: 10.3390/ijms19020610. **(Impact factor:3.687)**
3. **Bakour, M.**; Al-Waili, N.; El-Haskoury, R.; El-Menyiy, N.; Al-Waili, T.; AL-Waili, A.; Lyoussi, B. Comparison of hypotensive, diuretic and renal effects between cladodes of *Opuntia ficus-indica* and furosemide. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2017**, *10*, 900–906, doi:10.1016/j.apjtm.2017.08.016. **(Impact factor:1.634)**
4. **Bakour, M.**; Fernandes, A; Barros L; Sokovic M; Ferreira I; Badiia lyoussi. Bee bread as a functional product: chemical composition and bioactive properties. *LWT - Food Sci. Technol.* 2019 doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.008>. **(Impact factor: 3.129)**
5. El Menyiy, N.; Al-Waili, N.; El-Haskoury, R.; **Bakour, M.**; Zizi, S.; Al-Waili, T.; Lyoussi, B. Potential effect of *Silybum marianum* L. and *Cistus ladaniferus* L. extracts on urine volume, creatinine clearance and renal function. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2018**, *11*, 393, doi:10.4103/1995-7645.234768. **(Impact factor:1.634)**
6. Fihri, A. F.; Al-Waili, N. S.; El-Haskoury, R.; **Bakour, M.**; Amarti, A.; Ansari, M. J.; Lyoussi, B. Protective Effect of Morocco Carob Honey Against Lead-Induced Anemia and Hepato-Renal Toxicity. *Cell. Physiol. Biochem.* **2016**, *39*, 115–122, doi: 10.1159/000445610. **(Impact factor:5.5)**
7. El Menyiy, N.; Al Waili, N.; **Bakour, M.**; Al-Waili, H.; Lyoussi, B. Protective Effect of Propolis in Proteinuria, Crystaluria, Nephrotoxicity and Hepatotoxicity Induced by Ethylene Glycol Ingestion. *Arch. Med. Res.* **2016**, *47*, 526–534, doi:10.1016/j.arcmed.2016.12.010. **(Impact factor:2.024)**
8. Hamada Imtara, Noori Al-Waili, **Meryem Bakour**, Wail Al-Waili and Badiia Lyoussi .Evaluation of antioxidant, diuretic, and wound healing effect of Tulkarm honey and its effect on kidney function in rats . *VET_11(10)_21*, 1491-1499 EISSN: 2231-0916. **(Impact factor:0.39)**

Liste des résumés publiés et des articles soumis

Résumé 1: Argan Oil and Clove Essential Oil Improves Biochemical and Histological Change by Reducing Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide in Wistar Rats; “**Meryem BAKOUR**, Najoua SOULO, Hamada IMTARA and Badiaa LYOUSSI”, International journal of molecular science. 2017, 18, 1-41.

Résumé 2: Protective Effect of Argan Virgin Oil on Titanium Dioxide Nanoparticles Induced Toxicity and Oxidative Stress in Wistar Rats, “**Meryem BAKOUR**, Najoua SOULO, and Badiaa LYOUSSI”, International journal of molecular science. 2017, 18, 1-41.

Article soumis 1: Antioxidant and Antibacterial Activity of Pollen Grains Extracts of Six Melliferous Plants” **Meryem BAKOUR**; Bouchra OUMOKHTAR; Badiaa LYOUSSI”.

Article soumis 2: Melliferous flora in the Fez-Meknes region ”**Meryem BAKOUR**; Hassan LAAROUSSI; Nawal EL-MENYIY; Tarik ELARAJ; Salma ELFETRI; Asmae ELGHIOUZI; Badiaa LYOUSSI”

Article soumis 3: Hypoglycemic and Hypolipidemic effect of acute and sub-chronic administration of Ethyl acetate extract of Bee Bread in normal and diabetic rats “**Meryem BAKOUR**; Nawal EL-MENYIY; Asmae EL-GHOUIZI; Salma EL-FETRI; Badiaa LYOUSSI”

Article soumis 4: Antioxidant content, free radical scavenging activity and identification of Phenolic/Flavonoid compounds in pollen of fourteen plants using HPLC-DAD analysis. “**Bakour, M**; Campos, MG; Imtara, H; Lyoussi, B.”

Article soumis 5 : Physicochemical characterization and antioxidant activity of Midelt artisanal vinegars” driss OUSAAID, Ismail Mansouri ; Hassan Laaroussi; **Meryem Bakour**; Badiaa Lyoussi; Ilham El Arabi.

Liste des communications orales ET affichées

CO1: Antioxidant content, free radical scavenging activity and identification of phenolic/flavonoid compounds in pollen of fourteen plants using HPLC-DAD analysis “**Meryem Bakour**, Graca Campos Maria, Badiaa LYOUSSI” le 6^{ème} symposium international sur les plantes aromatiques et Médicinales: (Marrakech 16-mars2017)

CO2: Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity “**Meryem Bakour**; Noori S. Al-Waili; Nawal El Menyiy; Hamada Imtara; Anna Cristina Figuera; Thia Al-Waili; Badiaa Lyoussi” deuxième journée des doctorants en biologie de IUSMBA: (Fès 10-mai-2017).

CO3: Effects of acute and subchronic administration of ethyl acetate extract of bee bread in normal and diabetic rats” **Meryem Bakour**; Redouane Elhaskoury; Nawal Elmenyiy; Asmae Elghouizi; Salma Elfetri; Badiaa Lyoussi” premier congrès international des maladies chroniques at qualité de vie (Fès 2016).

CO4: Comparison of hypotensive, diuretic and renal effects between cladodes of *Opuntia ficus indica* and furosemide” **Meryem Bakour**, Noori Al-Waili, Redouan El-Haskoury, Nawal El-Menyiy, Thia Al-Waili, Ali AL-Waili, Badiaa Lyoussi” 1^{er} rencontre international des jeunes chercheurs sur les plantes aromatiques et médicinales: (Meknès octobre 2014).

CO5: Protective effect of argan virgin oil on titanium dioxide nanoparticles induced toxicity and oxidative stress in wistar rats” **Meryem Bakour**; Najoua soulo; Nawal HAMMAS, Hinde EL FATEMI, Abderrazak ABOULGHAZI, Badiaa Lyoussi” congrès international of Benefits of Argan Oil on Human Health (Errachidia 4-6 mai 2017).

CA1: Bee bread-origin, composition, properties and uses against aluminum chloride-induced anemia in wistar rats.” **Meryem Bakour**; Noori S. Al-Waili; Nawal El Menyiy; Hamada Imtara; Anna Cristina Figuera;Thia Al-Waili;Badiaa Lyoussi” congrès international biotechnologies au service de la société (Fès 22-24 octobre 2015).

CA2 : Le pouvoir hypoglycémiant et antioxydant des cladodes d’*opuntia-ficus-indica*” **Meryem Bakour**, Redouan El-Haskoury, Nawal El-Menyiy, Badiaa Lyoussi” 1^{er} congrès international : substances naturelles et modélisation : applications thérapeutiques, environnementale et développement durable (Taza 2014).

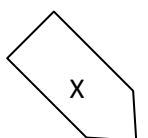
CA3: Antioxidant and antibacterial activities of pollen grains of six plants against pathogenic bacteria responsible of nosocomial infections “**Meryem Bakour**, Bouchra OUMOKHTAR, Badiaa Lyoussi” premier congrès international: maladies chroniques et qualité de vie” (Fès 2016).

CA4: Argan oil and clove essential oil improves biochemical and histological change by reducing oxidative stress induced by hydrogen peroxide in wistar rats”**Meryem Bakour**; Najoua soulo; Nawal HAMMAS, Hinde EL FATEMI, Abderrazak ABOULGHAZI, Badiaa Lyoussi” congrès international of Benefits of Argan Oil on Human Health (Errachidia 4-6 mai 2017).

CA5: Effect of the extract of cladodes of *opuntia-ficus-indica* on diuresis and blood pressure in animals” **Meryem Bakour**, Noori Al-Waili, Redouan El-Haskoury, Nawal El-Menyiy, Thia Al-Waili, Ali AL-Waili, Badiaa Lyoussi”le 6 ème symposium international sur les plantes aromatiques et Médicinales: (Marrakech 16-mars2017).

Liste des prix ET distinctions

1. Deuxième prix du jury de la meilleure vidéo scientifique au sein du 3ème Forum des doctorants sous le thème « scientifiques mais aussi artistes ».
2. Deuxième prix du meilleur business model canevas au sein du doctoriales 2017 de l'université sidi Mohammed Ben Abdellellah organisé à la cité d'innovation.
3. Premier prix de la meilleure communication affichée du symposium international sur les effets bénéfiques de l'Huile d'argan sur la santé Humaine organisé à Errachidia.
4. Troisième prix de la meilleure communication affichée du 1^{er} forum des doctorants organisé par le pole Santé, Recherche Biomédicale, Biomolécules et Qualité de vie organisé à la faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès.



Résumé

Objectifs: l'objectif de la présente thèse se situe d'une part dans le cadre de réaliser un recensement des plantes mellifères de la région Fès-Meknès. D'autre part, l'exploration des analyses phytochimiques et des propriétés pharmacologiques des pollens des fleurs et du pain d'abeille produit dans la région Fès-Meknès.

Matériels et méthodes : un inventaire des plantes mellifères, précédé par une pré-enquête sur l'état de l'apiculture dans la région a été réalisé. Le contenu en antioxydants, l'activité antibactérienne et l'identification des composés phénoliques pour les pollens des plantes mellifères sélectionnées ont été effectués. Pour le pain d'abeille, l'analyse palynologique, la valeur nutritionnelle et la composition chimique ont été évaluées et trois activités biologiques ont été menées *in vitro* : activité antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse. Par ailleurs, l'effet protecteur contre le diabète de type 1 et contre la toxicité de l'aluminium ont été évalués *in vivo*.

Résultats : le recensement des plantes mellifères de la région Fès-Meknès a permis de répertorier 104 plantes mellifères réparties en 32 familles. Les pollens récoltés des plantes présentent une bonne source de composés phénoliques, tels les dérivés de l'apigénine, lutéoline, quercétine et des acides phénoliques, tels que l'acide caféique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, dotés d'un potentiel antibactérien, en l'occurrence les pollens de *Punica granatum* et *Quercus ilex*.

Le pain d'abeille est riche en protéines, minéraux, lipides, sucres, acides gras saturés et poly-insaturés, α -tocophérol et δ -tocophérol, et des antioxydants naturels, tels que les dérivés de flavonol glycosides, l'Isorhamnétine-O-hexosyl-O-rutinoside est le principal composé phénolique présent dans le pain d'abeille. L'évaluation des activités biologiques des extraits du pain d'abeille a montré, qu'il possède une bonne activité antioxydante (DPPH, FRAP,) associée à un potentiel antibactérien très intéressant, il représente en outre un bon candidat pour la prévention des maladies, telles que le diabète, et la toxicité de l'aluminium *in vivo*.

Conclusion : cette étude contribue à la valorisation des plantes mellifères de la région Fès-Meknès. Le pain d'abeille qui représente du pollen fermenté a montré de grandes diversités de résultats en termes de compositions chimiques et d'activités biologiques lui conférant une source précieuse pour la nutrition et la santé humaine.

Mots clés: Plantes mellifères, Pollens des fleurs, Pain d'abeille, Région Fès-Meknès, Pathologies associés au stress oxydatif.

Abstract

Objectives: the objective of this thesis is, firstly, to carry out a census of honey plants in the Fez-Meknes region. On the other hand, the exploration of phytochemical analyzes and pharmacological properties of pollen flowers and bee bread produced in the Fez-Meknes region.

Material and methods: an inventory of honey plants, preceded by a pre-survey on the state of beekeeping in the region was carried out. The antioxidant content, the antibacterial activity and the identification of the phenolic compounds for the pollens of the selected honey plants were carried out. For bee bread, palynological analysis, nutritional value and chemical composition were evaluated and three biological activities were conducted *in vitro*: antioxidant, antimicrobial and anticancer activity. In addition, the protective effect against type 1 diabetes and the toxicity of aluminum was evaluated *in vivo*.

Results: the census of honey plants in the Fez-Meknes region has identified 104 honey plants in 32 families. The pollens collected from plants have a good source of phenolic compounds, such as the derivatives of apigenin, luteolin, Quercétine and phenolic acids, such as caffeic acid, *p*-hydroxybenzoic acid and vanillic acid, with an antibacterial potential, namely the pollens of *Punica granatum* and *Quercus ilex*.

Bee bread is rich in proteins, minerals, lipids, sugars, saturated and polyunsaturated fatty acids, α -tocopherol and δ -tocopherol, and natural antioxidants, such as flavonol glycoside derivatives, Isorhamnétine-O-hexosyl-O-rutinoside is the main phenolic compound present in bee bread. The evaluation of the biological activities of the bee bread extracts has shown that it has a good antioxidant activity (DPPH, FRAP ...) associated with a very interesting antibacterial potential, it is also a good candidate for prevention diseases, such as diabetes, and the toxicity of aluminum *in vivo*.

Conclusion: this study contributes to the development of honey plants in the Fez-Meknes region. Bee bread, which represents fermented pollen, has shown great diversity of results in terms of chemical compositions and biological activities giving it a valuable source for nutrition and human health.

Key words: Melliferous plants, Pollen of flowers, Bee bread, Fez-Meknes Region, pathologies associated with oxidative stress.

ملخص

الأهداف: الهدف من هذه الأطروحة هو إجراء تعداد لنباتات العسل المتواجدة في منطقة فاس- مكناس و البحث في التكوين الكيميائي والخصائص الدوائية لحبوب اللقاح وخبز النحل.

المواد والطرق: تم إجراء جرد لنباتات العسل، مسبقا بمسح لحالة تربية النحل في المنطقة. كما تم إجراء تحاليل لمعرفة محتوى مضادات الأكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا وتحديد المركبات الفينولية لحبوب اللقاح لنباتات عسل مختارة. بالنسبة إلى خبز النحل ، تم معرفة محتواه من حبوب اللقاح ، والقيمة الغذائية والتركيبة الكيميائية وأجري البحث عن ثلاث أنشطة بيولوجية: نشاط مضاد للأكسدة ومضاد للميكروبات ومضاد للسرطان. بالإضافة إلى ذلك ، تم تقييم تأثيره الوقائي ضد مرض السكري من النوع 1 وسمية الألومنيوم في الجسم الحي.

النتائج: حدد تعداد نباتات العسل في منطقة فاس - مكناس 104 نبتة عسل تنتمي إلى 32 عائلة. تحتوي حبوب اللقاح المدروسة على مصدر جيد للمركبات الفينولية ، مثل مشتقات الأبيجينين ، اللوتولين ، كيرسيتين والأحماض الفينولية ، مثل حمض الكافيين ، وحمض هيدروكسي بينزويك وحمض الفانيليك ، بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت حبوب اللقاح أنها مصادر واعدة للعوامل المضادة للبكتيريا ، وخاصة حبوب لقاح الرمان *Punica granatum* و البلوط الأخضر *Quercus ilex*

خبز النحل غني بالبروتينات والمعادن والدهون والسكريات والأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة ، - α توكوفيرول و- δ توكوفيرول، ومضادات الأكسدة الطبيعية مثل مشتقات جليكوسيدات الفلافونول . الإيزوغامنتين-أو-إكزوسيل-غوتينوزيد هو المركب الفينولي الرئيسي الموجود في خبز النحل. لقد أظهر تقييم الأنشطة البيولوجية لخبز النحل أن له نشاطاً جيداً مضاداً للأكسدة (DPPH ، FRAP ،) مرتبطاً بنشاط مضاد للبكتيريا جد مهم و قدرة وقائية ضد مرض السكري و ضد سمية الألومنيوم في الجسم الحي.

خاتمة: تسهم هذه الدراسة في تتمين نباتات العسل المتواجدة في جهة فاس-مكناس. أظهر خبز النحل ، الذي هو عبارة عن حبوب لقاح مخمرة ، تنوعاً كبيراً في النتائج من حيث التركيبات الكيميائية والأنشطة البيولوجية، مما يجعله مصدراً مهماً للتغذية ولصحة الإنسان.

كلمات مفتاحية: نباتات العسل , حبوب اللقاح , خبز النحل , جهة فاس-مكناس. الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.

Liste des abréviations

ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

AGMI: acides gras mono-insaturés

AGPI: acides gras poly-insaturés

AGS: acides gras saturés

Al : aluminium

ALP : phosphatase alcaline

ALT : alanine aminotransférase

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

AST : aspartate aminotransférase

AST : aspartate aminotransférase

BHT : hydroxytoluène butylé

BUN : Urée sanguine

CAT: capacité antioxydante totale

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CMB : concentration minimale bactéricide

CMF : concentration minimale fongicide

CMI : concentration minimale inhibitrice

CRP : protéine C-réactive

DID : diabète insulino-dépendant

DNID : diabète non insulino-dépendant

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

ERN : espèces réactives de l'azote

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FIMAP : fédération interprofessionnelle marocaine de l'apiculture

FRAP: Fluorescence Recovery after Photobleaching

G : glibenclamide

GC-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

GPx : glutathion peroxydase

GR : globules rouges

GR : glutathion réductase

Hb : hémoglobine

HDL-C : lipoprotéines de haute densité

CLHP : chromatographie en phase liquide à haute performance

CLHP -DAD: chromatographie en phase liquide à haute performance avec Diode-Array Detection

Ht : hématocrite

LDH : lactate deshydrogénase

LDH : lactate déshydrogénase

LDL: low density lipoprotein

LDL-C : lipoprotéines de basse densité (LDL-C)

MHA: agar Muller-Hinton

MRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

NAD: Nicotinamide adénine dinucléotide

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

PLC : plaquettes

PR : pouvoir réducteur

Prxs : les peroxirédoxines

SCr : créatinine sérique

SOD : superoxyde dismutase

STZ : streptozotocine

TC : cholestérol

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

TG : triglycérides

TTC: Triphényl 2.3.5 tétrazolium,

UAPIM : Union des Apiculteurs du Maroc

VGM : volume globulaire moyenne

VLDL : lipoprotéines de très basse densité

Liste des figures

Figure 1: Composition de la ruche dadant type 10 cadres.....	28
Figure 2: Composition de la ruche langstroth type 10 cadres.	29
Figure 3: Carte des préfectures et provinces de la région Fès-Meknès.	30
Figure 4: Morphologie d'une fleur bisexuée.	36
Figure 5: les étapes de la microsporogenèse.	38
Figure 6: Morphologie du grain de pollen.....	39
Figure 7: Le processus de formation du pain d'abeille.	44
Figure 8: L'origine de formation des radicaux libres au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale.....	55
Figure 9: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène.	55
Figure 10: Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.....	57
Figure 11: Schéma représentatif de la biosynthèse des composés phénoliques.	58
Figure 12: Les structures chimiques des différents sous classe des flavonoïdes.....	59
Figure 13: Structure chimique d'acide hydroxybenzoïque.....	59
Figure 14: Structure chimique d'acide hydroxycinnamique.	60
Figure 15: Structure chimique des coumarines.	60
Figure 16: Structure chimique des lignanes.	60
Figure 17: Structure chimique des lignines.....	61
Figure 18: Structure chimique des stilbènes.....	61
Figure 19: Structure chimique des xanthones.	61
Figure 20: Mécanisme de toxicité de l'aluminium dans les cellules hépatiques.....	64
Figure 21: Les trois étapes de la pathogenèse de diabète de type 1.	68
Figure 22: les voies de l'hyperglycémie conduisant aux stress oxydatif.....	69
Figure 23: Relation du stress oxydant avec le cancer.....	74
Figure 24: Informations générales sur les apiculteurs et leurs ruchers.....	82
Figure 25: Les types des produits de la ruche fournie par les apiculteurs.	83
Figure 26: Répartition des lieux d'installation des ruches dans la région Fès-Meknès.	84
Figure 27: Les types des plantes préférées par l'apiculteur pour installer les ruches à leurs coté.....	95
Figure 28: Avis des apiculteurs sur les types des pollens préférés par l'abeille.....	95
Figure 29: Les propriétés pharmacologiques de plantes mellifères.....	96
Figure 30: Les graphes de corrélation.	106
Figure 31: photos des microplaques montrant les CMI des grains de pollens et des boîtes de pétri montrant les CMB contre les bactéries étudiés.	120
Figure 32: Représentation par heatmap des corrélations antioxydantes et antibactériennes.	124
Figure 33: vue microscopique des grains de pollen existant dans le pain d'abeille.	132
Figure 34: Profil des composés phénoliques trouvé dans le pain d'abeille enregistré à 370 nm.	137
Figure 35: Effet de l'administration orale unique d'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et de glibenclamide sur la glycémie durant 3 h chez des rats normaux et des rats rendus diabétiques par la STZ	154
Figure 36: Effet d'un traitement oral quotidien avec l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et le glibenclamide sur les taux sanguins d'AST, d'ALT, de LDH et de ALP chez des rats normaux et les rats rendus diabétique par STZ.....	157

Liste des tableaux

Tableau 1: Liste des arbres mellifères de la région Fès-Meknès et leurs importances médicinales.....	86
Tableau 2: Liste des arbustes, arbrisseaux et sous et arbrisseaux mellifères de la région Fès-Meknès et leurs importances médicinales.	89
Tableau 3: Liste des plantes mellifères herbacées de la région Fès-Meknès et leurs importances médicinales....	91
Tableau 4: Liste des bulbes mellifères de la région Fès-Meknès et leurs importances médicinales.	94
Tableau 5: les composés phénoliques, Flavones et flavonols, et la capacité antioxydante totale (mg/g of pollen).	103
Tableau 6: Les activités antioxydantes (DPPH, ABTS and PR) représenté par IC ₅₀ (mg/ml) pour ABTS, DPPH et EC ₅₀ pour PR.....	104
Tableau 7: Les coefficients de corrélation de Pearson.	105
Tableau 8: Les composés phénoliques/ flavonoïdes identifié dans des grains de pollens de quatorze plante par analyse CLHP-DAD.	108
Tableau 9: Composés phénoliques, teneur en flavones et en flavonols et capacité antioxydante totale (mg/g de pollen).....	114
Tableau 10: Les activités antioxydantes (DPPH ABTS et PR) exprimées en IC ₅₀ (mg / ml) pour l'ABTS, DPPH et EC ₅₀ pour PR.....	114
Tableau 11: Activités antibactériennes des antibiotiques standards (zone d'inhibition mm).	117
Tableau 12: Activités antibactériennes des extraits de pollens et de l'éthanol par la mesure de diamètre d'inhibition (mm).....	118
Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice des extraits de pollens en mg/ml.....	119
Tableau 14: Coefficients de corrélation de Pearson.	123
Tableau 15: Teneur en antioxydants dans le pain d'abeille.	132
Tableau 16: Les activités antioxydantes du pain d'abeille.	133
Tableau 17: Taux moyens de macroéléments dans le pain d'abeille (mg / kg).....	133
Tableau 18: Taux moyens de microéléments dans le pain d'abeille (mg / kg).	134
Tableau 19: Composition générale (g /100g ps), valeur énergétique (kcal /100g ps), sucres (g /100g ps) et acides organiques (g / 100g ps) du pain d'abeille étudié (moyenne± SD).	135
Tableau 20: Composition en acides gras (%) et en tocophérols (mg / 100g ps) du pain d'abeille étudié (moyenne±SD).	136
Tableau 21: Temps de rétention (Rt), longueurs d'onde d'absorption maximale dans le visible (λ_{max}), données de spectrométrie de masse, identification et quantification de composés phénoliques dans le pain d'abeille.	138
Tableau 22:Activité antibactérienne du pain d'abeille étudié (CMI et CMB mg / ml).	140
Tableau 23: Activité antifongique du pain d'abeille étudié (CMI et CMF mg / mL).	140
Tableau 24: Cytotoxicité et activité antitumorale du pain d'abeille étudié (valeurs IG ₅₀ μ g / mL).	141
Tableau 25: L'effet de l'extrait éthanolique du pain d'abeille sur le taux de l'hématocrite, d'hémoglobine, des globules rouges, et les valeurs de TCMH, VGM et CCMH, les plaquettes, les monocytes, les lymphocytes et les leucocytes après co-administration avec Al.....	146
Tableau 26: L'effet de l'extrait éthanolique du pain d'abeille sur les paramètres hépatiques après co-administration avec l'aluminium.....	148
Tableau 27: Effet de l'aluminium seul ou de l'aluminium et du pain d'abeille sur le sodium et le potassium sériques et urinaires, l'urée sanguine, la créatininémie et Clairance de la créatinine.....	149
Tableau 28: Effet du traitement oral quotidien de l'extrait d'acétate d'éthyle de pain d'abeille et Glibenclamide sur le taux de glycémie et le poids corporel chez les rats normaux et diabétiques (STZ).	153
Tableau 29: Effet du traitement oral quotidien avec l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et du Glibenclamide sur les taux sanguins de TC, TG, LDL-C, HDL-C, VLDL-C et l'indice athérogène chez les rats normaux et diabétiques (STZ).....	156

Table des matières

<i>Dédicace</i>	I
<i>Remerciements</i>	II
<i>Avant propos</i>	V
<i>Liste des articles publiés dans des journaux indexés</i>	VI
<i>Liste des résumés publiés et des articles soumis</i>	VII
<i>Liste des communications orales ET affichées</i>	VIII
<i>Liste des prix ET distinctions</i>	X
<i>Résumé</i>	XI
<i>Abstract</i>	XII
<i>ملخص</i>	XIII
<i>Résumé en Tamazight</i>	XIV
<i>Liste des abréviations</i>	XV
<i>Liste des figures</i>	XVII
<i>Liste des tableaux</i>	XVIII
Introduction générale.....	24
<i>Revue bibliographique</i>	25
Chapitre1: l'apiculture au Maroc et Monographie de la région Fès -Meknès.....	26
Préface :.....	26
I. L'apiculture au Maroc.....	27
1. Les types d'abeilles au Maroc.....	27
II. L'état de l'apiculture au Maroc.....	27
1. Le mode d'élevage apicole et type des ruches utilisés.....	28
2. L'apiculture sédentaire et l'apiculture pastorale.....	29
III. Monographie de la région Fès-Meknès.....	30
1. Situation géographique de la région Fès-Meknès.....	30
2. L'agriculture dans la région Fès-Meknès.....	31
3. Les types de climats dans la région.....	31
4. Les forêts de la région.....	32
5. La labellisation des produits de terroir de la région.....	32
Conclusion.....	33
Chapitre 2 : Intérêt des plantes mellifères pour l'abeille.....	34

Préface :	34
I. Les plantes mellifères	35
1. Définition	35
2. La relation plante-abeille	35
3. Le devenir des aliments dans la ruche	40
Conclusion	42
Chapitre 3 : Le pain d'abeille source prometteuse des molécules bioactives	43
Préface :	43
I. Processus de formation du pain d'abeille	44
II. La composition chimique du pain d'abeille	45
1. Protéines et acides aminés libres	45
2. Les enzymes	46
3. Les sucres.....	46
4. Lipides et acides gras	46
5. Les minéraux.....	47
6. Les vitamines	48
7. Les antioxydants	48
III. Les effets pharmacologiques du pain d'abeille	49
1. Effet anti- stress oxydatif.....	49
2. Effet antimicrobien	50
3. Effet hépatoprotecteur.....	51
4. Effet antitumoral	51
5. Effet anti- dyslipidémie athérogène	51
Conclusion	52
Chapitre 4 : Stress oxydant et pathologies associées	53
Préface :	53
I. STRESS OXYDANT : OXYDANT ET ANTIOXYDANT	54
1. Définition du stress oxydant.....	54
2. Les oxydants	54
3. Les antioxydants.	56
3.1.1. Les antioxydants enzymatiques :.....	56
3.1.2. Les antioxydants non-enzymatiques	57
3.2.1. Les composés phénoliques	58
3.2.2. Principales classes des composés phénoliques et caractéristiques chimiques	59
Les flavonoïdes :.....	59
Acides hydroxybenzoïques.....	59
Acides hydroxycinnamiques.....	60
Coumarines	60
Lignanes	60
Lignines	60
Stilbènes.....	61
Xanthones	61
II. le stress oxydant induit par l'aluminium et conséquences	61

1.	Aluminium	61
III.	le diabète et stress oxydatif	66
1.	Les deux principaux types de diabète.....	66
2.	Le diagnostic du diabète.....	66
3.	La physiopathologie de diabète.....	66
4.	Pathogenèse du diabète de type I	67
5.	Le stress oxydatif et pathogenèse du diabète	68
IV.	Stress oxydant et infections microbiennes.....	70
1.	Les maladies microbiennes.....	70
2.	les bactéries.....	70
3.	Les champignons	71
4.	Relation : stress oxydant et maladies infectieuses	72
V.	lien entre le stress oxydant et cancer et rôle des antioxydants dans la thérapie	73
1.	Définition du cancer	73
2.	stress oxydant et cancer	73
3.	Rôle du stress oxydant dans l'apparition des symptômes du cancer	75
4.	Les causes des niveaux élevée des radicaux libres dans le cancer	75
5.	rôle des antioxydant dans la thérapie du cancer	76
	conclusion	77
	partie pratique	78
	Chapitre 1: Recensement des plantes mellifères-médicinales et état de l'apiculture dans la région Fès-Meknès	79
I.	Introduction	79
II.	Matériels et méthodes	80
III.	Résultats et discussion.....	81
IV.	Conclusion.....	96
	Chapitre 2: Etude des grains de pollens de vingt plantes mellifères : Activité antioxydante, antibactérienne et identification des composés phénoliques	97
I.	Introduction.....	97
II.	Matériels et méthodes	98
1.	Le matériel végétal	98
2.	Méthodes d'isolement des grains de pollens	98
	Les fleurs fraîches des plantes étudiés, ont été collectés juste avant la période de l'anthèse (= période durant la quelle la fleur est complètement ouverte et fonctionnelle), ensuite les anthères de ces fleurs ont été enlevés manuellement a fin d'isoler les grains de pollens en les battant à l'aide d'un pince pointu.	98
3.	Préparation des extraits	98
4.	Le contenu en antioxydants et l'activité antioxydante.....	98
5.	Analyse des composés phénoliques par CLHP-DAD.	100
6.	Etude du pouvoir antibactérien des grains de pollen.....	101
7.	Analyses statistiques	102
III.	Résultats et discussions	103

A. Contenu en Antioxydant, Activité De Piégeage Des Radicaux Libres Et Identification Des Composés Phénoliques / Flavonoïdes Dans Les Pollens De Quatorze Plantes Mellifères	103
1. Le contenu en antioxydants et l'activité antioxydante.....	103
2. Le profil phénolique des grains de pollen étudiés	107
3. Conclusion	113
B. Activité antioxydante et antibactérienne des extraits des grains de pollen de six plantes mellifères	113
1. L'activité antioxydante et la teneur en antioxydants des grains de pollen	113
2. Activité antibactérienne	115
3. Conclusion	124
chapitre 3 : pain d'abeille : Activité antioxydante, composition chimique, valeur nutritionnelle, profil phénolique et activité biologique in vitro	125
I. introduction	125
II. Matériel et méthodes.....	126
1. Echantillonnage du pain d'abeille.....	126
2. Analyse palynologique.....	126
3. Contenu minéral	126
4. pH et acidité libre	126
5. La valeur nutritionnelle	126
6. Sucres libres.....	127
7. Acides organiques.....	127
8. Acides gras.....	127
9. Tocophérols.....	127
10. Profil des composés phénoliques.....	128
11. Contenu en antioxydants et activités antioxydantes	128
Les extraits hydroéthanoliques, hydrométhanoliques et d'acétate d'éthyle du pain d'abeille ont été préparées (20mg/ml) pour quantifier le contenu en antioxydants et tester l'activité antioxydante.	128
12. Activités biologiques du pain d'abeille	130
III. Résultats et discussion	131
1. Observation microscopique du pain d'abeille	131
2. Contenu et activité antioxydante	132
3. Composition minérale	133
4. Valeur nutritionnel	134
5. Contenu en acides gras et en tocophérols	135
6. Le profil phénolique du pain d'abeille	137
7. L'activité antimicrobienne	139
8. L'activité cytotoxique	141
IV. conclusion	141
chapitre 4 : Effet protecteur du pain d'abeille contre la toxicité de l'aluminium et le diabète de type 1.....	142
I. introduction	142
A. Etude 1 : Effet protecteur du pain d'abeille contre l'anémie, l'inflammation, et la toxicité néphro-hépatique induite par l'aluminium	143
II. Matériel et méthodes.....	143

1.	Protocole expérimental	143
2.	Analyses biochimiques	144
3.	Analyse statistique.....	145
III.	Résultats et discussion	145
1.	Effet de l'aluminium avec et sans pain d'abeille sur les paramètres hématologiques.....	145
2.	Effets de l'aluminium avec et sans pain d'abeille sur les enzymes hépatiques et la CRP.....	147
3.	Effets de l'aluminium avec et sans pain d'abeille sur la fonction rénale et les électrolytes du plasma et de l'urine.	149
IV.	Conclusion.....	150
B.	Etude 2: Effet protecteur du pain d'abeille contre le diabète de type I	151
II.	Matériel et méthodes.....	151
1.	Protocole expérimental	151
2.	Analyses biochimiques	152
III.	Résultats et discussions	153
1.	effet sur la glycémie et poids corporel	153
2.	L'effet sur la glycémie durant 3H.....	154
3.	Effet sur le profil lipidique	155
4.	L'effet sur les enzymes hépatiques	157
IV.	conclusion	158
	Conclusion Générale et perspectives	159
	Références bibliographiques	161
	Annexe.....	180

Introduction générale

L'apiculture au Maroc est une pratique ancestrale, présente dans les différentes régions du Royaume. Une amélioration de l'élevage et la valorisation des produits de la ruche (miel, pollen, gelée royale, pain d'abeille, ...), permettraient à la filière apicole au Maroc une bien meilleure rentabilité et un fort impact socio-économique. [1]

La région de Fès-Meknès est l'une des douze régions du Maroc, elle est située au centre nord du pays, intégrant en partie la plaine de Saïss et côtoyant les chaînes montagneuses du Rif et du Moyen Atlas. Elle s'étend sur une superficie de 40.075 Km², représentant 5.7% du territoire national. Elle est limitée géographiquement par la région de Tanger-Tétouan-Alhoceïma au Nord, la région de Rabat-Salé-Kenitra à l'Ouest, la région de l'Oriental à l'Est, la région de Beni Mellal-Khénifra au Sud-ouest et la région de Drâa-Tafilalet au Sud. L'élevage des abeilles dans la région Fès-Meknès gagne de plus en plus en importance et est considéré comme une source potentielle non négligeable de revenus pour la population rurale.[2]

Les plantes mellifères sont des espèces végétales dont l'abeille prélève des substances, notamment le nectar, le pollen et la résine pour se nourrir et pour élaborer ses productions diverses. Il est bien connu que les produits de la ruche reflètent en quantité et en qualité la nature des plantes butinées. L'étude des plantes mellifères apparaît ainsi d'un grand intérêt. La connaissance des plantes mellifères fournit des bases pour l'évaluation objective de la productivité quantitative et qualitative des abeilles des différentes régions. Au niveau mondial, les travaux relatifs à la connaissance des plantes mellifères sont récents et très limités en nombre.

C'est dans le cadre de l'amélioration de la production et de la productivité mellifère dans la région Fès-Meknès que s'inscrit la présente thèse. De manière plus spécifique, nous nous proposons de procéder à l'inventaire et à l'identification des plantes mellifères à intérêt médicinale, dans les différentes provinces et préfectures de la région.

De plus, nous avons procédé à l'étude des pollens des fleurs de 20 espèces mellifères par la réalisation d'un screening du contenu en antioxydants et les activités biologiques. Ainsi, nous avons opté pour l'étude du pain d'abeille.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE1: L'APICULTURE AU MAROC ET MONOGRAPHIE DE LA REGION FES -MEKNES

PREFACE :

Le Maroc se situe au Nord-Ouest de l'Afrique, caractérisé par un climat à dominance méditerranéenne, aussi soumis à des influences océaniques de l'atlantique, et désertique au sud, le paysage marocain est très varié et riche en passant des montagnes aux plaines et des régions à végétation verte à des régions complètement aride.[3] Le dernier découpage territorial du Maroc en 2015 a donné naissance aux douze régions suivantes : la région de Tanger-Tétouan-Al-Hoceima, la région oriental, la région Fès-Meknès, la région Rabat-Salé-Kenitra, la région Beni Mellal-Khnefra, la région Settat-Casablanca, la région Marrakech-Safi, la région Drâa-Tafilalt, la région de Souss-Massa, la région Guelmim-Oued Noun, la région de Lâayoune-Sakia Elhamra, et la région Dakhla-Oued Eddahab.[4]

Le secteur agricole est un secteur-clé du développement économique et social au Maroc. En effet, en 2008 le Maroc a adopté le plan Maroc vert qui est une stratégie agricole pour la période 2008-2020 qui vise à développer et à transformer en profondeur le secteur agricole pour le rendre un des moteurs de croissance de l'économie.[1]

L'apiculture est un domaine essentiel pour l'agriculture, les abeilles sont des acteurs clé qui contribuent à l'équilibre de l'agriculture, sans abeille pas de miel, mais aussi pas de pollinisation et par la suite pas de production des graines, des légumes et fruits. Encourager l'apiculture signifie le renforcement de l'agriculture et donc aider les populations à devenir moins vulnérables à la pauvreté. [5]

Dans ce chapitre, nous soulignons l'état de l'apiculture au Maroc, les races des abeilles qui existent au Maroc et les efforts de développement réalisés dans ce domaine. Ainsi, nous avons fait une monographie de la région Fès-Meknès.

I. L'APICULTURE AU MAROC

1. LES TYPES D'ABEILLES AU MAROC

Les abeilles sont des insectes qui appartiennent à la super-famille des *Apoidea* qui comprend environ 20.000 espèces dans le monde. Parmi ces espèces, une seule est capable de produire le miel que nous consommons : c'est l'abeille mellifère (*Apis mellifera*).[6]

Au Maroc, cette espèce est représentée par trois races, deux noires : *Apis mellifera intermissa* qui est appelée communément Tellienne, et *Apis mellifera majo* et la troisième race de couleur jaune d'or qui est *Apis mellifera sahariensis*. Les races noires représentent 2/3 des colonies marocaines par une prédominance de la tellienne. Elles sont caractérisées par leur agressivité, la tendance à l'essaimage et une productivité faible. Alors que le 1/3 restant est représenté par *Apis mellifera sahariensis* qui existe seulement dans les zones désertiques marocaines, cette race est caractérisée par sa douceur et son adaptation aux mauvaises conditions comme la température et la sécheresse. [7]

II. L'ETAT DE L'APICULTURE AU MAROC

L'apiculture, c'est l'art et la science de l'élevage et des soins à donner aux abeilles pour exploiter leurs produits comme le miel, le pollen, le pain d'abeille, la cire, le venin, la gelée royale et aussi les reines d'abeilles. C'est une branche d'agriculture qui est pratiquée depuis des milliers d'années par des méthodes traditionnelles et il est évolué et modernisé au fil des ans.[8]

Le Maroc est un pays situé au nord-ouest d'Afrique, il est doté d'une diversité floristique extrêmement importante, évaluée à 4200 espèces spontanées et environ 1500 espèces introduites. L'apiculture est le premier bénéficiaire de la richesse de la flore marocaine, c'est un domaine qui est basé principalement sur la production du miel avec une estimation de production annuelle de 2500 à 3500 tonnes.[7,9]

L'apiculture au Maroc joue un rôle socio-économique très important. C'est pourquoi elle est soutenue par l'Etat à travers le Plan du Maroc vert et l'Initiative Nationale du Développement Humain (INDH) dont les actions ont activement participé à la modernisation et au développement de ce domaine. Les coopératives apicoles au Maroc représentent l'organisation professionnelle des activités apicoles. En 1er février 2011, la fédération interprofessionnelle marocaine de l'apiculture (la FIMAP) a été créée par 14 associations

régionales de développement de l'apiculture, la FIMAP est reconnue par le gouvernement comme représentant de la profession au Maroc, et il faut noter qu'il existe aussi une Union des Apiculteurs du Maroc (UAPIM) qui est enregistrée comme membre de l'association internationale des apiculteurs « Apimondia ».[7]

1. LE MODE D'ELEVAGE APICOLE ET TYPE DES RUCHES UTILISES

Au Maroc, on trouve le mode d'élevage apicole traditionnel et moderne, avec une dominance du secteur moderne. Les ruches marocaines de type traditionnel sont horizontales, construites manuellement en bois, en chêne liège, en roseaux et en poterie. Ce type d'apiculture est généralement utilisé pour l'autoconsommation des apiculteurs, alors que les ruches du secteur modernes sont utilisées pour la commercialisation des produits apicoles sur le marché national et international. Ces ruches sont de types Langstroth type 10 cadres et Dadant type 10 cadres, le type Langstroth type 10 cadres est le plus majoritairement trouvé.[10]

1.1. Dadant type 10 cadres

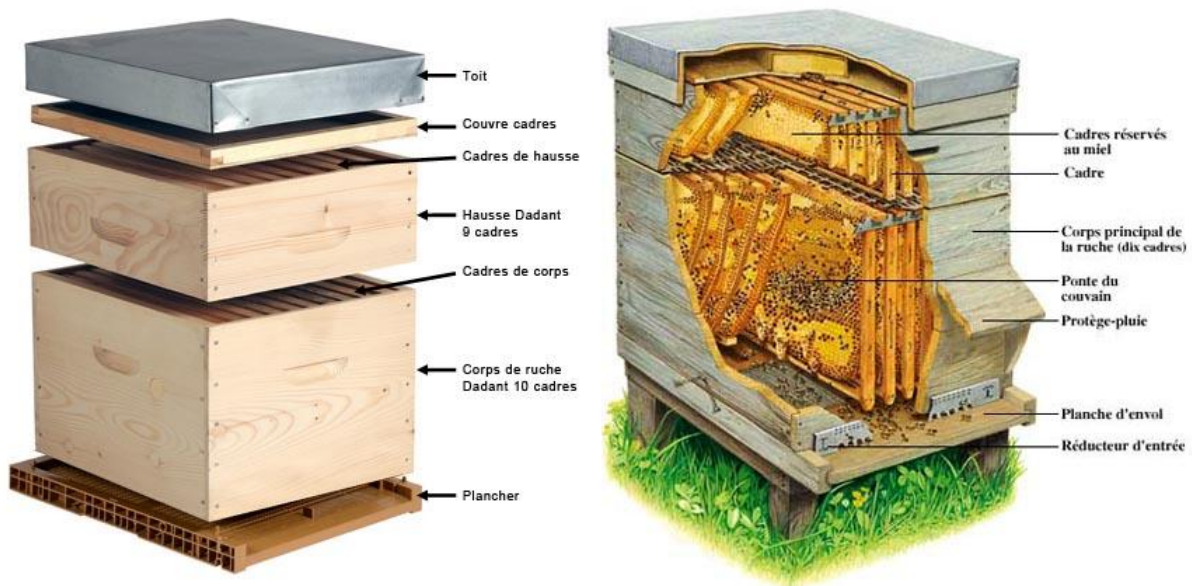


Figure 1: Composition de la ruche dadant type 10 cadres.[11]

La ruche dadant, inventée par Charles Dadant, est très utilisée en Europe. Elle contient 10 ou 12 cadres, contenant une cire gaufrée. On distingue deux éléments de tailles différentes, le corps et la hausse qui constituent l'élément amovible. On trouve aussi un plancher au fond, un plateau servant de plafond contient un trou de 5 cm utilisé pour l'alimentation des abeilles et un toit qui protège la ruche.

Ce type de ruches sont pratiques pour le déplacement du fait de leur poids faible, elles ont permis aux abeilles de bien stocker le miel surtout dans les régions où l'hiver est rigoureux, elles sont simples et solides et facilitent la récolte du miel. [12]

1.2. Langstroth type 10 cadres



Figure 2: Composition de la ruche langstroth type 10 cadres.[11]

C'est une ruche divisible, le corps et la hausse sont de même taille. Elle est très utilisée aux Etats-unis et est basée sur le principe de donner de l'espace aux abeilles pour une circulation optimale, grâce à l'utilisation de la technique d'espacement Hoffmann. Cette ruche comporte deux corps identiques contenant chacun 10 cadres, dotés d'un fond amovible. Elle est plus petite et plus maniable que la ruche dadant. Le point commun entre elles, c'est la présence des cadres reposant sur la cire gaufrée. Dans ce type de ruche, tout espace supérieur à 10 mm sera bouché par les abeilles avec de la cire et tout espace inférieur à 6mm sera bouché par les abeilles avec de la propolis.[13]

2. L'APICULTURE SEDENTAIRE ET L'APICULTURE PASTORALE

L'apiculture sédentaire est le genre de l'apiculture pratiqué par un apiculteur traditionnel ou agri-apiculteur qui laisse ses ruches dans le même endroit et ne les déplace pas. Le rayon de récolte des abeilles dans ce type d'apiculture ne dépasse pas 2 à 3 kilomètres. Ce qui limite la production du rucher. En revanche, l'apiculture pastorale ou transhumante vise le déplacement des ruches de site en site de 50 à 500 km selon le rythme de floraisons dans des régions dites mellifères.[7]

III. MONOGRAPHIE DE LA REGION FES-MEKNES

1. SITUATION GEOGRAPHIQUE DE LA REGION FES-MEKNES

En 2015, le Maroc est doté d'un nouveau découpage régional qui donne la naissance à 12 régions selon le Décret n°2.15.40. Parmi ces régions, on trouve la région de Fès-Meknès qui rassemble trois anciennes régions : la région Fès-Boulemane, la région Meknès-Tafilalet et la région Taza-Al Hoceima-Taounate.[4]

La région de Fès-Meknès est située au centre nord du Maroc, intégrant en partie la plaine de Saïss et côtoyant les chaînes montagneuses du Rif et du Moyen Atlas. Elle s'étend sur une superficie de 40.075 Km² représentant 5.7% du territoire national. Elle est limitée géographiquement par la région de Tanger-Tétouan-Al Hoceima au Nord, la région Rabat-Salé-Kenitra à l'Ouest, la région de l'Oriental à l'Est, la région de Beni Mellal-Khénifra au Sud-Ouest et la région de Drâa-Tafilalet au Sud. [2]

La région de Fès-Meknès est divisée en deux préfectures et sept provinces, les préfectures sont la préfecture de Fès et la préfecture de Meknès, alors que les provinces sont : El Hajeb, Ifrane, Moulay Yaâcoub, Sefrou, Taounate et Taza. Le résultat de Recensement Général de la Population et de l'Habitat de 2014 a montré que la Région de Fès-Meknès compte 4.236.892 habitants.[14]



Figure 3: Carte des préfectures et provinces de la région Fès-Meknès.[2]

Le territoire de la région Fès-Meknès est composé de cinq unités géographiques :

- ☞ Le plateau de Saïss.
- ☞ Les zones des montagnes du rif central et oriental, du pré-rif, du moyen-atlas et du haut-atlas.
- ☞ Les collines du pied du Rif.
- ☞ Les hautes collines du Missouri.
- ☞ Le domaine mésétien des hauts plateaux.[2]

2. L'AGRICULTURE DANS LA REGION FES-MEKNES

La région de Fès-Meknès est une région agricole, elle emploie 50% de la main d'œuvre. La superficie agricole est estimée à 1.335.639 hectares, représentant 15% à l'échelle nationale. La superficie des terres irriguées est de 1.251.456 hectares et la superficie du foncier arable est (environ 1,4 million ha). La production agricole de la région est bien riche que variée. Elle va des céréales de toutes sortes aux cultures industrielles (tournesol, colza, soja...), en passant par les pommes de la vallée de Tigrigra, d'Azrou et d'Imouzzer, les légumineuses, l'arboriculture fruitière (pommier, pêche, poirier, prunier, cerisier, cognassier, grenadier, vigne, amandier, noyer, dattier), la tomate à Saïss, les figues qui font depuis longtemps la réputation de la province de Taounate, des semences de betterave sucrière, les olives de Meknès et de Moulay-Yacoub et des semences de pommes de terre notamment sur l'axe Ifrane-Khénifra et la tomate à Saïss et aussi la production du miel.[2,15,16]

La nature du sol

- ☞ La nature du sol dans la région est divisée en trois types :
- ☞ Les sols minéraux qui existent dans la province de Boulemane
- ☞ Les sols bruns caractérisés par la fertilité et la richesse en éléments nutritifs qui existent dans la plaine de Saïs.
- ☞ Les sols vertisols et tirs qui sont des sols lourd et argileux qui existent à Saïss et à Sefrou. Ces sols possèdent la meilleure valeur agricole.[2]

3. LES TYPES DE CLIMATS DANS LA REGION

La région de Fès-Meknès est soumise à 3 types de climats allant du Méditerranéen au continental:

- ☞ Un climat continental dans le nord de la région. Ce climat est caractérisé par des températures très élevées et très sèches en été. En hiver, le climat est plutôt froid et humide. Les zones caractérisées par ce climat sont sujettes aux coups du ‘Chergui’ qui participe à l’élévation des températures.
- ☞ Un climat froid et humide dans les zone montagneuses, ce climat est très froid et très neigeux en hiver et tempéré en été.
- ☞ Un climat semi-aride dans les hautes collines de Boulemane. Les hivers y sont très froids et neigeux.[17]

Concernant la pluviométrie, on peut distinguer aussi trois zones:

- ☞ Les zones humides : ce sont les zones du moyen Atlas (600 mm/an de précipitation) et du rif (800 mm/an de précipitation) qui sont caractérisées par des précipitations assez élevées.
- ☞ Les zones moyennement arrosées: il s’agit des zones du Pré Rif et du flanc septentrional de la région. Elles reçoivent en moyenne 400 mm/an de pluies.
- ☞ Les zones sèches : il s’agit des zones alfatières du Sud-est de la région recevant des précipitations annuelles de moins de 300 mm. [2]

4. LES FORETS DE LA REGION

La superficie des forêts dans la région occupe 1.446.160 ha représente 16% du total national, la superficie forestière de la province du Boulemane est la plus importante. Elle occupe 724.420 ha, suivie par celle de Taza qui occupe 409.400 ha, puis par celle de Séfrou qui s’étend sur une superficie de 106.100 ha.

Les espèces forestières qui existent dans les forêts de la région sont : le cèdre du moyen Atlas et de la montagne du Rif, le chêne-Zen qui se concentre dans le Moyen Atlas et le Rif, le chêne-liège dans le Rif et Moyen Atlas, le chêne vert qui se trouve dans la province de Taza et du Nord de la province de Boulemane et la bande centrale de la province d’Ifrane. Le Thya qui se localise dans les provinces de Taza, Séfrou et Taounate. [2]

5. LA LABELLISATION DES PRODUITS DE TERROIR DE LA REGION

Les produits de terroir de la région Fès-Meknès sont reconnus à l’échelle nationale et mondiale. Le processus d’attribution d’un label de qualité à ces produits est initié dans les préfectures et provinces suivants :

Province d'El Hajeb : la labellisation de l'huile d'olive, le miel avec les différences essences, les dérivés de céréales et les essences pastorales de l'anis.

Province de Boulemane : En cours de labellisation du miel de Zandaz du massif Bouiblane et huile d'olive d'Outat Elhaj.

Province de Moulay-yacoub : il y a plusieurs produits de terroir dans cette province comme la câpre, la figue châari, l'olive l'mta et la menthe du Sebou, les rosacées, les céréales, les légumineuses, les plantes médicinales et du miel. Le produit labélisé est la câpre. L'huile d'olive de Lemta est en cours de labéllisation.

Province de Taounat : La région est connue par les figues, les céréales biologiques, les abricots, les olives, le miel et les plantes médicinales. Le produit labélisé de cette province est les figues sèches Nabout

Préfecture de Meknès : le produit qui est en cours de labellisation dans cette préfecture est l'Huile d'olive de Zerhoune

Province de Séfrou : labellisation de l'huile d'olive.

Province de Taza : labellisation des amandes d'Aknoul

Province d'Ifrane : les produits de terroir dans cette province sont des légumes et fruits tels que les pommes, les cerises, les figues, les pêches, les amandes, les poires, les framboises, fraises, les petites baies rouges, les plantes aromatiques et médicinales, le miel, les eaux florales. Le produit qui est en cours de labellisation est l'Agneau de Timahdite.[18]

CONCLUSION

L'apiculture est l'un des piliers essentiels de développement de l'agriculture au Maroc et surtout dans la région Fès-Meknès où l'agriculture représente près de la moitié du produit intérieur brut régional. Le plan Maroc Vert a contribué efficacement à la modernisation de la filière apicole et au développement du secteur moderne. Plusieurs efforts sont encore nécessaires pour continuer à préserver et à développer ce secteur au Maroc.

CHAPITRE 2 : INTERET DES PLANTES MELLIFERES POUR L'ABEILLE

PREFACE :

Les plantes mellifères sont les espèces végétales qui fournissent aux abeilles des sources alimentaires sous forme de nectar et/ou de pollen, de la résine et du miellat. Seulement 16% des espèces de plantes à fleurs du monde sont source de nourriture pour les abeilles. Il est bien connu que les produits de la ruche reflètent en quantité et en qualité la nature des plantes butinées.[19]

Les abeilles recherchent des plantes mellifères dans les forêts, les prairies, la végétation rudérale et marécageuse, mais aussi dans les agrophytocénoses telles que les vergers, les vignes, les cultures de colza, de tournesol et de luzerne ou dans les plantations de plantes médicinales et aromatiques.[20]

En butinant les plantes mellifères, les abeilles jouent un rôle essentiel dans la réalisation de la fertilisation des plantes et dans la conservation de la biodiversité. En tant qu'agents pollinisateurs, les abeilles sont utiles comme échantillonneurs de l'environnement dans lequel elles sont conservées et ont été utilisées comme bioindicateurs de la santé des écosystèmes. Les abeilles à la recherche de nourriture peuvent couvrir jusqu'à huit kilomètres de rayon pour le pollen, le nectar et les substances résineuses des plantes. [21]

Ce chapitre vise à identifier les plantes mellifères et leurs importances pour la vie des abeilles. Nous avons parlé de la relation mutuelle plante-abeille et nous avons traité l'importance de chaque produit d'origine végétale destiné aux abeilles pour assurer la protection de la ruche, comme la résine qui se transforme en propolis ou pour assurer la nourriture et le bon fonctionnement de la colonie, comme c'est le cas pour le nectar et le miellat qui se transforment en miel et le pollen qui se transforment en pelotes de pollen, puis en pain d'abeille.

I. LES PLANTES MELLIFERES

1. DEFINITION

Les plantes mellifères sont des plantes qui fournissent des produits exploitables par l'abeille comme le nectar, le pollen, la résine et aussi le miellat. La valeur apicole de ces plantes est déterminée par la morphologie de la fleur qui doit être accessible par l'abeille et par la production d'une bonne quantité de nectar, de pollen, de miellat et de la résine [19,22].

En se basant sur l'apport en nectar et/ou pollens, on peut classer ces plantes en trois types : le premier type est représenté par les nectarifères. Ceux-ci fournissent le nectar en abondance comme le thym, l'eucalyptus et l'arbousier. Le deuxième type est représenté par les pollinifères : ce sont des productrices de pollen en abondance comme le coquelicot, le noisetier. Le troisième groupe est à la fois pollinifère et nectarifère. Il s'agit, entre autres, de colza, de saule et de romarin.

A côté de ces trois types de plantes, on trouve aussi celles qui fournissent à l'abeille la résine pour élaborer la propolis. Il s'agit surtout des arbres et arbustes comme le chêne, le peuplier, et plusieurs conifères. On trouve également les plantes portant du miellat qui est élaboré par les pucerons à partir de la sève brute comme le seigle.

Lorsque l'abeille visite ces plantes, elles récoltent le nectar ou le miellat pour les transformer en miel, le pollen des fleurs pour le transformer en pollen d'abeille puis en pain d'abeille et la résine pour le transformer en propolis.[23]

2. LA RELATION PLANTE-ABEILLE

2.1.Importance des fleurs pour les abeilles

Les fleurs sont le pilier de la vie des abeilles. Elles ont des formes et des couleurs très diversifiées, elles sont soit simples comme la fleur de l'oranger ou composées comme la fleur du tournesol.

La fleur est constituée par des organes protecteurs représentés par les sépales qui sont généralement de couleur verte se réunissant en calice et les pétales de différentes couleurs qui se réunissent en corolle. Elle est constituée aussi d'organes reproducteurs dont l'organe sexuel femelle représenté par le pistil, composé de l'ovaire surmonté par le style et stigmate, et l'organe sexuel mâle, représenté par les étamines composées par des filets surmontés par

des anthères contenant les grains de pollens. Certaines fleurs sont pourvues par des glandes sécrétrices de nectar situées à la base des pièces florales appelé nectaires.[24]

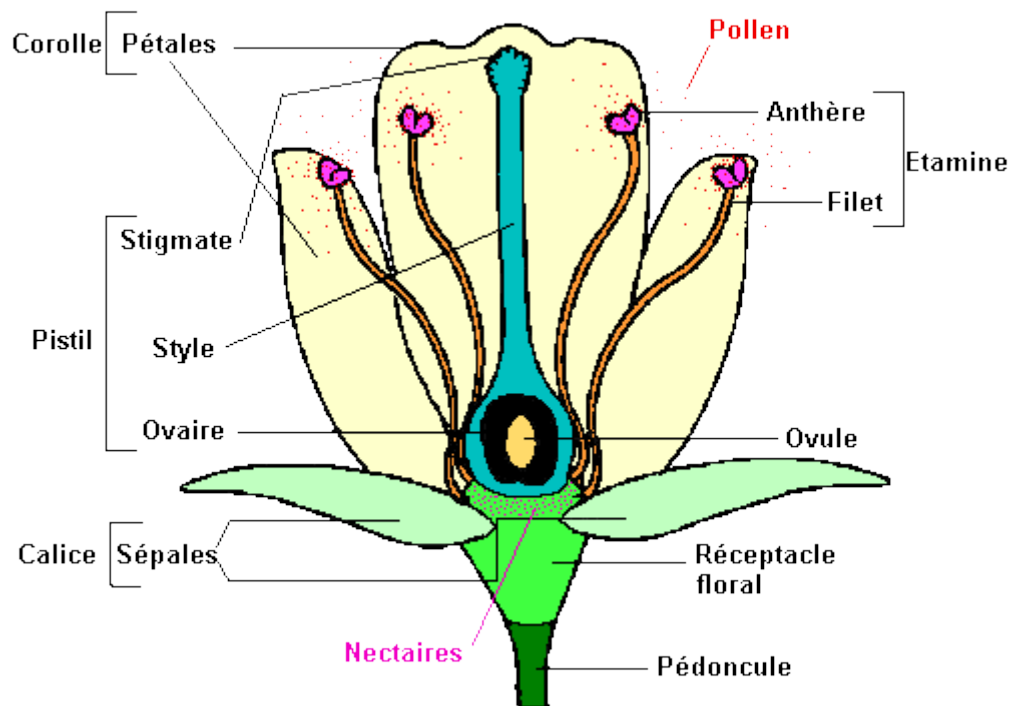


Figure 4: Morphologie d'une fleur bisexuée.[25]

La relation fleur-abeille est une relation mutualiste dont les fleurs réalisent la reproduction sexuée et les abeilles profitent d'un repas de nectar et de pollen. Dans ce cas, la reproduction sexuée est effectuée chez les fleurs grâce à un type de pollinisation nommée croisé. L'abeille se charge des grains de pollens d'une fleur et en décharge sur le stigmate d'une autre fleur de la même espèce végétale.

Pour attirer les abeilles, les plantes mettent en place différentes stratégies afin d'être pollinisées et assurer leur reproduction. Parmi ces stratégies, on peut citer la coloration des pétales et la libération des odeurs sous forme des phéromones.

En contrepartie, la fleur donne des recomposes à l'abeille nécessaire pour sa vie dans la ruche. Il s'agit du nectar et du pollen. En effet, les abeilles effectuent des milliers de visites de fleurs afin de recueillir la quantité dont elles ont besoin.[23,26]

2.2.Le butinage

Le butinage est une activité très importante et essentielle pour la vie des colonies d'abeilles. Le comportement de butinage est un comportement développé chez les abeilles ouvrières, dès l'âge de deux semaines. Les abeilles ouvrières futures butineuses effectuent des vols de

repérage pour se familiariser et à l'âge de 21 jours elles vont sortir de la ruche pour chercher et récolter le nectar, le miellat, le pollen, ainsi que de l'eau, autant d'éléments nécessaires pour la nutrition, et la résine pour garantir l'asepsie de la ruche.

Le nectar, le miellat et l'eau sont aspirés par pompage et capillarité grâce au proboscis. Ces liquides collectés sont stockés dans les jabots des butineuses, puis les abeilles les déchargent auprès des autres ouvrières dans la ruche. Pour le pollen, il est retenu par les poils sur le corps de l'abeille à partir des anthères des fleurs, soit passivement ou activement par des mouvements de frottement, puis transféré vers les pattes postérieures et ensuite humidifié et compacté à l'aide des régurgitations du jabot jusqu'à le rendre plus collant et le transformer en pelote.

Généralement, une colonie d'abeilles de taille moyenne a besoin de 25 Kg de miel réservé au stockage pour les consommer pendant l'hiver, période durant laquelle la disponibilité du nectar et du pollen est très faible. Les besoins d'une ruche en miel est estimé à 180 Kg et 25 Kg de pollen et 60L d'eau annuellement.[27]

2.3.Le nectar

Le nectar est la matière première pour la production du miel. Il est principalement produit par les glandes nectarifères des plantes à partir de la sève brute ou élaborée. Cependant, toutes les espèces florifères ne produisent pas de nectar et tout le nectar produit par les fleurs n'est pas accessible aux abeilles[19].

Le nectar joue un rôle important aussi pour la pollinisation des produits agricoles économiquement importants, mais cette importance est généralement négligée car il y a un écart d'informations concernant les caractéristiques des fleurs sécrétant le nectar, la disponibilité du nectar ainsi sur la fréquence et le temps de production.[28]

La production du nectar par les glandes nectarifères dépend de la taille de la fleur, de sa durée de floraison ainsi que des conditions environnementales, de la situation géographique de la plante et de l'humidité du sol.[29]

Il y a deux types de nectaires qui produisent le nectar, les intrafloraux et les extrafloraux. Les nectaires intrafloraux sont ceux qui se trouvent à l'intérieur de la fleur, souvent au fond de la corolle. Ils ont un rôle très important dans l'attraction des pollinisateurs, alors que les nectaires extrafloraux sont situés sur les structures végétatives des plantes au niveau des pétioles, des

tiges, bords des feuilles, etc. Le nectar produit par ce type de nectaires ne contribue pas à la pollinisation, mais il est aussi exploitable par les abeilles et est la cause d'une relation mutualiste entre la plante et certains types d'insectes comme les fourmis qui trouvent dans ce nectar une source de nourriture et en retour elles protègent la plante contre les herbivores.[30,31]

2.4. Les grains de pollen

Les grains de pollens sont les éléments producteurs des gamètes mâles chez les plantes qui ont une reproduction sexuée. Ils sont sous forme d'une poussière fine de tailles microscopiques et de couleur différentes selon les plantes d'origines. [32]

Le processus de formation et de maturation des grains de pollen est appelé microsporogénèse ou méiose mâle des angiospermes. Il est effectué dans les sacs polliniques dans les anthères à l'extrémité des étamines. Les cellules mères diploïdes des microspores, entourées par une paroi du callose, subissent une méiose puis une mitose pour donner quatre microspores haploïdes qui arrivent à maturité et donnent quatre grains de pollen.[33]

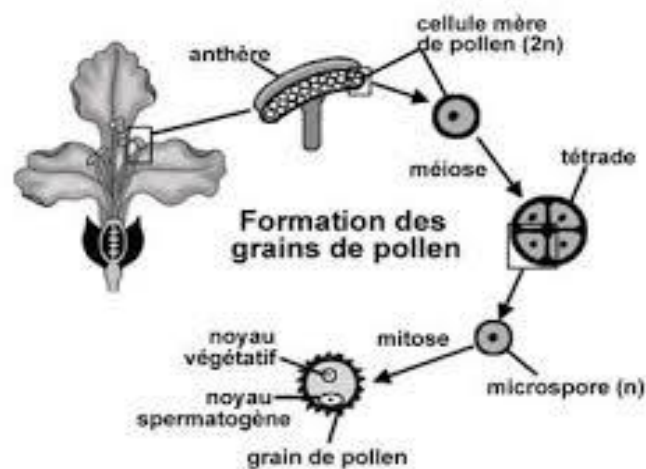


Figure 5: les étapes de la microsporogénèse.[34]

Chaque grain de pollen est constitué généralement de deux (ou dans certains cas trois) cellules non cloisonnées, comprend deux noyaux qui baignent dans le cytoplasme, un noyau végétatif et un noyau reproducteur. Il est doté aussi d'une paroi en deux couches appelée: intine et exine. L'intine est la membrane intérieure de nature pecto-cellulosique souple, elle protège le grain de pollen de l'écrasement. L'exine, quant à elle, est la membrane extérieure rigide et extrêmement résistante pour assurer la protection mécanique. Elle est principalement constituée de sporopollenine. La paroi du grain de pollen porte des ouvertures ou pores qui sont

les sites dépourvus d'exine. Ce sont les sites des échanges hydriques et gazeux avec le milieu extérieur, ainsi que le site de germination du tube pollinique. Les grains de pollen ont subi une déshydratation par la perte de 15 à 35% d'eau, avant que les anthères s'ouvrent pour les libérer. Cette déshydratation entraîne une réduction de volume et repliement de la paroi le long des ouvertures.[35]

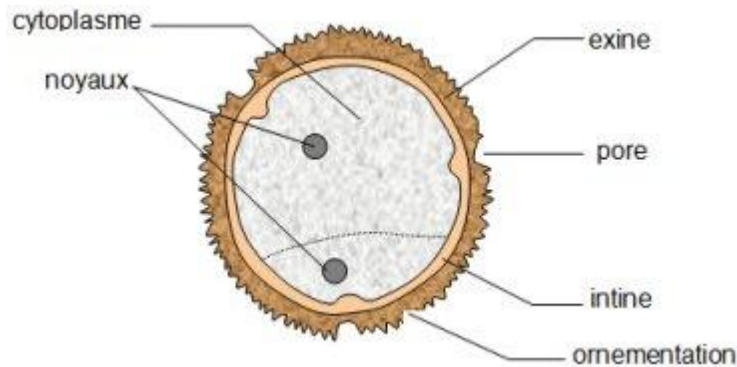


Figure 6: Morphologie du grain de pollen.[36]

2.5.Le miellat

Le miellat est une substance qui subit un double traitement d'origine végétale et animale. C'est un liquide visqueux sucré obtenu à partir des excréments des insectes dites piqueurs sueurs comme les pucerons, les cochenilles, les cicadelles et les psylles. Ces insectes piquent certains végétaux, principalement ceux qui appartiennent aux familles de *Coniferae* et *Latifoliae* comme le sapin, le pin et les chênes, pour prélever la sève élaborée riche en protéines et rejeter des gouttelettes d'eau et de sucres qui sont recueillies par les abeilles butineuses et elles subira les mêmes modes de transformations et de conservation que le nectar.[37]

2.6.La résine

La résine est une substance d'origine végétale sécrétée par les bourgeons et l'écorce des arbres comme les peupliers, le pin le sapin, chêne, et saule. C'est un mélange de métabolites secondaires liposoluble de composés terpénoïdes et / ou phénoliques volatils et non volatils généralement sécrétés dans des structures spécialisées situées soit à l'intérieur, soit à la surface de la plante. La résine peut être aussi induite au niveau d'une lésion sans former une structure de sécrétion spécialisée. Les arbres dits résineux produisent ces métabolites secondaires pour se défendre contre les herbivores, ou pour attirer les mutualistes et les pollinisateurs. La composition des métabolites secondaires peut varier selon les saisons, les états de

développement, les espèces, les individus, les différentes parties du même individu ou en réponse à une attaque herbivore.

Les résines sont divisées en résines terpénoïdes et résines phénoliques : les résines terpénoïdes sont celles qui sont produites à l'intérieur et les résines phénoliques sont celles présentes à la surface de l'organe végétal. La résine endogène terpénoïde est sécrétée puis accumulée dans des structures internes, généralement appelées glandes ou conduits. Ce sont essentiellement des espaces intercellulaires entourés de cellules sécrétrices. Normalement, ce type de résine ne sort de la plante que lorsque celle-ci est blessée. La résine à sécrétion exogène se produit dans divers types de cellules sécrétoires épidermiques. Il s'agit souvent de poils glandulaires qui peuvent décharger le matériau vers l'extérieur de l'organe, soit directement, soit d'abord dans un espace sous-cutané avant une sécrétion supplémentaire.

De nombreux insectes collectent la résine végétale pour certaines phases de la construction de leur nid. Parmi les plus abondants, on trouve les abeilles qui exploitent la résine pour la transformer en propolis et l'utiliser pour assurer la protection de la ruche.[38,39]

3. LE DEVENIR DES ALIMENTS DANS LA RUCHE

3.1.Le devenir du nectar et du miellat

Lors du voyage des abeilles butineuses pour produire le miel, elles utilisent leurs trempes et leurs langues pour récolter le nectar et le miellat. Elles les aspirent par pompage et par capillarité et les stockent dans leurs jabots. Le séjour du nectar et du miellat dans les jabots est accompagné par un enrichissement en enzymes produites par les glandes hypopharyngiennes. Ces enzymes permettent la transformation des sucres complexes en sucres simples, comme la diastase qui modifie l'amidon, l'invertase qui hydrolyse le saccharose en glucose et en fructose et le glucose oxydase qui produit l'acide gluconique et le peroxyde d'hydrogène à partir du glucose.

Lorsque les abeilles butineuses rentrent à la ruche, elles transfèrent le nectar prédigéré et le miellat aux autres abeilles ouvrières qui, à tour de rôle, font l'échange entre eux. C'est ce qu'on nomme la trophylaxie. Durant cette trophylaxie, la composition du miel évolue et la teneur en eau baisse. Quand cette teneur atteint 40 à 50%, les abeilles entreposent le miel dans les alvéoles où il est déshumidifié par ventilation avec les ailes des abeilles ouvrières ventileuses, qui vont créer un air chaud à l'intérieur de la ruche à plus de 30°C pour abaisser la teneur en eau dans le miel et atteindre environ 18%. Ensuite, l'alvéole est operculée par la

cire, ce qui permet une bonne conservation du miel qui devient une réserve d'aliment hautement énergétique pour la colonie. [40,41]

3.2.Le devenir du grain de pollen

Les grains de pollens, qui recouvrent le corps de l'abeille lors du butinage, ont été récupérés par les pattes postérieures et déposés dans les corbeilles sous forme de pelotes, par l'ajout de la salive et du nectar. Dès l'arrivée de l'abeille butineuse à la ruche, elle enduit les pelotes par la salive, puis elle tasse les alvéoles par une couche de pelotes de pollen et une couche de miel et ensuite elle les operculé par une couche de cire. Au niveau de cette étape, des fermentations lactiques ont lieu à cause de l'intervention des bactéries qui se développent dans le milieu. Ces bactéries font une série de réaction entraînant la diminution du ph du milieu, le blocage de la germination du pollen et l'augmentation de la facilité d'assimilation et la valeur nutritive du pollen. Ces bactéries sont : *Pseudomonas* qui consomme l'oxygène et crée un milieu anaérobique, *Lactobacillus* qui transforme les glucides en acide lactique et enfin *Saccharomyces* qui assure le métabolisme du reste des sucres qui existent dans le milieu.

Lorsque le pollen est complètement fermenté, il est appelé « pain d'abeille ». Il va constituer le stock de la nourriture protéique des abeilles, principalement dans les périodes de la production de la gelée royale, et celui de la nourriture des larves, futures ouvrières qui reçoivent une alimentation composée de pollen, de miel et une faible quantité de gelée royale.

En effet, le contenu protéique du pain d'abeille permet aux jeunes abeilles d'achever son développement et de construire des réserves lipidiques. De même, il assure le développement des glandes hypopharyngiennes.[42,43]

3.3.Le devenir de la résine

Les abeilles recueillent la résine avec leurs mandibules, puis la transportent dans les corbeilles dans leurs pattes arrière. Les pelotes de résines sont immédiatement passées au remodelage par les maçonnes, en ajoutant de la cire et des sécrétions salivaires pour former une boule de propolis.

Une fois la propolis est formée, elle est étirée par les ouvrières pour en faire un fil qui sert à colmater les zones de fragilité dans la ruche pour éviter l'humidité.

Les propriétés antiseptiques de la propolis sont exploitées pour recevoir la ponte de la reine et assurer un milieu stérile aux œufs, ainsi que pour enduire les alvéoles de la ruche et les préparer pour déposer le miel et le pollen et de les recouvrir par les opercules de la cire. La propolis va servir également à momifier les insectes et les animaux qui sont tués dans la ruche par les piqûres des abeilles et qui sont difficiles à être expulsés à l'extérieur de la ruche.

CONCLUSION

En guise de conclusion, ce chapitre identifie les plantes mellifères et leur rôle primordial dans la vie des abeilles, en fournissant les différentes matières premières, nécessaires à la nourriture de la colonie comme le nectar, le miellat et le pollen ainsi que la résine utilisée comme mortier et anti-infectieux dans la ruche.

CHAPITRE 3 : LE PAIN D'ABEILLE SOURCE PROMETTEUSE DES MOLECULES BIOACTIVES

PREFACE :

Les produits apicoles sont des produits naturels qui sont soit sécrétés par le corps des abeilles comme le venin par des glandes à venin, la cire par des glandes cirières, et la gelée royale par des glandes hypopharyngiennes et glandes mandibulaires, soit récoltés et transformés par l'abeille comme le nectar qui se transforme en miel, le pollen des fleurs qui se transforme en pollen d'abeille et ensuite en pain d'abeille, et la résine qui se transforme en propolis[44]

L'utilisation médicale des produits apicoles, en particulier le miel, remonte à des milliers d'années. Les propriétés curatives et les avantages nutritionnels de ces produits sont mentionnés dans le saint coran (sourate alnahl verset 68). Aujourd'hui, le traitement à base de ces produits est connu sous le nom d'apithérapie[45].

Au cours de ces dernières années, les tendances de recherche des molécules bioactives d'origine naturelles ont conduit à une prolifération d'études sur les produits apicoles. Le focus le plus important est réalisé sur le miel, la propolis, la gelée royale et le pollen d'abeille, ces produits démontrent un large éventail d'effets curatifs et préventifs, ils ont un pouvoir anti-inflammatoire, ils protègent le foie et les reins contre les toxines, ils améliorent les marqueurs de l'hyperplasie de la prostate et ils diminuent la glycémie chez les diabétiques[46].

L'analyse biochimique de ces produits révèle l'existence des protéines des acides aminés, des lipides, des sucres, des fibres, des minéraux, des composés phénoliques et des flavonoïdes.[47–50] Cependant, le pain d'abeille, qui comprend le pollen, le miel et des sécrétions des glandes salivaires, est un produit apicole unique qui est mal connu par les gens, car jusqu'à il y a quelques années, les apiculteurs ne savent pas la bonne manière d'extraire ce produit sans détruire partiellement la ruche.[51]

Dans ce chapitre, nous soulignerons l'importance du pain d'abeille, non seulement pour la nourriture des abeilles et la bonne santé de la ruche, mais aussi son importance nutritionnelle pour l'Homme et sa richesse en molécules bioactives à effet protecteur ou curatif.

I. PROCESSUS DE FORMATION DU PAIN D'ABEILLE

Pour les abeilles mellifères, les nutriments nécessaires à la survie et au maintien de la santé des populations de colonies, proviennent de deux sources principales à savoir le nectar/miellat et le pollen. Le nectar et le miellat fournissent les glucides et le pollen fournit les autres besoins diététiques comme des lipides des protéines, des vitamines et des minéraux[52]. Néanmoins, les abeilles ne consomment pas directement le nectar/ miellat ou le pollen; dans les deux cas, ils induisent des changements biochimiques, de sorte que le nectar/ miellat se transforme en miel et le pollen se transforme en pain d'abeille[53].

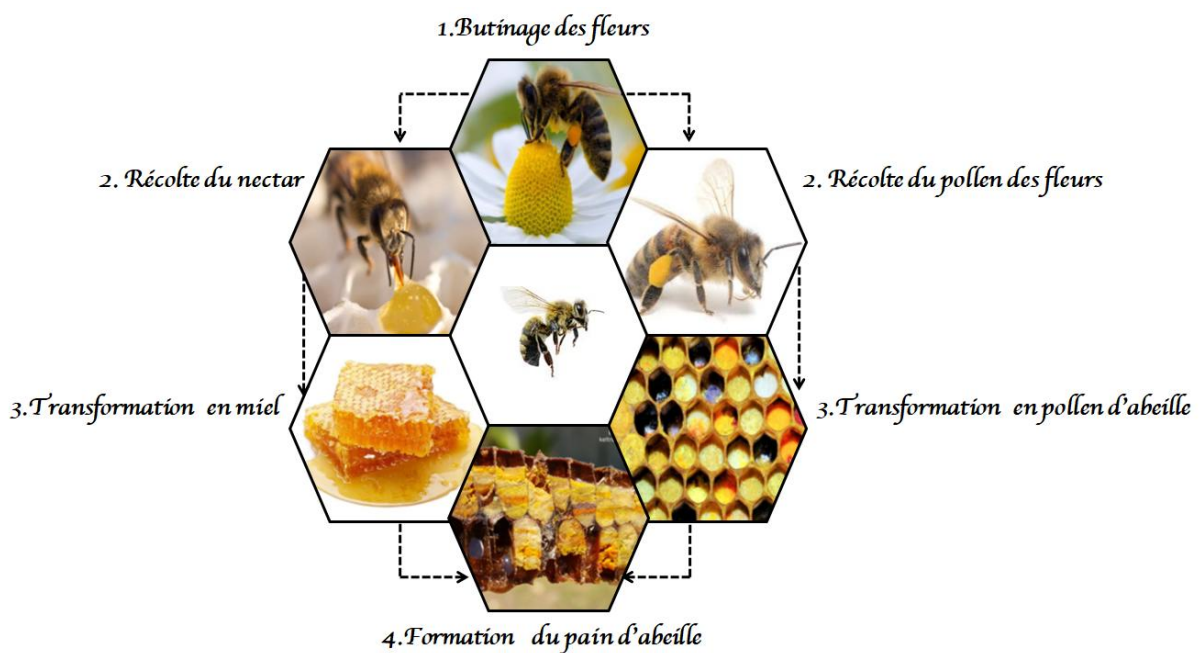


Figure 7: Le processus de formation du pain d'abeille. [54–56]

Le processus de formation du pain d'abeille commence avec la récolte du pollen des fleurs, qui est mélangé par l'abeille avec le nectar ou le miel et la salive contenant ses propres enzymes digestives. À cette étape, le pollen des fleurs est transformé en ce qu'on appelle pelote de pollen ou pollen des abeilles, il est stocké au niveau des pattes arrières de l'abeille où se trouve une corbeille à pollen et ensuite il est porté à la ruche où les abeilles non volantes remplissent le $\frac{3}{4}$ des alvéoles de la ruche par les pelotes des pollens et le $\frac{1}{4}$ qui reste par le miel et une fine couche de cire qui couvre les cellules pour protéger le pollen de l'oxygène. Un processus de fermentation lactique anaérobie a lieu et le pain d'abeille se forme. Ce type de fermentation lactique rend le pain d'abeille plus digeste et enrichi de nouveaux nutriments. Les chercheurs ont trouvé que le processus de fermentation modifie la couche externe recouvrant le pollen appelé exine qui est constitué par la sporopollénine, un composé de

nature lipidique qui fournit une résistance chimique au pollen et préserve les composés qui s'y trouvent, et responsable de la capacité limitée d'absorber les nutriments et les substances bioactives qui sont à l'intérieur du grain de pollen.

Les études sur la composition chimique du pain d'abeille ont montré qu'il est généralement composé d'eau, des protéines, d'acides aminés libres, des glucides, d'acides gras et d'autres molécules bioactives. Cette composition varie d'une région à l'autre selon les plantes mellifères de cette région et selon les conditions climatiques et les variations saisonnières.

Toutes ces conditions rendent le pain d'abeille un produit dont la composition chimique est variable, même dans le même rucher ou ruche d'abeilles, Le pain d'abeille a une valeur nutritionnelle et compositionnelle qui diffère du pollen d'abeille et a de nouveaux nutriments, tels que la vitamine K[54,55].

Dans la vie des abeilles, il y a des moments où elles sont fortement actives comme ceux où les colonies se reproduisent activement ou pendant les périodes de production élevée de la cire. Dans ces moments, la demande de pollen s'élève et la diminution de l'afflux de pollen (automne et début du printemps) ou l'existence d'un pollen de faible qualité nutritionnelle auront des conséquences graves pour la colonie. Ce qui dirige les abeilles à compter sur leur magasin de pain d'abeille pour répondre à leur besoin.[56]

II. LA COMPOSITION CHIMIQUE DU PAIN D'ABEILLE

1. PROTEINES ET ACIDES AMINES LIBRES

La seule source de protéines pour les abeilles est le pollen qui se transforme en pain d'abeille. La teneur en protéines dans le pain d'abeille a été analysée dans la plupart des études par la méthode de Kjeldahl. L'acide borique est utilisé pour quantifier la teneur en azote en appliquant un facteur de conversion $N \times 6,25$ (AOAC 984.13) (AOAC, 2005)[57]. Les résultats obtenus varient de 14.82 % à 27.63 % [56,58,59]. Les études comparatives réalisées sur le pain d'abeille et le pollen d'abeille montrent que ce dernier est plus riche en protéine que le pain d'abeille. Cela est dû au clivage partiel des protéines en acides aminés libres [55]. Les acides aminés libres ont été également trouvés en grande quantité dans le pain d'abeille, comme l'acide glutamique, la proline, l'arginine, lysine, l'acide aspartique, tryptophane, l'isoleucine phénylalanine, thréonine, méthionine cystéine, l'histidine tyrosine, leucine alanine, glycine valine et sérine [60].

2. LES ENZYMES

Les enzymes ont été aussi présentes dans le pain d'abeille. Elles comprennent l'amylase, l'invertase, les phosphatases, les transférases et le glucose oxydase, On y trouve également des cofacteurs enzymatiques comme la biotine, le glutathion et le NAD. Ces enzymes ont la capacité de transformer les composés de haut poids moléculaire en autres molécules de bas poids moléculaire comme les polysaccharides et les protéines. Ce qui rend le pain d'abeille plus digestible que le pollen.[61,62]

3. LES SUCRES

Les sucres sont la source principale des dépenses énergétiques des abeilles, les abeilles ouvrières ont besoin d'environ 4 mg de sucres utilisables par jour pour survivre. Le contenu en glucides dans le pain d'abeille varie entre 24.40 et 34.80%. Le fructose est le sucre le plus abondant, suivi par le glucose et le maltose Le saccharose est représenté par un pourcentage très faible à cause de sa décomposition au cours de la fermentation lactique durant laquelle les bactéries lactiques utilisent ces sucres comme source d'oxygène pour produire l'acide lactique. Le pain d'abeille contient aussi des disaccharides comme le tréhalose, l'isomaltose et turanose, mais en faible pourcentage.[51,63].

4. LIPIDES ET ACIDES GRAS

La teneur en lipides dans le pain d'abeille dépend principalement de l'origine végétale, les lipides sont parmi les importants constituants qui contribuent aux activités biologiques et à la valeur nutritionnelle de ce produit.

Une étude de Kaplan et *al*, publiée en 2016 montre que la teneur en lipides dans des échantillons du pain d'abeille du trèfle, coton, châtaigne, citrus et du tournesol varie entre 5.93 ± 0.02 g/100g et 11.55 ± 0.05 g/100g. [20] Une autre étude de Zuluaga et *al* réalisé sur quinze échantillons du pain d'abeille révèle que la teneur en lipides dans ces échantillons allant de 1.65% à 5.50%.[58] Andelkovic et *al* ont analysé le pain d'abeille de la Serbie, collecté en printemps, et ils ont montré que le contenu en lipides dans les échantillons analysés varie entre 4.51 % et 4.92 %.[56]

La littérature actuelle montre que le pain d'abeille est une bonne source d'acides gras, surtout les polyinsaturés qui sont très importants pour la santé humaine. Kaplan et *al* ont identifié 37 acides gras dont 20 saturés et 17 insaturés dans des échantillons de pain d'abeille obtenus de

différentes origines botaniques. Dans cette étude, il ya onze acides gras insaturés ont été représentés dans tous les échantillons dont quatre de la famille ω -3 et sept de la famille ω -6. L'acide gras le plus abondant de la famille ω -3 est (9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trienoic, alors que l'acide gras le plus abondant de la famille ω -6 est (9Z,12Z)-octadeca-9,-12-dienoic acid. [59]

Dans une autre étude de Čeksterytè et *al*, trente-neuf acides gras ont été identifiés dans le pain d'abeille du trèfle. Parmi tous les acides gras saturés, la teneur en acide palmitique (C16: 0) était la plus élevée, pour les acides gras ayant la structure ω -3, la teneur la plus élevée était de l'acide α -linoléique, alors que pour les acides gras ayant la structure ω -6, la concentration la plus élevée était de l'acide linoléique. [64]

5. LES MINÉRAUX

Le pain d'abeille est un produit de la ruche qui est riche aussi en minéraux tels que Ca, K, Fe Mg, P, Na, Al, Mn, S, Cu. Le pain d'abeille de pissenlit et de l'ortie morte est étudié par Andelkovic et *al*, les analyses du contenu minéral révèlent que la teneur en potassium est la plus élevée (0,74%), suivie par le phosphore, le calcium et le magnésium. La teneur en fer est (121,99 mg / kg) dans un échantillon et (115.76 mg / kg) dans un autre et le zinc est représenté par (44,09 mg / kg) dans le premier échantillon et par (32,15 mg / kg) dans le deuxième, alors que la teneur en manganèse est de (29,92 mg / kg) dans le premier échantillon et de (33,05 mg / kg) dans le deuxième échantillon.[56]

Selon LOPER et *al*, le potassium est le minéral le plus élevé dans le pain d'abeille d'amande, suivi par le calcium, le magnésium et le zinc.[65]

Le pain d'abeille de la région de Transylvanie en Roumanie, analysé par STANCIU et *al* montre aussi que la teneur du minéral le plus élevé est représentée par le potassium suivi par le calcium, le magnésium, le zinc et le fer.[66]

Donc, d'une manière générale et selon les résultats précédents, le minéral prédominant dans le pain d'abeille et le potassium. La source principale de ces minéraux pour les abeilles mellifères est le pollen des fleurs, et selon Andelkovic et *al*, le nectar et l'eau peuvent aussi être une source importante de ces éléments inorganiques.[56]

Cependant, d'autres facteurs tels que les conditions géographiques et le sol affectent également la teneur en minéraux du pain d'abeille.

6. LES VITAMINES

Les vitamines sont des composés organiques, qui ont plusieurs rôles biochimiques dans la croissance, la régulation du métabolisme minéral, la différenciation cellulaire, certaines possèdent une activité antioxydante et d'autres jouent le rôle des précurseurs de cofacteurs enzymatiques.[47] Selon la littérature, le contenu en vitamines dépend fortement de l'origine végétale du pain d'abeille. Lopper et *al* ont fait une analyse comparative du contenu en vitamines entre le pollen des fleurs, les pelotes de pollen d'abeille et le pain d'abeille après sept, vingt et un et quarante deux jours, de la même source végétale qui est l'amande, et ils ont conclu que la teneur en vitamines baisse en passant des pollens des fleurs jusqu'à le quarantième deux jours du stockage du pain d'abeille. Les vitamines contenues dans ces échantillons sont : l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide pantothénique (vitamine B5), Niacine (vitamine B3), l'inositol (vitamine B7), Pyridoxine (vitamine B6).[65]

7. LES ANTIOXYDANTS

Les antioxydants dans le pain d'abeille sont divisés en deux groupes : les antioxydants hydrophiles comme la vitamine C, acides phénoliques, et les antioxydants lipophiles comme les caroténoïdes, tocophérols, et flavonoïdes.[67]

La teneur élevée en antioxydants dans le pain d'abeille est responsable de sa bioactivité. Otica et *al* en 2007 ont trouvé qu'il y a une bonne corrélation entre le contenu en antioxydants (polyphénols, flavonols, flavones, flavanones) et les activités antioxydantes de piégeage des radicaux libres réalisés par les tests de DPPH, TEAC, et FRAP. [68]

Baltrusaityte et *al* ont trouvé que le pain d'abeille a une activité antioxydante supérieure à celle du miel, et grâce au criblage des extraits phénoliques du pain d'abeille par CLHP, ils ont identifié l'acide p-coumarique, chrysine, kaempférol et l'apigénine.[69]

Une autre étude d'Akhir et *al* montre que le pain d'abeille dépasse la propolis dans l'activité de piégeage des radicaux libres par le test DPPH et ABTS, et pour le test de FRAP l'activité est similaire par l'extrait éthanolique, et moindre avec l'extrait hexanique.[70]

Les informations disponibles dans la littérature sur la composition phénolique du pain d'abeille restent limitées en termes de l'analyse de la composition en flavonoïdes dans le pain d'abeille soit par CLHP ou par GC-MS. Parmi ces études, on trouve la plus récente de Sobral et *al* en 2017 qui révèle que le pain d'abeille du Portugal contient les flavonoïdes comme :

Myricetine-3-O-rutinoside, Quercétine-O-hexosyl-O-rutinoside, Kaempférol-O-hexosyl-O-rutinoside, Isorhamnétine-O-hexosyl-O-rutinoside, et Methyl herbacetrin-O-dihexoside.[71] Une autre étude sur le pain d'abeille de la Géorgie révèle la présence de 12 à 15 flavonoïdes par CLHP, et les auteurs ont pu en identifier trois dont la naringine, la rutine et la quercétine.[72]

Markiewicz-Żukowska et *al* ont analysé le pain d'abeille de la Pologne par GC-MS, et ont trouvé le kaempférol et l'apigénine.[73] Isidorov et *al* en 2009 ont trouvé dans le pain d'abeille de la Lettonie, la Russie et la Pologne par GC-MS : la naringine, le kaempférol, l'apigénine, l'isorhamnétine, quercétine, et aussi la vitamine E (α -Tocophérol).[74]

Hryniewicka et *al* ont trouvé par l'analyse LC/MS/MS que le pain d'abeille est riche en antioxydants lipophiles comme la vitamine E (α -Tocophérol) et la coenzyme Q.[75]

III. LES EFFETS PHARMACOLOGIQUES DU PAIN D'ABEILLE

1. EFFET ANTI- STRESS OXYDATIF

Comme cela est déjà mentionné, les molécules antioxydantes sont l'un des constituants les plus importants dans le pain d'abeille. Plusieurs études s'intéressent à quantifier ces molécules par des techniques spectrophotométriques. Des chercheurs géorgiens ont analysé des extraits éthanolique du pain d'abeille et ils ont trouvé que le contenu en flavonols varie entre 5.03 ± 0.09 (g/Kg) de poids brut et 7.4 ± 0.14 (g/Kg) de poids brut et entre 6.37 ± 0.11 (g/Kg) de poids sec et 10.1 ± 0.15 11 (g/Kg) de poids sec. Ils ont identifié 20% de la teneur totale des flavonoïdes qui sont représentés par le naringine, rutine et quercétine.[72]

Les antioxydants lipophiles comme la vitamine E (α -Tocophérol) et la coenzyme Q trouvés dans le pain d'abeille ont des rôles très importants dans la défense de l'organisme contre le stress oxydatif, la vitamine E protège les lipides membranaires contre la peroxydation et protège aussi la vitamine A et la bêta-carotène contre l'oxydation, tandis que la coenzyme Q est un antioxydant cellulaire qui participe à la chaîne respiratoire mitochondriale en tant que porteur d'électrons, protège les lipoprotéines de basse densité (LDL) contre l'oxydation et il est impliqué aussi dans la régénération des radicaux tocophéryles.[75]

Ivanišová et *al* ont trouvé que le contenu en polyphénols dans le pain d'abeille oscille entre 12.36 ± 0.34 (mg EAG/g) et $(25.44 \pm 0,22$ mg EAG/g), alors que le contenu en flavonoïdes est entre 13.56 ± 0.04 (μ g EQ/g) et 18.24 ± 0.08 (μ g EQ/g). L'activité du piégeage des

radicaux libres a été évaluée par le test de DPPH, tous les échantillons testés ont possédé cette activité, et la meilleure valeur trouvée est 14,62 (mg de TEAC/g).[76]

En ce qui concerne les études qui montrent l'effet protecteur des antioxydants existant dans le pain d'abeille contre le stress oxydatif, une étude de Kaur et al est basée sur des analyses comparatives entre le pollen d'abeille et le pain d'abeille sur l'influence de l'ajout de ces deux éléments comme additif alimentaire chez les souris et l'évaluation de l'efficacité antioxydante par détermination de la peroxydation lipidique, du glutathion, du superoxyde dismutase, de la catalase, du glutathion-S-transférase, du glutathion peroxydase et des taux de glutathion réductase. Les résultats de cette étude confirment que le niveau de la peroxydation lipidique a diminué d'une façon plus grande par le pain d'abeille en comparant avec le pollen d'abeille et aussi l'activité du glutathion, de la superoxyde dismutase, de la catalase, de la glutathion-S-transférase, de la glutathion peroxydase et des taux de glutathion réductase dans le foie a augmenté chez les groupes traités au pollen d'abeille et au pain d'abeille par rapport au groupe témoin avec une différence significative enregistrée par le pain d'abeille pour la glutathion-S-transférase et le glutathion peroxydase.[77]

2. EFFET ANTIMICROBIEN

L'activité antibactérienne du pain d'abeille provenant de différentes régions du Maroc a été évaluée par Abouda et al, contre les bactéries suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*. Les résultats ont montré que tous les échantillons du pain d'abeille présentaient de fortes activités antimicrobiennes sur les souches bactériennes. Avec une sensibilité des bactéries Gram-positives plus importantes que les bactéries Gram-négatives.[78]

Baltrusaityte et al ont testé quatre échantillons du pain d'abeille contre *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Les résultats obtenus après la neutralisation du produit et son traitement par la catalase ont révélé que les échantillons du pain d'abeille ont une activité antibactérienne non-peroxyde.[79]

Ivanišová et al ont montré que des échantillons du pain d'abeille de cinq régions d'Ukraine ont possédé des activités antimicrobiennes contre quatre souches bactériennes, deux de gram positive: *Bacillus thuringiensis*, *Staphylococcus aureus*, et deux de gram négative *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*. Dont les concentrations minimales inhibitrices 50 varient entre 6,40 µg.mL⁻¹ et 25,58 µg.mL⁻¹. [76]

3. EFFET HEPATOPROTECTEUR

Le pain d'abeille a été testé par Čeksterytė et *al* chez des patients souffrant d'hépatite chronique, les résultats ont montré qu'il y'a une amélioration significative dans les paramètres sanguins comme le taux des érythrocytes, l'hémoglobine, les leucocytes, protéine C-réactive (CRP), la glycémie, l'aspartate aminotransférase(AST), alanine aminotransférase (ALT), et la bilirubine.[80]

4. EFFET ANTITUMORAL

L'activité antitumorale du pain d'abeille a été évaluée *in vitro* dans deux études, la première était en 2013 réalisée par Markiewicz-Żukowska et *al*, et qui a pour but de tester des extraits éthanoliques du pain d'abeille de la Pologne sur la viabilité de la lignée cellulaire de glioblastome (U87MG) en fonction du temps, après 24 h, 48 h et 72 h, les résultats de cette étude ont montré que les extraits éthanoliques du pain d'abeille ont réduit la viabilité des cellules cancéreuses par un pourcentage allant de 49% à 66%. Cet effet inhibiteur apparait principalement après le passage de 72 h.[73]

La deuxième étude est celle de Sobral et *al* en 2017 qui ont évalué l'activité antitumorale du pain d'abeille du nord-est du Portugal contre différentes lignées cellulaires tumorales humaines, NCI-H460 (cancer du poumon non cellulaire), HepG2 (carcinome hépatocellulaire), HeLa (cancer du col de l'utérus), MCF-7 (adénocarcinome du sein) et également contre les cellules hépatiques non tumorales (cellules hépatiques porcines, PLP2). Les échantillons de pain d'abeille ont montré une cytotoxicité faible à modérée allant de allant de > 400 à 68 µg / ml, cependant, aucun des échantillons de pain d'abeille n'a montré une toxicité contre les cellules normales.[71]

5. EFFET ANTI- DYSLIPIDEMIE ATHEROGENE

Kasianenko et *al* ont évalué l'efficacité du traitement des patients atteints la dyslipidémie athérogène avec un mélange le miel, le pollen, et le pain d'abeille. Les paramètres de la dyslipidémie athérogène ont été examinés chez 157 patients (64 hommes et 93 femmes) âgés de 39 à 72 ans. Ces patients ont été répartis en quatre groupes: le groupe 1 : sous régime hypolipidémiant uniquement, le groupe 2 : sous régime hypolipidémiant + miel ou pollen, le groupe 3 : sous pain abeille uniquement, et le groupe 4: sous miel+pollen. Les résultats obtenus ont montré un effet hypolipidémiant significatif a été enregistré chez les patients

prenant du miel en combinaison avec du pollen (cholestérol total diminué de 18,3%, C-LDL de 23,9%) et du pain d'abeille (le cholestérol total a diminué de 15,7%, C-LDL 20,5%).[81]

CONCLUSION

En guise de conclusion, le pain d'abeille est un aliment unique qui est très riche dans sa composition chimique, et il est caractérisé par des propriétés pharmacologiques énormes grâce à leur contenu en grains de pollen et en miel et le processus de fermentation qui l'a subit.

CHAPITRE 4 : STRESS OXYDANT ET PATHOLOGIES ASSOCIEES

PREFACE :

Le stress oxydatif est défini comme un état de déséquilibre entre la production et l'élimination des radicaux libres, ces derniers sont hautement réactifs et peuvent endommager les structures cellulaires menant à des événements néfastes tels que la peroxydation lipidique, des modifications protéiques, et des dommages oxydatifs à l'ADN.

Les radicaux libres qui sont appelés aussi espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont normalement produites par des concentrations faibles à modérées dans la cellule à la suite du métabolisme, les effets néfastes des radicaux libres résultent suite à des concentrations élevées.[82]

La survie de la cellule durant le stress oxydatif dépend de sa capacité à s'adapter ou à résister au stress, par la réparation et le remplacement des molécules endommagées. Lorsque le stress oxydatif devient sévère, les cellules peuvent répondre à l'agression en subissant l'apoptose, qui est une mort cellulaire programmée durant laquelle les cellules gravement endommagées sont retirées de l'hôte multicellulaire. [83]

L'organisme est équipé par des systèmes antioxydants intégrés, qui comprennent des antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques qui sont habituellement efficaces pour bloquer les effets nocifs des radicaux libres. Cependant, dans des conditions pathologiques, les systèmes antioxydants peuvent être débordés.[84]

Dans ce chapitre, nous résumons les différents types des radicaux libres, leurs effets, les biomarqueurs de stress, les effets cellulaires et les mécanismes du stress oxydatif, les différentes sources endogènes et exogènes des antioxydants. Nous discutons aussi le stress oxydatif induit par l'aluminium qui est un élément auquel les êtres humains sont exposés au quotidien et la relation physiopathologique entre le stress oxydatif et l'apparition des maladies, notamment les infections microbiennes, le diabète et le cancer.

I. STRESS OXYDANT : OXYDANTS ET ANTIOXYDANTS

1. DEFINITION DU STRESS OXYDANT

L'association étroite entre le stress oxydatif et les maladies liées au mode de vie est devenue bien connue. Le stress oxydatif est défini comme un «état dans lequel l'oxydation dépasse les systèmes antioxydants dans le corps suite à une perte d'équilibre».[82]

2. LES OXYDANTS

Les espèces réactives de l'oxygène (ERS) sont produites suite à un métabolisme normal dans les cellules vivantes par des concentrations faibles à modérées, ils sont indispensables dans le bon fonctionnement des processus cellulaires physiologiques, mais à des concentrations élevées, ils entraînent des modifications indésirables des composants cellulaires, tels que la peroxydation des lipides, et oxydation des protéines et l'ADN.[85]

Habituellement, un atome est composé d'un noyau central avec des paires d'électrons gravitant autour de lui. Cependant, les radicaux libres sont représentés par des atomes et des molécules qui ont des électrons non appariés. Les radicaux libres sont généralement instables et hautement réactifs, car les électrons non appariés ont tendance à former des paires avec d'autres électrons.[85]

Le terme "espèce réactive de l'oxygène" est appliqué à la fois aux radicaux libres et à leurs intermédiaires non radicalaires. Les radicaux libres peuvent être générés à partir de nombreux éléments, mais dans les systèmes biologiques, ce sont ceux impliquant l'oxygène et l'azote qui sont les plus importants.

2.1. Les sources endogènes des radicaux libres

Dans des conditions physiologiques, le radical libre d'oxygène le plus commun est l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), et les mitochondries sont considérées comme la source principale de ce radical. Le transfert des électrons le long des enzymes de la chaîne respiratoire n'est pas totalement efficace et la fuite des électrons à l'oxygène moléculaire, dans notamment des complexes I et III, conduit à la formation de $O_2^{\cdot-}$.

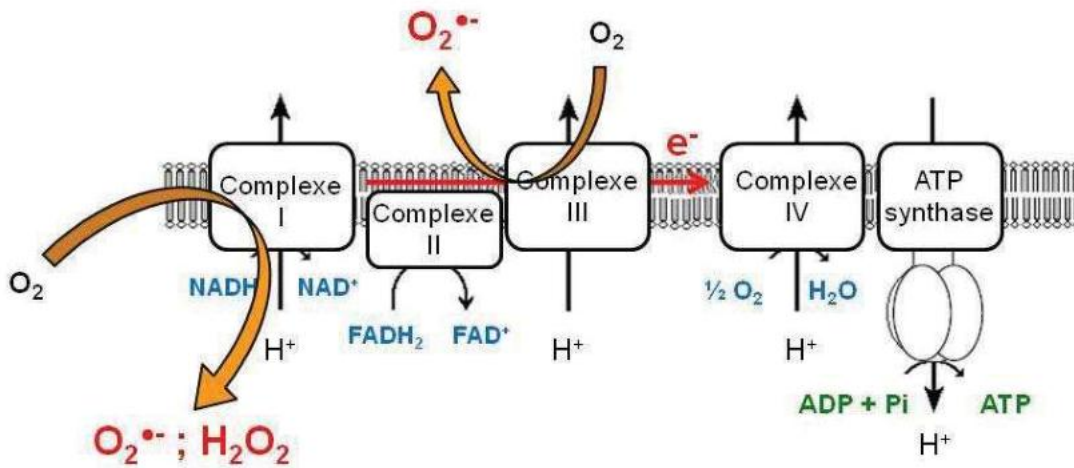


Figure 8: L'origine de formation des radicaux libres au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale.[86]

Le taux de formation est déterminé par le nombre d'électrons présents sur la chaîne, ce taux s'élève dans des conditions de stress comme l'hyperoxie et l'hyperglycémie dans le cas du diabète. Paradoxalement, il est également augmenté dans des conditions d'hypoxie, lorsque la disponibilité réduite d'oxygène en tant qu'accepteur d'électrons final pour le complexe IV provoque l'accumulation d'électrons. Dans des conditions normales, 2% de l'oxygène consommé est converti en O₂^{•-}, dans les mitochondries plutôt que d'être réduit en eau. À cause de sa charge, O₂^{•-} est imperméable à la membrane et reste donc dans la matrice mitochondriale.[87]

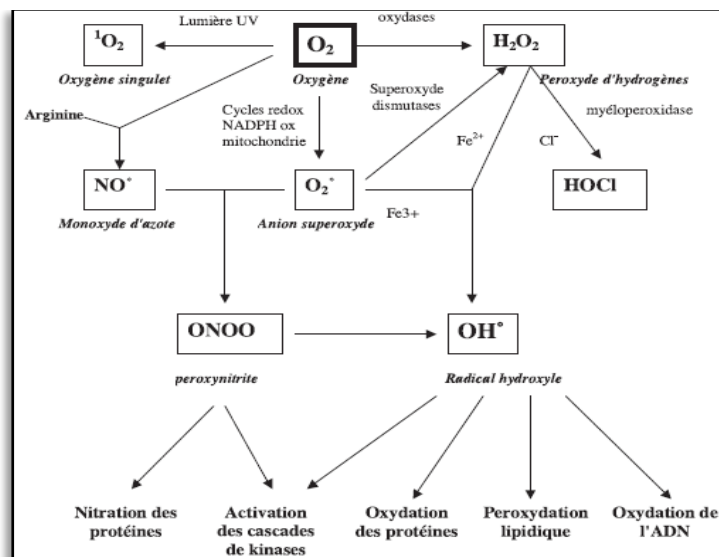


Figure 9: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène.[88]

Généralement les composés radicalaires sont divisés en radicaux primaires et radicaux secondaires, les radicaux primaires sont ceux qui jouent un rôle particulier en physiologie, et ils dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron telles l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} , alors que les radicaux secondaires sont ceux qui résultent par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. [87]

2.2. Les sources exogènes des radicaux libres

De nos jours il y'a plusieurs sources exogènes qui induisent la formation des radicaux libres, parmi ces sources on cite:

- ☞ L'exposition aux infections microbiennes impliquant l'activation des phagocytes.
- ☞ L'activité physique intensive
- ☞ L'action des polluants et des toxines, tels que celle de la fumée des cigarettes et les métaux lourds comme le cuivre, le cadmium, le mercure, le nickel, le plomb et l'arsenic.
- ☞ L'exposition au rayonnement ionisant et UV.
- ☞ L'alcool.
- ☞ Exposition à l'ozone[85]

3. LES ANTIOXYDANTS.

Le corps humain est équipé d'une variété d'antioxydants qui servent à contrebalancer l'effet des oxydants, ceux-ci peuvent être divisés en 2 catégories: les endogènes et les exogènes.

3.1. Les antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes sont regroupés en fonction du type moléculaire, en enzymatique et non enzymatique.

3.1.1. Les antioxydants enzymatiques :

L'un des antioxydants enzymatiques jouant un rôle important dans la première ligne de défense est la superoxyde dismutase (SOD). Suivie par la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR) et les peroxirédoxines (Prxs).

Les modes d'action de ces enzymes pour éliminer les radicaux libres sont comme suit :

le superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation de $O_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 , la catalase (CAT) transforme H_2O_2 en H_2O et O_2 , Le glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD pour accélérer la dismutation de H_2O_2 en H_2O et O_2 , La glutathion réductase (GR) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons.[89]

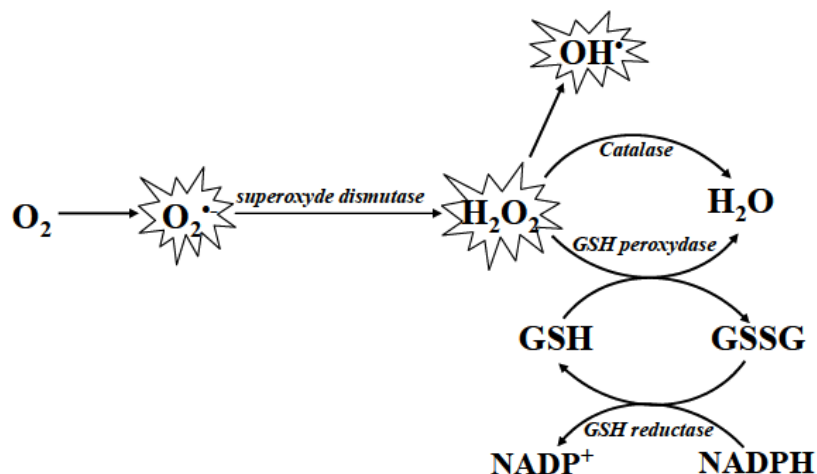


Figure 10: Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques.[89]

3.1.2. Les antioxydants non-enzymatiques

Les protéines de fixation des métaux : ce sont des protéines de liaison extracellulaires et intracellulaires, telles que l'albumine, la céruloplasmine, les métallothionéines, la ferritine, la myoglobine et la lactoferrine. Ces protéines sont les principaux contributeurs à la capacité antioxydante plasmatique. Leurs propriétés antioxydantes impliquent leur capacité à se lier aux ions métalliques qui peuvent être extrêmement pro-oxydants.

La coenzyme Q : présente plusieurs fonctions biochimiques. En général, il intervient dans le transport des électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale et dans le transport des électrons à l'extérieur des mitochondries. La CoQ permet la liaison de l'hydrogène aux radicaux libres, et peut également réduire l' α -tocophérol oxydé.

L'acide urique : est l'un des composés organiques à faible poids moléculaire générés lors du métabolisme des purines. L'acide urique est un antioxydant hydrophile, qui représente les deux tiers de l'activité de piégeage de l'oxygène total dans le sérum sanguin.

La mélatonine : en plus de ses diverses fonctions, notamment sa participation à la régulation de l'horloge biologique, à la maturation génitale et à la reproduction chez les mammifères. La mélatonine est un capteur de radicaux hydroxyles très efficace. Elle a la capacité de détoxifier

certaines ERO et ERA, à savoir l'oxygène singulet, l'anion peroxy-nitrite et l'oxyde nitrique. Il agit également en tant que régulateur de certaines enzymes antioxydantes et empêche la génération de taux d'ERO croissants pendant l'activité mitochondriale.

La bilirubine : est un produit de dégradation de l'hémoglobine et d'autres protéines de l'hème par le système phagocytaire mononucléaire. Elle est considérée comme un marqueur de la fonction hépatique, à des concentrations physiologiques la bilirubine montre des puissantes propriétés antioxydantes. Un fort potentiel antioxydant de la bilirubine contre les radicaux peroxy a été démontré dans les milieux polaires tels que les bicouches lipidiques aqueuses.[90]

Vitamine E (α -tocophérol) : liposoluble est concentrée dans le site interne hydrophobe de la membrane cellulaire. La vitamine E donne un électron au radical peroxy, qui est produit au cours de la peroxydation lipidique.

Vitamine C (acide ascorbique) : hydrosoluble (acide ascorbique) fournit une capacité antioxydante intracellulaire et extracellulaire en phase aqueuse, principalement en piégeant les radicaux libres d'oxygène. Elle est efficace pour inhiber la peroxydation lipidique initiée par un radical peroxy.[91]

3.2. Les antioxydants exogènes

3.2.1. Les composés phénoliques

La voie de l'acide shikimique est la principale voie de biosynthèse des composés phénoliques: acides benzoïques simples, phénylpropanoïdes et polycétides aromatiques.

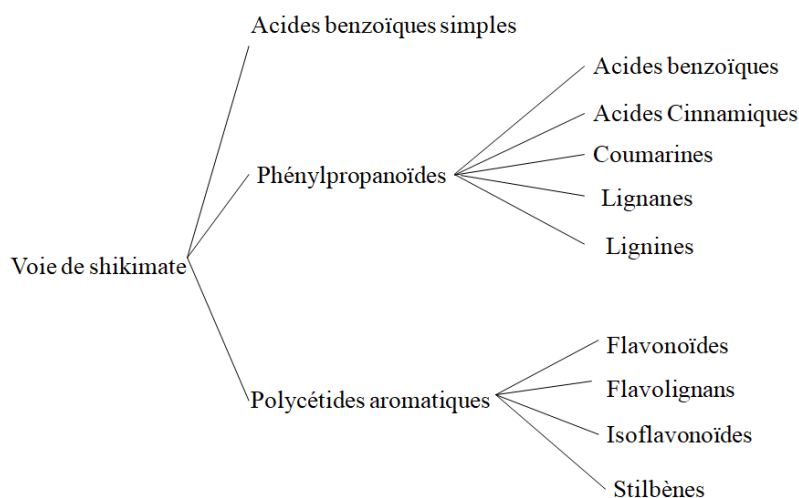


Figure 11: Schéma représentatif de la biosynthèse des composés phénoliques.[92]

3.2.2. Principales classes des composés phénoliques et caractéristiques chimiques

Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent une classe importante de produits naturels, ils appartiennent à une classe de métabolites secondaires végétaux à structure polyphénolique, que l'on trouve couramment dans les fruits, les légumes et certaines boissons. Ils ont divers effets biochimiques et antioxydants favorables associés à diverses maladies telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose. Les flavonoïdes se distinguent par différentes sous-classes comme: les anthocyanes, flavan-3-ols, catéchine, flavanols, flavanones, flavones, flavonols, chalcones et isoflavones. [92][93]

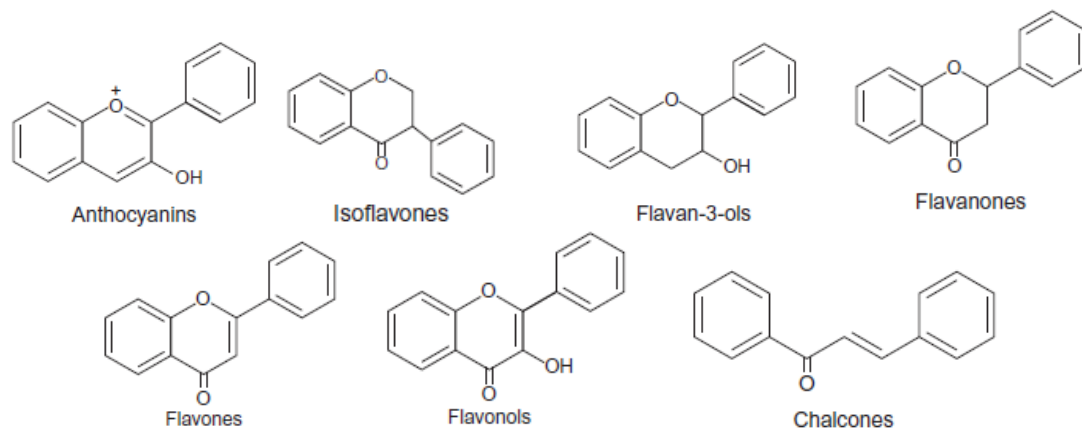


Figure 12: Les structures chimiques des différentes sous classes des flavonoïdes.[92]

Acides hydroxybenzoïques

Composants phénoliques largement distribués dans le règne végétal, possédant des molécules de sept carbones avec un squelette en C6-C1. Les tannins font également partie de ce groupe, variant de petites à grandes molécules. On peut distinguer deux classes principales de tannins, hydrolysables et non hydrolysables.

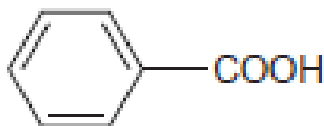


Figure 13: Structure chimique d'acide hydroxybenzoïque.[92]

Acides hydroxycinnamiques

Le groupe des constituants phénoliques dérivés de l'acide cinnamique présente un squelette en C6-C3 constitué d'acide trans-phényl-3-propénoïque et d'un ou plusieurs groupes hydroxyles, certains d'entre eux étant méthylés.

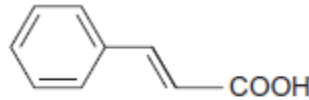


Figure 14: Structure chimique d'acide hydroxycinnamique.[92]

Coumarines

Substances phénoliques dérivées des acides phénoliques formés par fusion d'un cycle benzénique avec un hétérocycle oxygène. Plus de 1000 coumarines différentes se trouvent dans les plantes supérieures, principalement dans les racines et les graines, mais on peut également en trouver dans différents organes des plantes.

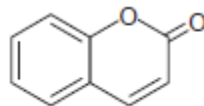


Figure 15: Structure chimique des coumarines.[92]

Lignanes

Les composés phénoliques que l'on trouve couramment dans plusieurs plantes, même quantifiés dans tous les organes, résultent de l'union de deux résidus d'acides cinnamiques ou de ses dérivés biogènes.

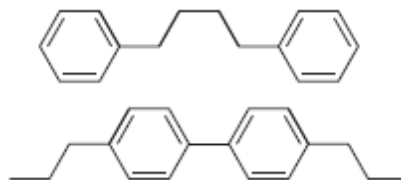


Figure 16: Structure chimique des lignanes.[92]

Lignines

Constituants phénoliques à structure complexe, composés de nombreuses branches de trois alcools simples (monolignols). Comprend les trois polymères les plus abondants dans la nature, également présents dans les tissus végétaux.

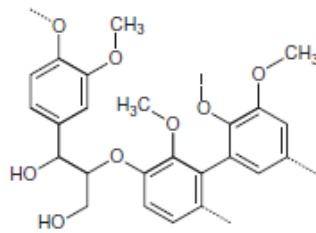


Figure 17: Structure chimique des lignines[92]

Stilbènes

Composants phénoliques à structure C6 – C2 – C6 largement répartis dans plusieurs espèces de plantes. Le resvératrol constitue le stilbène le plus important et le plus connu, étant découvert des avantages reconnus.

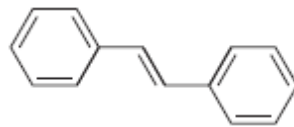


Figure 18: Structure chimique des stilbènes.[92]

Xanthones

Constituants phénoliques constitués par une structure en C6 – C1 – C6, principalement présents dans les plantes supérieures. Sa structure hétérocyclique est très similaire à celle des flavonoïdes, se divisant généralement en cinq groupes différents: les xanthones oxygénés simples, les glycosides de xanthone, les xanthones prénylés et apparentés, les xanthonolignoïdes et divers.[92]

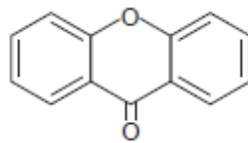


Figure 19: Structure chimique des xanthones.[92]

II. LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR L'ALUMINIUM ET CONSEQUENCES

1. ALUMINIUM

L'aluminium est le troisième élément le plus répandu et le métal le plus fréquent dans la croûte terrestre (juste après l'oxygène et le silicium). Compte tenu de ses caractéristiques

(légèreté, résistance à la corrosion), l'aluminium a connu un taux de croissance annuel de près de 10% au cours des années 1945-1972, en raison de son utilisation croissante dans l'application des bâtiments, les feuilles de base et l'aéronautique. Un autre coup de pouce au début des années 1970 a été le développement des canettes en aluminium. De plus, cette croissance de l'aluminium dans l'industrie a été associée à une augmentation de la biodisponibilité environnementale de l'aluminium. Aujourd'hui l'aluminium se trouve partout dans les aliments comme additif alimentaire, comme colorants, antiagglomérant, affermissant, épaississant, stabilisant ou correcteur d'acidité. Dans les eaux comme produits de traitement, dans les produits cosmétiques surtout les déodorants/antiperspirants, les produits pour soins du visage et soins du corps, dans les produits de santé comme antiacides et pansements gastro-intestinaux, dans le liquide de dialyse, dans les solutés de nutrition parentérale, comme adjuvant dans les vaccins. [94,95]

L'aluminium (Al) est un minéral non essentiel auquel les êtres humains sont exposés au quotidien. Une quantité considérable de littérature a été publiée sur les effets toxiques de l'aluminium, il est considéré comme un agent déclenchant le stress oxydatif, il est neurotoxique et susceptible de causer l'Alzheimer,[96] il est hépatotoxique et néphrotoxique, il provoque l'anémie,[97] et la tumeur des seins[98], des poumons[99] et de la vessie.[100]

2. STRESS OXYDATIF ET TOXICITE INDUITE PAR L'ALUMINIUM

Le potentiel toxicologique de l'Al est lié à son absorption intestinale rapide et à la distribution organique du flux sanguin, à la libération prolongée dans les tissus et les organes, à la forte complexation avec les biomolécules et au faible taux d'excrétion rénale. Puisque l'Al et les minéraux essentiels (par exemple, les ions fer, magnésium et calcium) partagent des voies d'absorption similaires, la compétition moléculaire déclenchée par une exposition excessive à l'Al peut déterminer des déséquilibres minéraux. De plus, l'exposition à l'Al est impliquée dans les perturbations enzymatiques (activité inhibitrice de la phosphatase alcaline, acétylcholine estérase et adénylcyclase), compromettant les ajustements homéostatiques dans de nombreux tissus et organes. Dans les organes cibles, en particulier le cerveau, le foie et les reins. Dans ces cas, la forte ligature de l'Al avec les biomolécules est le principal mécanisme associé à la bioaccumulation des métaux et aux lésions tissulaires induites par Al, notamment par les processus inflammatoires et l'activation du stress oxydatif. La peroxydation joue un rôle central dans les dommages aux tissus réactifs induits par Al, déterminant la désorganisation de la membrane cellulaire, la biosynthèse des médiateurs lipidiques pro-

inflammatoires, l'infiltration et l'activation des leucocytes, la fibrose tissulaire et la mort cellulaire. [101–103]

3. LES PATHOLOGIES ASSOCIEES A LA TOXICITE DE L'ALUMINIUM

La toxicité de l'aluminium a été largement étudiée pour son implication dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et la sclérose en plaques, l'aluminium peut aussi engendrer des modifications neurocomportementales, l'encéphalopathie, des troubles des fonctions psychomotrices, des effets osseux, hématologiques, respiratoires, immunologiques et allergiques, ainsi que des effets cancérogènes .[95]

3.1.L'anémie induite par l'aluminium

Une fois dans la circulation sanguine, l'aluminium est principalement transporté par la transferrine plasmatique dans ses sites laissés vacants par le fer et, dans une moindre mesure, par l'albumine. Plusieurs sources de données ont confirmé le fait que l'aluminium peut induire l'anémie. Chez des animaux expérimentaux, on a constaté que l'aluminium induisait une anémie microcytaire [104] ou une anémie macrocytaire légèrement hypochrome avec réticulocytose. De plus, les patients sous hémodialyse peuvent développer une anémie hypochrome microcytaire résultant de l'accumulation de l'aluminium. [105] Les mécanismes moléculaires par lesquels l'aluminium exerce ses effets toxiques sur l'érythropoïèse restent inconnus. Cependant, plusieurs études suggèrent qu'une exposition chronique à des doses relativement élevées d'aluminium peut modifier le métabolisme du fer chez différentes espèces animales. La transferrine est principalement connue pour son rôle dans le transport et l'absorption cellulaire du fer, mais elle est également la principale protéine de fixation du sérum pour Al. Le complexe aluminium-transferrine se lie au récepteur de la transferrine et l'absorption cellulaire médiée par les récepteurs semble être un facteur important dans l'absorption de l'aluminium par les tissus [106]

Certains articles ont rapporté l'effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* de concentrations élevées en aluminium sur l'activité de l'enzyme acide æaminolévulinique déshydratase (β -ALA-D). Cette enzyme catalyse la deuxième étape de la voie de biosynthèse de l'hème.[107,108]

3.2.Hépatotoxicité et stress oxydative induite par l'aluminium

Le métabolisme mitochondrial et la respiration aérobie sont au cœur de la fonction physiologique des hépatocytes. Les mitochondries dans les hépatocytes aident à ajuster les

niveaux de carburants et de métabolites circulants en participant au maintien de l'homéostasie des glucides et des lipides, aux réactions de biosynthèse et au métabolisme des acides aminés. L'exposition des cellules hépatiques à l'aluminium entraîne l'épuisement du Fer biodisponible dans la mitochondrie et le stress oxydatif, caractéristiques de la toxicité en aluminium. Les cellules hépatiques exposées à l'aluminium accumulent également du succinate, précurseur de la respiration anaérobie. Sous l'influence de l'aluminium, l'accumulation des intermédiaires du cycle Krebs est fréquente. Aluminium perturbe les processus métaboliques dans les hépatocytes en perturbant l'homéostasie du Fer et / ou en induisant un stress oxydatif. La relation entre l'homéostasie du Fer perturbé et le dysfonctionnement métabolique dans les mitochondries est relativement bien caractérisée. Le stress oxydatif et la toxicité des métaux sont connus pour altérer les taux de nucléotides et de métabolites cellulaires.

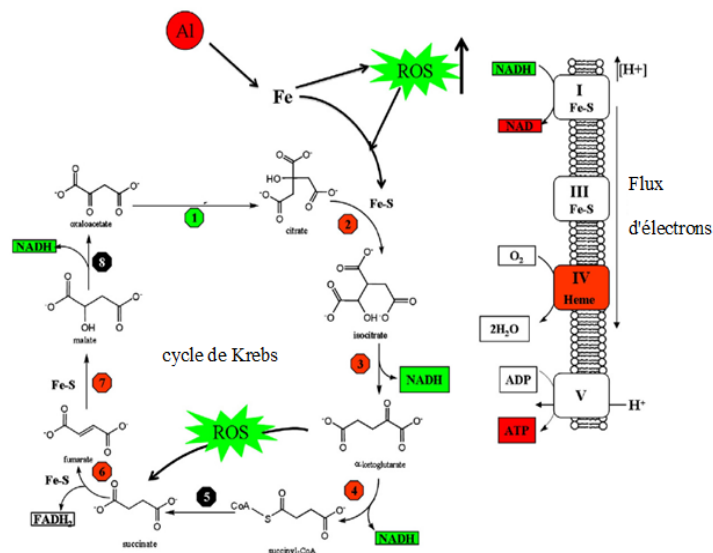


Figure 20: Mécanisme de toxicité de l'aluminium dans les cellules hépatiques.[109]

L'aluminium perturbe le métabolisme aérobie dans les mitochondries des cellules hépatiques, en déplaçant le fer biodisponible et en induisant un stress oxydatif, la perturbation résultante du flux du cycle Krebs et de la phosphorylation oxydative empêche la respiration couplée et la production d'ATP. L'accumulation de NADH est due à la rupture de la chaîne respiratoire. Les enzymes dépendantes du Fe telles que l'aconitase (2), la succinate déshydrogénase (6), la fumarase (7) et le complexe IV ont été diminués par l'exposition à Al. Les enzymes dépendant des cofacteurs Fe (Fe – S ou hème) sont indiquées sur la figure. De même, les enzymes sensibles à l'inhibition par le stress oxydatif, y compris l'isocitrate déshydrogénase NAD-dépendante et l' α -cétoglutarate déshydrogénase, ont également été diminuées par la toxicité de l'Al. L'inhibition de l' α -cétoglutarate déshydrogénase conduit à

l'accumulation d' α -cétoglutarate, ce qui stoppe la production de succinate sous forme de sous-produit non enzymatique. Les diminutions d'activité enzymatique ou les taux de métabolites sont indiqués en rouge. L'augmentation de l'activité enzymatique ou des taux de métabolites est indiquée en vert. 1: citrate synthase, 3: isocitrate déshydrogénase dépendante du NAD, 4: α -cétoglutarate déshydrogénase, 5: succinyl-CoA synthétase, 8: malate déshydrogénase.

De façon générale la perturbation médiée par l'aluminium de la fonction mitochondriale dans les cellules hépatiques a provoqué une série d'événements, notamment une perturbation du métabolisme et une augmentation de la respiration anaérobie, conditions souvent observées pendant la stéatose hépatique.[109]

3.3.Néphrotoxicité induite par l'aluminium

Il a été démontré que l'administration chronique d'Al par exposition parentérale augmentait la réabsorption tubulaire du phosphate rénal, avec une augmentation de la vitesse maximale apparente sans modification de l'affinité apparente (K_m). L'Al accumulé dans le tissu rénal en raison d'une administration chronique modifiait d'autres mécanismes de transport tubulaires, tels que le système de transport des anions organiques. Ce système de transport joue un rôle essentiel dans la protection contre les effets toxiques des substances anioniques et constitue une cible pour les actions de nombreux médicaments et substances toxiques pour l'environnement. Il a été démontré aussi que la manipulation rénale de l'eau et du sodium était altérée dans les études d'équilibre. Ces changements étaient associés à une augmentation des taux d'Al accumulés dans les tissus rénaux.[110]

Dans une étude de Sargazi *et al* ont montré l'effet toxique de l'aluminium sur les cellules tubulaires rénales proximales, il provoque l'augmentation de la libération de LDH. [111]

Mahieu *et al* ont trouvé que l'Al a augmenté aussi l'activité de $Na^+ - K^+$ ATPase et l'excrétion de sodium.[112]

Ibraheem *et al* ont montré que l'Al provoque un rétrécissement du glomérule, des modifications dégénératives légères de la muqueuse tubulaire et de la congestion vasculaire dans le tissu rénal.[113]

Dans une autre étude de Mahieu *et al* ont montré que l'aluminium provoque une réduction du débit de filtration glomérulaire sans modification du débit sanguin rénal chez les rats. Et à la

fin du traitement par AI, les animaux présentaient une augmentation de la diurèse et de la natriurèse, avec une réduction de l'osmolalité et de l'équilibre sodique.[114]

III. LE DIABETE ET STRESS OXYDATIF

1. LES DEUX PRINCIPAUX TYPES DE DIABETE

Le diabète est une maladie chronique épidémique affectant 415 millions de personnes à l'échelle mondiale, il est essentiellement classé en deux grands types : le diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID) et le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID)

Le diabète de type 1 est dû à la destruction auto-immune des cellules bêta pancréatiques, entraînant une carence en insuline

Le diabète de type 2 est dû à un défaut de sécrétion d'insuline et une perte de sensibilité à l'insuline dans les tissus cibles (adipeux et musculaire).

Le diabète de type 1 commence généralement à se manifester dans l'enfance et au début de l'âge adulte, mais le diabète de type 2 est généralement une maladie pour laquelle l'augmentation de l'âge est un facteur de risque.[115–117]

2. LE DIAGNOSTIC DU DIABETE.

Un diagnostic de diabète repose sur une glycémie à jeun supérieure à 7,0 mmol / L (126 mg / dL), une concentration de glucose sanguin aléatoire supérieure à 11,1 mmol / L (200 mg / dL) avec des symptômes ou une anomalie. En l'absence des symptômes, une glycémie anormale doit être présente à deux occasions différentes. Un diagnostic de diabète peut également être posé sur la base d'une concentration d'hémoglobine glyquée (HbA1c) supérieure à 48 mmol / mol (6,5%). Cependant, la progression de la dysglycémie pouvant être rapide chez les patients atteints de diabète de type 1, l'HbA1c est moins sensible au diagnostic que les mesures de glycémie à jeun ou stimulées.[116]

3. LA PHYSIOPATHOLOGIE DE DIABETE

Chaque fois que quelqu'un prend le repas, la glycémie augmente, ce qui stimule la sécrétion d'insuline, entraînant une augmentation du transport, de la biotransformation et du stockage dans les muscles et les tissus adipeux. Dans les conditions de jeûne, le glucose dans le sang

est fourni par le foie, qui est utilisé par le cerveau, sans aucune dépendance à l'insuline. Outre le stockage de glucose, l'insuline inhibe également la sécrétion de glucagon et diminue la concentration d'acides gras sériques, entraînant une baisse de la production de glucose dans le foie. Une insuline insuffisante ou une résistance à l'insuline dans l'organisme entraîne une diminution de l'absorption de glucose dans les tissus, ce qui entraîne une hypoglycémie intracellulaire et hyperglycémie extracellulaire. L'hypoglycémie intracellulaire entraîne une glycogénèse et une gluconéogenèse qui entraînent une dégradation des graisses (résultant une acidocétose diabétique) et une diminution de la synthèse protéique et des gammaglobulines (cachexie, polyphagie et altération de la cicatrisation). Tandis que l'hyperglycémie extracellulaire entraîne un coma hyperglycémique et une diurèse osmotique.[118]

4. PATHOGENESE DU DIABETE DE TYPE 1

Trois étapes clés qui contribuent à la pathogenèse de diabète de type 1 :

La première étape a lieu dans le thymus : qui est le lieu de maturation des lymphocytes T, cette maturation arrive par leur exposition à des cellules thymiques présentant différents antigènes de soi. Les lymphocytes T qui reconnaissent ces auto-antigènes sont considérés comme dangereux et ils sont éliminés immédiatement, mais dans certains cas certains lymphocytes auto-réactifs s'échappent vers la circulation et ils deviennent capables de déclencher l'auto-immunité.

La deuxième étape a lieu dans les ganglions pancréatiques, où se déroule une phase de reconnaissance des antigènes de la cellule bêta dans un contexte inflammatoire ce qui provoque la différenciation du lymphocyte T en un phénotype effecteur, pathogène.

La troisième étape a lieu dans l'îlot pancréatique, où ces lymphocytes T pathogènes prennent le dessus sur les régulateurs et commencent à détruire les cellules bêta. Le stade final de la destruction des cellules B représente l'apparition d'une maladie clinique conduisant au diabète sucré de type 1. [119]

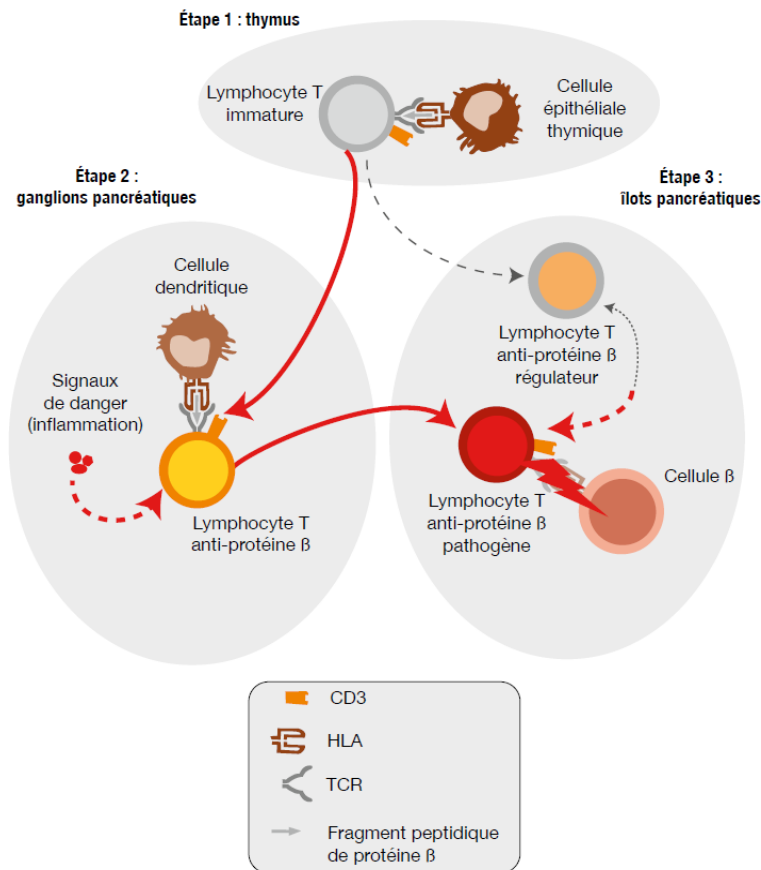


Figure 21: Les trois étapes de la pathogenèse de diabète de type 1.[119]

5. LE STRESS OXYDATIF ET PATHOGENESE DU DIABETE

De nos jours, des preuves ont été rapportées concernant le rôle du stress oxydatif dans la pathogenèse du diabète de type 1 et de type 2. La formation de radicaux libres dans le diabète par glycation non enzymatique des protéines, oxydation du glucose et augmentation de la peroxydation lipidique entraîne une dégradation des enzymes, de la machinerie cellulaire et une résistance accrue à l'insuline due au stress oxydatif.

L'hyperglycémie est connue pour provoquer une élévation des concentrations de radicaux libres dans le plasma par plusieurs voies :

- ∞ Augmentation de la glycolyse.
- ∞ Activation intercellulaire de la voie du sorbitol (polyol) : dans les conditions physiologiques cette voie est inactive mais lorsque le taux de la glycémie s'élève cette voie devient active et conduit à la transformation d'une partie du glucose intracellulaire en sorbitol qui est incapable de traverser la membrane plasmique et il s'accumule dans la cellule entraînant plusieurs dommages cellulaires comme les dommages osmotiques. Une partie de sorbitol se transforme en suite en fructose qui est l'origine des produits avancés de glycation entraînant l'inflammation et le stress oxydant.

- ☞ Activation dépendante de la protéine kinase C (PKC) : L'augmentation de la glycolyse entraîne une augmentation de production de glycéraldéhyde-3-phosphate qui est un précurseur du diacylglycerol, activateur de la protéine kinase C (PKC), l'activation de cette voie de la protéine kinase C (PKC) va entraîner l'augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) via l'augmentation de l'activité de NADPH oxydase, l'inflammation par la synthèse du facteur pro-inflammatoire NFκB et aussi une résistance à l'insuline.
- ☞ Augmentation du flux de la voie hexosamine : L'activation de la voie des hexosamines est dépendante de l'activité de la glutamine-fructose 6-Phosphate amidotransferase (GFAT) qui conduit à la formation de la glucosamine-6-phosphate ainsi formée est transformée en UDP-N-acetyl-glucosamine (UDP-GlcNac) et puis à la formation de protéines O-GlcNac qui est une protéine glycosylée qui est impliquée dans l'augmentation du stress oxydant.
- ☞ Augmentation de la formation intracellulaire des produits avancés de glycation (AGE) : Une glycémie élevée peut conduire à l'accumulation de glycéraldéhyde-3-phosphate qui est converti en méthylglyoxal, un précurseur de la formation des produits avancés de glycation (AGE) qui provoquent l'inflammation et le stress oxydant. Parmi Les plus célèbres protéines glyquées on peut citer l'hémoglobine et l'albumine. L'hémoglobine glyquée (HbA1C) est un marqueur très efficace pour le suivi de la glycémie à long terme chez les diabétiques. [120,121]

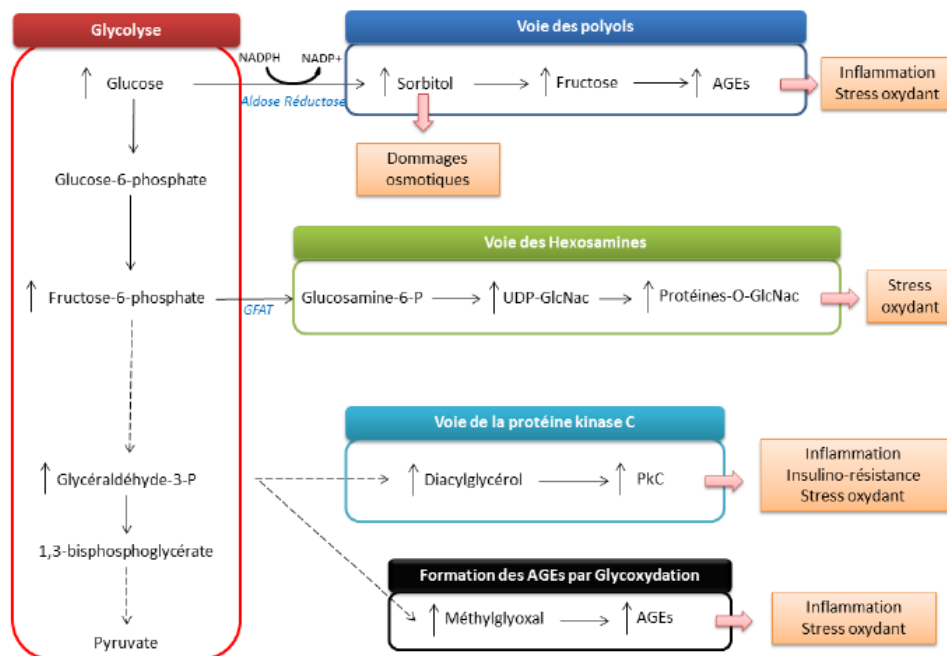


Figure 22: les voies de l'hyperglycémie conduisant au stress oxydatif.[121]

IV. STRESS OXYDANT ET INFECTIONS MICROBIENNES

1. LES MALADIES MICROBIENNES

Les maladies microbiennes et les agents pathogènes qui les causent représentent des menaces importantes pour la santé publique depuis des millénaires et ont frappé l'humanité depuis l'aube de l'humanité. Il est classé comme la deuxième cause de mortalité chez l'homme par l'Organisation mondiale de la santé, avec environ 15 millions de décès dans le monde chaque année, les maladies microbiennes demeurent un grave problème de santé publique au 21ème siècle. Le terme microbe regroupe les microorganismes généralement unicellulaires pathogènes comme les bactéries, les virus, les champignons et les parasites.[122,123]

2. LES BACTERIES

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires procaryotes, alors que les champignons, les protozoaires et les helminthes sont des organismes eucaryotes. Les cellules procaryotes sont généralement plus petites et moins complexes que les cellules eucaryotes et ne possèdent pas de noyau contenant le matériel génétique de la cellule. Le matériel génétique des organismes procaryotes se trouve dans une grande boucle flottant dans le cytoplasme de la cellule. Les composants de base des cellules bactériennes comprennent la paroi cellulaire, la membrane cellulaire, le cytoplasme, l'acide ribonucléique (ARN) et les ribosomes. La plupart des bactéries sont mobiles et se déplacent au moyen de flagelles.

Les bactéries sont regroupées selon plusieurs caractéristiques, notamment la forme cellulaire, la réponse à la coloration de Gram et la réponse à l'oxygène moléculaire libre. Les bactéries sont entourées d'une paroi cellulaire rigide qui offre une protection. La paroi cellulaire est constituée de deux couches de lipides entourées d'une capsule glucidique solide. Les bactéries à Gram positif ont une paroi cellulaire épaisse composée principalement de peptidoglycane et les bactéries à Gram négatif ont une paroi cellulaire.

En plus de la forme cellulaire et de la réponse cellulaire à la coloration de Gram, la réponse cellulaire à l'oxygène moléculaire libre (O_2) est utilisée pour décrire et identifier les cellules bactériennes. Il existe trois groupes de bactéries en fonction de la réponse à l'oxygène moléculaire libre.

Certaines bactéries, une minorité, sont aérobies. Elles ne peuvent utiliser que de l'oxygène moléculaire libre pour l'activité cellulaire. Certaines bactéries, les plus primitives, sont des

anaérobies. Ils ne peuvent pas utiliser d'oxygène moléculaire libre pour l'activité cellulaire. Il existe deux types d'anaérobies, tolérants à l'oxygène et intolérants à l'oxygène. Les anaérobies tolérants à l'oxygène peuvent survivre en présence d'oxygène moléculaire libre. Les anaérobies intolérants à l'oxygène meurent en présence d'oxygène moléculaire libre. La plupart des bactéries sont des anaérobies facultatifs et peuvent exercer une activité cellulaire avec ou sans oxygène moléculaire libre. Les anaérobies facultatifs préfèrent l'oxygène moléculaire libre, mais ils peuvent utiliser d'autres molécules telles que les ions nitrate (NO_3^-), les ions sulfate (SO_4^{2-}) et les composés organiques pour mener une activité cellulaire.[124,125]

3. LES CHAMPIGNONS

Les champignons sont un groupe d'organismes divers. Les caractéristiques importantes utilisées pour classer ou regrouper les champignons sont leurs moyens de reproduction et leur cycle de vie. Les champignons sont multicellulaires, tandis que certains, comme la levure, sont unicellulaires.[126]

L'enveloppe cellulaire des champignons est la structure périphérique qui entoure le cytoplasme et comprend la membrane plasmique, le périplasme, la paroi cellulaire et d'autres composants structurels extracellulaires (tels que les fimbriae et les capsules). La paroi cellulaire représente un exosquelette dynamique qui protège le Protoplaste fongique de l'environnement externe et définit la croissance directionnelle, la force cellulaire, la forme et les propriétés interactives.[127]

Les champignons sont saprophytes. Ils se nourrissent de matière organique morte ou d'organismes vivants. Cependant, les champignons ne sont pas des parasites obligatoires, car tous les champignons peuvent se nourrir d'organismes morts. Lorsque les champignons infectent un organisme vivant, ils tuent les cellules et se nourrissent de saprophytes à partir de cellules mortes. Il y a moins de 50 espèces de champignons qui causent des maladies chez l'homme. La plupart des champignons pathogènes associés aux eaux usées sont opportunistes. Les infections fongiques ou les mycoses sont soit superficielles, soit systémiques. Les mycoses superficielles se produisent sur les cheveux, les ongles et la peau, tandis que les mycoses systémiques se produisent généralement dans les voies respiratoires.

La candidose est une mycose superficielle causée par *Candida albicans*. L'aspergillose est une mycose systémique provoquée par *Aspergillus fumigatus*. Ces deux champignons, en particulier *Aspergillus fumigatus*, préoccupent particulièrement le personnel des eaux usées.

Le personnel des eaux usées lors des opérations de compostage est exposé à *Aspergillus fumigatus* et à *Blastomyces* spp. Et *Histoplasma* spp. Ces champignons provoquent des maladies des voies respiratoires et le nez qui coule. *Aspergillus fumigatus* est l'agent causal de l'aspergillose ou «poumon de fermier». La maladie est une maladie pulmonaire allergique débilitante chronique. [126]

4. RELATION : STRESS OXYDANT ET MALADIES INFECTIEUSES

Les phagocytes sont des composants clés du système de défense immunitaire. Ils sont utilisés pour tuer les micro-organismes potentiellement pathogènes tels que les bactéries et les champignons en utilisant des radicaux libres comme armes. Cependant, dans certaines conditions, les phagocytes peuvent produire trop de radicaux libres et provoquer «involontairement» un stress oxydatif et des dommages aux cellules non ciblées. De nombreux troubles ont été liés à la production de radicaux libres par les phagocytes. La formation de radicaux libres par les phagocytes activés est associée à une augmentation brusque et transitoire de l'absorption d'oxygène, connue sous le nom de «poussée respiratoire». La poussée respiratoire a été observée pour la première fois dans les années 1930 et était associée à une respiration mitochondriale accrue. Deux décennies plus tard, il a été montré que les mitochondries n'étaient pas directement impliquées dans la poussée respiratoire car le phénomène se produisait en présence de cyanure. En 1961, il a été montré que les phagocytes activés produisaient H_2O_2 lors de la poussée respiratoire, qui pourrait être impliquée dans la destruction bactérienne. Par la suite, au début des années 1970 (après la découverte de la SOD), Bernard Babior et al, ont démontré que les phagocytes activés produisent principalement O_2^- ; la formation de peroxyde d'hydrogène n'était que le résultat de la O_2^- dismutation.[128]

Diverses substances affectent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les cellules humaines, parmi les quelles la pyocyanine et la pyochéline, produits de sécrétion de *Pseudomonas*, ont la capacité de subir un cycle d'oxydoréduction, produisant un anion superoxyde (O_2^-) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les cellules endothéliales exposées aux deux métabolites subissent des lésions via la production de radicaux hydroxyles. Pyoverdin,

un autre pigment de *Pseudomonas*, a également été décrit comme producteur de stress oxydatif dans les leucocytes.[129]

L'inflammation dérégulée et le stress oxydatif associé sont impliqués dans plusieurs conditions infectieuses, comme la septicémie et l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Dans la septicémie, l'infection transmise par le sang provoque une réponse immunitaire massive et une production excessive d'oxydants et des cytokines par les cellules inflammatoires. [130] Un autre exemple de stress oxydatif se traduit par l'afflux des cellules phagocytaires dans le cas de l'infection par *Helicobacter pylori*. Les macrophages et les neutrophiles phagocytent les bactéries pour tenter de les tuer avec le ERO /ERN. De plus, les neutrophiles et les cellules épithéliales de l'hôte expriment également une enzyme critique, l'oxyde nitrique synthase inductible, qui produit le NO. Le NO réagit avec les métaux et O_2^- pour produire du peroxy-nitrite, un oxydant fort. L'infection à *Helicobacter pylori* entraîne la formation d'ERO et d'ERN en augmentant l'expression des cellules immunitaires des NADPH oxydase et des oxydes nitrique synthase inductibles. Les patients infectés par *Helicobacter pylori* ont des taux plus élevés d'ERS avec des taux accrus de métabolites dérivés du NO, indiquant l'activation de l'oxyde nitrique synthase inductible. La combinaison de la production des ERO de cellules phagocytaires et épithéliales crée un environnement de stress oxydatif qui contribue à la carcinogenèse gastrique.[131]

V. LIEN ENTRE LE STRESS OXYDANT ET CANCER : ROLE DES ANTIOXYDANTS DANS LA THERAPIE

1. DEFINITION DU CANCER

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire excessive au sein d'un tissu normal de l'organisme, la cellule initiatrice du cancer finit par former une masse qu'on appelle tumeur maligne (un néoplasme) qui a le pouvoir de former des métastases (elle migre via les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques pour aller former une autre tumeur).[132]

2. STRESS OXYDANT ET CANCER

Les radicaux libres peuvent être impliqué dans la carcinogenèse par le biais de deux mécanismes possibles: *l'induction de mutations génétiques résultant de lésions cellulaires et

** les effets sur la transduction du signal et les facteurs de transcription. Le mécanisme à suivre dépend du type du radical libre et de l'intensité du stress.[133]

Sous un stress prolongé, les ERO sont produits sur une longue période et, par conséquent, des dommages importants peuvent survenir à la structure et aux fonctions cellulaires et peuvent induire des mutations somatiques et une transformation néoplasique. En effet, l'initiation et la progression du cancer ont été liées au stress oxydatif en augmentant les mutations de l'ADN ou en induisant des dommages à l'ADN, l'instabilité du génome et la prolifération cellulaire.[134]

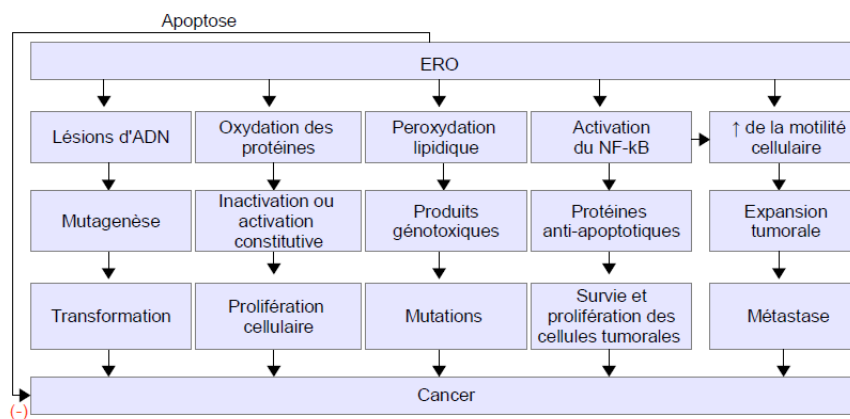


Figure 23: Relation du stress oxydatif avec le cancer.

Le cancer lui-même induit un stress oxydatif; en fait, les niveaux d'ERO se sont avérés significativement plus élevés et les activités de GPX et de SOD significativement plus faibles chez les patients cancéreux que chez les témoins; sur la même ligne, les taux sériques d'IL-1 bêta, d'IL-6, de TNF- α , de protéine C-réactive et de fibrinogène sont significativement plus élevés et les taux sériques d'IL-2 et de leptine significativement plus faibles chez les patients cancéreux que chez les témoins. Des preuves croissantes suggèrent que les cellules cancéreuses sont soumises à un stress oxydatif accru par rapport aux cellules normales associées à la transformation induite par les oncogènes, à une activité métabolique accrue, à un dysfonctionnement mitochondrial et à une génération accrue de ERO.

Les cellules cancéreuses actives sur le plan métabolique nécessitent un apport élevé en ATP pour maintenir une croissance et une prolifération cellulaires incontrôlées. Cette forte demande en énergie sur la chaîne respiratoire mitochondriale contribue à une augmentation de la production d'ERO. Plusieurs autres mécanismes peuvent entraîner un stress oxydatif chez les patients cancéreux, par exemple une altération du métabolisme énergétique due à la

malnutrition; une production excessive de cytokines pro-inflammatoires, ce qui peut augmenter la production d'ERO et l'utilisation de médicaments antinéoplasiques.[135]

3. ROLE DU STRESS OXYDANT DANS L'APPARITION DES SYMPTOMES DU CANCER

Une altération du métabolisme énergétique dans le cancer peut expliquer des symptômes tels que l'anorexie / la cachexie, la nausée et les vomissements, empêchant une alimentation normale et donc un apport normal en nutriments tels que glucose, protéines et vitamines antioxydantes. Contrôler la production de radicaux libres. Un taux élevé d'activité glycolytique et de production de lactate est courant dans les cellules cancéreuses.

Une dépendance accrue des cellules cancéreuses vis-à-vis de la glycolyse pour répondre à leurs besoins en ATP peut refléter une génération inefficace de l'ATP dans les mitochondries ou une lésion respiratoire. La chaîne respiratoire mitochondriale est le principal site de production d'ERO en raison de la bifurcation électronique. Un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale est susceptible d'entraîner une augmentation de la production de radicaux libres due à une fuite accrue d'électrons du complexe respiratoire. Cela génère un cercle potentiellement vicieux, à moins qu'il ne soit contenu dans des mécanismes de protection. [135]

4. LES CAUSES DES NIVEAUX ELEVEE DES RADICAUX LIBRES DANS LE CANCER

Les niveaux élevés d'ERO sont principalement attribuables aux sources suivantes:

- ☞ Augmentation de l'activité métabolique et de l'énergétique mitochondriale élevée: bien que les cellules cancéreuses déplacent leur métabolisme du glucose vers des voies anaérobies même avec un apport d'oxygène suffisant l'absorption de glucose stimule toujours l'énergétique mitochondriale, qui serait liée à une production élevée d'ERO.
- ☞ Altérations de la mitochondrie au niveau de la chaîne de transport mitochondriale : les électrons s'attardent sur le complexe, augmentant la possibilité d'être transféré à l'oxygène.
- ☞ l'état hypoxique du cancer conduit à l'activation de diverses protéines mères clés telles que HIF-1.
- ☞ Inflammation chronique et libération de cytokines.
- ☞ Signalisation oncogénique: L'activation de la protéine c-Myc et de ses voies de signalisation en aval peut induire une production cellulaire d'ERO. Les niveaux

d'ERO supérieurs à la normale semblent être liés à la croissance des cellules cancéreuses, à l'angiogenèse et aux métastases..[136]

5. ROLE DES ANTIOXYDANTS DANS LA THERAPIE DU CANCER

L'hypothèse d'un «rôle bénéfique des antioxydants dans la chimioprévention du cancer» est prématurée dans le domaine de la recherche qui évolue rapidement. En outre, il est essentiel de comprendre le mécanisme d'action et les doses avantageuses d'antioxydants pour la consommation en tant que médicament chimiopréventif. Les principaux exemples de ces composés sont les suivants:

La vitamine E : l' α -tocophérol ou la vitamine E a été rapporté pour supprimer l'activité de La protéine kinase C (PKC) dans différentes lignées cellulaires. La (PKC) est considéré comme enzyme critique dans la progression tumorale dans certains types de cancer. L'inhibition de la PKC par la vitamine E s'est avérée sans lien avec sa fonction antioxydante. Le succinate d' α -tocophérol (un homologue) est connu comme un puissant inducteur apoptotique dans les cellules cancéreuses, mais pas dans les lignées cellulaires normales. L'estérification étant essentielle pour le succinate d' α -tocophérol, l'effet pro-apoptotique de ce composé ne peut pas être similaire à son action antioxydante. Étant donné que tous les esters α -tocophérol doivent être hydrolysés en vitamine E par voie intestinale, il est nécessaire d'administrer ces composés par voie parentérale pour obtenir les effets attendus.

La vitamine C : inhibe la surexpression des gènes anti-apoptotiques est la survie de l'homéostasie redox. Il est rapporté que la vitamine C à ses niveaux physiologiques (50 μ M) pourrait arrêter le cycle cellulaire au point de contrôle G2/M pendant l'exposition au stress oxydatif dans les cellules ovariennes.

β -carotène : Les communications intercellulaires à jonctions lacunaires sont nécessaires à la différenciation cellulaire et au contrôle du cycle, mais elles ne se produisent pas efficacement dans les cellules tumorales. Il est intéressant de noter que le β -carotène induit une communication de la jonction entre les fibroblastes (*in vitro*) par amplification de la «connexine 43». Pour autant que les chercheurs aient pu le constater, cet effet ne devrait pas être lié à la capacité du β -carotène à balayer les radicaux libres et cela est probablement dû à la capacité des métabolites caroténoïdes à induire l'expression des gènes.[137,138]

Des recherches épidémiologiques montrent une diminution du risque de cancer du poumon chez les personnes qui consomment une alimentation en fruits et légumes riches en

caroténoïdes et chez celles qui ont des taux sériques élevés de vitamine E et de β -carotène[139]

Les flavonoïdes, il a été démontré qu'il y'a une association inverse entre la consommation des flavonoïdes surtout la quercétine et l'incidence subséquente du cancer du poumon. [140] Le Gallate d'épigallocatechine qui est le flavonol le plus abondant dans le thé vert est montré qui est capable de contrôler l'angiogenèse et les métastases du cancer.

La N- acétylcystéine, est une forme acétylée de l'acide aminé cystéine, c'est un antioxydant et il stimule aussi la production de glutathion qui joue un rôle dans la régulation de transduction de signal, la défense intracellulaire contre le stress oxydatif et d'autres fonctions importantes dans le processus néoplasique.

Le sélénium, qui est un oligoélément antioxydant capable de provoquer directement l'apoptose des cellules tumorales et inhiber la prolifération cellulaire dans les tissus.[141]

CONCLUSION

En conclusion, ce chapitre résume les différentes causes et conséquences du stress oxydatif, nous avons illustré l'impact de l'aluminium et le stress oxydatif induit par sa toxicité, le diabète comme cause et conséquences du stress oxydatif, la relation entre les infections microbiennes et stress et enfin nous avons illustré le rôle du stress oxydatif dans les maladies tumorales.

PARTIE PRATIQUE

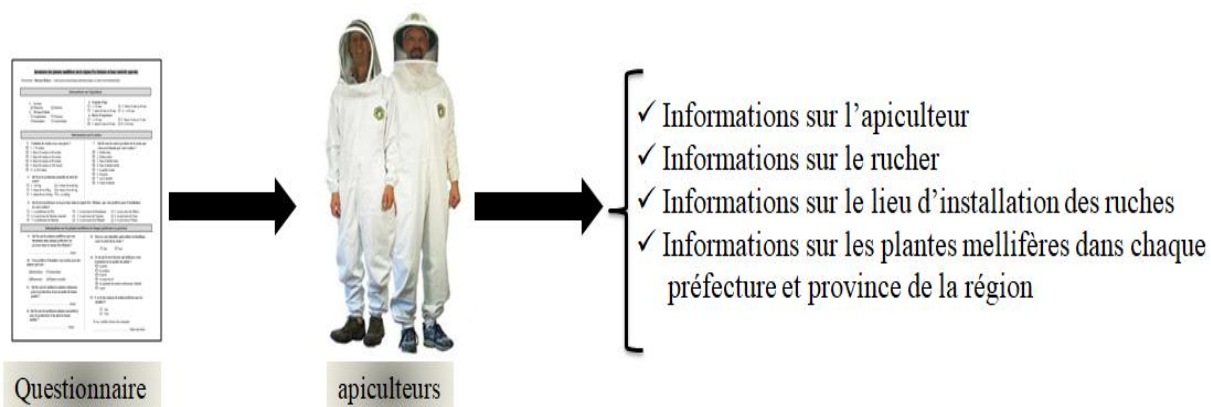
Chapitre 1: Recensement des plantes mellifères-médicinales et état de l'apiculture dans la région Fès-Meknès.

I. INTRODUCTION

La race d'abeille qui existe dans la région Fès-Meknès est *Apis mellifera intermissa*, elle est essaimeuse, avec un comportement agressif et se caractérise par une bonne production du miel. Cette race est réputée par la surproduction de la propolis, elle peut résister aux variations du climat mais elle est très sensible aux acariens surtout *Varroa destructor*. [7,142]

L'abeille pour se nourrir, elle prélève des substances notamment le nectar, le miellat, le pollen et la résine à partir des plantes dites mellifères, il est bien connu que les produits élaborés par les abeilles dans la ruche comme le miel, le pollen et le pain d'abeille reflètent en quantité et en qualité la nature des plantes butinées. Ces plantes mellifères varient d'une zone à une autre en fonction des facteurs biotiques, climatiques et écologiques.[143]

Et afin de connaître les principales espèces des plantes mellifères de la région Fès-Meknès, nous avons réalisé un questionnaire destinés aux apiculteurs qui s'installent leurs ruches dans les préfectures et provinces de la région. L'objectif de cette étude est de déterminer la richesse de la région Fès-Meknès en plantes mellifères et de savoir l'état de l'apiculture dans la région.



II. MATERIELS ET METHODES

Zone d'étude : la région de Fès-Meknès est l'une des douze nouvelles régions du Maroc, située au centre Nord du Maroc (34° 02' 00" nord, 5° 00' 00" ouest) ,et s'étend sur une superficie de 40.075 Km², elle comprend neuf préfectures et provinces dont : la préfecture de Fès, la préfecture de Meknès, la province de Boulemane, la province de Séfrou, la province de Moulay-yacoub, la province de Taounate, la province de Taza, la province d'Elhajeb, et la province d'Ifrane.

Afin de faciliter la collecte des données pour cette étude, 130 apiculteurs/apicultrices ont été interrogés à l'aide d'un questionnaire distribué dans les neuf provinces et préfecture de la région Fès-Meknès. Le questionnaire a porté essentiellement sur :

- ζ Des informations sur l'apiculteur: le sexe, le niveau d'étude, la tranche d'âge et durée d'expérience.
- ζ Des informations sur le rucher : le nombre des ruches, la quantité du miel annuellement produites / ruche et les autres produits apicoles fournies par chaque apiculteur, ainsi que la préfecture ou la province dans la région Fès-Meknès préférées par l'apiculteur pour l'installation de leurs ruchers.
- ζ Des informations sur les plantes mellifères qui existent dans chaque préfecture et province de la région Fès-Meknès: nous avons demandés aux apiculteurs de nous donner une liste de plantes nectarifères, une liste des plantes pollinifère, et une listes des plantes à miellat. Ainsi nous avons récolté des données sur les informations qui existent chez l'apiculteur concernant la valeur apicole de chaque plante listé.

L'enregistrement de toutes les espèces des plantes observées par les apiculteurs a été effectué tout au long de l'année 2013/2014 dans les neuf préfectures et provinces représentées par la région Fès-Meknès. Chaque plante a été identifiée par son nom vernaculaire, son nom scientifique et sa famille botanique. La date moyenne de la période de floraison de chaque plante et la valeur apicole en tant que source de nectar et / ou de pollen, de résine et miellat ont été enregistrées. Ainsi une étude bibliographique a été réalisée pour savoir l'intérêt médicinal de chaque plante. La fiche de questionnaire a été établie par le logiciel : Le sphinx. Et le traitement des résultats a été réalisé par le logiciel d'analyse statistique SPSS version 21.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

L'apiculture au Maroc a connu une augmentation spectaculaire ces dernières années, grâce à la contribution du plan Maroc-vert, [1] nombreuses personnes abordent cette activité avec des motivations et des intérêts différents. Les résultats de cette enquête ont montré que les apiculteurs questionnés sont représentés par 98,50% des hommes et 1,50% des femmes, tous sont des professionnelles dont l'apiculture est la source principale de revenus, nous avons observé que le pourcentage des femmes apicultrices est très faible, et que le sexe masculin est le plus présent dans ce secteur, vu que le travail dans ce domaine est relativement dure pour les femmes.[144]

Les résultats illustrés dans (la figure 24) montrent que 34,80% des apiculteurs questionnés font la gestion des ruchers composés d'un nombre supérieur à 100 ruches, 16,70% ont des ruchers composés d'un nombre inférieur à 20 ruches, 15,20% des apiculteurs ont des ruchers composés d'un nombre entre 40 et 60 ruches, 15,20% des apiculteurs ont des ruchers composés d'un nombre entre 60 et 80 ruches, et 9,10% ont un rucher composés d'un nombre entre 20 et 40 ruches.

Le niveau d'étude des apiculteurs questionnés est comme suit : 32,80% ont un niveau d'enseignement secondaire suivi par 22,70% des analphabètes, et 21,20% d'un niveau universitaire et enfin 10,60% ont un niveau d'enseignement collégial. La tranche d'âge dans la population des apiculteurs questionnés est comme suit : 50% des apiculteurs appartiennent à la tranche d'âge entre 40 et 60 ans, 39,40% appartiennent à la tranche d'âge entre 20 et 40 ans, et 10,60% appartiennent à la tranche d'âge supérieur à 60 ans.

40,90% des apiculteurs questionnés ont une durée d'expérience entre 10 et 15 ans, 24,30% ont une durée d'expérience inférieure à 10 ans, 24,20% des apiculteurs ont une durée d'expérience entre 15 et 20 ans, et 7,60% des apiculteurs ont une durée d'expérience supérieure à 20 ans.

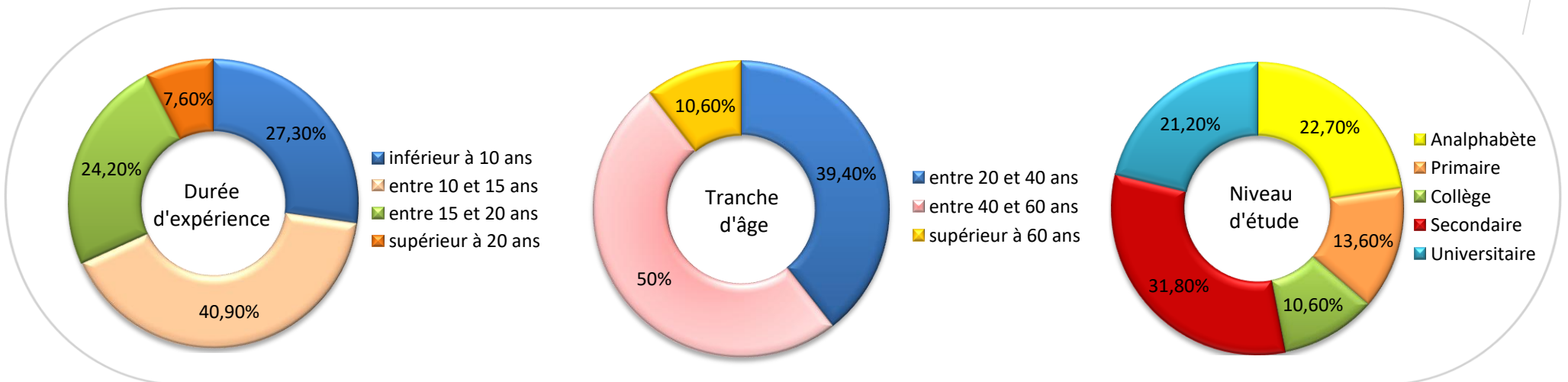
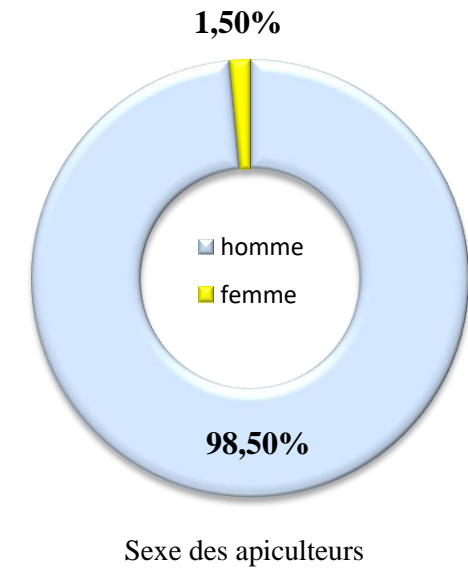
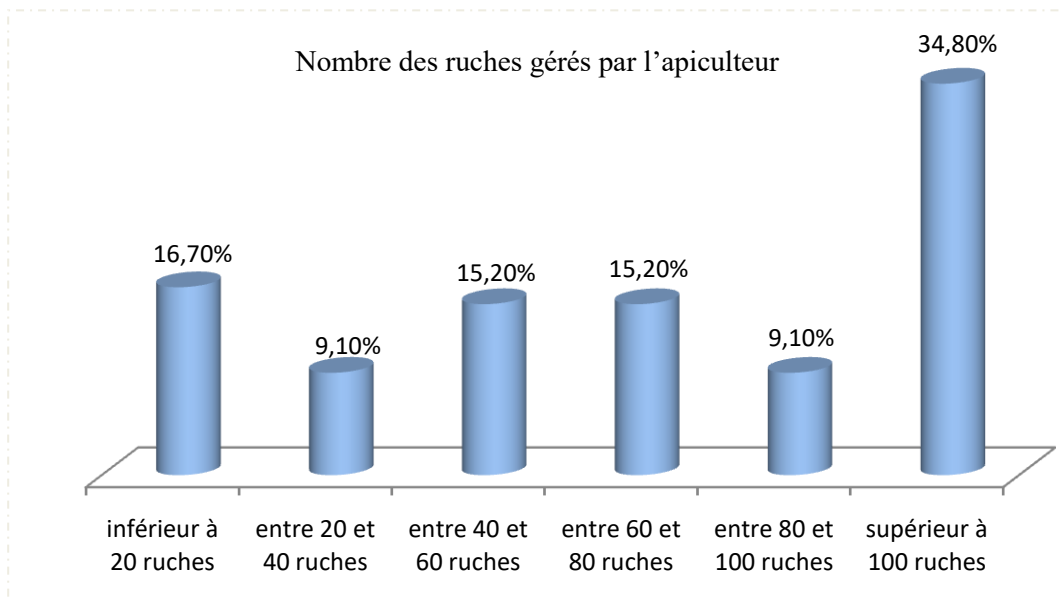


Figure 24: Informations générales sur les apiculteurs et leurs ruchers

Concernant la production apicole (figure 25) 10,60% des apiculteurs ont produit et commercialiser seulement le miel, alors que 89,40% ont produit et commercialiser le miel et les autres produits de la ruche par les pourcentages suivants : 100% le miel, 83,30% la cire d'abeille, 63,60% pollen frais, 43,90% propolis, 22,70% pollen sec, 15,20% production des reines, 7,60% gelée royale, 4,50% venin d'abeille, 3% pain d'abeille frais, et 0% pain d'abeille sec.

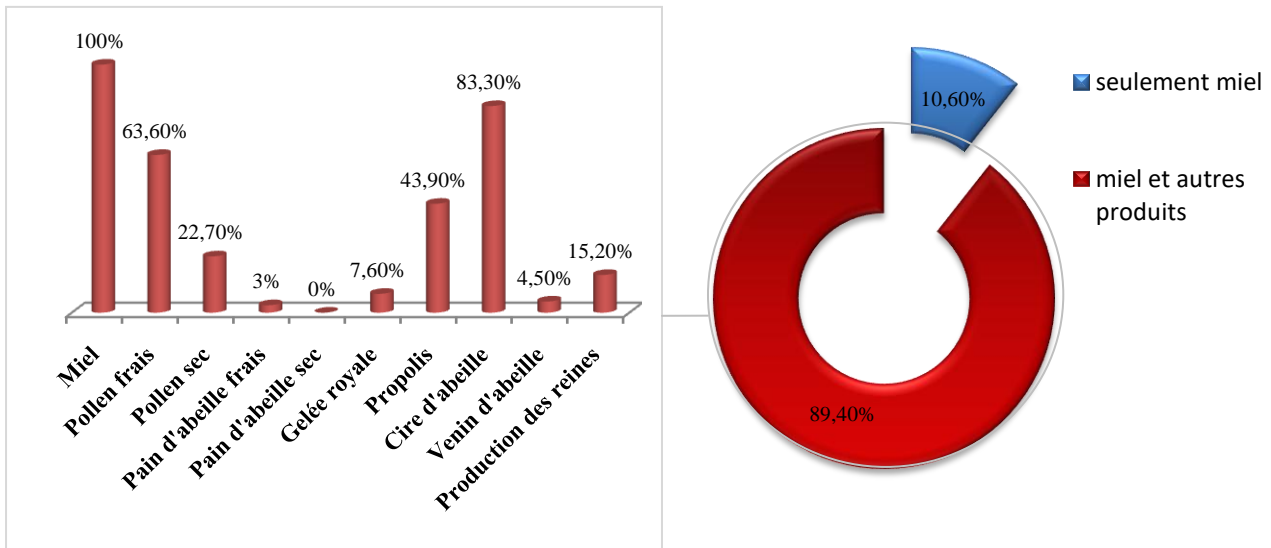


Figure 25: Les types des produits de la ruche fournis par les apiculteurs.

Ce type de production se concorde avec le type de production mondiale, le miel est le premier de cette liste puisque il est bien connu que le secteur apicole est un secteur essentiellement qui s'intéresse à la production et la commercialisation du miel, la deuxième position est de la cire d'abeille, car un pourcentage très élevé des apiculteurs qui ont été interrogés dans cette enquête (83,30%) ont produit la cire à but de recyclage en cire gouffré dans la ruche, dans la troisième position on a trouvé le pollen frais, suivies par la propolis dans la quatrième position, vu que la population interrogée a un niveau d'étude relativement élevée, nous avons observé qu'ils savent très bien l'intérêt thérapeutique des autres produits de la ruche comme le pollen et surtout le pollen frais, la propolis, la gelée royale, le pain d'abeille et le venin d'abeille, mais ces trois derniers produits sont faiblement produits dans la région Fès-Meknès et même dans tout le territoire Marocain, à cause des difficultés rencontrées dans la récolte, comme exemple : la gelée royale implique l'élevage des reines et nécessite des techniques précises pour garder la valeur thérapeutique de ce produit qui est très sensible à la température, [145] la même chose pour le venin d'abeille qui nécessite un appareil spécifique introduite dans l'entrée de la ruche et provoquent un faible champ électrique stimulant les

abeilles de libérer le venin sur l'appareil. [146] Et aussi le pain d'abeille est très rarement produit dans la région dont le pourcentage de production est seulement 3% et sur commande car ce produit est mal connue par la population, et les apiculteurs ne métrisent pas la bonne technique de récolter ce produit sans détruire une partie de la ruche. [51]

Concernant le lieu préféré par l'apiculteur pour l'installation des ruches dans la région Fès-Meknès (figure 26): 21,2% des apiculteurs préfèrent Séfrou, 18,2% préfèrent Taza 12,1% préfèrent Taounat, 12,1% préfèrent Boulemane, 12,1% préfèrent Meknès, 9,1% préfèrent Ifrane, 6,1% préfèrent Elhajeb, 4,5% préfèrent Moulay-yacoub, et 4,5% préfèrent Fès.

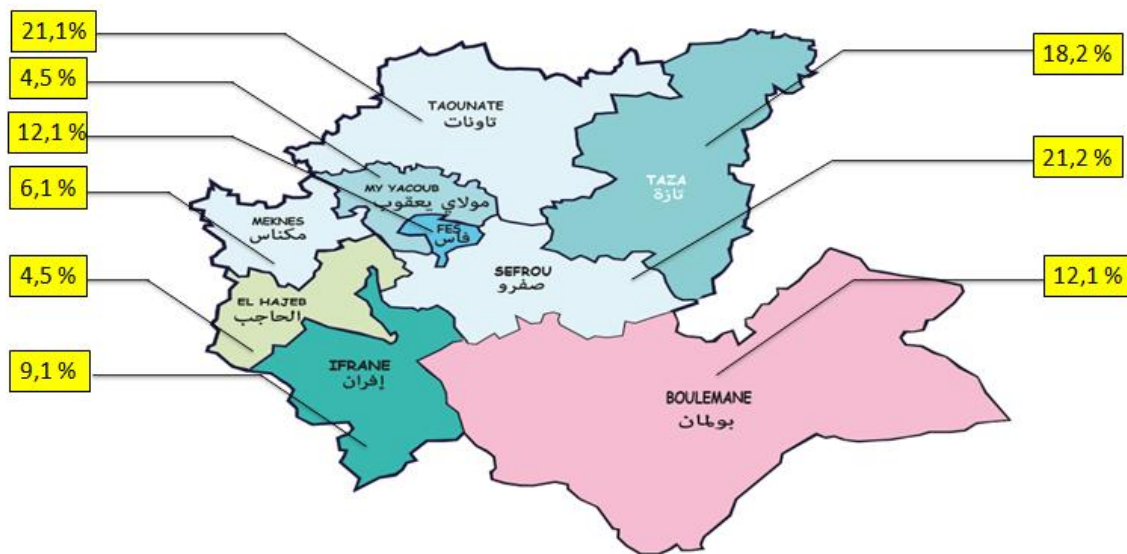


Figure 26: Répartition des lieux d'installation des ruches dans la région Fès-Meknès.

Les informations obtenues par les apiculteurs à partir des observations de butinage de l'abeille autour du rucher ont permis de recenser 104 plantes mellifères réparties en 32 famille (Tableau 1,2,3,4), le nom vernaculaire des plantes a été donné par les apiculteurs et le nom scientifique a été identifié selon BELLAKHDAR, 1998 et Ghanmi et al [147,148]. Parmi ces 104 plantes on a trouvé 33 plantes qui fournies la résine pour les abeilles, 6 plantes portent le miellat, 78 plantes sont pollinifère et nectarifères, 3 plantes sont seulement nectarifères, et 18 plantes sont seulement pollinifère.

la famille la plus représenté dans la liste des plantes mellifères établies c'est la famille des *Astéracées* par un pourcentage de 15%, suivi par *Lamiacées* 13%, *Apiacées* 8,41%, *Rosacées* 8,41%, *Rutacées* 6,54%, *Fabacées* 5,60%, *Cupressacées* 5,60%, *Borraginacées* 4,67%, *Cistacées* 2,80%, *Fagacées* 2,80%, *Moracées* 2,80%, *Géraniacées* 2,80%, *Papavéracées* 1,87 %, et *Pinacées* 1,87%. Dans une étude publiée en 2000, l'inventaire des plantes mellifères de

la région de Mokrisset (nord ouest du Maroc) révèle la présence de 78 espèces appartenant à 35 familles. 48,7% d'entre elles correspondent à cinq familles: *Labiacées*, *Composées*, *Rosacées*, *Légumineuses* et *Éricacées*. [149] Dans une autre étude réalisée dans la région centrale du Rif au Maroc, les taxons les plus importants utilisés par les abeilles pour leurs nectars et/ou leurs pollens sont *Ammi Visnaga*, *Mentha* spp, *Eucalyptus camaldulensis*, *Rubus ulmifolius*, *Cannabis sativa*, diverses herbes et *Cistus* spp.[150] Dans le pré-rif de la province de Taza, khabbach et al en 2013 ont répertorié 28 espèces de plantes typiques de l'apiculture appartenant à 14 familles botaniques. Les espèces de miel spontanées sont herbacées (35,7%), arbustives (39,3%) ou arborescentes (25%); les cultivés correspondent particulièrement aux monocultures de *Prunus dulcis*. [151]

Concernant l'avis des apiculteurs à propos les meilleures plantes qui produisent une propolis de bonne qualité, la plupart entre eux répondent par : *Pistacia lentiscus*, *ferula communis*, *Populus alba*, *Pinus halepensis*, *Cedrus atlantica*, *Eucalyptus globulus*, *Ficus carica*, *Juniperus thurifera*, *Tetraclinis articulata*.

Pour les meilleures plantes nectarifères selon l'avis des apiculteurs interrogés : *Capparis spinosa*, *calendula officinalis*, *Arbutus unedo*, *Ceratonia siliqua*, le genre *Citrus*, *Bupleurum spinosum*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula multifida*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris*, sont les meilleures

Et pour les bonnes plantes pollinifère, ils ont listé : *Capparis spinosa*, *Calendula officinalis*, *Prunus dulcis*, *Opuntia-ficus-indica*, *Silybum marianum*, *Carthamus tinctorius*, *Centaureum erythraea*, *Pelargonium odoratissimum*.

La totalité des apiculteurs questionnés dans cette enquête ciblent d'installer leurs ruches près des plantes nectarifères, 83,3% entre eux préfèrent aussi les plantes pollinifère et 25,80% installent leurs ruches près les plantes résineuses, alors que seulement 6% des apiculteurs qui ont cherché les plantes à miellat pour installer leurs ruches à leurs cotés. (figure 27)

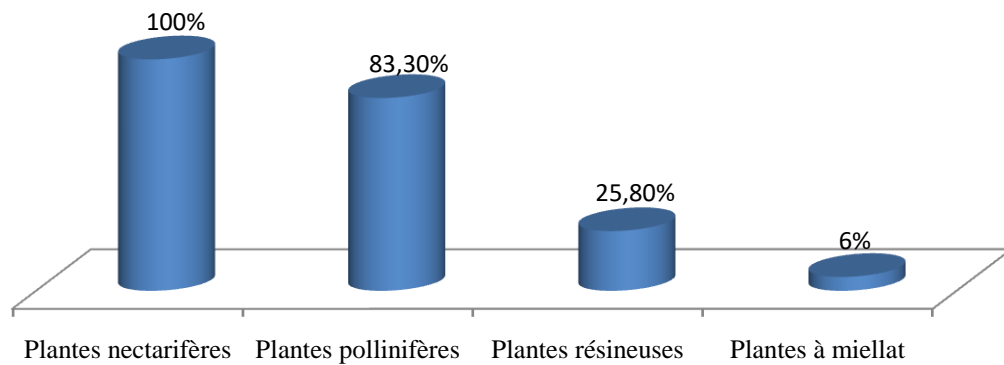
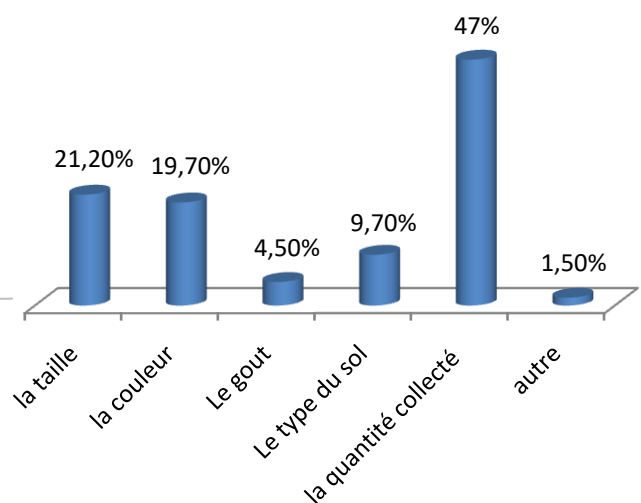
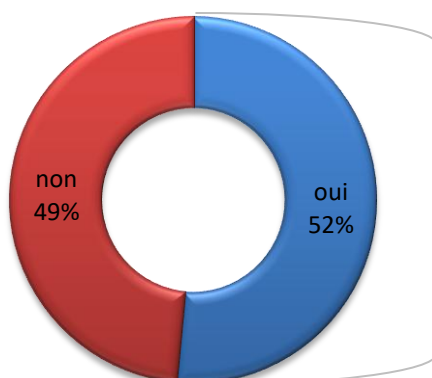


Figure 27: Les types des plantes préférées par l'apiculteur pour installer les ruches à leurs coté.

Vu l'importance de pollen dans la bonne santé des abeilles, nous avons posé la question aux apiculteurs afin de prendre une idée sur est ce qu'ils savent qu'il est le type de pollens le plus bénéfique pour la colonie d'abeille ? La moitié nous a répondu par la quantité de pollens fournis (47%), la couleur (19,70%) et la taille (21,20%) sont les caractéristiques les plus observé chez les abeilles pour choisir les pollens des fleurs à butiner. (Figure 28)

Pouvez vous identifier quel pollen est bénéfique pour la santé de la ruche?



Le facteur qui influence l'évaluation de la qualité du pollen par l'apiculteur

Figure 28: Avis des apiculteurs sur les types des pollens préférés par l'abeille.

Toutes les espèces mentionnées dans la liste de recensement des plantes mellifères de la région Fès-Meknès sont des plantes médicinales, le résultat de la recherche bibliographique sur l'intérêt médicinale de ces plantes a montré que 34% présentent des activités antioxydantes, 25% présentent des activités antimicrobiennes, 14% présentent des activités antitumorales, 6% sont des antidiabétiques, 5% sont des anti-inflammatoires, et 16% de ces plantes présentent autres propriétés médicinales.

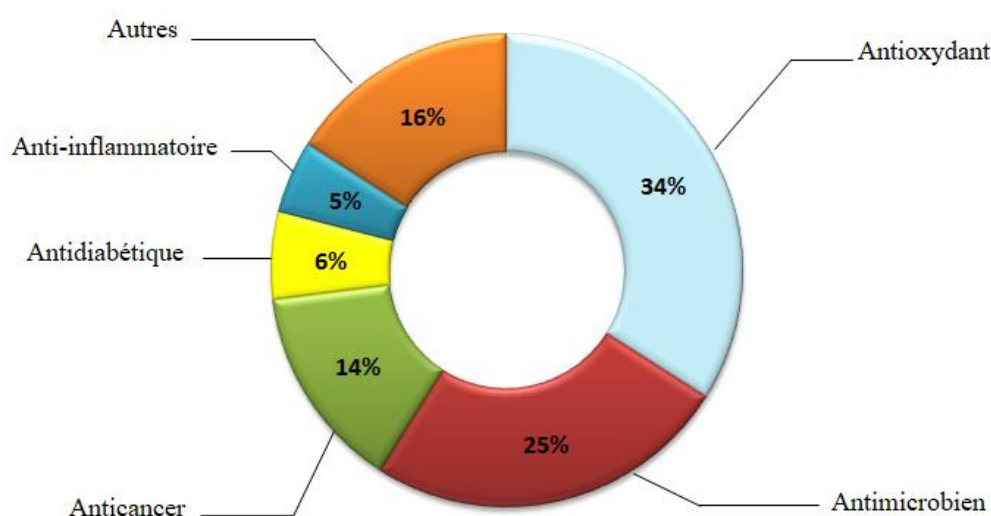


Figure 29: Les propriétés pharmacologiques de plantes mellifères.

IV. CONCLUSION

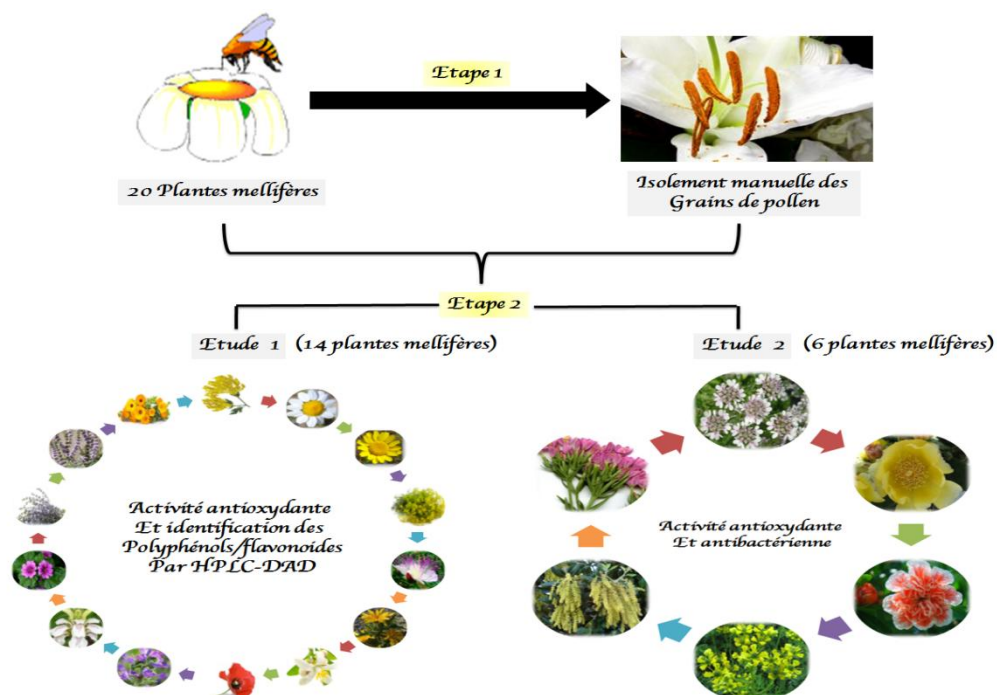
La région Fès-Meknès offre un grand potentiel apicole, principalement dû à la diversité des plantes mellifères riches en nectar et pollen, permettant les pratiques de transhumance. Une politique apicole d'accompagnement est nécessaire pour permettre une utilisation optimale de ressources naturelles et une revitalisation de ce secteur afin d'améliorer le niveau de vie de la population locale.

CHAPITRE 2: ÉTUDE DES GRAINS DE POLLENS DE VINGT PLANTES MELLIFERES : ACTIVITE ANTIOXYDANTE, ANTIBACTERIENNE ET IDENTIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES

I. INTRODUCTION

Les plantes mellifères sont les espèces végétales qui fournissent aux abeilles des sources alimentaires sous forme de nectar et/ou de pollen, de la résine et aussi du miellat à travers des pucerons. Le nectar et le miellat ont été transformés par l'abeille en miel, la résine est transformée en propolis et les pollens ont été transformés en pollen d'abeille et ensuite en pain d'abeille qui deviendra par la suite la source principale de la nourriture de la colonie dans la ruche. [19]

Dans cette étude vingt plantes mellifères, d'intérêt surtout pollinifère ont été analysés, le choix des plantes a été faite en suivant les informations données par un apiculteur qui nous a donnée l'échantillon du pain d'abeille sujet des autres études réalisés durant cette thèse, cet apiculteur pratique l'apiculture pastorale ou transhumante, il a fait le déplacement des ruches de site en site selon le rythme de floraisons dans la région Fès-Meknès. Le pollen des fleurs de ces plantes ont été enlevés manuellement puis analysés pour savoir le contenu en antioxydants par CLHP pour 14 plantes, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne pour 6 plantes.



II. MATERIELS ET METHODES

1. LE MATERIEL VEGETAL

Vingt plantes ont été collectées et identifiées comme suit : *Acacia pycnantha* (Fabacées); *Anacyclus clavatus* (Astéracées); *Anacyclus radiatus* (Astéracées); *Anethum graveolens* (Apiacées); *Calendula officinalis* (Astéracées); *Capparis spinosa* (Capparacées); *Centaurium erythraea* (Gentianées); *Citrus aurantium* (Rutacées); *Coriandrum sativum* (Apiacées); *Echium creticum* (Borraginacées); *Justicia adhatoda* (Acanthacées); *Malva sylvestris* (Malvacées); *Mentha pulegium* (Lamiacées); *Mentha spicata* (Lamiacées); *Opuntia-ficus-indica* (Cactacées); *Papaver rhoeas* (Papavéracées); *Punica granatum* (Punicacés); *Quercus ilex* (Fagacées); *Ruta graveolens* (Rutacées); *Scolymus hispanicus* (Astéracées).

2. METHODES D'ISOLEMENT DES GRAINS DE POLLENS

Les fleurs fraîches des plantes étudiés, ont été collectés juste avant la période de l'anthèse (= période durant la quelle la fleur est complètement ouverte et fonctionnelle), ensuite les anthères de ces fleurs ont été enlevés manuellement a fin d'isoler les grains de pollens en les battant à l'aide d'un pince pointu.

3. PREPARATION DES EXTRAITS

Un gramme des grains de pollens des plantes étudiés a été macéré dans la température ambiante pendant une semaine en utilisant l'éthanol 70% (pour les grains de pollens utilisés dans l'étude de l'activité antioxydante et l'analyse par CLHP-DAD) et l'éthanol 50 % (pour les grains de pollens utilisés dans l'étude de l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne), ensuite les extraits ont été passé dans un bain ultrasons pendant 5 minutes et après centrifugés pendant 5 minutes à 2000× g et 20 °C, et les surnageants ont été prélevés et conservés à -20 °C jusqu'à utilisation.

4. LE CONTENU EN ANTIOXYDANTS ET L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.

1.1. La capacité antioxydante totale.

L'activité antioxydante totale des extraits des grains de pollens des plantes étudiées a été évaluée par la méthode du phosphomolybdène selon la procédure de Zengin et al [292] 25 µL

de chaque extrait éthanologique ou de l'acide ascorbique (utilisé comme standard) ont été mélangés avec 1 ml de solution du réactif (acide sulfurique 6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes ont été incubés dans un bain d'eau à 95 ° C pendant 90 min. Après refroidissement des tubes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un blanc avec un spectrophotomètre UV/ VIS Perkin Elmer Lambda 40. La capacité antioxydante des extraits a été évaluée comme équivalents d'acide ascorbique (mg AA/g d'extrait).

1.2. Contenu en composés phénoliques.

La teneur en composés phénoliques dans les extraits éthanologiques des grains de pollens des plantes étudiés a été déterminée par la méthode spectrophotométrique avec un spectrophotomètre UV/ VIS Perkin Elmer Lambda 40 utilisant la méthode de Mărghitaş et *al* [293]. 100 µL de chaque extrait ou acide gallique (composé phénolique standard), a été mélangé avec 500 µL de réactif Folin-Ciocalteu (0,2 N) et 400 µL de Na₂CO₃ à 7,5%, et l'absorbance a été mesurée à 760 nm après 2 H d'incubation en température ambiante. Les contenus en composés phénoliques ont été déterminés en mg d'équivalents d'acide gallique, en utilisant une courbe d'étalonnage. Les tests ont été effectués en trois répétitions.

1.3. Le contenu en Flavones et Flavonols.

Les Flavones et les Flavonols dans les extraits ont été déterminés selon la méthode de Miguel et *al* [294]. 100 µL de chaque extrait a été mélangé avec 100 µl d'Al₂Cl₃ (20%), et après 1 H d'incubation dans la température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm avec un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda 40 UV / VIS. La teneur totale en flavones et en flavonols a été calculée comme équivalents de quercétine (mg par g) en utilisant une courbe d'étalonnage. Tous les tests ont été réalisés en trois répétitions.

1.4. Activité du piégeage du radical libre DPPH.

Le piégeage du radical libre de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été effectué selon la méthode de Miguel et *al* [294]. On a ajouté 75 µL de chaque extrait éthanologique des grains de pollens ou (BHT) (utilisé comme témoin positif) à 825 µL de solution de DPPH (0.002 g de DPPH dans 200ml d'éthanol absolue) et les tubes ont été incubés dans l'obscurité pendant 60 minutes à température ambiante. Ensuite, l'absorbance a été prise à 517 nm avec un spectrophotomètre UV / VIS Perkin Elmer Lambda 40. Les tests ont été effectués en trois exemplaires et l'activité de piégeage a été estimée en fonction du pourcentage de radical

DPPH éliminé en utilisant l'équation suivante: $IC_{50}\% = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$, A_0 est l'absorbance d'un témoin négatif (blanc contenant 75 μ L d'éthanol et 825 μ L de solution de DPPH) et A_1 est l'absorbance de l'échantillon.

1.5. L'activité du piégeage du radical libre ABTS⁺.

L'activité du piégeage du radical ABTS⁺ (Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) a été évaluée par la méthode de Silva et *al* [295]. Le radical libre cationique ABTS⁺ a été généré par réaction dans une solution aqueuse (ABTS 7 mM avec K₂S₂O₈ (2,45 mM)) dans l'obscurité pendant 16 h et en ajustant l'absorbance à 734 nm à $0,7 \pm 0,020$ à température ambiante par l'ajout de l'éthanol absolue. 75 μ L de chaque extrait des anthères ou BHT (utilisé comme témoin positif) ont été ajoutés à 825 μ L d'ABTS⁺ et l'absorbance à 734 nm a été lue après 6 minutes avec un spectrophotomètre UV / VIS Perkin Elmer Lambda 40. Tous les tests ont été réalisés en trois exemplaires. La capacité à éliminer le radical ABTS⁺ a été calculée en utilisant l'équation suivante: $IC_{50}\% = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$, A_0 est l'absorbance d'un témoin négatif (contenant 75 μ L de l'éthanol et 825 μ L d'ABTS⁺) et A_1 est l'absorbance de l'échantillon.

1.6. Le pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur a été déterminé par la méthode de Padmanabhan et *al* [296]. Les extraits éthanolique des grains de pollens (50 μ L) ont été mélangés avec 200 μ L de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 200 μ L de ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 min. Ensuite 200 μ L d'acide trichloroacétique 10%, 600 μ L d'eau distillée et 120 μ L de 0,1% de trichlorure de fer ont été ajoutés. L'absorbance du mélange a été mesurée à 700 nm avec un spectrophotomètre UV / VIS Perkin Elmer Lambda 40. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. Et les résultats sont représentés par la concentration d'extrait fournissant 0,5 d'absorbance (EC₅₀), et qui a été calculée à partir du graphe d'absorbance à 700 nm.

5. ANALYSE DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR CLHP-DAD.

Préparation des échantillons: Dix milligrammes des grains de pollens séchés de chaque échantillon ont été mis dans une solution éthanol-eau (1 ml, 50% v/v) et passé dans un bain à ultrasons pendant 60 minutes. Les suspensions résultantes ont été centrifugées à 5000 tr / min pendant 10 min et les surnageants ont été utilisés pour une analyse CLHP / DAD comme décrit par CAMPOS et *al* [297,298].

Analyse chromatographique : Des extraits (20 à 50 µL) ont été analysés sur une colonne Gilson 170 et Waters Spherisorb ODS2 (5 µm) (4,6 µ x 250 mm) par un gradient d'acétonitrile-eau acidifié à un débit de 0,8 ml / min et la température de la colonne indiquée à 24°C. Les chromatogrammes standard ont été tracés à λ_{\max} 260 et 340 nm (ces longueurs d'onde ont été choisies parce que les flavonols et les flavones, les principaux composés des grains de pollens des fleurs, ont deux bandes caractéristiques d'absorption ultraviolette à proximité de ces valeurs: bande II, 240-280 et bande I, 330-380). Les données spectrales pour tous les pics ont été accumulées dans la gamme λ_{\max} 220-400 nm (les spectres phénoliques / flavonoïdes, obtenus à partir de cette extraction, sont tous dans cet affichage) en utilisant DAD (Gilson 170). Appareil: Système CLHP (Gilson) et Diode Array Detector avec logiciel Unipoint. Le profil phénolique / flavonoïde de chaque échantillon était constitué de tous les composés résolus dans leur chromatogramme respectif. L'information structurale de chaque composé a été réalisée par comparaison directe du temps de rétention et des spectres d'absorption ultraviolette selon les informations compilées par CAMPOS et Markham [299].

6. ETUDE DU POUVOIR ANTIBACTERIEN DES GRAINS DE POLLEN

1.7. Souches bactériennes

L'étude a été réalisée par une bactérie à Gram positive *Staphylococcus aureus* et cinq bactéries à Gram négative: *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, toutes les souches bactériennes ont été obtenues à partir du laboratoire de microbiologie, Faculté de médecine et pharmacie de Fès. Les souches bactériennes ont été sélectionnées en se basant sur leur prévalence dans la résistance aux antibiotiques.

1.8. Test de sensibilité

Méthode de diffusion sur disque: L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques des grains de pollens a été étudiée par la méthode de diffusion sur disque [300]. Environ 20 ml du milieu MHA ont été versés dans des boîtes de Pétri. Chaque boîte de pétri a été inoculée avec un inoculum bactérien qui correspond à 0,5 McFarland (1-2) $\times 10^8$ UFC / ml, qui a été préparé dans l'eau physiologique. Ensuite, des disques de papier filtre stériles (6 mm de diamètre) ont été déposés sur le milieu et imprégnés de 10 µl d'extrait éthanolique des grains de pollens. Un contrôle négatif a été effectué en utilisant un disque de papier filtre saturé avec l'éthanol 50%, pour vérifier l'activité possible de ce solvant contre les bactéries testées, ainsi

des disques standard contenant des antibiotiques (6 mm) ont été utilisés comme témoin de référence. Toutes les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, la zone d'inhibition de la croissance bactérienne a été mesurée en mm. Chaque expérience a été réalisée en trois exemplaires.

1.9. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides

Concentrations minimales inhibitrices (CMI): la méthode de microdilution en milieu liquide a été utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices selon la méthode de NCCLS[301]. Il a été réalisé par une série de dilution des extraits éthanoliques des grains de pollens de concentration de 0,097 à 50 mg / ml. Un volume de 10 µl de chaque concentration de cette série de dilution a été mélangé dans des puits de microplaque avec 180 µl de bouillon Mueller Hinton et 10 µl d'inoculum de concentration avec une concentration microbienne finale de 5×10^5 UFC/ml. Le volume final était 200 µl et la concentration d'éthanol dans chaque puits ne dépassait pas 2,5%. Le même pourcentage d'éthanol a été utilisé comme témoin négatif, les microplaques ont été cultivées à 37 °C pendant 20 h. La croissance bactérienne a été déterminée après addition de 20 µl de solution aqueuse à 0,5% de TTC (chlorure de 2, 3, 5-triphényl tétrazolium) et incubée pendant 30 minutes à 37 °C et 120 tr/min. La CMI a été défini comme la concentration la plus faible de l'extrait qui a inhibé la croissance bactérien visible (montrée par l'absence de couleur rouge après l'addition de TTC).[302]

Concentrations minimales bactéricides (CMB): Pour déterminer les CMB, une portion de chaque puits dont les concentrations sont $>$ ou $=$ CMI a été cultivée sur l'agar Muller-Hinton (MHA) et incubée à 37 °C pendant 24 h. La CMB est définie comme la plus faible concentration de l'extrait à laquelle les bactéries inoculées ont été tuées à 99,9%. Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires. L'effet antibactérien a été considéré comme bactéricide ou bactériostatique selon le rapport: CMB/CMI, si $CMB / CMI = 1-2$, l'effet est bactéricide et si $CMB / CMI = 4$ à 16, l'effet est bactériostatique [303].

7. ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Graph Pad Prism 5. Les données sont exprimées en moyenne \pm SD à partir d'expériences triplées. Les comparaisons statistiques ont été faites par le test ANOVA à sens unique, suivi des comparaisons multiples de Tukey. Le niveau de signification a été fixé à $p < 0,05$. Les corrélations entre le contenu

antioxydant et les activités antioxydantes et entre le contenu en antioxydant et les activités antibactériennes ont été obtenues par le coefficient de corrélation de Pearson (r). Heatmap a été créé avec le logiciel XLSTAT.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

A. Contenu en Antioxydant, Activité De Piégeage Des Radicaux Libres Et Identification Des Composés Phénoliques / Flavonoïdes Dans Les Pollens De Quatorze Plantes Mellifères

1. LE CONTENU EN ANTIOXYDANTS ET L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.

Le tableau 5 représente les résultats obtenus pour la capacité antioxydante totale des grains de pollens et le contenu en composés phénoliques, Flavones et flavonols. En ce qui concerne les composés phénoliques, les résultats ont varié de $9,20 \pm 0,12$ mg EAG/g dans les pollens de *Malva sylvestris* à $71,20 \pm 0,72$ mg EAG / g dans les pollens de *Mentha spicata*, tandis que la teneur en flavones et flavonols est varié de $1,27 \pm 0,07$ mg QE/g dans les grains de pollens de *Scolymus hispanicus* à $15,44 \pm 1,14$ mg QE/g dans le pollen d'*Anacyclus radiatus*. Alors que les résultats de la capacité antioxydante totale montrent que *Capparis spinosa* présente le contenu le plus important avec $99,54 \pm 0,90$ mg AAE/g de pollens et *Malva sylvestris* présentent le contenu le plus bas avec $17,84$ mg AAE / g de pollen.

Tableau 5: les composés phénoliques, Flavones et flavonols, et la capacité antioxydante totale (mg/g of pollen).

Grains de pollens de :	Composés phénoliques*	Flavones et flavonols**	CAT***
<i>Acacia pycnantha</i>	$33,25 \pm 0,09^c$	$6,95 \pm 0,26^c$	$56,64 \pm 5,42^c$
<i>Anacyclus clavatus</i>	$34,02 \pm 0,19^c$	$9,77 \pm 0,37^b$	$73,40 \pm 9,62^{ab}$
<i>Anacyclus radiatus</i>	$12,04 \pm 0,2^f$	$15,44 \pm 1,14^a$	$36,61 \pm 0,36^{cd}$
<i>Anethum graveolens</i>	$32,57 \pm 0,19^c$	$14,38 \pm 1,21^a$	$93,84 \pm 3,70^a$
<i>Calendula officinalis</i>	$25,51 \pm 0,31^d$	$1,41 \pm 0,66^d$	$63,68 \pm 0,38^c$
<i>Capparis spinosa</i>	$16,18 \pm 0,34^e$	$6,37 \pm 0,68^c$	$99,54 \pm 0,90^a$
<i>Echium creticum</i>	$10,38 \pm 0,07^g$	$5,55 \pm 0,17^c$	$48,26 \pm 4,92^{cd}$
<i>Justicia adhatoda</i>	$54,05 \pm 0,96^b$	$2,69 \pm 0,04^d$	$83,03 \pm 5,15^{ab}$
<i>Malva sylvestris</i>	$9,20 \pm 0,12^f$	$2,50 \pm 0,03^d$	$17,84 \pm 1,03^e$
<i>Mentha pulegium</i>	$34,63 \pm 2,62^c$	$2,97 \pm 0,50^d$	$60,74 \pm 1,63^c$
<i>Mentha spicata</i>	$71,20 \pm 0,72^a$	$10,43 \pm 0,2^b$	$88,48 \pm 1,64^a$
<i>Opuntia ficus-indica</i>	$9,22 \pm 0,05^f$	$2,31 \pm 0,01^d$	$39,29 \pm 1,88^{cd}$
<i>Papaver rhoeas</i>	$34,84 \pm 0,69^c$	$12,95 \pm 1,29^a$	$58,48 \pm 2,85^c$
<i>Scolymus hispanicus</i>	$17,44 \pm 0,15^e$	$1,27 \pm 0,07^d$	$56,64 \pm 2,85^c$

* Concentration en mg EAG (équivalent d'acide gallique)/g de pollen; ** concentration en mg EQ (équivalent de quercétine)/g de pollen; *** concentration en mg EAA (équivalent d'acide ascorbique)/g de pollen; les valeurs

de la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes par le test one way Anova suivie par le test Tukey ($p < 0.05$); les résultats sont représentés par (moyenne \pm SEM)

L'activité antioxydante des grains de pollens des plantes étudiés a été évaluée par trois méthodes (DPPH, ABTS, PR) (tableau 6). Tous les échantillons ont présenté une forte activité de piégeage des radicaux libres. En ce qui concerne le test de DPPH, la meilleure activité a été trouvée dans *Mentha spicata*, *Mentha pulegium*, *Anacyclus clavatus*, *Calendula officinalis* et *Anethum graveolens*. Pour le test ABTS, la meilleure activité a été trouvée dans *Mentha spicata* et concernant le pouvoir réducteur, la meilleure activité a été trouvée dans *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Justicia adhatoda*. La comparaison de nos résultats, avec d'autres études, est plutôt difficile car ils n'ont pas été étudiés auparavant.

Tableau 6: Les activités antioxydantes (DPPH, ABTS and PR) représenté par IC₅₀ (mg/ml) pour ABTS, DPPH et EC₅₀ pour PR.

Grains de pollens de :	DPPH	ABTS	PR
<i>Acacia pycnantha</i>	0,28 \pm 0,01 ^c	0,62 \pm 0,03 ^b	0,23 \pm 0,07 ^c
<i>Anacyclus clavatus</i>	0,06 \pm 0,02 ^g	0,33 \pm 0,06 ^c	0,14 \pm 0,06 ^{ef}
<i>Anacyclus radiatus</i>	0,28 \pm 0,02 ^e	0,32 \pm 0,03 ^{cd}	0,17 \pm 0,04 ^e
<i>Anethum graveolens</i>	0,07 \pm 0,01 ^g	0,24 \pm 0,01 ^{cd}	0,12 \pm 0,02 ^g
<i>Calendula officinalis</i>	0,06 \pm 0,01 ^g	0,20 \pm 0,05 ^{cde}	0,26 \pm 0,02 ^b
<i>Capparis spinosa</i>	0,21 \pm 0,01 ^f	0,56 \pm 0,01 ^{bc}	0,26 \pm 0,05 ^b
<i>Echium creticum</i>	0,37 \pm 0,02 ^d	0,26 \pm 0,02 ^{cd}	0,23 \pm 0,06 ^c
<i>Justicia adhatoda</i>	0,65 \pm 0,04 ^c	0,27 \pm 0,05 ^{cd}	0,07 \pm 0,07 ^h
<i>Malva sylvestris</i>	0,68 \pm 0,02 ^c	0,89 \pm 0,03 ^a	0,32 \pm 0,07 ^a
<i>Mentha pulegium</i>	0,09 \pm 0,03 ^g	0,16 \pm 0,07 ^{cde}	0,04 \pm 0,02 ⁱ
<i>Mentha spicata</i>	0,05 \pm 0,01 ^g	0,08 \pm 0,05 ^f	0,05 \pm 0,04 ⁱ
<i>Opuntia ficus-indica</i>	0,86 \pm 0,03 ^a	0,69 \pm 0,03 ^b	0,30 \pm 0,01 ^a
<i>Papaver rhoeas</i>	0,86 \pm 0,03 ^a	0,43 \pm 0,01 ^c	0,16 \pm 0,02 ^e
<i>Scolymus hispanicus</i>	0,78 \pm 0,03 ^b	0,33 \pm 0,01 ^c	0,21 \pm 0,04 ^{cd}
BHT	0,009 \pm 0,0001 ^{gh}	0,003 \pm 0,01 ^f	NT
Acide ascorbique	NT	NT	0,003 \pm 0,0001 ^j

Les valeurs de la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes par le test one way Anova suivie par le test Tukey ($p < 0.05$); les résultats sont représentés par (moyenne \pm SEM) (NT: non testé)

Les coefficients de corrélation de Pearson entre les variables sont présentés dans le tableau 7 et la figure 30. Comme le montre le tableau, il n'y a pas eu de corrélations significatives entre les flavones et les flavonols et aucune activité antioxydante étudiée, aussi aucune corrélation entre les flavones et les flavonols et le contenu en composés phénolique ou la capacité antioxydante totale. Cette relation de non-corrélation est en accord avec d'autres études [304–306]. Malgré que le contenu phénolique ne soit pas en corrélation avec les IC₅₀ de DPPH, on a trouvé qu'il présente une corrélation négative et significative avec les IC₅₀ d'ABTS et avec les

IC₅₀ de pouvoir réducteur et une corrélation positive significative avec la capacité antioxydante totale. Cette dernière présente une corrélation négative significative avec EC₅₀ du pouvoir réducteur. Ces résultats de relation de corrélation pourraient s'expliquer par la possibilité d'interférence par absorption UV des substances telles que les protéines, les acides nucléiques et les acides aminés qui peuvent également réagir avec le réactif Folin-Ciocalteu [307] et aussi que l'activité de piégeage des radicaux libres a été faite par une sorte de flavonoïdes qui ont en particulier un groupe hydroxyle dans la molécule[305].

Tableau 7: Les coefficients de corrélation de Pearson.

	DPPH	ABTS	RP	Composés phénoliques	Flavones et flavonols	CAT
Composés phénoliques	-	-0,565*	-0,799***	1	-	0,612*
Flavones et Flavonols	-	-	-	-	1	-
CAT	-	-	-0,735*	0,612*	-	1

—: pas significative ; * La corrélation est significative au niveau P <0,05; *** La corrélation est significative au niveau < 0.001

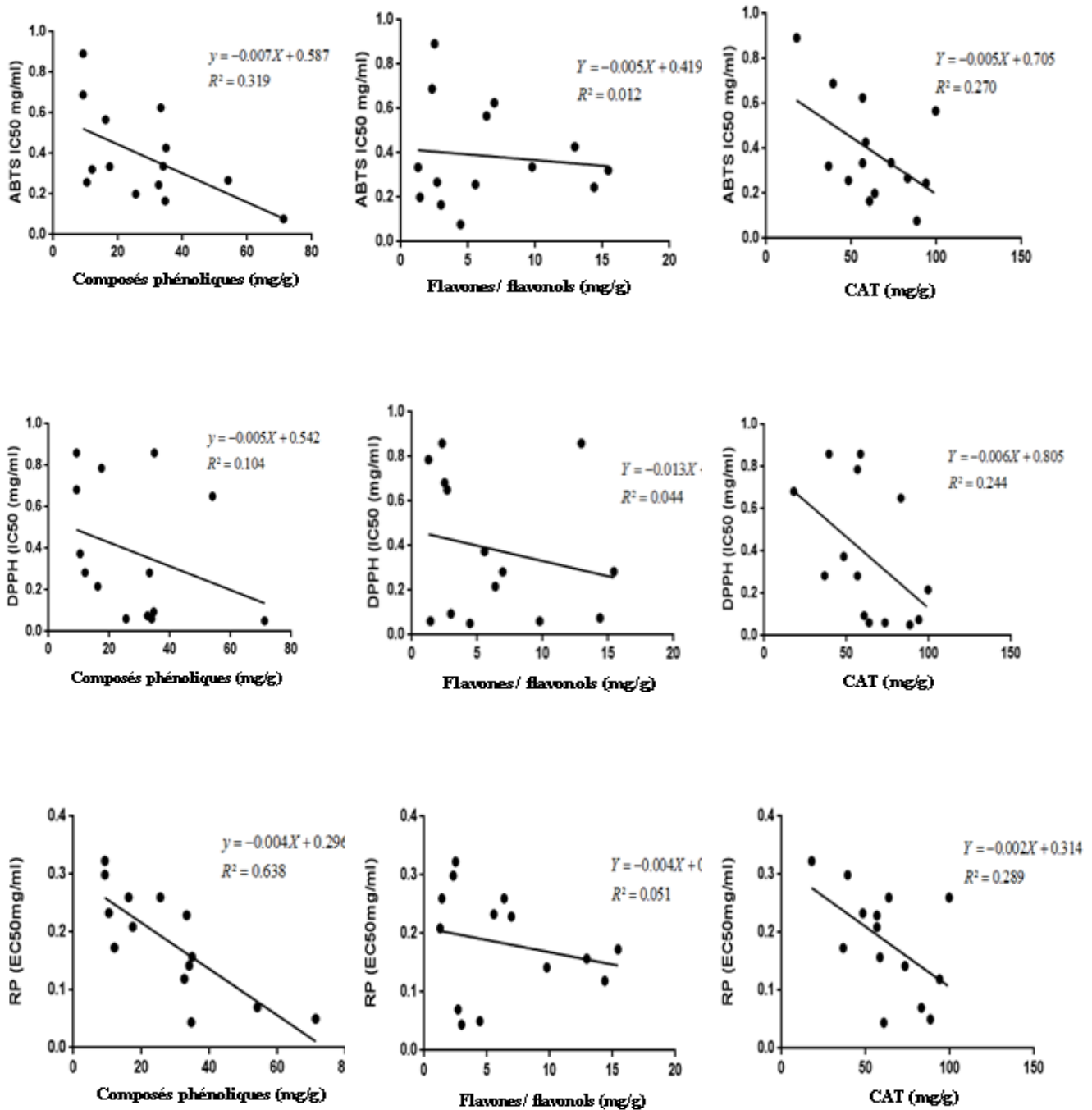


Figure 30: Les graphes de corrélation.

(a): négative corrélation entre le test ABTS et le contenu en composés phénoliques; (b): négative corrélation entre le test ABTS et le contenu en flavones/flavonol;(c):négative corrélation entre le test ABTS et CAT; (d): négative corrélation entre le test DPPH et le contenu en composés phénoliques;(e): négative corrélation entre le test DPPH et le contenu en flavones/flavonol; (f): négative corrélation entre le test DPPH et CAT; (g): négative corrélation entre le test PR et le contenu en composés phénoliques ; (h): négative corrélation entre le test PR et le contenu en flavones/flavonol;(i):négative corrélation entre le test PR et CAT.

2. LE PROFIL PHENOLIQUE DES GRAINS DE POLLEN ETUDIES

Le profil phénolique / flavonoïde identifié par une analyse CLHP-DAD des grains de pollens des plantes étudiées, est présenté dans (le tableau 8) les résultats ont montré que les flavonols et les flavones sont les structures les plus fréquentes identifiés chez les pollens. Les acides aromatiques représentés par les dérivés de l'acide caféique qui est présent dans la plupart des pollens étudiés, mais l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique n'existaient que dans *Mentha pulegium* et *Echium creticum*. Il y'a également une détection de chalcone chez *Acacia pycnantha* et tanins ou lignanes dans *Justicia adhatoda*, *Papavers rhoeas*, *Capparis spinosa*, *Calendula officinalis*, *Echium creticum* et *Anacyclus radiatus*. Deux plantes contiennent probablement des alcaloïdes, *Malva sylvestris* et *Scolymus hispanicus*.

D'après toutes les données recueillies, il était clair que certaines plantes mellifères pourraient être plus appropriées pour explorer la production de pollen d'abeille, en tant que matière brute pour des recherches plus poussées. La sélection des meilleures espèces à collecter aidera à se concentrer sur une meilleure exploration des ressources.

Les études sur le pollen collecté à la main peuvent être utilisées pour créer une base de données en vue d'autres études sur des échantillons de pollen d'abeille. D'après ce que nous savons jusqu'à présent, il n'existe aucune étude concernant le profil phénolique de ces matrices marocaines. Le présent travail fournit d'importantes données supplémentaires sur la flore de pollen mellifère dans ce pays. L'étude peut être répliquée avec différents échantillons de pollen de différents pays, une fois qu'elle confirme les conclusions antérieures selon lesquelles l'origine botanique influe sur la teneur en polyphénols du pollen et que les profils CLHP/DAD respectifs peuvent être considérés comme un outil extrêmement utile pour l'identification.

Tableau 8: Les composés phénoliques/ flavonoïdes identifié dans des grains de pollens de quatorze plante par analyse CLHP-DAD.

Les noms botaniques des plantes	Couleurs des pollens	UV-VIS (nm)	Temps de rétention (min)	Principaux composés phénoliques /Flavonoïdes
<i>Acacia pycnantha</i>	Jaune	290,6	33,98	Inconnu
		291	34,39	Inconnu
		253,7,263,8sh,290sh,353	39,15	Dérivé de la quercétine-3-O-substitut
		298sh,364,5	39,28	Chalcone
		254,262sh,346,7	41,46	Quercétine-3-O-Glycoside
		310sh,368	42,54	Chalcone
		310sh,366	45,64	Chalcone
		287	48,99	Inconnu
<i>Anacyclus clavatus</i>	Jaune	300sh,325	27,63	Acide caféique probablement glycosilé (glucose dans R1 et / ou R 2
		258,5,268,6sh,350	36,12	lutéoline -7-O-glycoside
		264,327,5	40,26	dérivé de l'acide caféique
		267,300,332	42,15	dérivé de l'acide caféique
		268,300,329,	44,05	dérivé de l'acide caféique
		252,266sh,347	48,47	lutéoléine (?)

(Suite 1)

Les noms botaniques des plantes	Couleurs des pollens	UV-VIS (nm)	Temps de rétention (min)	Principaux composés phénoliques /Flavonoïdes
<i>Anacyclus radiatus</i>	Jaune	290, 325	28,16	dérivé de l'acide caféique
		259, 267sh, 359	36,23	Dérivé de la lutéoline
		254,5, 264,3sh,348	39,26	Lutéoline-7-O-dérivé
		290, 329	40,32	dérivé de l'acide caféique
		253,5, 264,3sh,345	42,07	Quercétine-3-O-dérivé
		252, 264,3sh,346,5	44,05	Quercétine-3-O-dérivé
		253, 2645,5sh,345,5	48,49	Lutéoline
			57,03	Tannins or lignines
<i>Anethum graveolens</i>	Jaune	300sh,325,5	27,98	dérivé de l'acide caféique
		255, 262,5sh,352	38,99	Quercétine-3-O-R1 (R1= probablement diglycoside)
		254,263sh, 352	42,75	Isorhamnétine-3-O-R1
		263,3,345	44,08	Kaempférol-3-O-R1
		265,5,275sh,312,8	56,79	Kaempférol méthylé avec un dérivé de l'acide caféique à 3-O (?)
<i>Calendula officinalis</i>	Rouge	296sh, 325	28,17	dérivé de l'acide caféique
		255,5, 266sh,294sh,354	38,54	Quercétine-3-O-dérivé
		254, 267sh,294sh,354	41,32	Isorhamnétine-3-O-dérivé
		296,312	47,83	Tannins et lignines
		296,312	56,97	Tannins et lignines

(Suite 2)

Les noms botaniques Des plantes	Couleurs des pollens	UV-VIS (nm)	Temps de rétention (min)	Principaux composés phénoliques /Flavonoïdes		
<i>Capparis spinosa</i>	Gris foncé	255,264sh,352	35,84	Quercétine-3-O-R1		
		265,5,347	37,30	Kaempférol-3-O-R1		
		256,264sh,354	38,51	Quercétine -3-O-R1		
		265,8,344	40,57	Kaempférol-3-O-R1		
		295,315,5	47,23	dérivé de l'acide caféique		
		296,312	50,02	Tannins et lignines		
		296,312	53,04	Tannins et lignines		
<i>Echium creticum</i>	Mauve	255,5	21,17	Acide hydroxybenzoïque (?)		
		265,5, 345,5	30,66	Kaempférol-3,7-O-R1		
		252,5, 285sh, 318sh, 343	36,33	inconnu		
		264,346	38,76	Kaempférol-3-O-R1		
		255,5, 309	40,14	Kaempférol-3-O-phénolique ou Kaempférol-7-O-phénolique ?		
		264	40,84	Kaempférol-3-O-R1		
		290,330	41,65	Dérivé de l'acide caféique		
		261,318	46,51	inconnu		
		295,315	53,80	Tannins et lignines ?		
		295,316	54,49	Tannins et lignines ?		
		290,328	55,30	Dérivé d'acide caféique méthylé		
		<i>Justicia adhatoda</i>	vert	296sh,325	28,17	Dérivé de l'acide caféique
				255,5,354	38,29	Quercétine-3-O-R1 (R1 = sucre)
253,5,350	40,85			Isorhamnétine-3-O-glycoside		
254,353,5	41,70			Isorhamnétine-3-O-glycoside		
254,2,370	47,92			Quercétine		
			56,95	Tannins ou lignines		

(Suite 3)

Les noms botaniques des plantes	Couleurs des pollens	UV-VIS (nm)	Temps de rétention (min)	Principaux composés phénoliques /Flavonoïdes
<i>Malva sylvestris</i>	Mauve	254, 296sh	13,77	Alcaloïde (?)
		261sh,269,5,355	34,81	Quercétine-3-7-8-trisubstitué (sucres probablement)
		260sh,270,357	36,18	Quercétine-3-7-8-trisubstitués sucres (avec ≠ sucres) Herbacétine -3-O-R1
		271, 300sh, 325sh, 352sh	38,57	
<i>Mentha pulegium</i>	Mauve	254,5	20,99	Dérivé de p hydroxybenzoïque (?)
		260,293,5	25,22	Acide vanillique (?)
		290,326	41,52	Dérivé de l'acide caféique
		296,312	49,96	Dérivé de l'acide caféique (Tannins ou lignines)
		296,312	52,86	Dérivé de l'acide
		255,5	60,58	caféique(Tannins ou lignines) Dérivé de p- hydroxybenzoïque (?)
<i>Mentha spicata</i>	Rose pâle	251,8,265sh,345	38,61	Dérivé de la lutéoline
		266,5,335,6	40,85	Dérivé d'apigénine
		295sh,329,6	41,57	Dérivé de l'acide caféique
		251,268sh,341	42,45	Dérivé de la lutéoline
		253,286,308sh,328,5sh	45,83	inconnue
		267,331	46,83	Dérivé d'apigénine
		268,336	48,68	Dérivé d'apigénine
		267,3,336	53,25	Dérivé d'apigénine
		251,7,268sh,342	55,18	Dérivé de la lutéoline

(Suite 4)

Les noms botaniques des plantes	Couleurs des pollens	UV-VIS (nm)	Temps de rétention (min)	Principaux composés phénoliques /Flavonoïds
<i>Opuntia-ficus-indica</i>	Jaune	253,4,265sh,354	37,72	Isorhamnétine-3-O-R1
		264,8,347,5	38,66	Kaempférol-3-O-R1
		254,264h,354	41,27	Isorhamnétine-3-O-R2 (R1≠R2)
		265,5,347	42,68	Kaempférol-3-O-R1
<i>Papavers rhoeas</i>	Noir	265,5,347	36,43	Kaempférol-3-O-R1
		265,347	37,44	Kaempférol-3-O-R1(avec une substitution différente du sucre)
				Dérivé d'apigénine
		269,328	38,19	Kaempférol-3-O-R1
		265,8,348	39,44	Lutéoline (?)
		253,266sh,346	48,46	Tannins ou lignines
	50,58	Tannins ou lignines		
	54,34			
<i>Scolymus hispanicus</i>	Jaune	263	7,40	Aucun flavonoïde détecté Alcaloïde (?) Tryptophane (?)

3. CONCLUSION

Les présents résultats sont les premiers à être publiés avec les pollens récoltés à la main de ces plantes sélectionnées et indiquent que cette matrice est une bonne source de composés phénoliques, en particulier de polyphénols comme les flavones et les flavonols comme les dérivés de l'apigénine, de la lutéoline, de la quercétine et de l'Isorhamnétinee et des acides phénoliques, tels que l'acide caféique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique. Tous ces composés dans les plantes étudiées ont certainement une contribution pour l'étude de la bioactivité, néanmoins, d'autres, non encore identifiés, seront impliqués. Ceci pourrait être utilisé comme point de départ pour étudier d'autres applications potentielles du pollen en tant que source anti-inflammatoire voire antimicrobienne.

B. Activité antioxydante et antibactérienne des extraits des grains de pollen de six plantes mellifères

1. L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET LA TENEUR EN ANTIOXYDANTS DES GRAINS DE POLLEN

Nos résultats illustrés dans les tableaux 9 et 10 ont montré que les grains de pollens des plantes analysées dans cette étude sont très riches en composés antioxydants. La capacité antioxydante totale révèle que *Punica granatum* ($391,47 \pm 13,39$ mg / g de pollen) suivi de *Quercus ilex* ($269,97 \pm 9,69$ mg /g de pollen), ont présenté la teneur la plus importante et que *Coriandrum sativum* a présenté la teneur la plus faible ($50,35 \pm 0,63$ mg). Pour les composés phénoliques, *Punica granatum* ($246,07 \pm 2,62$ mg / g) suivi par *Quercus ilex* ($146,37 \pm 1,95$ mg / g de pollen) ont présenté la teneur la plus élevée et *Centaurium erythraea* a présenté le contenu le plus faible de ($21,39 \pm 0,31$ mg / g de pollen), pour les flavones et les flavonols la plus forte teneur est enregistré par *Quercus ilex* ($40 \pm 0,26$ mg / g de pollen) suivie par *Punica granatum* ($32 \pm 0,9$ mg / g de pollen) et par *Ruta graveolens* ($9,78 \pm 1,17$ mg / g de pollen), tandis que *Citrus aurantium*, *Centaurium erythraea* et *Coriandrum sativum* ont enregistré les teneurs les plus faibles. Concernant l'activité antioxydante, évaluée par trois méthodes (DPPH, ABTS, RP), tous les échantillons de pollens ont présenté des activités importantes mais avec les extraits de *Punica granatum* et *Quercus ilex*, les activités antioxydantes sont proches de la valeur obtenue par BHT et l'acide ascorbique.

Tableau 9: Composés phénoliques, teneur en flavones et en flavonols et capacité antioxydante totale (mg/g de pollen)

Echantillon du pollen	Composés phénoliques *	Flavones/ flavonols**	CAT***
<i>Centaureum erythraea</i>	21,39±0,31 ^f	5,56±0,13 ^d	91,58±1,51 ^c
<i>Citrus aurantium</i>	41,59±0,67 ^c	5,18±0,26 ^d	78,93±8,57 ^c
<i>Coriandrum sativum</i>	26,50±0,35 ^e	6,11±0,03 ^d	50,35±0,63 ^d
<i>Punica granatum</i>	246,07±2,62 ^a	32±0,9 ^b	391,47±13,39 ^a
<i>Quercus ilex</i>	146,37±1,95 ^b	40±0,26 ^a	269,97±9,69 ^b
<i>Ruta graveolens</i>	36,65±0,64 ^d	9,78±1,17 ^c	76,83±4,01 ^c

* Concentration en mg EAG (équivalent acide gallique) / g de pollen; ** concentration en mg QE (quercétine équivalents) / g de pollen; *** concentration en mg EAA (équivalents d'acide ascorbique) / g de pollen; les valeurs dans la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes par le test à plage multiple de Tukey (p <0,05); les données sont les moyennes de trois réplicats.

Tableau 10: Les activités antioxydantes (DPPH ABTS et PR) exprimées en IC50 (mg / ml) pour l'ABTS, DPPH et EC50 pour PR.

Pollen /standard	DPPH	ABTS	PR
<i>Centaureum erythraea</i>	0,2±0,003 ^a	0,3±0,04 ^b	0,27±0,05 ^a
<i>Citrus aurantium</i>	0,093±0,01 ^c	0,34±0,02 ^a	0,13±0,015 ^c
<i>Coriandrum sativum</i>	0,15±0,002 ^b	0,24±0,05 ^c	0,22±0,03 ^b
<i>Punica granatum</i>	0,002±0,03 ^d	0,008±0,01 ^e	0,01±0,015 ^e
<i>Quercus ilex</i>	0,008±0,19 ^d	0,006±0,03 ^e	0,009±0,001 ^e
<i>Ruta graveolens</i>	0,1±0,02 ^c	0,19±0,03 ^d	0,15±0,07 ^c
BHT	0,009±0,05 ^d	0,003±0,01 ^e	NT
Ascorbic acid	NT	NT	0,003±0,001 ^e

Les valeurs de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test à plage multiple de Tukey (p <0,05); les données sont les moyennes de trois réplicats. NT: non testé

La richesse en composés antioxydants des grains de pollen a été déjà étudiée dans d'autres travaux telles que celle d'Avşar et al [308], qui ont analysés les grains de pollen de *Castanea sativa* Mill collectés à partir de neuf points de prélèvement de la province de Sinop dans la région de la mer Noire en Turquie. Ils ont trouvés que les teneurs en composés phénoliques sont comprises entre (64,02 ± 0,26) mg GAE / g et (103,8 ± 6,72) mg GAE / g, et les valeurs IC₅₀ du test DPPH ont été trouvées entre 0,093 ± 0,06 mg / mL et 19,5 ± 2,05 mg / ml. Selon Žilic et al [309], le pollen de maïs a une teneur élevée en antioxydants, tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes. Jusqu'à présent, aucune étude n'a été réalisée sur l'examen de la teneur en composés antioxydants des grains de pollen de nos plantes choisies. Par conséquent, nous n'avons eu aucune chance de comparer nos résultats avec les précédents.

2. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Les tests de résistance antibactérienne sont représentés dans le tableau 11, montrent que *Enterobacter Cloacae* était résistant à l'amoxicilline + acide clavulanique (20 + 10 µg / disque), ampicilline (10 µg / disque), ceftazidime (30 µg / disque), céfotaxime (30 µg / disque), Céfoxitine (30 µg / disque), céphalothine (30 µg / disque), gentamicine (10 µg / disque), pefloxacine (5 µg / disque), ciprofloxacine (5 µg / disque), acide nalidixique (30 µg / disque) et triméthoprime + sulfaméthoxazole (1,25 + 23,75 ug / disque). *Escherichia Coli* était résistant à l'amoxicilline + acide clavulanique (20 + 10 µg / disque) et à l'ampicilline (10 µg / disque), tandis que *Klebsiella pneumonia* résistait à l'amoxicilline + acide clavulanique (20 + 10 µg / disque) et à l'ampicilline (10 µg / disque), *Staphylococcus aureus* était résistant à l'acide fusidique (10 µg / disque) et à la pénicilline G (10 µg / disque); et *Pseudomonas aeruginosa* était résistant à la ticarcilline (75 µg / disque), à la pipéracilline (100 µg / disque), à la ceftazidime (30 µg / disque).

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des grains de pollens ont été présentés dans le tableau 12, le témoin négatif utilisé (éthanol 50%) n'a exercé aucune inhibition sur les souches testées comme attendu, ce qui a également été observé dans une autre étude réalisée par AKTER et al [310]. L'extrait de *Centaurium erythraea* est efficace contre *Enterobacter cloacae*, l'extrait de *Coriandrum sativum* est efficace contre toutes les bactéries sauf *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, *Ruta graveolens* est efficace contre *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* et *Staphylococcus aureus*. Cependant toutes les souches bactériennes sont résistantes à l'extrait éthanolique de grains de pollen de *Citrus aurantium*. Alors que *Punica granatum* et *Quercus ilex* ont présenté des activités antibactériennes importantes avec des zones d'inhibition élevées contre toutes les souches testées et avec une activité remarquable contre *Staphylococcus aureus* (22,33 ± 1,20 mm) enregistrée par *Quercus ilex* et (19,33 ± 0,33) enregistrée par *Punica granatum*. En accord avec d'autres études, les bactéries gram-positives sont plus sensibles que les bactéries Gram-négatives. Ceci peut être dû à la différence de composition de la paroi bactérienne[311,312].

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) montrées dans le tableau 13 et figure 31, tous les extraits qui sont efficaces contre les souches bactériennes ont présenté une CMI comprise entre 0,31 et 2,5 mg/ml. La concentration la plus faible est enregistrée par *Punica granatum* et *Quercus ilex* contre *Acinetobacter baumannii* par 0,31 mg/ml et contre *Staphylococcus aureus* par 0,62 mg / ml. Tandis que pour l'extrait

éthanolique de *Citrus aurantium* aucune inhibition n'a été enregistrée contre toutes les souches bactériennes. Les valeurs de CMB sont également comprises entre 0,31 et 2,5 mg / ml et les rapports CMB / CMI ont montré que l'effet antibactérien est bactéricide.

Dans le présent travail, nous avons constaté que les extraits éthanoliques des grains de pollen de *Punica granatum* et *Quercus ilex* ont présenté la plus forte teneur en antioxydants et aussi les plus actifs contre les bactéries choisies.

Tableau 11: Activités antibactériennes des antibiotiques standards (zone d'inhibition mm).

<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>klebsiella pneumoniae</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Antibiotique utilisé	Zone d'inhibition (mm)	Antibiotique utilisé	Zone d'inhibition (mm)	Antibiotique utilisé	Zone d'inhibition (mm)	Antibiotique utilisé	Zone d'inhibition (mm)	Antibiotique utilisé	Zone d'inhibition (mm)	Antibiotique utilisé	Zone d'inhibition (mm)
TZP	27	AMP	0	AMC	0	AMC	11	TIC	11	FOX	30
TIC	27	AMC	12	CAZ	31	CAZ	36	PRL	10	MY	30
CAZ	24	CAZ	17	CTX	35	CTX	40	CAZ	10	FOS	46
PRL	25	CTX	9	IPM	32	IPM	38	TOB	22	FD	8
IPM	33	FOX	11	AMP	0	AMP	0	CS	16	P	18
TOB	26	KF	0	NA	26	NA	30	CIP	34	E	28
AK	25	ETP	31	CN	20	CN	19	CN	18	CN	30
CN	25	CN	10	FOX	26	FOX	31	AK	23	RD	34
CIP	30	AK	23	NOR	31	NOR	33	ETP	21		
SXT	27	PEF	0	FOS	27	FOS	37				
		CIP	0								
		NA	0								
		SXT	0								
		FOS	28								

AMC : Amoxicillin + Clavulanic Acid(20 + 10 µg/disc) ; **AK** : Amikacin(30µg/disc); **AMP**: Ampicillin (10µg/disc); **CAZ** :Ceftazidime(30µg/disc) ; **CIP** :Ciprofloxacin(5µg/disc); **CN** :Gentamicin(10µg/disc) ; **CS** : Colistin(30µg/disc) ; **CTX** : Cefotaxim (30µg/disc); **E** : Erythromycin(15µg/disc); **ETP** : Ertapenem (10µg/disc) ; **FD** : Fusidic Acid(10µg/disc) ; **FOS** : Fosfomycin(50µg/disc) ; **FOX** : Cefoxitin(30 µg/disc) ; **IPM**; Imipenem (10µg/disc); **KF**: Cephalothin (30µg/disc) ; **MY**: Lincomycin(15µg/disc); **NA**: Nalidixic Acid (30µg/disc); **NOR**: Norfloxacin (10µg/disc); **P**: Penicillin G(10µg/disc) ; **PEF** : Pefloxacin(5µg/disc); **RD** : Rifampicin (30µg/disc) ; **SXT** : Trimethoprim + Sulfamethoxazole(1.25 + 23.75 µg/disc) ; **TEC** : Teicoplanin(30µg/disc); **TIC** : Ticarcillin(75 µg/disc) ; **TZP** : Piperacillin + Tazobactam(30+ 6 µg/disc) ; **VA** : Vancomycin:(30µg/disc)

Tableau 12: Activités antibactériennes des extraits de pollens et de l'éthanol par la mesure de diamètre d'inhibition (mm).

Echantillon du pollen	Souches bactériennes					
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Centaureum erythraea</i>	7 ±0,88	12±1	7±1	6±0,01	6±0,01	6±0,01
<i>Citrus aurantium</i>	6±0,01	6±0,01	6±0,01	6±0,01	6±0,01	7±1
<i>Coriandrum sativum</i>	11±0,18	13±0,57	8±0,2	11±0,88	6±0,01	13±0,88
<i>Punica granatum</i>	17±0,54	17±0,88	15±0,57	18,66±0,88	17±1	19,33±0,33
<i>Quercus ilex</i>	19±0,88	18±0,33	17,33±0,88	19,66±0,88	18,33±0,88	22,33±1,20
<i>Ruta graveolens</i>	13±0,88	8±0,1	14±0,57	6±0,01	6±0,01	14±0,57
Ethanol (Controle)	6±0,01	6±0,01	6±0,01	6±0,01	6±0,01	6±0,01

Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'addition de 10µl d'extraits. (Le diamètre du disque = 6mm est inclus). Toutes les valeurs sont représentées comme zone moyenne d'inhibition ± SEM.

Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice des extraits de pollens en mg/ml.

Echantillon de pollen		Souches bactériennes					
		<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Centaureum erythraea</i>	CMI (CMB) mg/ml	Pas d'effet	2,5 (2,5)	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet
	CMB/CMI	-	1	-	-	-	-
	interpretation	-	bactéricide	-	-	-	-
<i>Citrus aurantium</i>	CMI (CMB) mg/ml	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet	Pas d'effet
	CMB/CMI	-	-	-	-	-	-
	interpretation	-	-	-	-	-	-
<i>Coriandrum sativum</i>	CMI (CMB) mg/ml	2,5 (2,5)	2,5 (>2,5)	Pas d'effet	2,5 (>2,5)	Pas d'effet	2,5 (2,5)
	CMB/CMI	1	-	-	-	-	1
	interpretation	bactéricide	-	-	-	-	bactéricide
<i>Punica granatum</i>	CMI (CMB) mg/ml	0,31 (0,31)	2,5 (2,5)	2,5 (2,5)	2,5 (>2,5)	2,5 (2,5)	0,62 (0,62)
	CMB/CMI	1	1	1	-	1	1
	interpretation	bactéricide	bactéricide	bactéricide	-	bactéricide	bactéricide
<i>Quercus ilex</i>	CMI (CMB) mg/ml	0,31 (0,31)	1,25 (1,25)	1,25 (2,5)	2,5 (2,5)	2,5 (2,5)	0,62 (0,62)
	CMB/CMI	1	1	1	1	1	1
	interpretation	bactéricide	bactéricide	bactéricide	bactéricide	bactéricide	bactéricide
<i>Ruta graveolens</i>	CMI (CMB) mg/ml	1,25 (1,25)	Pas d'effet	2,5 (2,5)	Pas d'effet	Pas d'effet	1,25 (1,25)
	CMB/CMI	1	-	1	-	-	1
	interpretation	bactéricide	-	bactéricide	-	-	bactéricide

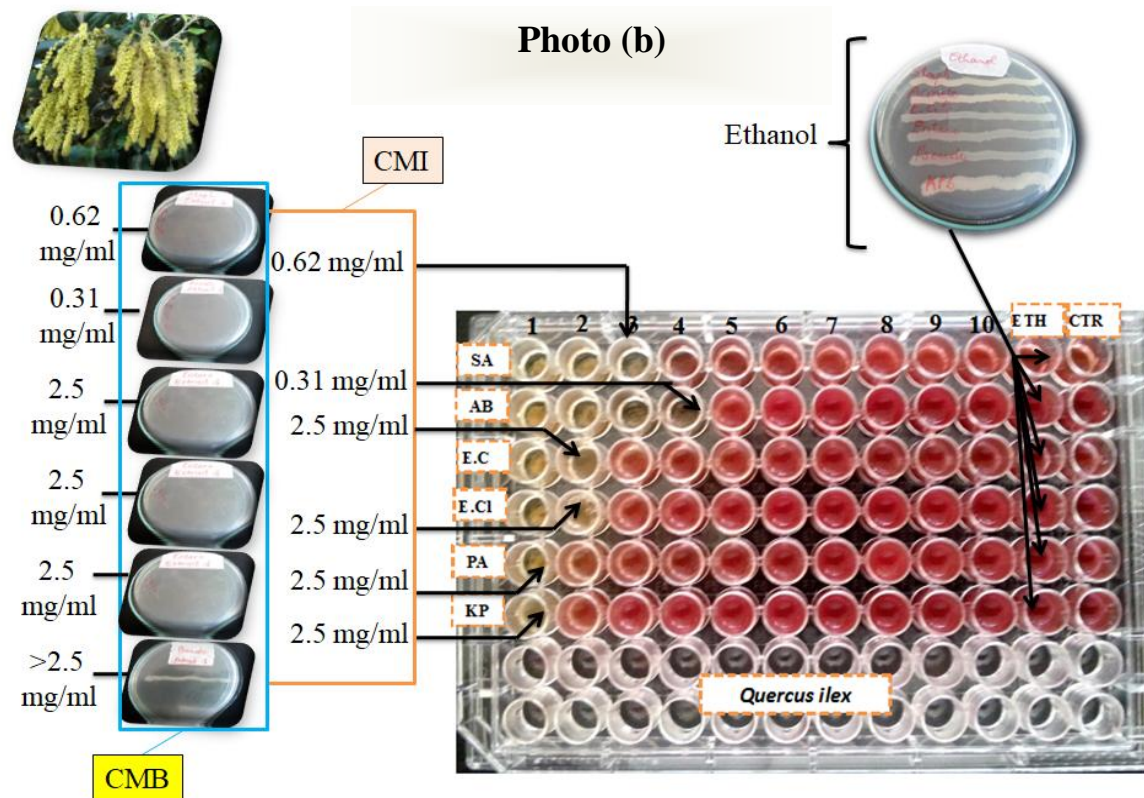
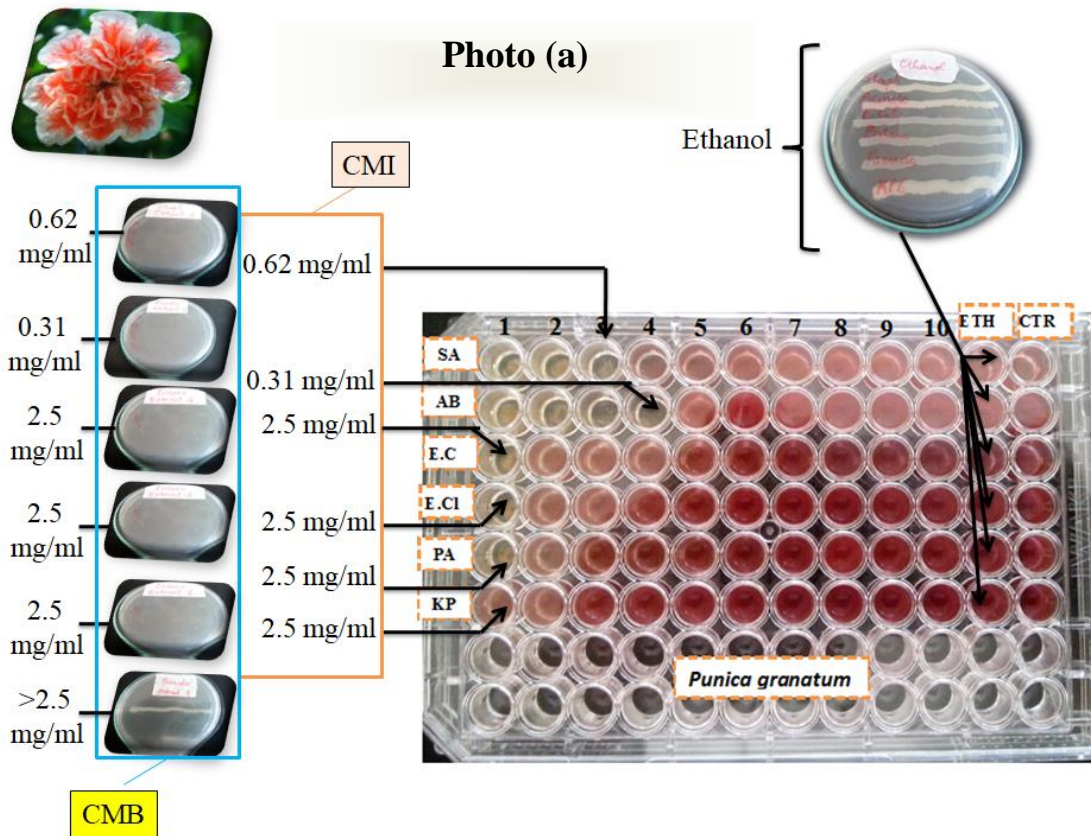
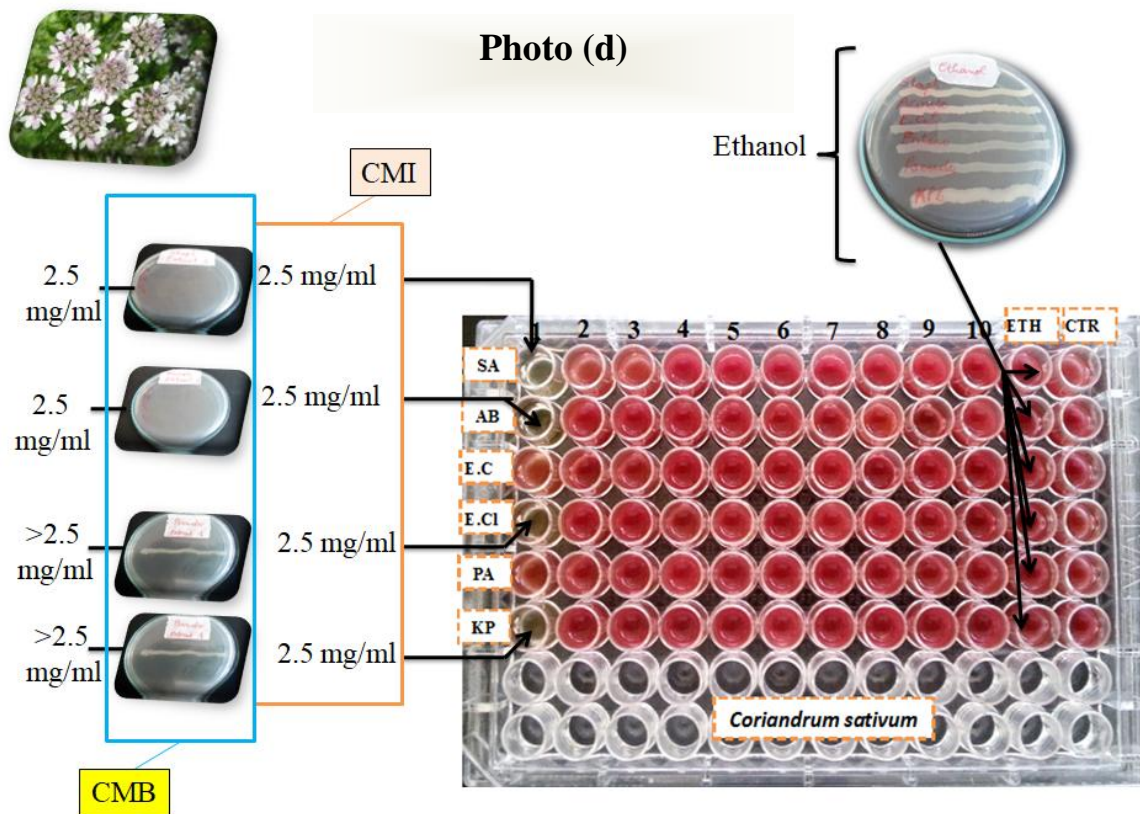
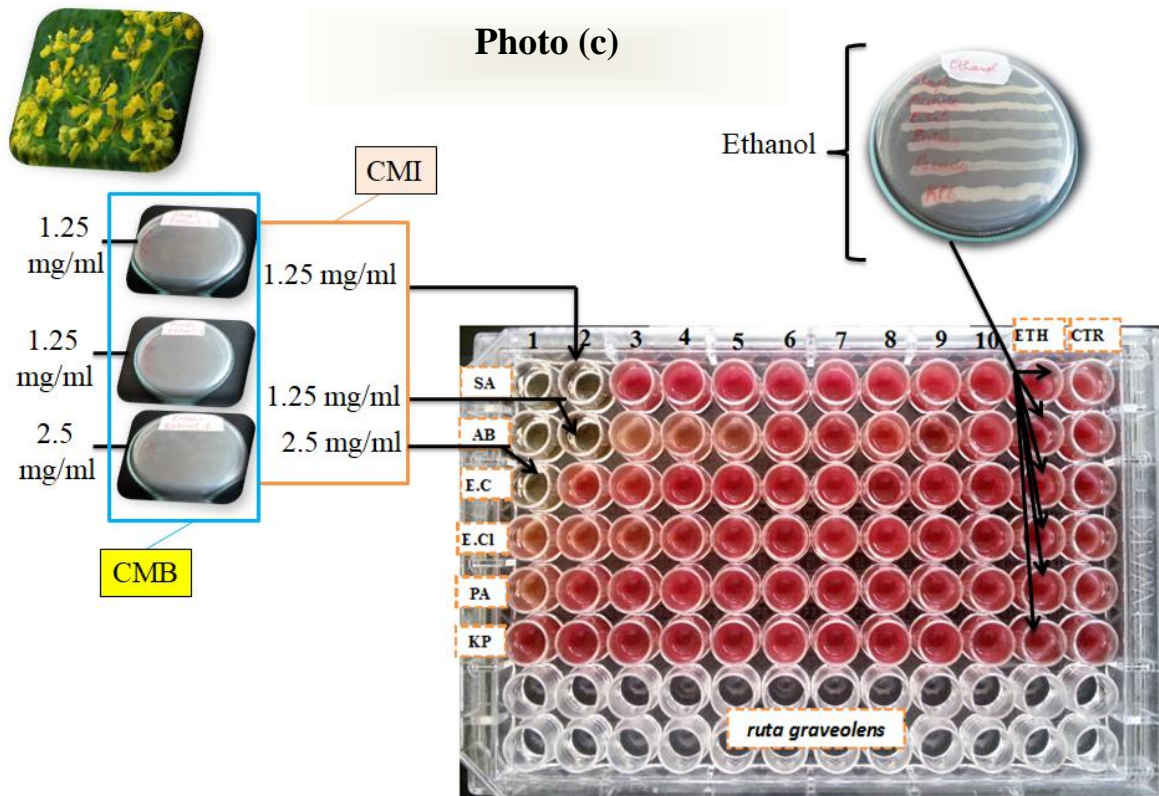


Figure 31: photos des microplaques montrant les CMI des grains de pollens et des boîtes de pétri montrant les CMB contre les bactéries étudiés.



(suite1)



Photo (e)

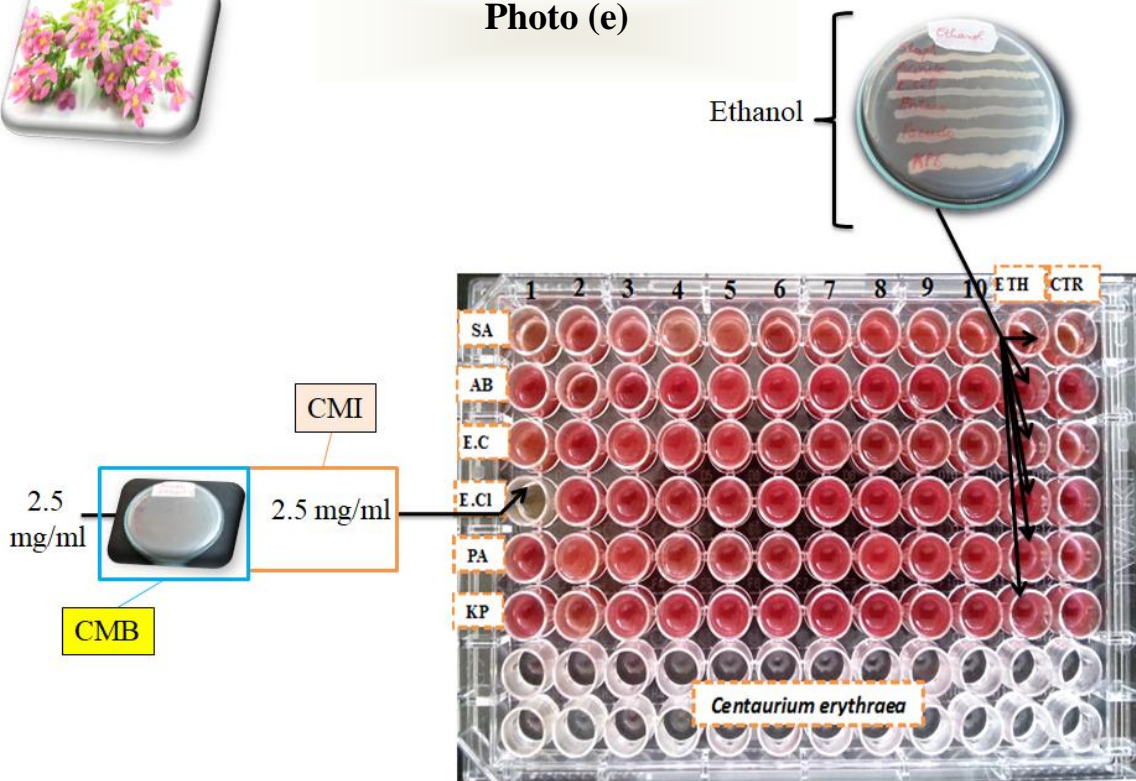
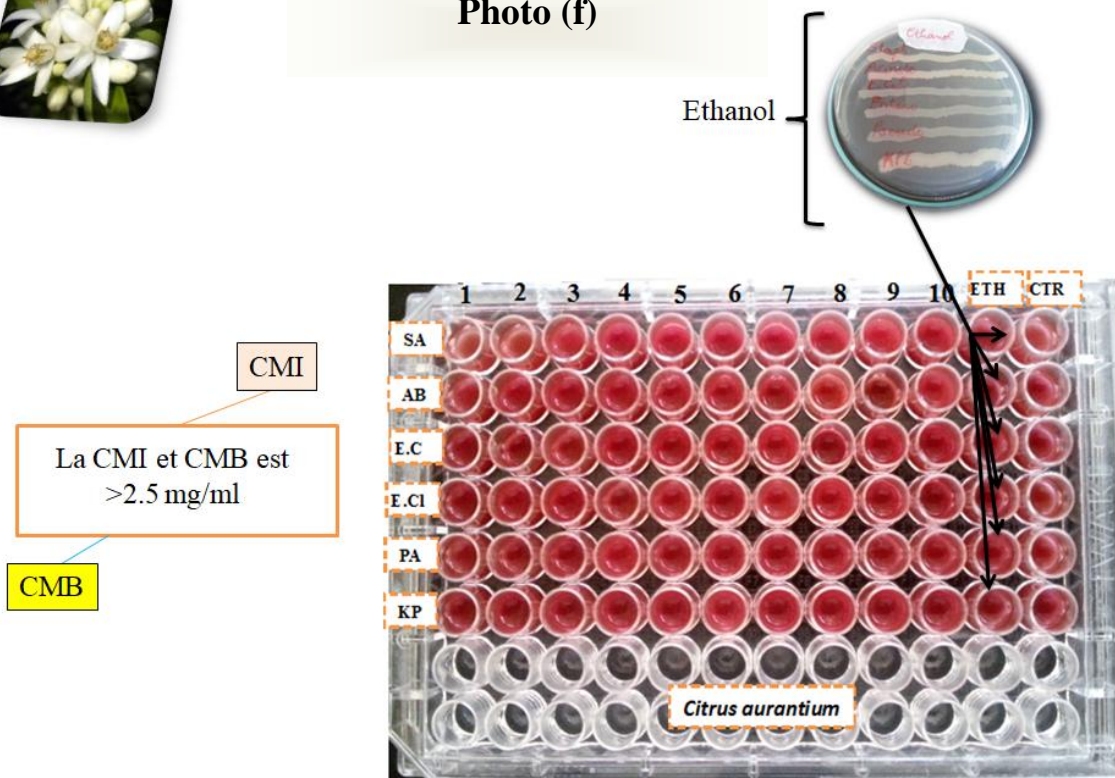


Photo (f)



(suite2)

La corrélation entre le contenu en antioxydants et les activités antioxydantes et entre le contenu en antioxydants et l'activité antibactérienne est représentée dans le tableau 14 et la figure 32. Dans cette étude, une forte corrélation positive entre les composés phénoliques, les flavones / flavonols, et la capacité antioxydante totale (CAT) a été trouvée, et d'autre part une forte corrélation négative se trouve avec des composés phénoliques, des flavones/flavonols et CAT et avec IC₅₀/EC₅₀ de DPPH, ABTS, et des essais de RP. Cela signifie que plus les pollens des plantes étudiées sont riches en contenu antioxydant plus que IC₅₀ /EC₅₀ est petit. En ce qui concerne la relation entre la teneur en antioxydants et l'activité antibactérienne contre les souches étudiées, nous avons trouvé une forte corrélation positive entre les flavones / flavonols et entre l'activité antibactérienne avec tous les extraits de pollens contre toutes les souches bactériennes, tandis que l'activité antibactérienne contre *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* est également corrélée avec le contenu en composés phénoliques et la CAT. Nos résultats sont en bon accord avec les études antérieures qui ont montré la relation entre la teneur en antioxydants et l'activité antibactérienne.[313–315]

Tableau 14: Coefficients de corrélation de Pearson.

		Composés phénoliques	Flavones/flavonols	CAT
Les testes antioxydantes	Composés phénoliques	1	0,862*	0,989***
	Flavones/flavonols	0,862*	1	0,891*
	CAT	0,989***	0,891*	1
	DPPH	-0,857*	-0,868*	-0,827*
	ABTS	-0,870*	-0,950**	-0,878*
	PR	-0,861*	-0,872*	-0,840*
Les testes antibactériennes	<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	0,911*	-
	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	0,824*	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	0,864*	-
	<i>klebsiella pneumoniae</i>	0,865*	0,936**	0,870*
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,908*	0,989***	0,934**
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	0,902*	-

-: non significatif; * la corrélation est significative au niveau P <0,05; ** la corrélation est significative au niveau P <0,01; *** la corrélation est significative au niveau P <0,001

La figure 32 présente l'analyse de la carte thermique (heatmap) basée sur la corrélation de Pearson. Heatmap est une présentation graphique avec visualisation en deux dimensions qui convertit les valeurs numériques en couleurs et réorganise les données similaires par dendrogramme. Les concentrations plus faibles étaient affichées en noir, tandis que les concentrations plus élevées étaient affichées en rouge. La Heatmap différencie clairement les échantillons de graines de pollen des plantes étudiées, les grains de pollen de *Quercus ilex* et *Punica granatum* regroupés entre eux, tandis que les *Centaurium erythraea*, *Coriandrum*

sativum, *Ruta graveolens* et *Citrus aurantium* sont regroupés entre eux. Heatmap montre également la relation entre la teneur en antioxydants et les activités antioxydantes et antibactériennes.

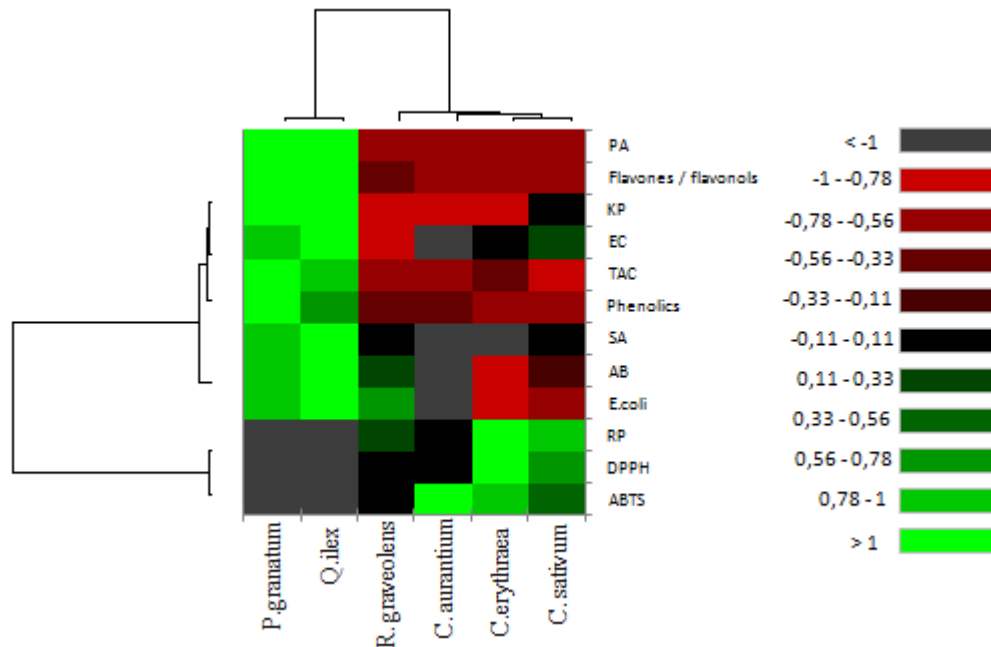


Figure 32: Représentation par heatmap des corrélations antioxydantes et antibactériennes.

3. CONCLUSION

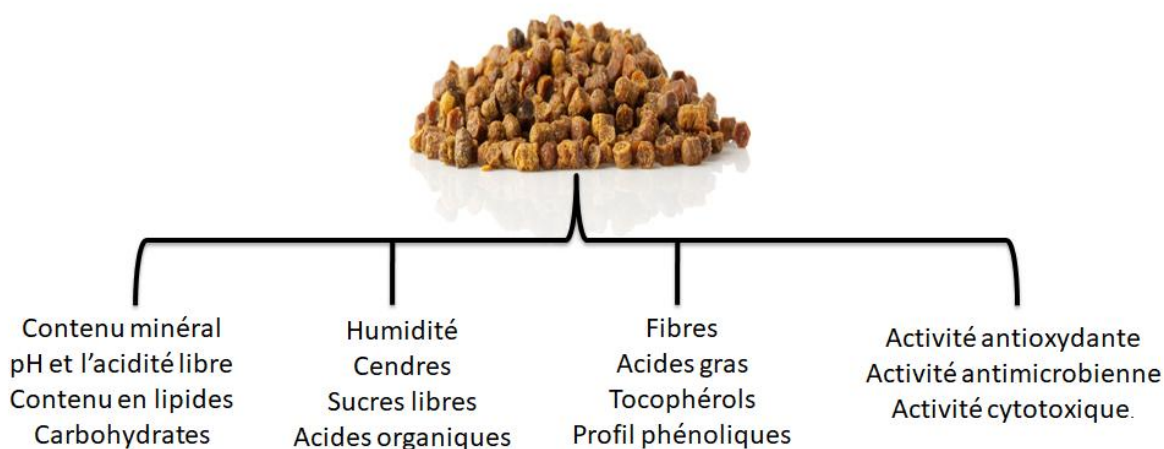
Cette étude est la première recherche à rapporter le contenu en antioxydants et l'effet des grains de pollen des plantes sélectionnées sur les souches bactériennes prélevées sur des spécimens humains. Les résultats ont indiqué que les grains de pollen des plantes étudiées sont des sources prometteuses d'antioxydants naturels et qu'ils possèdent une activité antibactérienne. Parmi les six espèces étudiées dans la présente étude, *Punica granatum* et *Quercus ilex* sont les plus actives.

CHAPITRE 3 : PAIN D'ABEILLE : ACTIVITE ANTIOXYDANTE, COMPOSITION CHIMIQUE, VALEUR NUTRITIONNELLE, PROFIL PHENOLIQUE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE IN VITRO

I. INTRODUCTION

Le pain d'abeille est le repas protéique de la colonie d'abeille. Le processus de sa formation commence avec la récolte du pollen des fleurs par les abeilles ouvrières. En rentrant chez elle, chargée de butin, l'ouvrière va tout d'abord étaler une couche de pollen dans le fond de l'alvéole, la tasser à l'aide de sa tête, puis la recouvrir de miel, en renouvelant l'opération jusqu'à ce que l'alvéole soit complètement garnie. Puis elle la recouvre par une fine couche de miel entraînant un processus biochimique absolument remarquable c'est la fermentation lactique aboutissant à la transformation du pollen en pain d'abeilles [54,316].

Vue la rareté de la production du pain d'abeille dans la région Fès-Meknès, les recherches dans cette étude est basé sur un seul échantillon, la particularité de cet échantillon, c'est qu'il est le résultat de butinage des abeilles qui appartiennent à une ruche de l'apiculture pastorale ou transhumante, produit dans la région Fès-Meknès, et récolté dans Imouzar Marmoucha (province Boulemane). Après l'obtention de l'échantillon, l'analyse palynologique et plusieurs études *in vitro* ont été faite à fin de déterminer la composition chimique, et quelque activité biologique (l'activité antioxydante, antimicrobienne, et cytotoxique)..



II. MATERIEL ET METHODES

1. ECHANTILLONAGE DU PAIN D'ABEILLE

Le pain d'abeille utilisé dans cette étude est produit à Imouzer Marmoucha, au Maroc et collecté au mois de septembre 2014. il a été stocké à -20 ° C jusqu'à son utilisation.

2. ANALYSE PALYNOLOGIQUE

L'échantillon a été préparé selon la méthode décrite par Kostic et *al.*[317] 500 mg du pain d'abeille a été macéré dans 15 ml d'éthanol 96% pendant 24 heures, puis passés dans un bain à ultrasons pendant 5 minutes puis centrifugés pendant 3 minutes, le surnageant a été éliminé et le processus a été répété jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène, puis le culôt résultant a été mis en suspension dans 20 ml d'eau distillée. Une lame a été préparée par une goutte de la suspension obtenue, en ajoutant une goutte d'un mélange de gélatine, glycérine, fuchsine basique et eau distillée. Au moins 500 grains de pollen ont été comptés et identifiés sur la base des lames de référence et d'autres guides morphologiques de pollen.[318,319]

3. CONTENU MINERAL

La composition minérale a été analysée par ICP-AES: spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif. 10 g de pain d'abeille ont été placés dans des capsules de quartz et incinérés à 650 °C pendant 4 heures, la cendre blanche obtenue a été dissoute dans 50 ml de l'acide nitrique 0,5 N, le test a été réalisé en double et les solutions obtenues ont été utilisées pour déterminer la teneur en macroéléments (Ca, Fe, K, Mg, Na, Mn, Zn, P) et la teneur en microéléments (Cd, Co, Cu, Ni, Se, Pb). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type.[320]

4. PH ET ACIDITE LIBRE

Deux g de pain d'abeille ont été mélangés avec 5 ml d'eau milli-Q, le pH a été déterminé par pH-mètre et le titrage a été effectué avec 0,05 mol / l de NaOH jusqu'à un pH de 8,5.[321].

5. LA VALEUR NUTRITIONNELLE

La composition nutritionnelle avec des références aux teneurs en protéines totales (AOAC 978.04), en matières grasses totales (AOAC 920.85), en cendres (AOAC 923.03) et en glucides totaux a été déterminée par des méthodes officielles d'analyse alimentaire. [322] La

contribution énergétique a été calculée selon l'équation suivante: $\text{Energie (kcal)} = 4 \times (\text{g protéines} + \text{g glucides}) + 9 \times (\text{g graisses})$. La teneur en fibres brutes du pain d'abeille a été analysée suite à la méthode de l'AOAC (2005) n ° 962.09[57]. Et La teneur en humidité a été déterminée gravimétriquement dans un four à convection avec un séchage à 105 °C à poids constant, en utilisant la méthode AOAC (2005) n ° 925.10[57]

6. SUCRES LIBRES

La teneur en sucres libres a été déterminée par CLHP couplée à un détecteur RI (Knauer, système Smartline 1000, Berlin, Allemagne) en utilisant la méthode standard interne (IS, mélézitose) ou une méthode standard externe pour les perfusions, comme décrit précédemment par les auteurs Barros et *al.* [323] Les résultats ont été exprimés en g pour 100 g de poids sec.

7. ACIDES ORGANIQUES

Les acides organiques ont été déterminés selon une procédure précédemment décrite par Barros et *al.*[323] Et l'analyse a été réalisée par chromatographie liquide ultra-rapide couplée à la détection de photodiodes (UFLC-PDA; Shimadzu Cooperation, Kyoto, Japon) en utilisant 215 nm comme longueur d'onde préférée. Les résultats ont été exprimés en g pour 100 g de poids sec.

8. ACIDES GRAS

La composition en acides gras a été déterminée par GC-FID (instrument DANI modèle GC 1000, Contone, Suisse) comme décrit précédemment par Barros et *al.* Et les résultats ont été exprimés en pourcentage relatif de chaque acide gras.[323]

9. TOCOPHEROLS.

Le profil des tocophérols a été déterminé en suivant une procédure décrite précédemment par Barros et *al.*, utilisant un système CLHP (Knauer, système Smartline 1000, Berlin, Allemagne) couplé à un détecteur de fluorescence (FP-2020; Jasco, Easton, USA) programmé pour une excitation à 290 nm et une émission à 330 nm, en utilisant la méthode IS (tocol) pour la quantification. Les résultats ont été exprimés en µg pour 100 g de poids sec.[323]

10. PROFIL DES COMPOSES PHENOLIQUES

10.1.Préparation de l'extrait de pain d'abeille

Pour obtenir l'extrait, une macération a été réalisée en utilisant un mélange solide / liquide de 30 g / L avec du méthanol / eau (80:20 v / v, à 25 ° C à 150 tr / min) pendant 60 minutes, puis filtré (papier Whatman n ° 4). Le résidu a été soumis à une ré-extraction avec le rapport solide / liquide et les extraits combinés ont été évaporés sous pression réduite (évaporateur rotatif Büchi R-210, Flawil, Suisse) et la phase aqueuse a été congelée et lyophilisée (-49 ° C pendant 48h). FeeZone 4.5, Labconco, Kansas City, MO, USA).

10.2.Analyse du profil des composés phénoliques

L'extrait hydroalcoolique a été redissous dans du méthanol/eau (80:20 v/v) jusqu'à une concentration finale de 20 mg/ml pour l'identification et la quantification du composé phénolique, qui a été réalisée dans une analyse LC-DAD – ESI/MSn Instrument Ultimate 3000 UCLHP, Thermo Scientific, San José, Californie, États-Unis) équipé d'un détecteur à barrettes de diodes et couplé à un détecteur de masse, selon une procédure précédemment rapportée par Bessada et *al.* [324] Le chromatogramme a été enregistré à plusieurs longueurs d'onde, caractéristiques des différentes classes de polyphénols (280, 330 et 370 nm). Pour l'analyse quantitative, une courbe d'étalonnage pour chaque étalon phénolique disponible (5-100 µg/mL) a été construite sur la base du signal UV. Pour les composés phénoliques identifiés pour lesquels une norme commerciale n'était pas disponible, la quantification a été effectuée via la courbe d'étalonnage de la norme disponible la plus similaire. Les résultats ont été exprimés en mg par g d'extrait.

11. CONTENU EN ANTIOXYDANTS ET ACTIVITES ANTIOXYDANTES

Les extraits hydroéthanoliques, hydrométhanoliques et d'acétate d'éthyle du pain d'abeille ont été préparées (20mg/ml) pour quantifier le contenu en antioxydants et tester l'activité antioxydante.

11.1.Contenu en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques des extraits du pain d'abeille a été estimée par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Marghitas et *al* [66]. La concentration en composés phénoliques a été déterminée en mg d'acide gallique équivalent, en utilisant une courbe d'étalonnage. Le test a été effectué en triple.

11.2. Contenu en flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux dans les extraits du pain d'abeille ont été déterminés selon la méthode de Kong *et al.* [325] L'absorbance a été lue à 510 nm, en utilisant une courbe d'étalonnage de la quercétine. Le résultat a été exprimé en mg d'équivalent de quercétine /g d'extrait.

11.3.Contenu en flavones et flavonols

Les flavones et les flavonols dans les extraits du pain d'abeille ont été déterminés selon la méthode de MIGUEL *et al.* [294] 100 µl d'Al₂Cl₃ (20%) ont été ajoutés à 100 µl de l'échantillon et après 1 heure à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm. La teneur totale en flavones et flavonols a été calculée en équivalents. Le test a été effectué en triple.

11.4.La capacité antioxydante totale

L'activité antioxydante des extraits du pain d'abeille a été évaluée par la méthode au phosphomolybdène selon la procédure de Zengin *et al.* [292] La capacité antioxydante des fractions du pain d'abeille a été évaluée en équivalents d'acide ascorbique (mg AA/g d'extrait).

11.5.Activité de piégeage du radical libre DPPH

L'activité de piégeage du radical libre DPPH a été mesurée comme décrit par Miguel *et al.*[294] L'absorbance a été prise à 517 nm. Les tests ont été effectués en trois répétitions, et de l'hydroxytoluène butylé (BHT) a été utilisé comme contrôle positif, l'activité de piégeage a été estimée sur la base du pourcentage de radical DPPH récupéré en utilisant l'équation suivante: $IC_{50\%} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$, A₀ est l'absorbance d'un contrôle négatif (échantillon blanc contenant la même quantité de solvant et la solution de DPPH) et A₁ est l'absorbance de l'échantillon.

11.6.Activité de piégeage du radical libre ABTS

L'activité de piégeage radicalaire de l'ABTS a été évaluée par la méthode de SILVA, *et al* 2013. [295] Le radical libre ABTS a été généré par réaction entre une solution aqueuse de ABTS 7 mM avec K₂S₂O₈ (2,45 mM) dans l'obscurité pendant 16 h et en ajustant l'absorbance à 734 nm à 0,7 à température ambiante. 75 µl de l'extrait du pain d'abeille ou de BHT (utilisé comme contrôle positif) ont été ajoutés à 825 µl d'ABTS et l'absorbance à 734 nm a été lue après 6 minutes avec un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda 40 UV / VIS. Tous les tests

ont été effectués en triple exemplaire. La capacité de piéger le radical ABTS a été calculée en utilisant l'équation suivante: $IC_{50\%} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$, A_0 est l'absorbance d'un contrôle négatif (échantillon blanc contenant la même quantité de solvant et solution ABTS) et A_1 est l'absorbance de l'échantillon.

11.7.Le pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur a été déterminé par la méthode de PADMANABHAN et *al.* [296] L'extrait du pain d'abeille (50 μ L) a été mélangé avec 200 μ L de tampon phosphate de sodium 0,2 M (pH 6,6) et 200 μ L de ferricyanure de potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50 ° C pendant 20 min. Après 200 μ l d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés et mélangés avec 600 μ L d'eau distillée plus 120 μ L de chlorure ferrique à 0,1%. L'absorbance du mélange a été mesurée à 700 nm avec un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda 40 UV/VIS. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. Les résultats sont représentés par la concentration en extrait fournissant 0,5% d'absorbance (EC_{50}) et qui a été calculée à partir du graphique de l'absorbance à 700 nm.

12. ACTIVITES BIOLOGIQUES DU PAIN D'ABEILLE

12.1.Activité antimicrobienne

L'extrait hydrométhanolique a été préparé à une concentration finale de 20 mg/ml dans de l'eau, puis ils ont été dilués à différentes concentrations pour être soumis à l'évaluation antimicrobienne.

Les bactéries à Gram positif suivantes: *Bacillus cereus* (isolat alimentaire), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) et *Listeria monocytogenes* (NCTC 7973), bactéries à Gram négatif:

Escherichia coli (ATCC 35210), *Enterobacter cloacae* (isolat humain), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) et champignons: *Aspergillus fumigatus* (ATCC 1022), *Aspergillus ochraceus* (ATCC 12066), *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Penicillium funiculosum* (ATCC 36839), *Penicillium ochrochloron* (ATCC 9112) et *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* (isolat alimentaire) ont été utilisés dans cette étude. Le dosage antimicrobien a été effectué par la méthode de microdilution décrite précédemment par Soković et *al.* [326] Les résultats ont été exprimés comme les concentrations qui inhibaient complètement la croissance bactérienne (CMI) et ont été déterminées par un test de viabilité microbienne colorimétrique, et MBC et MFC (concentration bactéricide minimale et

concentration fongicide minimale) ont également été calculés. La streptomycine, l'ampicilline, le kétoconazole et le bifonazole (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ont été utilisés comme contrôles positifs et 5% de DMSO a été utilisés comme contrôle négatif.

12.2.Cytotoxicité dans les lignées cellulaires tumorales et dans les cellules primaires non tumorales

L'extrait hydrométhanolique a été préparé à une concentration finale de 8 mg/ml dans l'eau, puis ils ont été ensuite dilués à différentes concentrations pour être soumis à une évaluation antiproliférative et hépatotoxique *in vitro*. Pour l'évaluation de l'activité antiproliférative, un dosage à la sulphorhodamine a été effectué en utilisant des lignées de cellules tumorales humaines: MCF-7 (cancer du sein), NCI-H460 (cancer du poumon non à petites cellules), HepG2 décrit par les auteurs Barros et *al.* [323] Pour l'évaluation de l'hépatotoxicité, le foie de porc fraîchement récolté, a été utilisé pour obtenir la culture cellulaire, appelée PLP2. L'inhibition de la croissance a été évaluée en utilisant le test SRB, décrit précédemment par Barros et *al.* [315] Les résultats ont été exprimés en valeurs GI₅₀; la concentration de l'échantillon qui inhibait 50% de la croissance cellulaire nette et l'ellipticine était utilisée comme contrôle positif.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. OBSERVATION MICROSCOPIQUE DU PAIN D'ABEILLE

Six familles de plantes ont été identifiées dans le pain d'abeille analysé (figure 33): *Apiacées* (*Bupleurum spinosum*; *Anethum graveolens*) prédominante avec un pourcentage de 35%, *Astéracées* (*Calendula officinalis*; *Anacyclus*) avec un pourcentage de 24%, *Fagacées* (*Quercus ilex*) avec un pourcentage de 16%, *Myrtacées* (*Eucalyptus*) 9%, *Punicacés* (*Punica granatum*) 6%, *Mimosacées* (*Acacia*) 5% et 5% autres types de grains de pollen. Selon Saavedra-Carhuatocto et *al.*[327] l'échantillon de pain d'abeille est classé comme multifloral car il contient 3 types de pollen avec des pourcentages secondaires (16-45%).

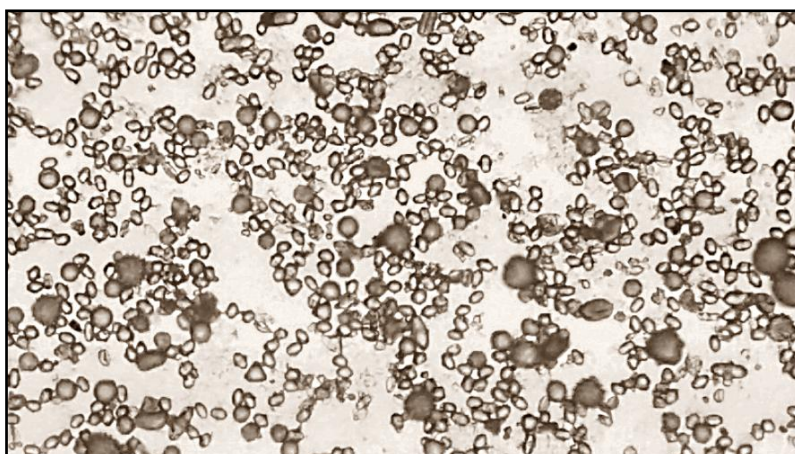


Figure 33: vue microscopique des grains de pollen existant dans le pain d'abeille.

2. CONTENU ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les résultats de la teneur en antioxydants (tableau 15 et tableau 16) ont montré que les composés phénoliques dans le pain d'abeille ont été extraite par l'acétate d'éthyle mieux que l'extrait hydroéthanolique et l'extrait hydrométhanolique. Alors que l'activité antioxydante évaluée par les trois tests DPPH, ABTS, et pouvoir réducteur ont enregistré des valeurs faibles des IC_{50} par l'extrait hydroéthanoliques suivie par les valeurs enregistrés par l'extrait hydrométhanolique puis par les valeurs enregistrés par l'extrait d'acétate d'éthyle. Ces résultats sont presque similaires aux études précédentes qui montraient que la forte activité en antioxydants du pain d'abeille était responsable de sa bioactivité. En 2007, Otica et *al*, ont trouvé qu'il existait une bonne corrélation entre la teneur en antioxydants (polyphénols, flavonols, flavones, flavanones) et les activités antioxydantes réalisées par les tests DPPH, TEAC et FRAP. [68] Baltrusaityte et *al* ont constaté que le pain d'abeille avait une activité antioxydante supérieure à celle du miel [69]. Une autre étude d'Akhir et *al*, a montré que le pain d'abeille dépasse la propolis en activité de piégeage des radicaux libres par le test DPPH et ABTS, et pour le test FRAP, l'activité est similaire avec l'extrait éthanolique, et moins avec l'extrait d'hexane.[70]

Tableau 15: Teneur en antioxydants dans le pain d'abeille.

Pain d'abeille	Polyphénoles mg AG/g	Flavonoïdes mgQ/g	CAT mg AA/g	Flavones/flavonols mg Q/g
Extrait hydrométhanolique	7,35±0,13 ^c	2,51±0,05 ^b	142,81±22,44 ^a	0,18±0,01 ^c
Extrait hydroéthanolique	14,88±0,98 ^b	1,67±0,12 ^c	143,78±11,38 ^a	0,23±0,01 ^b
Extrait d'acétate-d'éthyle	27,27±0,38 ^a	5,29±0,27 ^a	65,44±6,34 ^b	2,12±0,02 ^a

Tableau 16: Les activités antioxydantes du pain d'abeille.

Pain d'abeille	DPPH mg/ml	ABTS mg/ml	Pouvoir réducteur mg/ml
L'extrait hydrométhanolique	0,98±0,06 ^a	0,50±0,04 ^b	0,19±0,03 ^b
L'extrait hydroéthanolique	0,05±0,01 ^c	0,08±0,05 ^c	0,05±0,04 ^b
L'extrait d'acétate-d'éthyle	0,43±0,02 ^b	1,52±0,021 ^a	0,71±0,05 ^a
BHT	0,009±0,0001 ^d	0,003±0,01 ^d	ND
Acide ascorbique	ND	ND	0,003±0,001 ^d

3. COMPOSITION MINERALE

Concernant la composition minérale du pain d'abeille (tableaux 17 et 18), les principaux minéraux existant dans l'échantillon étaient le potassium ($3378,35 \pm 80$ mg / kg de BB) suivi du phosphore ($2504,5 \pm 40$ mg / kg de BB), du calcium (35 mg / kg de BB), magnésium ($610,75 \pm 18$ mg / kg de BB), fer ($272,96 \pm 3$ mg / kg de BB), sodium ($141,45 \pm 0,9$ mg / kg de BB), zinc ($33,13 \pm 0,4$ mg / Kg de BB) et le manganèse ($26,29 \pm 1$ mg / kg de BB). Toutefois, pour le contenu en micro-éléments, le contenu le plus élevé était représenté par le cuivre $7,015 \pm 0,17$ (mg / kg de BB), suivi par le cobalt $0,38 \pm 0,01$ (mg / kg de BB), le nickel $0,257 \pm 0,06$ (mg / kg de BB), le sélénium $0,091 \pm 0,012$ (mg / kg de BB) et très faible concentration de plomb $0,065 \pm 0,015$ (mg / kg de BB) et de cadmium $0,054 \pm 0,001$ (mg / kg de BB). Notre échantillon de pain d'abeille est sans danger pour la consommation humaine, il répond aux exigences de qualité imposant que la teneur en plomb ne dépasse pas $50 \mu\text{g} / 100\text{g}$ et que la teneur en cadmium ne dépasse pas $10 \mu\text{g} / 100\text{g}$ [468]

Tableau 17: Taux moyens de macroéléments dans le pain d'abeille (mg / kg).

Macroélément	Teneur en (mg/Kg)
Ca	1975±35 ^c
Fe	272,96±3 ^e
K	3378,35±80 ^a
Mg	610,75±18 ^d
Na	141,45±0,9 ^f
Zn	33,13±0,4 ^g
P	2504,5±40 ^b
Mn	26,29±1 ^h

Tableau 18: Taux moyens de microéléments dans le pain d'abeille (mg / kg).

Microélément	Teneur en (mg/Kg)
Cd	0,054±0,001 ^f
Co	0,38±0,01 ^c
Cu	7,015±0,17 ^a
Ni	0,257±0,06 ^b
Se	0,091±0,012 ^d
Pb	0,065±0,015 ^e

Dans une étude d'Andelkovic et *al*, la teneur en minéraux, dans le pain d'abeille de pissenlit et d'ortie royale, a révélé que le minéral prédominant était le potassium, suivi par le phosphore, le calcium et le magnésium.[56] Selon LOPER et *al*, par le potassium est également le minéral le plus important dans le pain d'abeille d'amandier, suivi par le calcium, le magnésium et le zinc. [65] Les mêmes résultats sont enregistrés par STANCIU et *al*. Dans le pain d'abeille de la région de Transylvanie, en Roumanie.[66] Le pollen des fleurs est la principale source de ces minéraux pour les abeilles. Selon Andelkovic et *al*, le nectar et l'eau peuvent également être une source importante de ces éléments inorganiques. [56] Cependant, d'autres facteurs tels que les conditions géographiques et le sol affectent également la teneur en minéraux du pain d'abeille.

4. VALEUR NUTRITIONNEL

L'analyse chimique (tableau 19) a montré que l'échantillon du pain d'abeille contient des lipides ($1,90 \pm 0,06$ g / 100g PS), des protéines ($19,96 \pm 0,08$ g / 100g PS), des cendres ($3,32 \pm 0,08$ g / 100g PS), des glucides ($74,82 \pm 0,04$ g / 100g PS). La valeur énergétique du pain d'abeille est de ($396,2 \pm 0,4$ Kcal / 100g PS). En ce qui concerne la teneur en sucres, le fructose est représenté par ($11,8 \pm 0,6$ g / 100 g PS), le glucose ($5,7 \pm 0,4$ g / 100 g PS) et le tréhalose ($0,92 \pm 0,01$ g / 100 g PS), le total des sucres est de (18 ± 1 g / 100g PS), l'acide organique analysé dans cette étude est l'acide oxalique et il est représenté par ($0,383 \pm 0,004$ g / 100 g PS). Le pH de l'échantillon du pain d'abeille est de (4.37 ± 0.02) alors que l'acidité libre est de (400 ± 15 mEq / kg ps).

Tableau 19: Composition générale (g /100g ps), valeur énergétique (kcal /100g ps), sucres (g /100g ps) et acides organiques (g / 100g ps) du pain d'abeille étudié (moyenne± SD).

Composition générale		Sucres libres	
Lipides	1.90±0.06 ^d	Fructose	11.8±0.6 ^a
Protéines	19.96±0.08 ^b	Glucose	5.7±0.4 ^b
Cendre	3.32±0.08 ^c	Trehalose	0.92±0.01 ^c
Glucides	74.82±0.04 ^a	Sucres totaux	18±1
Énergie	396.2±0.4		
Les acides organiques			
Acide oxalique	0.383±0.004		

Une étude de Kaplan et *al* publiée en 2016 a montré que la teneur en lipides dans les échantillons de pain d'abeille de trèfle, de coton, de châtaignier, d'agrumes et de tournesol varie entre $5,93 \pm 0,02$ g / 100 g et $11,55 \pm 0,05$ g / 100 g. [59] Une autre étude réalisée par Zuluaga et *al*, sur quinze échantillons de pain d'abeille a révélé que la teneur en lipides dans ces échantillons variait de 1,65% à 5,50%. [58] Anelkovic et *al* ont analysé le pain d'abeilles de printemps serbe et ont montré que la teneur en lipides dans les échantillons analysés variait entre 4,51% et 4,92%. [56] Les sucres sont la principale source de dépense énergétique des abeilles. Les abeilles ouvrières ont besoin d'environ 4 mg de sucres utilisables par jour pour leur survie, la teneur en glucides du pain d'abeille varie entre 24,40 et 34,80%, le fructose étant le sucre le plus trouvé, suivi par le glucose et le maltose, le saccharose représente un très faible pourcentage en raison de sa décomposition au cours de la fermentation lactique au cours de laquelle les bactéries lactiques utilisent ces sucres comme source d'oxygène pour produire de l'acide lactique. Le pain d'abeille contient également des disaccharides tels que le tréhalose, l'isomaltose et le turanose, mais en faible pourcentage. [51,63] La teneur en protéines du pain d'abeille a été analysée dans de nombreuses études; les résultats obtenus allaient de 14,82% à 27,63%. [56,58,59].

5. CONTENU EN ACIDES GRAS ET EN TOCOPHEROLS

Un total de 25 acides gras, dont 14 saturés et 11 non saturés, ont été identifiés dans l'échantillon du pain d'abeille (tableau 20), les résultats ont montré des taux élevés d'acides gras polyinsaturés (AGPI) ($64,7 \pm 0,4\%$), trois acides gras oméga-3 ont été identifiés (acides α -linoléique, eicosatriénoïque, eicosapentaémoïque) et trois acides gras oméga-6 (acides

linoléique, éicosatriénoïque et arachidonique). Les acides gras insaturés les plus abondants observés étaient les acides α -linoléiques ($25 \pm 1\%$), Arachidonic ($23,2 \pm 0,5\%$) et Linoléiques ($14,2 \pm 0,1\%$). En ce qui concerne les acides gras monoinsaturés (AGMI), l'échantillon de pain d'abeille contient ($7,2 \pm 0,3\%$).

Tableau 20: Composition en acides gras (%) et en tocophérols (mg / 100g ps) du pain d'abeille étudié (moyenne \pm SD).

Acides gras					
C8:0	Acide Octanoïque	0,22 \pm 0,01 ^{kl}	C20:0	Acide Arachidique	4,4 \pm 0,3 ^f
C10:0	Acide Decanoïque	0,18 \pm 0,01 ^l	C20:1	Acide Gadoleïque	0,277 \pm 0,004 ^k
C11:0	Acide Undecanoïque	0,89 \pm 0,01 ^j	C20:2	Acide Eicosadiénoïque	0,316 \pm 0,002 ^k
C12:0	Acide Dodecanoïque	3,2 \pm 0,2 ^h	C21:0	Acide Heneicosanoïque	0,403 \pm 0,005 ^k
C13:0	Acide Tridecanoïque	0,39 \pm 0,02 ^k	C20:3n6	Acide Eicosatriénoïque	0,49 \pm 0,03 ^k
C14:0	Acide Tetradécanoïque	0,37 \pm 0,04 ^k	C20:4n6	Acide Arachidonique	23,2 \pm 0,5 ^b
C15:0	Acide Pentadécanoïque	0,161 \pm 0,002 ^l	C20:3n3	Acide Eicosatriénoïque	1,01 \pm 0,04 ^j
C16:0	Acide Hexadécanoïque	10,6 \pm 0,4 ^d	C22:0	Acide Behénique	1,64 \pm 0,03 ⁱ
C16:1	Acide Palmitoléique	1,09 \pm 0,05 ^j	C20:5n3	Acide Eicosapentaénoïque	0,541 \pm 0,009 ^k
C17:0	Acide Heptadécanoïque	0,197 \pm 0,004 ^l	C24:0	Acide lignocérique	1,56 \pm 0,02 ⁱ
C18:0	Acide Stearique	3,5 \pm 0,1 ^g	C24:1	Acide nervonique	0,107 \pm 0,003 ^l
C18:1n9	Acide Oleïque	5,7 \pm 0,3 ^e	AGS (%)	27.8 \pm 0.8 ^b	
C18:2n6	Acide Linoléique	14,2 \pm 0,1 ^c	AGMI (%)	7.2 \pm 0.3 ^c	
C18:3n3	Acide α -Linoléique	25 \pm 1 ^a	AGPI (%)	64.7 \pm 0.4 ^a	
Tocopherols					
	α-Tocophérol	10,5 \pm 0,8 ^a			
	δ-Tocophérol	0,40 \pm 0,04 ^c			
	Tocophérols totale	10,9 \pm 0,9 ^b			

La littérature actuelle montre que le pain d'abeille est une bonne source d'acides gras, en particulier de polyinsaturés, qui sont très importants pour la santé humaine. Kaplan et *al.*, ont identifié 37 acides gras, dont 20 saturés et 17 insaturés, dans des pains d'abeilles obtenus à partir de différentes origines botaniques.[59] Dans une autre étude de Čeksterytė et *al.*, Trente-neuf acides gras ont été identifiés dans le pain d'abeilles de trèfles.[64] Čeksterytė et Jansen ont rapporté que le pain d'abeille de colza et de saule récolté au printemps contient vingt-deux acides gras, dont des acides gras saturés à chaîne moyenne (C10-C18) et à longue chaîne (C20-C24).[328] Human et Nicolson ont rapporté que le pain d'abeille *d'Aloe greatheadii* var d'origine sud-africaine contient dix-huit acides gras, dont des acides gras à longue chaîne, des acides gras saturés et des acides gras monoinsaturés.[329]

L'analyse des tocophérols a montré une teneur de 10,9 \pm 0,9 mg / 100 g de tocophérols totaux, la teneur en α -tocophérol est de 10,5 \pm 0,8 mg / 100 g en poids, tandis que la teneur en δ -tocophérol est de 0,40 \pm 0,04 mg / 100 g en poids sec. Hryniewicka et *al* ont trouvé par

analyse LC / MS / MS que le pain d'abeille est un produit riche en vitamine E (α -tocophérol). [75]

6. LE PROFIL PHENOLIQUE DU PAIN D'ABEILLE

En ce qui concerne la composition phénolique de notre pain d'abeilles étudié (tableau 21) et (Figure 34), les résultats ont montré la présence de kaempférol-O-hexosyl-O-rutinoside, de quercétine-O-hexosyl-O-hexoside, de quercétine-O-hexosyl-O-hexoside, de méthylherbacétrine -O-dihexoside, Isorhamnétine-O-hexosyl-O-rutinoside, Quercétine-O-pentosyl-hexoside, Quercétine 3-O-rutinoside, Methyl herbacettrin-3-O-rutinoside, Isorhamnétine-O-pentosyl-hexoside, Kempferol-3 -O-rutinoside, Isorhamnétine-O-rhamnoside-hexoside, Isorhamnétine-3-O-rutinoside. Les informations disponibles dans la littérature sur la composition phénolique du pain d'abeille restent limitées dans certaines recherches s'intéressant à l'analyse de la composition des flavonoïdes dans le pain d'abeille par CLHP ou par GC-MS. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Sobral et *al* en 2017 dans des échantillons de pain d'abeille portugais.[71] Une autre étude sur le pain d'abeille géorgien révèle la présence de 12 à 15 flavonoïdes par CLHP [72] Markiewicz-Żukowska et *al* ont analysé le pain d'abeille du Pologne par GC-MS et ils ont trouvé du kaempférol et de l'apigénine. [73] Isidorov et *al* en 2009 ont trouvé, par analyse GC-MS, la naringine, le kaempférol, l'apigénine, l'Isorhamnétinee, la quercétine et la vitamine E (α -tocophérol) dans du pain d'abeille de Lettonie, de Russie et de Pologne. [74]

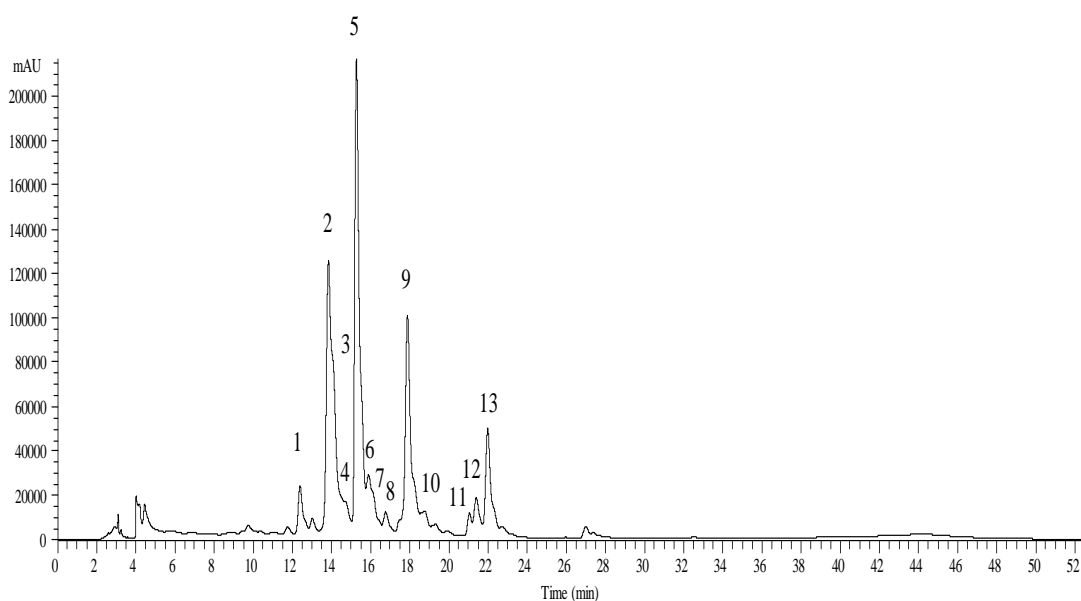


Figure 34: Profil des composés phénoliques trouvés dans le pain d'abeille enregistré à 370 nm.

Tableau 21: Temps de rétention (Rt), longueurs d'onde d'absorption maximale dans le visible (λ_{\max}), données de spectrométrie de masse, identification et quantification de composés phénoliques dans le pain d'abeille.

pic	Rt (min)	λ_{\max} (nm)	[M-H]- (m/z)	MS2 (m/z)	Tentative Identification	Pain d'abeille (mg/ g extract)
1	14.9	346	755	593(100),447(21),285(34)	Kaempférol- O-hexosyl-O-rutinoside	0,57±0,01 ^e
2	15.3	350	625	463(100),301(48)	Quercétine-O-hexosyl-O-hexoside	0,95±0,03 ^b
3	15.3	350	625	463(100),301(48)	Quercétine -O-hexosyl-O-hexoside	0,80±0,01 ^c
4	16.3	350	639	315(18),300(21)	Methylherbacetrin-O-dihexoside	0,545±0,004 ^e
5	16.3	350	785	623(100),477(16),315(30)	Isorhamnétine- O-hexosyl-O-rutinoside	1,48±0,05 ^a
6	16.7	358	595	301(100)	Quercétine-O-pentosyl-hexoside	0,58±0,01 ^e
7	17.3	358	609	301(100)	Quercétine 3-O-rutinoside	0,53±0,01 ^{ef}
8	18.2	352	623	315(36),300(22)	Methylherbacetrin-3-O-rutinoside	0,51±0,01 ^{ef}
9	19.3	356	609	315(100)	Isorhamnétine-O-pentosyl-hexoside	0,93±0,01 ^b
10	19.3	356	609	315(100)	Isorhamnétine-O-pentosyl-hexoside	0,55±0,01 ^e
11	19.8	348	593	285(100)	Kaempférol-3-O-rutinoside	0,51±0,01 ^{ef}
12	23.5	356	623	315(100)	Isorhamnétine-O-rhamnoside-hexoside	0,56±0,01 ^d
13	23.5	356	623	315(100)	Isorhamnétine-3-O-rutinoside	0,68±0,01 ^d
					Composés phénoliques totaux	9,2±0,1

Dans une étude récente publiée par Urcan et *al*, ils ont prouvé que le profil phénolique du pain d'abeille était le même que celui trouvé dans le pollen des fleurs (récolté à la main) et dans le pollen d'abeille. Malgré la transformation biochimique de la fermentation du pain d'abeille, les composés phénoliques ne sont pas affectés et restent inchangés. En outre, ils ont constaté que des variables telles que le sol et le climat ne semblaient pas influencer ces composés pour le type d'échantillons étudié.[330]

7. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

En ce qui concerne l'effet antimicrobien de l'échantillon du pain d'abeille (tableaux 22 et 23), les résultats ont montré que toutes les souches bactériennes et les champignons étaient sensibles à l'extrait hydrométhanolique du pain d'abeille avec une CMI allant de (0,04 mg / ml) à (0,175 mg / ml) et au taux de MBC variaient entre (0,08 mg / ml) et (0,35 mg / ml) pour les souches bactériennes. Pour les champignons, les CMI variaient entre (0,35 mg / ml) et (1 mg / ml) et les CMF entre (0,70 mg / ml) et (1,40 mg / ml). L'activité antimicrobienne des extraits de DMSO du pain d'abeille marocain a été déjà étudiée par Abouda et *al*, contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*. Les résultats ont montré que tous les échantillons du pain d'abeille avaient une activité antimicrobienne contre les souches bactériennes, avec une plus grande sensibilité des bactéries à Gram positif que des bactéries à Gram négatif.[78] Ivanišová et *al*, ont montré que l'extrait éthanolique des échantillons du pain d'abeille provenant de cinq régions d'Ukraine possédaient une activité antimicrobienne contre quatre souches bactériennes, deux à Gram positif: *Bacillus thuringiensis*, *Staphylococcus aureus* et deux à Gram négatif *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*.[76]

L'effet antimicrobien du pain d'abeille est probablement associé à la présence d'antioxydants tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques. Puisque qu'il est bien connu que ces composés peuvent affecter la croissance et le métabolisme des bactéries, en perturbant l'intégrité de la paroi cellulaire, en bloquant les canaux ioniques et en inhibant la synthèse d'adénosine triphosphate (ATP). [331,332]

Tableau 22: Activité antibactérienne du pain d'abeille étudié (CMI et CMB mg / ml).

		<i>B.cereus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>L.monicytogenes</i>	<i>E.coli</i>	<i>En.cloacae</i>	<i>S.typhimurium</i>
Pain d'abeille	CMI	0,04	0,175	0,175	0,25	0,175	0,175
	CMB	0,08	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Streptomycin	CMI	0,10	0,04	0,20	0,20	0,20	0,20
	CMB	0,20	0,10	0,30	0,30	0,30	0,30
Ampicilline	CMI	0,25	0,25	0,40	0,40	0,25	0,75
	CMB	0,40	0,45	0,50	0,50	0,50	1,20

Tableau 23: Activité antifongique du pain d'abeille étudié (CMI et CMF mg / ml).

		<i>A.fumigatus</i>	<i>A.ochraceus</i>	<i>A.niger</i>	<i>P.funiculosum</i>	<i>P.ochrochloron</i>	<i>P.v.cyclopium</i>
Pain d'abeille	CMI	0,50	0,35	1,00	0,70	1,00	1,00
	CMF	1,00	0,70	1,40	1,00	1,40	1,40
Ketoconazole	CMI	0,25	0,20	0,20	0,20	2,50	0,20
	CMF	0,50	0,50	0,50	0,50	3,50	0,30
Bifonazole	CMI	0,15	0,10	0,15	0,20	0,20	0,10
	CMF	0,20	0,20	0,20	0,25	0,25	0,20

8. ACTIVITE CYTOTOXIQUE

En ce qui concerne l'activité antitumorale, l'échantillon du pain d'abeille n'a montré aucune toxicité vis-à-vis des lignées cellulaires tumorales humaines utilisées: HeLa (carcinome cervical), HepG2 (carcinome hépatocellulaire), MCF-7 (cancer du sein), NCI-H460 (cancer du poumon non à petites cellules). De plus, jusqu'à 400 µg/mL, l'échantillon de pain d'abeille n'était pas toxique pour les cellules normales (cellules primaires du foie de porc non tumorales) (tableau 24). L'activité antitumorale du pain d'abeille a été évaluée *in vitro* dans très peu d'études. Une des recherches récentes est publiée par Sobral et *al.* En 2017 et elle a révélé une certaine toxicité des échantillons de pain d'abeille portugaise vis-à-vis quatre lignées de cellules tumorales humaines. [71] Une autre étude de Markiewicz-Żukowska et *al.*, a testé des extraits éthanoliques du pain d'abeille polonien sur la viabilité de la lignée cellulaire du glioblastome (U87MG) en fonction du temps. Après 24 h, 48 h et 72 h, les résultats de cette étude ont montré que les extraits éthanoliques du pain d'abeille ont réduit la viabilité des cellules cancéreuses d'un pourcentage allant de 49% à 66%. Cet effet inhibiteur apparaît principalement après le passage de 72 h.[73]

Tableau 24: Cytotoxicité et activité antitumorale du pain d'abeille étudié (valeurs IG₅₀ µg / mL).

Cytotoxicité sur des lignées cellulaires non tumorales	PLP2 (culture primaire de foie de porc)	>400
Cytotoxicité pour les lignées cellulaires tumorales	HeLa (carcinome cervical)	>400
	HepG2 (carcinome hépatocellulaire)	>400
	MCF-7 (carcinome du sein)	>400
	NCI-H460 (cancer du poumon non à petites cellules)	>400

Les valeurs IG₅₀ correspondent à la concentration de l'échantillon responsable de 50% d'inhibition de la croissance dans une culture primaire de cellules hépatiques PLP2 ou dans des lignées cellulaires tumorales humaines. GI₅₀ pour Ellipticine (contrôle positif): 3 µg / mL (PLP2), 1,0 µg / mL (MCF-7), 1,0 µg / mL (NCI-H460), 2,0 µg / mL (HeLa) et 1,0 µg / mL (HepG2).

IV. CONCLUSION

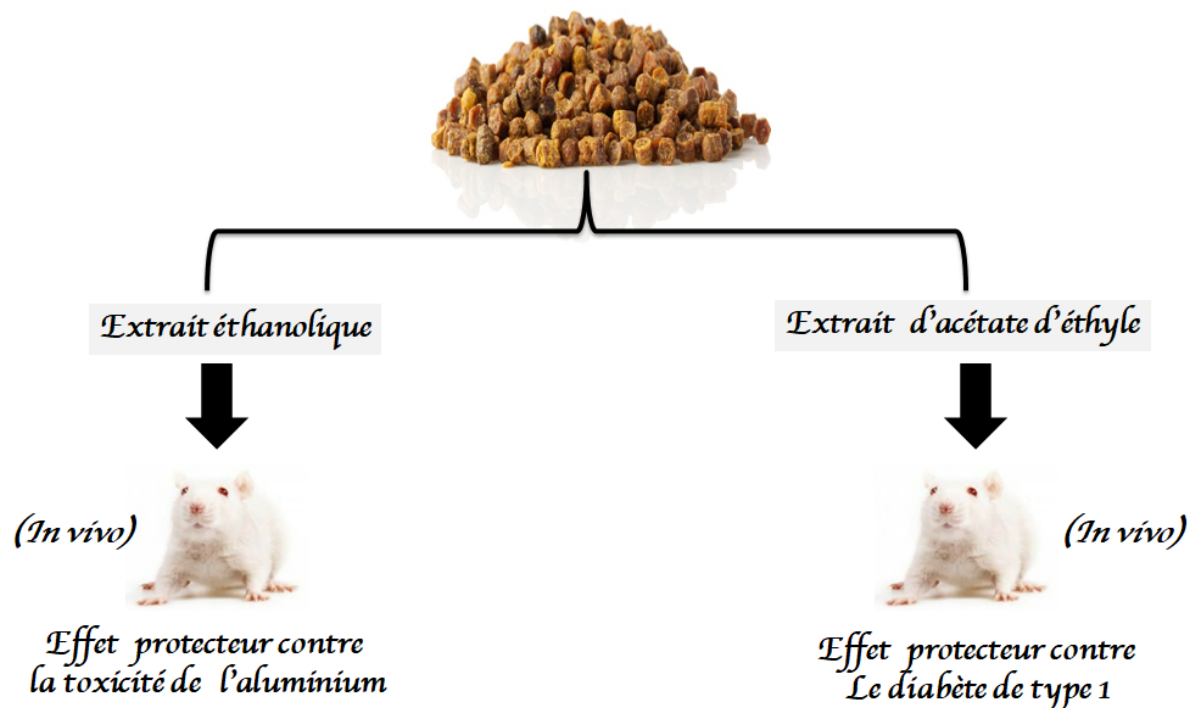
Le pain d'abeille est considéré comme un aliment distinct et précieux. Les caractéristiques nutritionnelles, chimiques et bioactives du pain d'abeille du Maroc pourraient jouer un rôle important dans la détermination du contrôle de qualité de ce produit. Des taux élevés de glucides, protéines, minéraux et acides gras ont été trouvés; et présenté comme une source potentielle d'antioxydants naturels, tels que les tocophérols et les composés phénoliques.

CHAPITRE 4 : EFFET PROTECTEUR DU PAIN D'ABEILLE CONTRE LA TOXICITE DE L'ALUMINIUM ET LE DIABETE DE TYPE 1

I. INTRODUCTION

Après l'analyse chimique et l'examen des activités biologiques *in vitro* du pain d'abeille réalisée dans le volet précédant. Dans ce volet nous avons étudié d'autres activités biologiques mais cette fois *in vivo* par l'utilisation de deux extraits du pain d'abeille, l'extrait éthanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle.

Les états pathologiques qui sont choisis pour l'étude, sont des désordres qui sont liés au stress oxydatif, c'est le diabète et la toxicité de l'aluminium. Et le but de cette partie d'étude c'est de savoir la capacité des composés et des antioxydants qui existent dans notre échantillon du pain d'abeille de protéger contre ces désordres métaboliques.

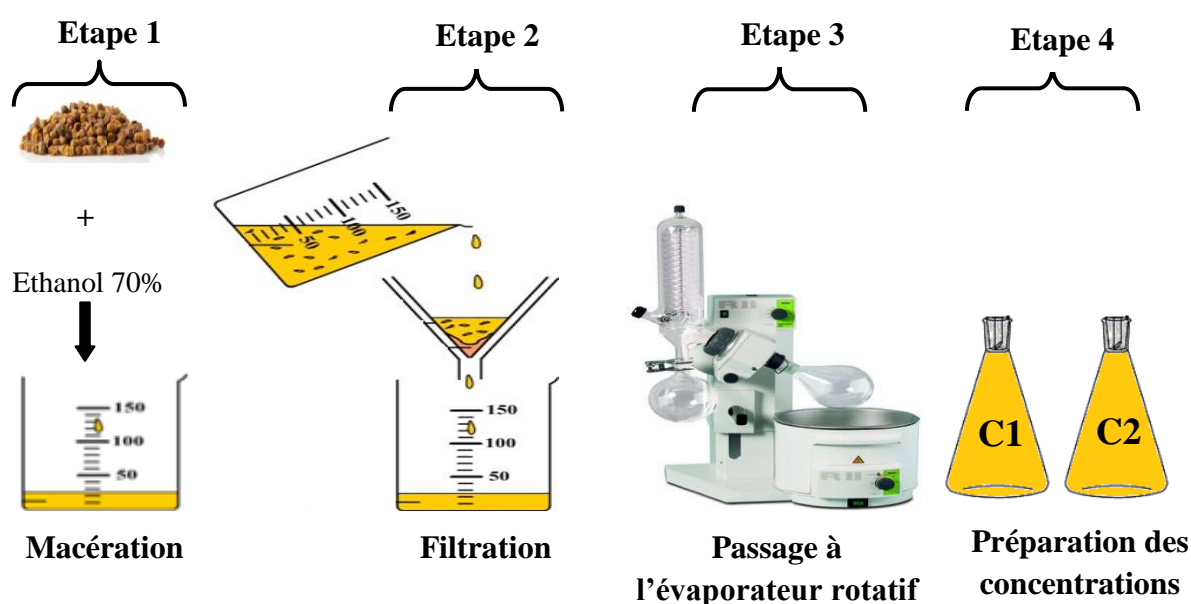


A. Etude 1 : Effet protecteur du pain d'abeille contre l'anémie, l'inflammation, et la toxicité néphro-hépatique induite par l'aluminium

II. MATERIEL ET METHODES

1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Préparation de l'extrait du pain d'abeille: l'échantillon a été macéré pendant une semaine dans l'éthanol 70% sous agitation, puis filtré et passé dans un évaporateur rotatif, et enfin de l'eau distillée a été ajoutée pour obtenir deux concentrations, l'une 500 mg / kg et l'autre est de 750 mg /kg.



Préparation de l'aluminium: la forme de l'aluminium utilisé dans cette étude est celle de trichlorure d'aluminium hexahydraté ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dilué dans l'eau distillé pour obtenir une dose de 662.2mg/Kg de PC, cette dose correspond à 1/5 de DL_{50} .

Les animaux utilisés : Des rats Wistar mâles adultes pesant ($198 \pm 11.14\text{g}$) élevés dans l'animalerie du laboratoire de physiologie pharmacologie et santé environnementale, département de Biologie, Faculté des Sciences, Fès, Maroc, les rats ont été logés dans des conditions environnementales standard ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $55 \pm 5\%$ d'humidité et 12 H / 12 h cycle lumière / obscurité) et ont avec un accès libre à l'eau et aliments. Les soins et la manipulation des animaux étaient conformes aux directives standard internationalement reconnues pour l'utilisation des animaux et le protocole a été approuvé par le comité institutionnel de

protection des animaux conformément aux spécifications techniques françaises pour la production, le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire.

Protocole: Les rats (n=16) ont été divisés en quatre groupes de quatre rats chacun et traités par voie orale comme suit:

Groupe 1: représente le groupe du contrôle négatif et reçoit de l'eau distillée (10 ml / kg BW)

Groupe 2: représente le groupe du contrôle positif et reçoit ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$), avec une dose de (662,2 mg / kg)

Groupe 3: représente le groupe traité par la dose 1 du pain d'abeille, les rats de ce groupe ont reçu ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) avec une dose de (662,2 mg / kg) co-administré avec l'extrait hydro-éthanolique du pain d'abeille (500mg / kg).

Groupe 4: représente le groupe traité par la dose 2 du pain d'abeille, les rats de ce groupe ont reçu ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) avec une dose de (662,2 mg / kg) co-administré avec l'extrait hydro-éthanolique du pain d'abeille (750 mg / kg).

Le chlorure d'aluminium hexahydraté et l'extrait hydro-éthanolique du pain d'abeille ont été administrés quotidiennement à chaque rat pendant 28 jours au total. Les doses de chlorure d'aluminium hexahydraté et de l'extrait hydro-éthanolique du pain d'abeille ont été administrées une fois par jour par gavage. Des échantillons de sang et d'urine ont été prélevés au jour 28 de l'expérience.

2. ANALYSES BIOCHIMIQUES

Un échantillon de sang a été prélevé de chaque rat par ponction rétro-orbitaire sous léger anesthésie à l'éther diéthylique, et divisé en deux parties. La première partie du sang a été mise dans des tubes à EDTA pour analyser les paramètres hématologiques: hémocrite (Ht), hémoglobine (Hb), globules rouges (GR), volume globulaire moyen (VGM), moyenne corpusculaire hémoglobine (MCH), Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (MCHC), plaquettes (PLC), nombre total des leucocytes, et numération lymphocytaire et monocyttaire. La deuxième partie du sang a été centrifugée à $10\,000\times g$ pendant 10 minutes; le plasma a été obtenu et stocké à $-20\text{ }^\circ\text{C}$ pour analyser Protéine C-réactive (CRP), alanine aminotransférase (ALT), aspartate aminotransférase (AST), Urée sanguine (BUN), la créatinine sérique (SCr), la clairance de la créatinine, sodium et potassium. Un échantillon

d'urine a été prélevé de chaque rat au jour 28 pour l'analyse du sodium, du potassium et créatinine.

3. ANALYSE STATISTIQUE

Les données ont été exprimées en moyenne \pm SD. Les comparaisons statistiques entre les groupes ont été effectuées avec une analyse de variance one-way (ANOVA) suivie d'un test de Dunnett pour comparer tous les groupes avec le groupe de contrôle (logiciel Graph Pad Prism 5). Les données ont suivi la distribution normale.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. EFFET DE L'ALUMINIUM AVEC ET SANS PAIN D'ABEILLE SUR LES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES.

L'aluminium a provoqué une diminution significative d'hématocrite, d'hémoglobine et de globules rouges (tableau 25). L'administration d'aluminium avec l'extrait du pain d'abeille à une dose de 750 mg / kg de poids corporel a entraîné une diminution négligeable du Ht, des globules rouges et de l'hémoglobine. Des doses plus élevées du pain d'abeille (750 mg / kg de poids corporel) ont provoqué une élévation significative de d'hémoglobine par rapport à la dose inférieure (500 mg / kg de poids corporel).

Des résultats similaires ont été obtenus pour d'autres variables sanguines (TCMH, VGM et CCMH) où l'aluminium seul ou l'aluminium administré avec le pain d'abeille à la dose de 500 mg / kg de poids ont provoqué une diminution significative des variables, tandis que le pain d'abeille à la dose de 750 mg / kg de poids corporel n'a pas provoqué de changements significatifs dans ces variables par rapport au contrôle, sauf pour le VGM. Des doses plus élevées de l'extrait du pain d'abeille (750 mg/kg de poids corporel) ont provoqué une élévation significative des globules rouges et du TCMH par rapport à la dose inférieure de l'extrait du pain d'abeille (500 mg / kg de poids corporel).

Le nombre des plaquettes, des monocytes, des leucocytes et des lymphocytes ont été élevé dans le groupe traité par l'aluminium seul, les élévations étaient significatives pour les monocytes, les leucocytes et les plaquettes par rapport au contrôle. L'administration d'aluminium avec l'une ou l'autre dose de l'extrait du pain d'abeille n'a entraîné aucune modification significative de la numération plaquettaire, leucocytaire, monocyttaire et lymphocytaire par rapport au groupe témoin. L'administration concomitante du pain d'abeille

aux deux doses avec l'aluminium a entraîné une diminution significative du nombre de plaquettes, de monocytes, de lymphocytes et de leucocytes par rapport au groupe aluminium.

Tableau 25: L'effet de l'extrait éthanolique du pain d'abeille sur le taux de l'hématocrite, d'hémoglobine, des globules rouges, et les valeurs de TCMH, VGM et CCMH, les plaquettes, les monocytes, les lymphocytes et les leucocytes après co-administration avec Al

	Contrôle	Al	Al+PA (500mg/kg)	Al+PA (750mg/kg)
Hématocrite (%)	39,87±0,53	27±3,53 ^{a*}	34,25±2,58 ^{a*b*}	37,7±1,07 ^{c*}
Hémoglobine (g/dl)	14,75±0,81	8,5±1,1 ^{a*}	9,5±1,21 ^{a*}	13,02±0,64 ^{c*d*}
Globules rouges (M/mm³)	4,12±0,78	1,37±0,14 ^{a*}	1,77±0,43 ^{a*}	3,17±0,95 ^{c*d*}
TCMH (pg)	32±1,07	17,13±2,09 ^{a*}	18,55±1,09	26,65±1,34 ^{c*d*}
VGM (fl)	69,60±7,95	52,2±7,75 ^{a*}	54,75±2,94 ^{a*}	55,32±4,76 ^{a*}
CCMH (g/dl)	34,15±0,74	30±1,22 ^{a*}	31,75±1,47 ^{a*}	34,62±0,32
Plaquettes×10⁹/L	400±23,58	497±15,08 ^{a*}	427,5±55,39 ^{b*}	430±162 ^{c*}
Monocytes ×10⁹/L	0,7±0,072	1,37±0,13 ^{a*}	0,6±0,13 ^{b*}	0,825±0,20 ^{c*}
Lymphocytes ×10⁹/L	3,75±0,31	4,17±0,26	3,55±0,33 ^{b*}	3,67±0,7 ^{c*}
Leucocytes ×10⁹/L	5,5±0,33	8,85±0,5 ^{a*}	6,5±0,36 ^{b*}	7,67±3,25

Résultats présentés en moyenne ± SD (n = 4) par groupe. **a** Comparaison entre le groupe normal et tous les groupes. **b** Comparaison entre le groupe de l'aluminium et le groupe de l'aluminium coadministré avec l'extrait du pain d'abeille (500 mg / kg de poids corporel). **c** Comparaison entre le groupe de l'aluminium et le groupe de l'aluminium coadministré avec l'extrait du pain d'abeille (750 mg / kg de poids corporel). **d** Comparaison entre le groupe de l'aluminium coadministré avec l'extrait du pain d'abeille (500 mg / kg de poids corporel) et le groupe de l'aluminium coadministré avec l'extrait du pain d'abeille (750 mg / kg de poids corporel).

Les résultats des paramètres hématologiques de la présente étude ont montré que l'aluminium diminue significativement l'hématocrite, l'hémoglobine, les globules rouges, VGM, TCMH et CCMH. D'autres études ont montré des résultats similaires. [333–335] Auparavant, il a été constaté que l'administration de chlorure d'aluminium pendant 60 jours diminuait significativement le taux de globules rouges, la concentration en Hb, Ht%, la TCMH, la CCMH, la fragilité osmotique, l'activité du catalase sérique, l'augmentation du nombre de réticulocytes.[333] Fait intéressant, l'utilisation de la propolis, produit de l'abeille, a normalisé ces paramètres lorsqu'ils ont été utilisés avec du chlorure d'aluminium. [333]

Une autre étude a montré que des injections périodiques des rats par l'aluminium pendant 3 mois entraînaient une diminution significative de la concentration en hématocrite et hémoglobine, de la taille des agrégats érythrocytaires et du taux d'agrégation. Concernant le mécanisme d'action, il a été proposé que l'anémie induite par l'aluminium est due à une hémolyse provoquée par la génération des radicaux libres conduisant à la dégradation de la

membrane cellulaire ou à l'altération du fer causée par l'aluminium.[336] De plus, l'aluminium provoque une augmentation des réticulocytes, une autre caractéristique de l'hémolyse. [333] Récemment, une autre étude a montré que l'aluminium diminue le taux de fer et peut interférer avec le fer dans les érythrocytes car il présente plusieurs caractéristiques telles que la trivalence et peut partager le même mécanisme d'absorption, de distribution et de métabolisme. [336] une étude précédente a montré que le miel, une partie du pain d'abeille, augmentait les antioxydants et provoquait une élévation significative du taux de fer, de l'hémoglobine et du PCV chez les individus normaux. [337] Par conséquent, dans la présente étude, le pain d'abeille a augmenté l'hémoglobine et l'hématocrite, en partie en raison d'une augmentation du taux de fer dans l'exposition à l'aluminium. Cependant, d'autres études sont nécessaires. Le miel et le pollen d'abeille ont également une activité antioxydante qui pourrait aider à restaurer les changements des paramètres hématologiques induits par l'exposition à l'aluminium.

Les résultats ont montré que l'aluminium augmente le nombre des leucocytes, des monocytes et des lymphocytes. Ce sont des marqueurs de l'inflammation. Une autre étude a montré que l'aluminium augmente l'expression des cytokines pro-inflammatoires hépatiques, y compris l'interleukine-1 β , le facteur de nécrose tumorale- α et l'interleukine-6. [335]. D'autres études ont démontré que l'exposition à l'aluminium provoquait une ostéodystrophie rénale et une inflammation et diminuait l'activité des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.[335,338] L'utilisation d'antioxydants améliore la toxicité hépato-rénale induite par l'aluminium et restaure le système antioxydant.[338,339] Par conséquent, le pain d'abeille peut améliorer la toxicité de l'albumine par son activité antioxydante. De plus, le miel et le pollen d'abeille pourraient avoir un effet synergique. Cela doit évaluer l'effet de chacun et en combinaison dans la toxicité de l'aluminium.

2. EFFETS DE L'ALUMINIUM AVEC ET SANS PAIN D'ABEILLE SUR LES ENZYMES HEPATIQUES ET LA CRP

En ce qui concerne les enzymes hépatiques et la CRP, l'aluminium a augmenté significativement la CRP, l'AST et l'ALT par rapport au groupe témoin (tableau 26). Cependant, la CRP et l'AST n'ont pas été significativement modifiés chez les rats recevant l'aluminium avec les deux doses d'extrait du pain d'abeille. Par rapport au groupe de l'aluminium, l'extrait du pain d'abeille à une dose plus élevée a provoqué une diminution

significative de la CRP et de l'AST. Dans le cas de l'ALT, l'aluminium provoquait une élévation significative de l'ALT lorsqu'elle était administrée seule, et cette élévation était moindre lorsque l'aluminium était administré avec l'une ou l'autre des doses d'extrait du pain d'abeille (tableau 26). Le pain d'abeille dans les deux doses améliore l'effet toxique de l'aluminium sur les enzymes hépatiques.

Tableau 26: L'effet de l'extrait éthanolique du pain d'abeille sur les paramètres hépatiques après co-administration avec l'aluminium

Traitement	CRP (mg/ml)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
contrôle	6,75±0,81	34,75±4,95	105±3,06
Al	19±8,52*	83,5±6,72**	182,25±29,79*
Al+PA (500 mg/Kg)	10,5±1,8	78,33±21,78**	163,75±21,3
Al+PA (750 mg/Kg)	9,25±4,48	68,66±16,24*	146,75±43,99

Résultats présentés en moyenne ± SD (n = 4) par groupe. (Al: groupe traité avec de l'aluminium seul, Al + PA (500mg / Kg): groupe traité avec l'aluminium co-administré avec l'extrait du pain d'abeille (500 mg / Kg); Al + PA (750mg / Kg): groupe traité par l'aluminium co-administré avec l'extrait du pain d'abeille (750 mg / Kg), contrôle: groupe traité avec de l'eau distillée). Les comparaisons statistiques entre les groupes ont été effectuées avec une analyse de variance (ANOVA) suivie du test Dunnett pour comparer toutes les groupes avec le groupe contrôle. (***) p <0,001), (** p <0,01), (* p <0,05).

La CRP est un biomarqueur hautement sensible de l'inflammation systémique. L'élévation des enzymes hépatiques peut être le résultat d'une lésion cellulaire hépatique. Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres études. [173, 471,472] À cet égard, le chlorure d'aluminium a provoqué une augmentation significative des peroxydations de GGT, ALT, AST, ALP et lipides et ces changements ont été atténués par le safran, une épice dérivée de la fleur de *Crocus sativus*, et de miel. [340] Une autre étude a révélé que le chlorure d'aluminium provoque une augmentation significative de la phosphatase alcaline, de l'AST, de l'ALT et du lactate déshydrogénase et provoque une dilatation sinusoidale, une congestion de la veine centrale, une accumulation lipidique et une infiltration lymphocytaire dans le foie. [103] Une étude antérieure a montré que le miel, une partie du pain d'abeille, a amélioré les enzymes hépatiques lors de pertes sanguines aiguës et de restrictions alimentaires. [103,342] De plus, le miel a amélioré l'élévation de l'AST et de l'ALT obtenue après l'administration de CCl₄ chez le rat. [103,342] Dans la présente étude, nous savons que l'effet préventif contre les lésions hépatiques pourrait être dû à l'effet du miel et probablement au pollen d'abeille. Un effet synergique peut être envisagé si des futures études montreront également l'effet préventif du pollen d'abeille. De plus, l'effet du miel et du pollen d'abeille est probablement

dû à leur activité antioxydante. Des études supplémentaires seraient utiles pour explorer cette possibilité.

3. EFFETS DE L'ALUMINIUM AVEC ET SANS PAIN D'ABEILLE SUR LA FONCTION RENALE ET LES ELECTROLYTES DU PLASMA ET DE L'URINE.

En ce qui concerne les électrolytes sériques et les tests de la fonction rénale, l'aluminium n'a provoqué aucune modification significative des taux sériques de potassium, de sodium et de créatinine plasmatique (tableau 27). Cependant, il provoque une élévation significative de l'azote uréique sanguin et une diminution de la clairance de la créatinine, lesquelles ont été significativement inversées par rapport à la normale avec l'utilisation d'extrait du pain d'abeille (500 et 750 mg / kg de poids corporel). L'administration d'aluminium combinée à l'administration de l'extrait du pain d'abeille aux deux doses n'a pas entraîné de modifications significatives du taux de potassium dans l'urine et de la clairance rénale par rapport au groupe témoin. Une dose plus élevée d'extrait du pain d'abeille a provoqué une augmentation significative de l'excrétion de sodium dans l'urine, qui dépendait de la dose.

Tableau 27: Effet de l'aluminium seul ou de l'aluminium et du pain d'abeille sur le sodium et le potassium sériques et urinaires, l'urée sanguine, la créatininémie et Clairance de la créatinine

	contrôle	Al	Al+PA (500 mg/Kg)	Al+PA (750 mg/Kg)
Urée plasmatique (mg/dl)	48,5±2,2	134,5±19 ^{a*}	119,5±29 ^{a*}	91,2±12 ^{a*c*}
Créatinine plasmatique (mg/dl)	0,5±0,069	0,45±0,11	0,52±0,04	0,60±0,06
Potassium sérique (mEq/L)	5,6±0,2	5,1±0,17	4,9±0,34	5,3±0,31
Sodium sérique (mg/dl)	143±2,42	144±4,33	146±2,94	145,2±2,42
Potassium urinaire (mEq/L)	105,75±3,34	96,35±7,86	96,82±3,04	110,55±9,83
Sodium urinaire (mg/L)	67,82±15,05	64,55±17	54,9±10,68	89,3±14,75 ^{a*c*d*}
Clairance de la créatinine (ml/kg/min)	2,03±0,08	1,46±0,32 ^{a*}	1,95±0,17	2,10±0,17 ^{c*}

Données présentées sous forme de moyenne ± SD. (* p <0.05), a Comparaison entre le groupe normal et tous les groupes, b Comparaison entre le groupe aluminium et l'aluminium + le pain d'abeille (500 mg / kg de pc), c Comparaison entre le groupe aluminium et l'aluminium + le pain d'abeille (750 mg / kg pc), d Comparaison entre le pain aluminium + pain d'abeille (500 mg / kg pc) et le pain aluminium + pain d'abeille (750 mg / kg pc)

L'élévation de l'urée plasmatique pourrait être due à une lésion rénale ou à d'autres mécanismes. Le foie synthétise l'urée et lors d'une lésion hépatique, on trouve un faible taux d'azote uréique. Par conséquent, le véritable mécanisme d'augmentation de l'urée plasmatique dans la détermination des lésions hépatiques n'est pas clairement identifié. Cependant, d'autres études ont montré que le chlorure d'aluminium augmente à la fois les taux de l'urée

plasmatique et de Créatinine plasmatique. [335,343] Dans la présente étude, le chlorure d'aluminium a été utilisé pendant 28 jours, tandis que les autres études ont utilisé de l'aluminium pour une période plus longue. Cela pourrait expliquer pourquoi il n'y a pas eu de changement de Créatinine plasmatique dans la présente étude. Récemment, il a été constaté que le chlorure d'aluminium administré pendant 40 jours augmente l'urée plasmatique et la créatinine plasmatique et diminue le volume urinaire et la clairance de la créatinine. [343] Cela a été accompagné par une ostéodystrophie et une inflammation rénales accrues. Ceci est en accord avec notre constat actuel que l'aluminium diminue la clairance de la créatinine. Auparavant, le miel avait montré un effet protecteur contre la perte de sang aiguë, la toxicité CCl_4 et la toxicité du plomb. [342,344] En outre, il a été constaté que le miel améliore la fonction rénale chez les individus normaux, ce qui a été suggéré en raison de l'augmentation de l'oxyde nitrique et de la diminution des prostaglandines. [345] Une étude pour explorer l'effet du pollen d'abeille sur la fonction rénale sera intéressante pour voir si la combinaison de miel et de pollen d'abeille entraînera un effet préventif synergique. En ce qui concerne le mécanisme d'action, les propriétés antioxydantes du miel et du pollen d'abeille pourraient jouer un rôle dans leur effet favorable sur la fonction rénale.

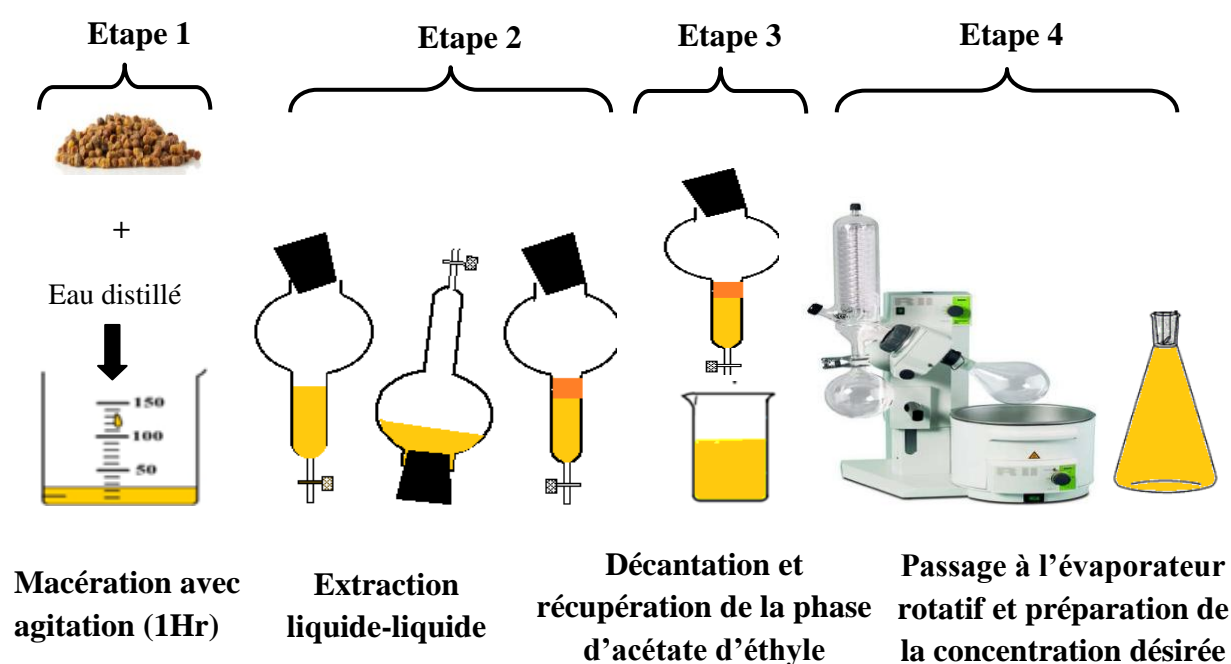
IV. CONCLUSION

Le pain d'abeille, composé de pollen, de miel et d'enzymes des abeilles, a démontré une activité antioxydante et une action protectrice considérable sur la toxicité induite par l'aluminium chez le rat. Il a amélioré la réduction de l'Hb et l'élévation de CRP, du nombre de monocytes et de leucocytes, et inversé l'élévation des enzymes hépatiques et de l'azote uréique sanguine vers le niveau normal. Le mécanisme d'action pourrait être lié à l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de l'extrait de pain d'abeille. Plus d'études sont nécessaires pour vérifier cette possibilité. En outre, il serait utile d'étudier l'effet de miel et de pollen d'abeilles ainsi que de pollen d'abeilles combinés avec le miel pour explorer les effets synergiques possibles. Cette étude ouvrira la voie à de nouvelles études, notamment des études précliniques et cliniques, sur l'utilisation du pain d'abeille comme intervention potentielle dans la toxicité de l'aluminium.

II. MATERIEL ET METHODES

1. PROTOCOL EXPERIMENTAL

Préparation de l'extrait du pain d'abeille: le pain d'abeille dans cette étude a été préparé par une extraction liquide-liquide (eau-acétate d'éthyle) puis il est passé dans un évaporateur rotatif et enfin de l'eau distillée a été ajoutée pour obtenir la concentration souhaitée (100mg/Kg).



Préparation du streptozotocine:

La Streptozotocine (Sigma, St Louis, Mo) est solubilisée dans une solution tampon de citrate (0,1 M, pH 4,5). La dose de streptozotocine (STZ) injecté aux animaux est à raison de 60mg/Kg de poids corporel.

Induction du diabète:

Après une semaine d'acclimatation des rats mâles adultes aux conditions de l'animalerie le diabète a été induit par injection intraveineuse de STZ à travers la veine caudale (60 mg / kg dissous dans un tampon citrate, (0,1 M, pH 4,5).

La répartition des groupes

Après passage de 48 heures à l'induction du diabète, la glycémie des rats rendus diabétiques par la streptozotocine est confirmée à l'aide d'un glucomètre à bandelettes (ACCU CHECK Go (ROCHE)). Les rats qui présentent une glycémie à jeun supérieure à 250 mg/dl sont considérés comme diabétiques[346].

Ensuite les rats (n=36) ont été répartis en six groupes et ils ont subis un traitement comme suit : **Groupe 1** : représenté par des rats mâles (n=6) qui sont diabétiques, et ils sont reçus par gavage (10ml/Kg) de l'eau distillé. **Groupe 2** : représenté par des rats mâles (n=6) qui sont diabétiques, et ils sont reçus par gavage (100mg/Kg) l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille. **Groupe 3** : représenté par des rats mâles (n=6) qui sont diabétiques, et ils sont reçus par gavage (2.5mg/kg) glibenclamide (G) (BENCLAMID® PROPHARMA) comme médicament de référence. **Groupe 4** : représenté par des rats mâles (n=6) qui sont normaux, et ils sont reçus par gavage (10ml/Kg) de l'eau distillé. **Groupe 5** : représenté par des rats mâles (n=6) qui sont normaux, et ils sont reçus par gavage (100mg/Kg) l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille. **Groupe 6** : représenté par des rats mâles (n=6) qui sont normaux, et ils sont reçus par gavage (2.5mg/kg) glibenclamide (G) (BENCLAMID® PROPHARMA).

L'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille, l'eau et la glibenclamide ont été administrés quotidiennement à chaque rat pendant 15 jours au total. Les doses d'eau, d'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et de la glibenclamide ont été administrées une fois par jour par gavage, la suivie de la glycémie pendant 3 heures a été faite chaque deux jours. Des échantillons de sang ont été prélevés au jour 15 de l'expérience.

2. ANALYSES BIOCHIMIQUES

Le sang a été obtenu à partir de la ponction rétro-orbitale de tous les rats Wistar en utilisant des tubes capillaires. Les échantillons de sang ont été centrifugés à 4000 tr / min pendant 10 min, puis le plasma a été conservé à 4 °C jusqu'à l'analyse.

Les taux de glucose plasmatique ont été mesurés par la méthode de la glucose oxydase, triglycérides (TG), cholestérol (TC), lipoprotéines de basse densité (LDL-C), lipoprotéines de très basse densité (VLDL), lipoprotéines de haute densité (HDL-C), les activités de l'alanine aminotransférase (ALT), de l'aspartate aminotransférase (AST), de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la phosphatase alcaline (ALP) de tous les groupes ont été analysées.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. EFFET SUR LA GLYCEMIE ET POIDS CORPOREL

Les résultats présentés dans le tableau 28 montre que l'administration d'une dose unique de STZ provoque une élévation de la glycémie de façon très significative qui arrive jusqu'à 410 ± 45 mg/dl, ces résultats concordent parfaitement avec les études précédentes selon lesquelles une dose unique de STZ a provoqué des lésions induites au niveau des cellules β dans le pancréas, entraînant un diabète de type 1 chez les rats. [346,347] En outre les résultats ont montré aussi qu'après passage de 15 jours à l'injection de la STZ, le poids des rats est diminué de façon très significative, et cette résultat est aussi observé dans les études précédentes.[348,349]

Par contre les résultats des groupes des rats rendus diabétiques et qui reçoivent par gavage l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille ou le médicament de référence « glibenclamide», ont montré une préservation de la glycémie dans la valeur normale, alors que pour le poids corporel des diminutions ont été enregistrés mais ils ne sont pas très significatifs comme celles du groupe diabétique non traité.

Tableau 28: Effet du traitement oral quotidien de l'extrait d'acétate d'éthyle de pain d'abeille et Glibenclamide sur le taux de glycémie et le poids corporel chez les rats normaux et diabétiques (STZ).

Groupes	Glycémie (mg/dl)		Poids corporel (g)	
	Avant traitement	Après traitement	Avant traitement	Après traitement
N	$108 \pm 5^{***b}$	$110 \pm 5.77^{***b}$	153 ± 4	$164 \pm 3^{***b}$
N+PA	$113 \pm 3^{***b}$	$98 \pm 2^{***b}$	145 ± 5	$169 \pm 2^{***b}$
N+G	$105 \pm 4^{***b}$	$98 \pm 1^{***b}$	155 ± 3	$170 \pm 4^{***b}$
STZ	$386 \pm 23^{***a}$	$409 \pm 60^{***a}$	151 ± 9	$99 \pm 3^{***a}$
STZ+PA	$410 \pm 45^{***a}$	$110 \pm 18^{***b}$	154 ± 16	$144 \pm 4^{***b*a}$
STZ+G	$343 \pm 13^{***a}$	$181 \pm 11^{***b}$	156 ± 4	$116 \pm 2^{*b***a}$

Les données sont exprimées en moyenne \pm SD n = 6 par groupe; (*) P <0,05; (**) P <0,01; (***) P <0,001;(N=groupe normal recevant l'eau distillé (10ml/kg) ; N+PA= groupe normal recevant l'extrait du pain d'abeille(100mg/kg) ; N+G= groupe normal recevant le glibenclamide (2,5mg/kg) ; STZ= groupe diabétique non traité; STZ+PA= groupe diabétique traité par le pain d'abeille ; STZ+G= groupe diabétique traité par le glibenclamide) (a): comparaison des groupes avec un contrôle normal; (b): comparaison des groupes avec groupe diabétiques (STZ).

2. L'EFFET SUR LA GLYCEMIE DURANT 3H

La figure 35 montre les résultats de la suivie de la glycémie pendant 3 heures chaque deux jours, au bout d'une heure et demi la glycémie est baissé de façon mieux dans le groupe traité par l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille que celle du groupe traité par la glibenclamide, et après passage de trois heures la glycémie dans le groupe traité par la glibenclamide et dans le groupe traité par l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille est devenu similaire à celle des groupes normaux.

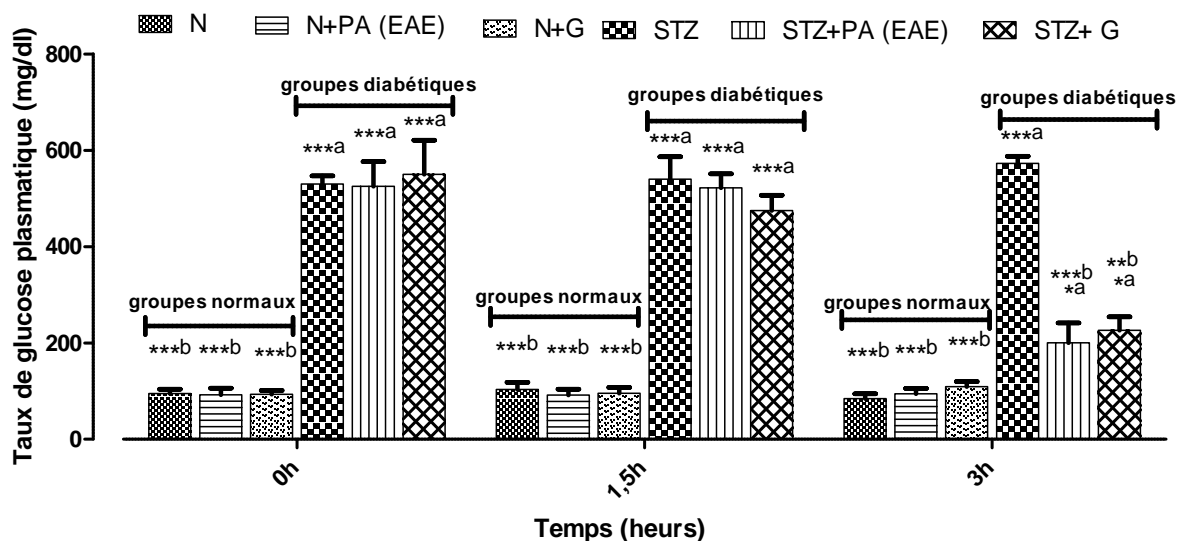


Figure 35: Effet de l'administration orale unique d'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et de glibenclamide sur la glycémie durant 3 h chez des rats normaux et des rats rendus diabétiques par la STZ

Les données sont exprimées en moyenne \pm SD n = 6 par groupe; (*) P <0,05; (**) P <0,01; (***) P <0,001; (N=groupe normal recevant l'eau distillé (10ml/kg) ; N+PA= groupe normal recevant l'extrait du pain d'abeille(100mg/kg) ; N+G= groupe normal recevant le glibenclamide (2,5mg/kg) ; STZ= groupe diabétique non traité; STZ+PA= groupe diabétique traité par le pain d'abeille ; STZ+G= groupe diabétique traité par le glibenclamide) (a): comparaison des groupes avec un contrôle normal; (b): comparaison des groupes avec groupe diabétiques (STZ).

Le mécanisme d'action de la glibenclamide est bien connue, c'est un sécrétagogue qui stimule la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatique en les sensibilisent à l'action du glucose, le glibenclamide se lie à un récepteur membranaire de la cellule β appelé (SUR1) (Sulfonylurea receptor) et inhibent l'efflux de potassium par fermeture des canaux potassiques ATP dépendants (KIR6-2), et donc les résultats observés dans cette étude pour le glibenclamide s'expliquent par le fait que la STZ ne provoque pas une destruction totale des cellules β et que la sécrétion d'insuline peut être stimulée dans les cellules β résiduelles de ces animaux diabétiques par le glibenclamide.[350] Mais le mécanisme d'action hypoglycémique

de l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille n'est pas encore connu, plusieurs scénarios peuvent être existés et donc il faut les vérifier par d'autres dosages et d'autres études, et il faut savoir aussi est ce que une seule molécule dans l'extrait du pain d'abeille qui est responsable à cette effet ou il'y'a une synergie des molécules pour avoir l'effet observé. Le mode d'action de cette molécule ou de ces groupes de molécules que nous avons suggéré peuvent être comme suit :1) un effet sécrétagogue comme celle observée par le glibenclamide 2) un effet de l'augmentation de l'utilisation du glucose via la sensibilisation à l'insuline dans les tissus périphériques comme celle observé par la taurine [351] 3) un effet insulino-mimétique comme celle observé par Singh et al chez des rats diabétiques traités par une plante indienne *Cinnamomum tamala* et par *Aloe vera* [352] 4) un effet via suppression d'hormones hyperglycémiques, telles que l'épinéphrine [353] 5) un effet via la diminution de l'absorption du glucose par l'intestin grêle [354] 6) un effet via la normalisation des enzymes gluconéogéniques hépatiques.[355]

3. EFFET SUR LE PROFIL LIPIDIQUE

Les taux de CT, LDL-C, TG, VLDL et HDL-C, ainsi l'indice athérogène dans le plasma des rats normaux et diabétiques sont présentés dans le tableau 29. Les rats diabétiques présentaient une augmentation significative des taux de CT, TG, LDL-C, VLDL, et aussi une augmentation des indices athérogènes (TC/HDL-C, LDL/HDL-C) et une diminution de taux plasmatique de HDL-C. Tandis que le traitement par le glibenclamide et par l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille présentait une diminution significative de CT, LDL-C, VLDL, TC/HDL-C, et LDL/HDL-C vers la normalité, et une augmentation significative de HDL-C.

Tableau 29: Effet du traitement oral quotidien avec l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et du Glibenclamide sur les taux sanguins de TC, TG, LDL-C, HDL-C, VLDL-C et l'indice athérogène chez les rats normaux et diabétiques (STZ).

	N	N+PA	N+G	STZ	STZ+PA	STZ+G
CT(mg/dL)	161±7 ***b	160,66±8 ***b	164,33±7,88 ***b	246,33±3,17 ***a	170±1,15 ***b	166,33±3,17 ***b
HDL-C (mg/dL)	55±4,93 **b	54,66±2,9 **b	55,33±3,38 **b	26,66±2,18 **a	46,33±2,72 *b	42,66±7 *b
TG (mg/dL)	150,3±5,47 **b	146±13,34 **b	156,33±0,88 **b	226,33±18,98 **a	163±2,64 **b	165,66±3,84 *b
LDL-C (mg/dL)	74,97±10 *b	76,8±9 *b	77,73±10,44 *b	174,4±4,93 *a	91,06±4,08 *b	90,53±3,80 *b
VLDL (mg/dL)	31,06±1,09 **b	29,09±2,46 **b	31,20±0,17 **b	45,26±3,79 **a	32,60±0,52 **b	33,13±0,76 *b
Indice athérogène (units)						
TC/HDL-C	2,92±0,33 ***b	2,92±0,22 ***b	3±0,29 ***b	9,34±0,67 ***a	3,69±0,25 ***b	3,90±0,12 ***b
LDL/HDL-C	1,34±0,34 ***b	1,41±0,27 ***b	1,43±0,26 ***b	6,60±0,44 ***a	1,99±0,21 ***b	2,12±0,11 ***b

Les données sont exprimées en moyenne ± SD n = 6 par groupe; (*) P <0,05; (**) P <0,01; (***) P <0,001;(N=groupe normal recevant l'eau distillée (10ml/kg) ; N+PA= groupe normal recevant l'extrait du pain d'abeille(100mg/kg) ; N+G= groupe normal recevant le glibenclamide (2,5mg/kg) ; STZ= groupe diabétique non traité; STZ+PA= groupe diabétique traité par le pain d'abeille ; STZ+G= groupe diabétique traité par le glibenclamide) (a): comparaison des groupes avec un contrôle normal; (b): comparaison des groupes avec groupe diabétiques (STZ).

Il existe des preuves montrant que l'augmentation de la TG et une réduction des taux de HDL- C sont les principales caractéristiques de la dyslipidémie chez les diabétiques.[356] L'hypertriglycéridémie dans le diabète peut résulter d'une augmentation de la production de VLDL et d'un catabolisme altéré des particules riches en triglycérides. La fonction de la lipoprotéine lipase, une enzyme clé dans l'élimination et la dégradation des triglycérides de la circulation, est atténuée à la fois par la privation d'insuline et par la résistance à l'insuline. La concentration anormalement élevée des lipides plasmatiques dans le diabète est principalement due à l'augmentation de la mobilisation des acides gras libres des dépôts périphériques, car l'insuline inhibe la lipase hormono-sensible.[357]

Le HDL-C est un protecteur en inversant le transport du cholestérol, en inhibant l'oxydation du LDL-C et en neutralisant les effets athérogènes du LDL-C oxydé. Une augmentation plus importante du LDL-C et du VLDL-C peut également entraîner une diminution plus importante du HDL- C, car il existe une relation réciproque entre la concentration de VLDL-C et de HDL-C. Une diminution du taux de HDL-C peut également être due à une diminution de l'activité de la lécithine cholestérol acyltransférase. [358]

4. L'EFFET SUR LES ENZYMES HEPATIQUES

Le foie est un organe qui joue un rôle essentiel dans la glycolyse et la gluconéogenèse. Il est important dans l'homéostasie du glucose et des lipides, cette homéostasie est gravement touchée par le diabète.[359] La détermination des taux de transaminases hépatiques de LDH et ALP a été un bon indicateur utilisé pour évaluer la lésion cellulaire. La figure 36 présente les taux d'AST, ALT, LDH et ALP, dans le plasma des rats normaux et diabétiques. Les rats diabétiques présentaient une augmentation significative des taux de ces enzymes hépatiques. Tandis que le traitement par le glibenclamide et par l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille présentait une diminution significative surtout pour AST et relativement significative pour les autres enzymes, ces résultats sont similaires à celle obtenu dans d'autres études.[349,360,361]

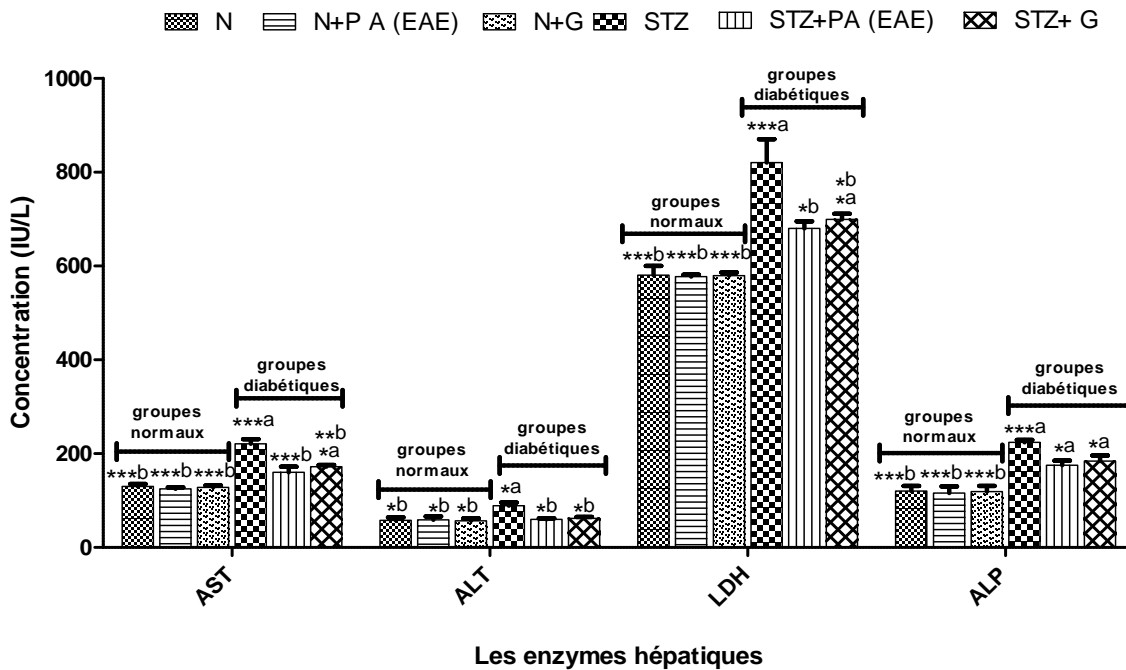


Figure 36: Effet d'un traitement oral quotidien avec l'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille et le glibenclamide sur les taux sanguins d'AST, d'ALT, de LDH et de ALP chez des rats normaux et les rats rendus diabétique par STZ

Les données sont exprimées en moyenne \pm SD n = 6 par groupe; (*) P <0,05; (**) P <0,01; (***) P <0,001; (N=groupe normal recevant l'eau distillée (10ml/kg) ; N+PA= groupe normal recevant l'extrait du pain d'abeille(100mg/kg) ; N+G= groupe normal recevant le glibenclamide (2,5mg/kg) ; STZ= groupe diabétique non traité; STZ+PA= groupe diabétique traité par le pain d'abeille ; STZ+G= groupe diabétique traité par le glibenclamide) (a): comparaison des groupes avec un contrôle normal; (b): comparaison des groupes avec groupe diabétiques (STZ).

Le pain d'abeille utilisé dans cette étude est caractérisé par une composition riche en antioxydant comme il a été montré dans la partie des analyses biochimiques du pain d'abeille,

il faut savoir que dans la présente étude l'extrait éthanolique du pain d'abeille est le premier extrait qui est utilisé pour évaluer la capacité du pain d'abeille à diminuer la glycémie chez les rats diabétiques, mais les tests réalisés n'ont donné aucun effet positif sur la glycémie qui continue à augmenter, en revanche lorsqu'on a fait une autre extraction du pain d'abeille qui est une extraction liquide-liquide (eau-acétate d'éthyle), les résultats ont été très surprenants et très positifs dès la première utilisation. Ce qui prouve que l'acétate d'éthyle extraite des molécules à partir du pain d'abeille, et ces molécules ou cette molécule qui nous donne (donnent) tous ces effets bénéfiques qui ont été montrés dans cette étude. Il a été montré dans plusieurs études que l'acétate d'éthyle est un bon solvant d'extraction des flavonoïdes. [362,363] Du même, il existe plusieurs études montrant les effets bénéfiques des composés antioxydants naturels sur le traitement du diabète. Comme celle Adeoye et *al*, qui ont montré que la quercétine et la vitamine E réduisaient significativement le taux de glucose sanguin, et l'activité de l'alanine et de l'aspartate amino transférase chez les rats diabétiques. [364] dans d'autres études comme celle de Hamilton et *al* et celle de Srinivasan et *al*, ils ont trouvé aussi que la quercétine avait un effet hypoglycémiant. [365,366] Liang et *al* ont montré également l'effet protectif de la rutine contre les lésions hépatiques chez les rats diabétiques, [367] ainsi Ren et *al* ont montré l'effet de l'apigénine et la naringénine dans la régulation du métabolisme du glucose et des lipides et l'amélioration du dysfonctionnement vasculaire chez les rats diabétiques. [368]

Tous ces arguments nous ont permis de suggérer que les composés antioxydants ou plus précisément les flavonoïdes sont la classe des molécules dont la quelle appartient la molécule active ou le mélange moléculaire active qui est (sont) responsable(s) de cet effet antidiabétique.

IV. CONCLUSION

L'extrait d'acétate d'éthyle du pain d'abeille montre bien, un effet préventif contre le diabète de type 1, la dyslipidémie et l'élévation des enzymes hépatiques induites par la streptozotocine, chez des rats wistar, d'autres études sont nécessaires pour savoir le mécanisme d'action et pour déterminer les molécules bioactives responsables de ces effets.

CONCLUSION GÉNÉRALE et perspectives

Le recensement des plantes mellifères de la région Fès-Meknès a permis de dresser l'inventaire de ces plantes et de les classer selon les ingrédients qu'elles fournissent à l'abeille (nectar, pollen, résine, miellat), et la réalisation d'un calendrier apicole selon les rythmes de floraison de chaque plante. Cent quatre plantes mellifères réparties en trente deux familles, ont été obtenues. Les familles les plus présentes sont: *Astéracées*, *Lamiacées*, *Apiacées*, *Rosacées*, *Rutacées*, *Fabacées*, *Cupressacées*, *Borraginacées*, *Cistacées*, *Fagacées*, *Moracées*, *Géraniacées*, *Papavéracées*, et *Pinacées*.

Parmi les Cent quatre plantes recensées, trente trois plantes fournissent la résine, six plantes portent le miellat, soixante dix sept plantes sont pollinifères et nectarifères, trois plantes sont seulement nectarifères, et dix huit plantes sont seulement pollinifères.

Les pollens des plantes mellifères représentent une source prometteuse de molécules bioactives de nature phénolique, dotées d'activités antioxydantes et antimicrobiennes.

L'analyse par CLHP des pollens récoltés des plantes sélectionnées a permis d'identifier des flavones et des flavonols comme les dérivés de l'apigénine, lutéoline, quercétine et de l'Isorhamnétine ainsi que des acides phénoliques, tels que l'acide caféique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique.

Les pollens des plantes mellifères sont aussi une source d'agents antibactériens. Les espèces les plus efficaces contre les bactéries sélectionnés sont *Punica granatum* et *Quercus ilex*.

Concernant le pain d'abeille, il est doté de propriétés nutritionnelles, chimiques et bioactives, il contient des taux élevés de glucides, protéines, minéraux et acides gras; et il présente une source potentielle d'antioxydants naturels, tels que les tocophérols et les composés phénoliques dont le majoritaire est Isorhamnétine- O-hexosyl-O-rutinoside.

Une activité antioxydante et une inhibition de toutes les souches bactériennes et fongiques testées ont été révélées *in vitro* par le pain d'abeille. Alors que pour les activités *in vivo*, le

Le pain d'abeille a montré un pouvoir protecteur contre la toxicité de l'aluminium et l'augmentation de la glycémie et la dyslipidémie induite chez le rat streptozotocine, modèle diabète type 1.

Les perspectives sont les suivantes :

- ☞ L'élargissement de recensement des plantes mellifères sur tout le territoire national en parallèle avec d'autres techniques d'analyses afin d'obtenir des résultats pouvant être une base de données pour établir des normes propres de l'apiculture dans notre pays. Ainsi il faudrait élaborer un herbier de plantes mellifères de chaque région du Maroc.
- ☞ Le travail sur un nombre suffisant d'échantillons du pain d'abeille de différentes régions du Maroc et la réalisation des études comparatives de ces échantillons.
- ☞ En parallèle, des travaux doivent être entrepris en phytochimie dans le but de déterminer les molécules bioactives qui sont responsables d'activités pharmacologiques obtenues dans les travaux de la présente thèse que ce soit pour les pollens des plantes étudiées ou pour le pain d'abeille

Références bibliographiques

1. Ministère de l'Agriculture, de la pêche Maritime, du développement Rural et des Eaux et forêts: Maroc vert: les idées forces. [En ligne] Disponible :<http://L'apiculture au Maroc: focus sur la production ...> - Archive ouverte HALconsulté le 27/08/2018.
2. direction générale des collectivités locales,Ministre de l'intérieur,Royaume du maroc . *La région de Fès-Meknès: monographie générale*; Royaume du maroc , Ministre de l'intérieur , direction générale des collectivités locales, 2015; pp. 1–57;.
3. Simone, Y.C. Le Géosystème Dunaire Anthropisé d'Essaouira-Est (Maroc atlantique): Dynamique et Paléoenvironnements. PhD Thesis, Université de Provence-Aix-Marseille I, 2000.
4. B.O Décret n° 2-15-40 du 1er jourmada I 1436 (20 Février 2015) fixant le nombre des régions, leurs dénominations, leurs chefs-lieux ainsi que les préfectures et provinces qui les composent.; 2015; pp. 1008–1010;.
5. Bradbear, N.; Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture *Le rôle des abeilles dans le développement rural: manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles*; Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture: Rome, 2011; ISBN 978-92-5-206276-9.
6. Requier, F.; Le Féon, V. Abeilles et agriculture. *Rev. OpenField Net* **2016**, 12–p.
7. Moujanni, A.; Essamadi, A.K.; Terrab, A. L'apiculture au Maroc: focus sur la production de miel. *Int. J. Innov. Appl. Stud.* **2017**, 20, 52–78.
8. Kohsaka, R.; Park, M.S.; Uchiyama, Y. Beekeeping and honey production in Japan and South Korea: past and present. *J. Ethn. Foods* **2017**, 4, 72–79.
9. M. Hmamouchi PLANTES ALIMENTAIRES, AROMATIQUES, CONDIMENTAITES, MEDICINALES ET TOXIQUES AU MAROC. *Cah. Options Méditerranéennes* **1995**.
10. Mohammed Aboulal La filiere apicole au Maroc. 6° Forum L'apiculture Méditerranéen Apic. *Bien Commun* **2014**.
11. *C'EST COMMENT DANS LA RUCHE ? :LA RUCHE C'EST LA MAISON DES ABEILLES DOMESTIQUÉES*. [En ligne] Disponible http://www.api-douceur.com/dans_la_ruche.html consulté le 24/08/2018;
12. Warré, A. *L'apiculture Pour Tous*; Saint-Symphorien, 1948;
13. Tsai, R. A versatile camera calibration technique for high-accuracy 3D machine vision metrology using off-the-shelf TV cameras and lenses. *IEEE J. Robot. Autom.* **1987**, 3, 323–344.
14. Région Fès-Meknès “carte d'identité” [En ligne] Disponible :<http://www.region-fes-meknes.ma/la-region/carte-didentite/> consulté le 24/08/2018;
15. Mahassine Arhazzal Place de l'agriculture dans la région de Fès-Meknès. [En ligne] Disponible :<http://www.agrimaroc.ma/fes-meknes-agriculture/> consulté le 24/08/2018. **2018**.
16. Youness SAAD ALAMI SIAM 2018/Fès-Meknès: Ce que pèse le secteur agricole. [En ligne] Disponible :<https://www.leconomiste.com/article/1027325-siam-2018-fes-meknes-ce-que-pese-le-secteur-agricole>. consulté le 24/08/2018. **2018**.
17. Centre Régional d'Investissement Fès Meknès: Présentation de la région. [En ligne] Disponible :http://fesmeknesinvest.ma/fr/presentation_region consulté le 25/08/2018.
18. Région Fès-Meknès: Produits labellisés. [En ligne] Disponible :<http://www.region-fes-meknes.ma/la-region/produits-labellises/> consulté le 28/08/2018.
19. Adgaba, N.; Al-Ghamdi, A.; Tadesse, Y.; Getachew, A.; Awad, A.M.; Ansari, M.J.; Owayss, A.A.; Mohammed, S.E.A.; Alqarni, A.S. Nectar secretion dynamics and honey production potentials of some major honey plants in Saudi Arabia. *Saudi J. Biol. Sci.* **2017**, 24, 180–191.

20. Macukanovic-Jocic, M.; Jaric, S. The melliferous potential of apiflora of southwestern Vojvodina (Serbia). *Arch. Biol. Sci.* **2016**, *68*, 81–91.
21. Ayansola, A.A.; Adedoyin Davies, B. Honeybee Floral Resources in Southwestern Nigeria. *J. Biol. Life Sci.* **2012**, *3*.
22. Abdiniyazova, G.J.; Khojimatov, O.K.; Pak, V.V. Honey in traditional cuisine of Uzbekistan and analysis of melliferous flora of Karakalpakstan. *J. Ethn. Foods* **2016**, *3*, 222–227.
23. Melin, E. *Botanique apicole*; Ecole d'Apiculture de la Région wallonne & Institut de Botanique, Université de Liège, Belgique, 2011;
24. Piroux, M. Ressources pollinifères et mellifères de l'Abeille domestique, *Apis Mellifera*, en paysage rural du nord-ouest de la France. PhD Thesis, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 2014.
25. *Notions de morphologie florale*1. [En ligne] Disponible <http://www.vdsciences.com/pages/sciences-agronomiques-de-base/biologie-vegetale/anatomie-phanerogames/notions-de-morphologie-florale.html> consulté le 24/08/2018;
26. Dibos, C. Interactions plante-pollinisateur: caractérisation de la qualité du pollen de deux cucurbitacées durant son ontogenèse, sa présentation et son transport sur le corps de l'abeille domestique. PhD Thesis, Université d'Avignon, 2010.
27. Lapert, F. L'Association Centrale d'entraide Vétérinaire: historique, missions, avenir. PhD Thesis, These pour le Doctorat Veterinaire, École Nationale Veterinaire d'Alfort, Année 2010, <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php>, 2010.
28. Hassan, A.M.A.; Giovanetti, M.; Raweh, H.S.A.; Owayss, A.A.; Ansari, M.J.; Nuru, A.; Radloff, S.E.; Alqarni, A.S. Nectar secretion dynamics of *Ziziphus nummularia*: A melliferous species of dry land ecosystems. *Saudi J. Biol. Sci.* **2017**, *24*, 1470–1474.
29. Pryce-Jones, J. SOME PROBLEMS ASSOCIATED WITH NECTAR, POLLEN AND HONEY. In Proceedings of the Proceedings of the Linnean Society of London; Wiley Online Library, 1944; Vol. 155, pp. 129–174.
30. Roy, R.; Schmitt, A.J.; Thomas, J.B.; Carter, C.J. Review: Nectar biology: From molecules to ecosystems. *Plant Sci.* **2017**, *262*, 148–164.
31. Rutter, M.T.; Rausher, M.D. Natural selection on extrafloral nectar production in *Chamaecrista fasciculata*: the costs and benefits of a mutualism trait. *Evolution* **2004**, *58*, 2657–2668.
32. Wodehouse, R.P. *Pollen grains*; Mcgraw-Hill Book Company, Inc; New York; London, 1935;
33. Chang, F.; Wang, Y.; Wang, S.; Ma, H. Molecular control of microsporogenesis in *Arabidopsis*. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2011**, *14*, 66–73.
34. Juana Laura RIVERA NAVA Stratégie Mère Porteuse chez *Cupressus dupreziana* A. Camus (cyprès du Tassili) – Analyse, conséquences et perspectives. thèse, l'Université Paul Cézanne – Aix Marseille III Faculté de Sciences et Techniques.
35. Prieu, C. Evolution et Développement des grains de pollen chez les angiospermes. PhD Thesis, Université Paris-Saclay, 2015.
36. jfcariou *Les grains de pollen*; 2010;
37. Marchenay, P. Miels, miellats, miellées. *J. Agric. Tradit. Bot. Appliquée* **1988**, *35*, 121–146.
38. Langenheim, J.H. *Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany*; Timber Press: Portland, Or, 2003; ISBN 978-0-88192-574-6.
39. Leonhardt, S.D.; Schmitt, T.; Blüthgen, N. Tree Resin Composition, Collection Behavior and Selective Filters Shape Chemical Profiles of Tropical Bees (Apidae: Meliponini). *PLoS ONE* **2011**, *6*, e23445.
40. Balas, F. Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale: revue de la littérature.
41. Dibos, C. Interactions plante-pollinisateur: caractérisation de la qualité du pollen de deux cucurbitacées durant son ontogenèse, sa présentation et son transport sur le corps de l'abeille domestique. PhD Thesis, Université d'Avignon, 2010.
42. Nicolson, S.W.; Da Silva Das Neves, S.; Human, H.; Pirk, C.W.W. Digestibility and nutritional value of fresh and stored pollen for honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *J. Insect Physiol.* **2018**, *107*, 302–308.
43. Brodschneider, R.; Crailsheim, K. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* **2010**, *41*, 278–294.

44. Premratanachai, P.; Chanchao, C. Review of the anticancer activities of bee products. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2014**, *4*, 337–344.
45. Ali, M. Studies on bee venom and its medical uses. *Int J Adv Res Technol* **2012**, *1*, 69–83.
46. Münstedt, K.; Bogdanov, S. Bee products and their potential use in modern medicine. *J. ApiProduct ApiMedical Sci.* **2009**, *1*, 57–63.
47. Ares, A.M.; Valverde, S.; Bernal, J.L.; Nozal, M.J.; Bernal, J. Extraction and determination of bioactive compounds from bee pollen. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2018**, *147*, 110–124.
48. Kasote, D.M.; Pawar, M.V.; Bhatia, R.S.; Nandre, V.S.; Gundu, S.S.; Jagtap, S.D.; Kulkarni, M.V. HPLC, NMR based chemical profiling and biological characterisation of Indian propolis. *Fitoterapia* **2017**, *122*, 52–60.
49. Rufatto, L.C.; dos Santos, D.A.; Marinho, F.; Henriques, J.A.P.; Roesch Ely, M.; Moura, S. Red propolis: Chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2017**, *7*, 591–598.
50. Castro, C.; Mura, F.; Valenzuela, G.; Figueroa, C.; Salinas, R.; Zuñiga, M.C.; Torres, J.L.; Fuguet, E.; Delporte, C. Identification of phenolic compounds by HPLC-ESI-MS/MS and antioxidant activity from Chilean propolis. *Food Res. Int.* **2014**, *64*, 873–879.
51. URCAN, A.; MĂRGHITAȘ, L.A.; DEZMIREAN, D.S.; BOBIȘ, O.; BONTA, V.; MUREȘAN, C.I.; MĂRGĂOAN, R. Chemical Composition and Biological Activities of Beebread-Review. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca Anim. Sci. Biotechnol.* **2017**, *74*.
52. Dolezal, A.G.; Toth, A.L. Feedbacks between nutrition and disease in honey bee health. *Curr. Opin. Insect Sci.* **2018**, *26*, 114–119.
53. Vaudo, A.D.; Tooker, J.F.; Grozinger, C.M.; Patch, H.M. Bee nutrition and floral resource restoration. *Curr. Opin. Insect Sci.* **2015**, *10*, 133–141.
54. Kieliszek, M.; Piwowarek, K.; Kot, A.M.; Błażej, S.; Chlebowska-Śmigiel, A.; Wolska, I. Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends Food Sci. Technol.* **2018**, *71*, 170–180.
55. Barene, I.; Daberte, I.; Sikсна, S. INVESTIGATION OF BEE BREAD AND DEVELOPMENT OF ITS DOSAGE FORMS. *Med. Teor. Ir Prakt.* **2014**, *21*, 16–22.
56. Andjelkovic, B.; Jevtic, G.; Markovic, J.; Mladenovic, M.; Pseva, V. Quality of honey bee bread collected in spring. **2015**.
57. *Official methods of analysis of AOAC International*; Horwitz, W., AOAC International, Eds.; 18. ed., current through rev. 1, 2006.; AOAC International: Gaithersburg, Md, 2005; ISBN 978-0-935584-77-6.
58. Zuluaga, C.M.; Serratob, J.C.; Quicazana, M.C. Chemical, nutritional and bioactive characterization of Colombian bee-bread. *Chem. Eng.* **2015**, *43*.
59. TUBITAK Marmara Research Center, Food Institute, Gebze, Kocaeli, Turkey; Kaplan, M.; Karaoglu, Ö.; TUBITAK Marmara Research Center, Food Institute, Gebze, Kocaeli, Turkey; Eroglu, N.; TUBITAK Marmara Research Center, Food Institute, Gebze, Kocaeli, Turkey; Silici, S.; Erciyes University, Agriculture Faculty, Department of Agricultural Biotechnology, Kayseri, Turkey Fatty Acids and Proximate Composition of Beebread. *Food Technol. Biotechnol.* **2016**, *54*.
60. DeGrandi-Hoffman, G.; Eckholm, B.J.; Huang, M.H. A comparison of bee bread made by Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) and its effects on hemolymph protein titers. *Apidologie* **2013**, *44*, 52–63.
61. Gilliam, M.; Prest, D.B.; Lorenz, B.J. Microbiology of pollen and bee bread: taxonomy and enzymology of molds. *Apidologie* **1989**, *20*, 53–68.
62. Salazar-González, C.; Díaz-Moreno, C. The nutritional and bioactive aptitude of bee pollen for a solid-state fermentation process. *J. Apic. Res.* **2016**, *55*, 161–175.
63. Haydak, M.H. Honey bee nutrition. *Annu. Rev. Entomol.* **1970**, *15*, 143–156.
64. Čeksterytė, V.; Navakauskienė, R.; Treigytyė, G.; Jansen, E.; Kurtinaitienė, B.; Dabkevičienė, G.; Balžekas, J. Fatty acid profiles of monofloral clover beebread and pollen and proteomics of red clover (*Trifolium pratense*) pollen. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2016**, *80*, 2100–2108.

65. Loper, G.M.; Standifer, L.N.; Thompson, M.J.; Gilliam, M. Biochemistry and microbiology of bee-collected almond (*Prunus dulcis*) pollen and bee bread. I-Fatty Acids, Sterols, Vitamins and Minerals. *Apidologie* **1980**, *11*, 63–73.
66. Stanciu, O.G.; Marghitas, L.A.; Dezmirean, D. Macro-and oligo-mineral elements from honeybee-collected pollen and beebread harvested from Transylvania (Romania). *Bull Univ Agric Sci Vet Med Cluj-Napoca Anim Sci Biotechnol* **2009**, *66*, 1–2.
67. Hudz, N.; Ivanova, R.; Brindza, J.; Grygorieva, O.; Schubertová, Z.; Ivanišová, E. Approaches to the determination of antioxidant activity of extracts from bee bread and safflower leaves and flowers. *Potravinarstvo* **2017**, *11*.
68. Oltica, S.; Mărghitaș, L.A.; Dezmirean, D. Examination of antioxidant capacity of beebread extracts by different complementary assays. *Bull. USAMV-CN* **2007**, *63*, 64.
69. Baltrušaitytė, V.; Venskutonis, P.R.; Čeksterytė, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chem.* **2007**, *101*, 502–514.
70. Akhir, R.A.M.; Bakar, M.F.A.; Sanusi, S.B. Antioxidant and antimicrobial activity of stingless bee bread and propolis extracts.; 2017; p. 020090.
71. Sobral, F.; Calhella, R.; Barros, L.; Dueñas, M.; Tomás, A.; Santos-Buelga, C.; Vilas-Boas, M.; Ferreira, I. Flavonoid Composition and Antitumor Activity of Bee Bread Collected in Northeast Portugal. *Molecules* **2017**, *22*, 248.
72. Tavdidishvili, D.; Khutsidze, T.; Pkhakadze, M.; Vanidze, M.; Kalandia, A. Flavonoids in Georgian bee bread and bee pollen. *J. Chem. Chem. Eng.* **2014**, *8*.
73. Markiewicz-Żukowska, R.; Naliwajko, S.K.; Bartosiuk, E.; Moskwa, J.; Isidorov, V.; Soroczyńska, J.; Borawska, M.H. Chemical composition and antioxidant activity of beebread, and its influence on the glioblastoma cell line (U87MG). *J. Apic. Sci.* **2013**, *57*, 147–157.
74. Isidorov, V.A.; Isidorova, A.G.; Szczepaniak, L.; Czyżewska, U. Gas chromatographic–mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. *Food Chem.* **2009**, *115*, 1056–1063.
75. Hryniewicka, M.; Karpinska, A.; Kijewska, M.; Turkowicz, M.J.; Karpinska, J. LC/MS/MS analysis of α -tocopherol and coenzyme Q₁₀ content in lyophilized royal jelly, beebread and drone homogenate: LC/MS/MS analysis of some bee products. *J. Mass Spectrom.* **2016**, *51*, 1023–1029.
76. Ivanišová, E.; Kačániová, M.; Frančáková, H.; Petrová, J.; Hutková, J.; Brovarskyi, V.; Velychko, S.; Adamchuk, L.; Schubertová, Z.; Musilová, J. Bee bread - perspective source of bioactive compounds for future. *Potravinarstvo* **2015**, *9*.
77. Kaur, R.; Kumar, N.R.; Harjai, K. FEEDING BEE POLLEN AND BEE BREAD TO MICE: EFFECT AND ANTIOXIDANT STATUT. *Int. J. Ther. Appl.* **2014**, *Volume 18*, 26–29.
78. Z. Abouda, I. Zerdani, I. Kalalou, M. Faid and M.T. Ahami The Antibacterial Activity of Moroccan Bee Bread and Bee-Pollen (Fresh and Dried) against Pathogenic Bacteria. *Res. J. Microbiol.* *6*, 376–384.
79. Baltrušaitytė, V.; Venskutonis, P.R.; Čeksterytė, V. Antibacterial Activity of Honey and Beebread of Different Origin Against *S. aureus* and *S. epidermidis*. *Food Technol. Biotechnol.* **2007**, *45*.
80. Čeksterytė, V.; Balžekas, J.; Baltuškevičius, A.; Jurgevičius, E. The use of beebread–honey mixture in the treatment of liver diseases in alcohol-dependent patients. *Chem. Technol.* **2012**, *60*.
81. Kas'ianenko, V.I.; Komisarenko, I.A.; Dubtsova, E.A. [Correction of atherogenic dyslipidemia with honey, pollen and bee bread in patients with different body mass]. *Ter. Arkh.* **2011**, *83*, 58–62.
82. Yoshikawa, T.; Naito, Y. What is oxidative stress? *Jpn. Med. Assoc. J.* **2002**, *45*, 271–276.
83. Martindale, J.L.; Holbrook, N.J. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival. *J. Cell. Physiol.* **2002**, *192*, 1–15.
84. Čolak, E.; Ignjatović, S.; Radosavljević, A.; Žorić, L. The association of enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense parameters with inflammatory markers in patients with exudative form of age-related macular degeneration. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2017**, *60*, 100–107.

85. Birben, E.; Sahiner, U.M.; Sackesen, C.; Erzurum, S.; Kalayci, O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J.* **2012**, *5*, 9.
86. Buttemer, W.A.; Abele, D.; Costantini, D. From bivalves to birds: oxidative stress and longevity: Oxidative stress and longevity. *Funct. Ecol.* **2010**, *24*, 971–983.
87. Burton, G.J.; Jauniaux, E. Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* **2011**, *25*, 287–299.
88. Favier, A. Le stress oxydant. *L'actualité Chim.* **2003**, *108*.
89. Blandine Garait LE STRESS OXYDANT INDUIT PAR VOIE METABOLIQUE (REGIMES ALIMENTAIRES) OU PAR VOIE GAZEUSE (HYPEROXIE) ET EFFET DE LA GLISODIN® Biologie cellulaire., Biologie cellulaire. Université Joseph-Fourier - Grenoble I.; 2006.
90. Mirończuk-Chodakowska, I.; Witkowska, A.M.; Zujko, M.E. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv. Med. Sci.* **2018**, *63*, 68–78.
91. Sies, H.; Stahl, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* **1995**, *62*, 1315S–1321S.
92. Ferreira, I.C.F.R.; Martins, N.; Barros, L. Phenolic Compounds and Its Bioavailability. In *Advances in Food and Nutrition Research*; Elsevier, 2017; Vol. 82, pp. 1–44 ISBN 978-0-12-812633-2.
93. Panche, A.N.; Diwan, A.D.; Chandra, S.R. Flavonoids: an overview. *J. Nutr. Sci.* **2016**, *5*.
94. Vignal, C.; Desreumaux, P.; Body-Malapel, M. Gut: An underestimated target organ for Aluminum. *Morphologie* **2016**, *100*, 75–84.
95. Gourier-Fréry, C.; Fréry, N. Aluminium. *EMC - Toxicol.-Pathol.* **2004**, *1*, 79–95.
96. Kumar, V.; Gill, K.D. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration: A review. *NeuroToxicology* **2014**, *41*, 154–166.
97. Farina, M.; Lara, F.S.; Brandao, R.; Jacques, R.; Rocha, J.B.T. Effects of aluminum sulfate on erythropoiesis in rats. *Toxicol. Lett.* **2002**, *132*, 131–139.
98. Darbre, P.D. Aluminium, antiperspirants and breast cancer. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 1912–1919.
99. Armstrong, B.; Tremblay, C.; Baris, D.; Thériault, G. Lung cancer mortality and polynuclear aromatic hydrocarbons: a case-cohort study of aluminum production workers in Arvida, Quebec, Canada. *Am. J. Epidemiol.* **1994**, *139*, 250–262.
100. Tremblay, C.; Armstrong, B.; Thériault, G.; Brodeur, J. Estimation of risk of developing bladder cancer among workers exposed to coal tar pitch volatiles in the primary aluminum industry. *Am. J. Ind. Med.* **1995**, *27*, 335–348.
101. Novaes, R.D.; Mouro, V.G.S.; Gonçalves, R.V.; Mendonça, A.A.S.; Santos, E.C.; Fialho, M.C.Q.; Machado-Neves, M. Aluminum: A potentially toxic metal with dose-dependent effects on cardiac bioaccumulation, mineral distribution, DNA oxidation and microstructural remodeling. *Environ. Pollut.* **2018**, *242*, 814–826.
102. Gonzelez-Suerez, I.; Álvarez-Hernandez, D.; Carrillo-Lepez, N.; Naves-Deaz, M.; Fernandez-Marten, J.L.; Cannata-Andea, J.B. Aluminum posttranscriptional regulation of parathyroid hormone synthesis: a role for the calcium-sensing receptor. *Kidney Int.* **2005**, *68*, 2484–2496.
103. Türkez, H.; Yousef, M.I.; Geyikoglu, F. Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 2741–2746.
104. Kaiser, L.; Schwartz, K.A.; Burnatowska-Hledin, M.A.; Mayor, G.H. Microcytic anemia secondary to intraperitoneal aluminum in normal and uremic rats. *Kidney Int.* **1984**, *26*, 269–274.
105. Parkinson, I.S.; Ward, M.K.; Kerr, Dn. Dialysis encephalopathy, bone disease and anaemia: the aluminum intoxication syndrome during regular haemodialysis. *J. Clin. Pathol.* **1981**, *34*, 1285.
106. Harris, W.R. Binding and transport of aluminum by serum proteins. *Coord. Chem. Rev.* **1996**, *149*, 347–365.
107. Pimentel Vieira, V.L.; Rocha, J.B.; Schetinger, M.R.; Morsch, V.M.; Rodrigues, S.R.; Tuerlinckz, S.M.; Bohrer, D.; do Nascimento, P.C. Effect of aluminum on delta-aminolevulinic acid dehydratase from mouse blood. *Toxicol. Lett.* **2000**, *117*, 45–52.

108. Zaman, K.; Zaman, W.; Dabrowski, Z.; Miszta, H. Inhibition of delta aminolevulinic acid dehydratase activity by aluminum. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Comp. Pharmacol.* **1993**, *104*, 269–273.
109. Mailloux, R.J.; Lemire, J.; Appanna, V.D. Hepatic response to aluminum toxicity: Dyslipidemia and liver diseases. *Exp. Cell Res.* **2011**, *317*, 2231–2238.
110. Mahieu, S.; Millen, N.; Contini, M. del C.; Gonzalez, M.; Molinas, S.M.; Elías, M.M. Urinary concentrating mechanism and Aquaporin-2 abundance in rats chronically treated with aluminum lactate. *Toxicology* **2006**, *223*, 209–218.
111. Sargazi, M.; Roberts, N.B.; Shenkin, A. In-vitro studies of aluminium-induced toxicity on kidney proximal tubular cells. *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *87*, 37–43.
112. Mahieu, S.; Contini, M. del C.; González, M.; Millen, N. Melatonin reduces oxidative damage induced by aluminium in rat kidney. *Toxicol. Lett.* **2009**, *190*, 9–15.
113. Ibraheem, A.S.; Seleem, A.A.; El-Sayed, M.F.; Hamad, B.H. Single or combined cadmium and aluminum intoxication of mice liver and kidney with possible effect of zinc. *J. Basic Appl. Zool.* **2016**, *77*, 91–101.
114. Mahieu, S.; Millen, N.; González, M.; Carmen Contini, M. del; Elías, M.M. Alterations of the renal function and oxidative stress in renal tissue from rats chronically treated with aluminium during the initial phase of hepatic regeneration. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 1858–1864.
115. Chatterjee, S.; Khunti, K.; Davies, M.J. Type 2 diabetes. *The Lancet* **2017**, *389*, 2239–2251.
116. DiMeglio, L.A.; Evans-Molina, C.; Oram, R.A. Type 1 diabetes. *The Lancet* **2018**, *391*, 2449–2462.
117. Pazdro, R.; Burgess, J.R. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications. *Mech. Ageing Dev.* **2010**, *131*, 276–286.
118. Asmat, U.; Abad, K.; Ismail, K. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharm. J.* **2016**, *24*, 547–553.
119. Mallone, R. Le diabète de type 1: une maladie auto-immune et de la cellule bêta. *Société Francoph. Diabète* **2017**.
120. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Integr. Obes. Diabetes* **2015**, *1*.
121. Florence Boyer Stress oxydant et pathologie diabétique Impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses. PhD Thesis, Université de La Réunion, 2016.
122. Abat, C.; Chaudet, H.; Rolain, J.-M.; Colson, P.; Raoult, D. Traditional and syndromic surveillance of infectious diseases and pathogens. *Int. J. Infect. Dis.* **2016**, *48*, 22–28.
123. McFee, R.B. EMERGING INFECTIOUS DISEASES – OVERVIEW. *Dis. Mon.* **2018**, *64*, 163–169.
124. Gerardi, M.H. *The microbiology of anaerobic digesters*; Wastewater microbiology series; Wiley-Interscience: Hoboken, N.J, 2003; ISBN 978-0-471-20693-4.
125. Gerardi, M.H.; Zimmerman, M.C. *Wastewater pathogens (9 Bacteria)*; Wastewater microbiology series; Wiley-Interscience: Hoboken, N.J, 2005; ISBN 978-0-471-20692-7.
126. Gerardi, M.H.; Zimmerman, M.C. *Wastewater pathogens (11 fungi)*; Wastewater microbiology series; Wiley-Interscience: Hoboken, N.J, 2005; ISBN 978-0-471-20692-7.
127. Walker, G.M.; White, N.A. Introduction to fungal physiology. *Fungi Biol. Appl.* **2017**, 1–35.
128. *Functional metabolism: regulation and adaptation*; Storey, K.B., Ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, N.J, 2004; ISBN 978-0-471-41090-4.
129. Becerra, M.C.; Eraso, A.J.; Albesa, I. Comparison of oxidative stress induced by ciprofloxacin and pyoverdin in bacteria and in leukocytes to evaluate toxicity. *Luminescence* **2003**, *18*, 334–340.
130. Moylan, J.S.; Reid, M.B. Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting. *Muscle Nerve* **2007**, *35*, 411–429.
131. Butcher, L.D.; den Hartog, G.; Ernst, P.B.; Crowe, S.E. Oxidative stress resulting from Helicobacter pylori infection contributes to gastric carcinogenesis. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* **2017**, *3*, 316–322.
132. Dimitri MOREAU Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques, UNIVERSITÉ DE NANTES FACULTÉ DE PHARMACIE, 2006.

133. Noda, N.; Wakasugi, H. Cancer and oxidative stress. *Jpn. Med. Assoc. J.* **2001**, *44*, 535–539.
134. Reuter, S.; Gupta, S.C.; Chaturvedi, M.M.; Aggarwal, B.B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* **2010**, *49*, 1603–1616.
135. Ozben, T. Oxidative stress and apoptosis: Impact on cancer therapy. *J. Pharm. Sci.* **2007**, *96*, 2181–2196.
136. Tong, L.; Chuang, C.-C.; Wu, S.; Zuo, L. Reactive oxygen species in redox cancer therapy. *Cancer Lett.* **2015**, *367*, 18–25.
137. Athreya, K.; Xavier, M.F. Antioxidants in the Treatment of Cancer. *Nutr. Cancer* **2017**, *69*, 1099–1104.
138. Saeidnia, S.; Abdollahi, M. Antioxidants: Friends or foe in prevention or treatment of cancer: The debate of the century. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2013**, *271*, 49–63.
139. Blumberg, J. The alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study in Finland. *Nutr. Rev.* **1994**, *52*, 242–245.
140. Knekt, P.; Järvinen, R.; Seppänen, R.; Heliövaara, M.; Teppo, L.; Pukkala, E.; Aromaa, A. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am. J. Epidemiol.* **1997**, *146*, 223–230.
141. Niedzwiecki, A.; Rath, M. Substances nutritives thérapeutiques dans le traitement du cancer. **2006**.
142. de la Rúa Tarín, P.; Radloff, S.; Hepburn, R.; Serrano, J. Do molecular markers support morphometric and pheromone analyses?: a preliminary case study in *Apis mellifera* populations of Morocco. *Arch. Zootec.* **2007**, *56*, 33–42.
143. Koudegnan, C.M.; Edoh, T.M.; Guelly, A.K.; Batawill, K.; Akpagana, K. Inventaire des taxons polliniques des miels de la zone guinéenne du Togo: Cas des zones ecofloristiques IV et V. *Eur. Sci. J. ESJ* **2012**, *8*.
144. Maderson, S.; Wynne-Jones, S. Beekeepers' knowledges and participation in pollinator conservation policy. *J. Rural Stud.* **2016**, *45*, 88–98.
145. Ramanathan, A.N.K.G.; Nair, A.J.; Sugunan, V.S. A review on Royal Jelly proteins and peptides. *J. Funct. Foods* **2018**, *44*, 255–264.
146. Zhang, S.; Liu, Y.; Ye, Y.; Wang, X.-R.; Lin, L.-T.; Xiao, L.-Y.; Zhou, P.; Shi, G.-X.; Liu, C.-Z. Bee venom therapy: Potential mechanisms and therapeutic applications. *Toxicon* **2018**, *148*, 64–73.
147. BELLAKHDAR, J. *La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*; Ibis Press: paris, 1997;
148. Aafi, A.; Ghanmi, M.; Satrani, B.; Aberchane, M.; Ismaili My, R.; EL Abid, A. Diversité et valorisation des principales plantes aromatiques et médicinales (PAM) de l'écosystème cédraie au Maroc. *Cent. Rech. For.* **2011**, *16*.
149. Ennabili, A.; Gharnit, N.; El Hamdouni, E. Inventory and social interest of medicinal, aromatic and honey-plants from Mokrisset region (NW of Morocco). *Stud Bot* **2000**, *19*, 57–74.
150. Terrab, A.; Valdés, B.; Díez, M.J. Study of plants visited by honeybees (*Apis mellifera* L.) in the Central Rif Region (N. Morocco) using pollen analysis. *Grana* **2005**, *44*, 209–215.
151. Khabbach, A.; Libiad, M.; ENNABILI, A. Melliferous flora and apiculture in the pre-Rif of the province of Taza (North of Morocco). *Luna Azul* **2013**, 78–90.
152. Manel, M.; Nouzha, H.; Rim, M.; Imane, M.; Sana, A.; Yasmine, O.; Ammar, A. Antibacterial and antioxidant activity of *Juniperus thurifera* L. leaf extracts growing in East of Algeria. *Vet. World* **2018**, *11*, 373–378.
153. El Jemli, M.; Kamal, R.; Marmouzi, I.; Zerrouki, A.; Cherrah, Y.; Alaoui, K. Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Adv. Pharmacol. Sci.* **2016**, *2016*, 1–6.
154. Rached, W.; Zeghada, F.Z.; Bennaceur, M.; Barros, L.; Calhelha, R.C.; Heleno, S.; Alves, M.J.; Carvalho, A.M.; Marouf, A.; Ferreira, I.C.F.R. Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *112*, 460–466.
155. Djouahri, A.; Saka, B.; Boudarene, L.; Benseradj, F.; Aberrane, S.; Aitmousa, S.; Chelghoum, C.; Lamari, L.; Sabaou, N.; Baaliouamer, A. In vitro synergistic/antagonistic antibacterial and

- anti-inflammatory effect of various extracts/essential oil from cones of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters with antibiotic and anti-inflammatory agents. *Ind. Crops Prod.* **2014**, *56*, 60–66.
156. El Jemli, M.; Kamal, R.; Marmouzi, I.; Doukkali, Z.; Bouidida, E.H.; Touati, D.; Nejari, R.; El Guessabi, L.; Cherrah, Y.; Alaoui, K. Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L. *J. Tradit. Complement. Med.* **2017**, *7*, 281–287.
 157. Dib, M.E.A.; Allali, H.; Bendiabdellah, A.; Meliani, N.; Tabti, B. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *J. Saudi Chem. Soc.* **2013**, *17*, 381–385.
 158. Mariotto, S.; Esposito, E.; Di Paola, R.; Ciampa, A.; Mazzon, E.; de Prati, A.C.; Darra, E.; Vincenzi, S.; Cucinotta, G.; Caminiti, R. Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice. *Pharmacol. Res.* **2008**, *57*, 110–124.
 159. El Haouari, M.; López, J.J.; Mekhfi, H.; Rosado, J.A.; Salido, G.M. Antiaggregant effects of *Arbutus unedo* extracts in human platelets. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *113*, 325–331.
 160. Mahmoud, M.F.; Alrumman, S.A.; Hesham, A.E.-L. Biological activities of some *Acacia* spp. (Fabaceae) against new clinical isolates identified by ribosomal RNA gene-based phylogenetic analysis. *Pak. J. Pharm. Sci.* **2016**, *29*, 221–229.
 161. Amessis-Ouchemoukh, N.; Ouchemoukh, S.; Meziant, N.; Idiri, Y.; Hernanz, D.; Stinco, C.M.; Rodríguez-Pulido, F.J.; Heredia, F.J.; Madani, K.; Luis, J. Bioactive metabolites involved in the antioxidant, anticancer and anticalpain activities of *Ficus carica* L., *Ceratonia siliqua* L. and *Quercus ilex* L. extracts. *Ind. Crops Prod.* **2017**, *95*, 6–17.
 162. Sassi, A.; Bouhlel, I.; Mustapha, N.; Mokdad-Bzeouich, I.; Chaabane, F.; Ghedira, K.; Chekir-Ghedira, L. Assessment in vitro of the genotoxicity, antigenotoxicity and antioxidant of *Ceratonia siliqua* L. extracts in murine leukaemia cells L1210 by comet assay. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2016**, *77*, 117–124.
 163. Meziani, S.; Oomah, B.D.; Zaidi, F.; Simon-Levert, A.; Bertrand, C.; Zaidi-Yahiaoui, R. Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microb. Pathog.* **2015**, *78*, 95–102.
 164. Caroch, M.; Calhela, R.C.; Queiroz, M.-J.R.P.; Bento, A.; Morales, P.; Soković, M.; Ferreira, I.C.F.R. Infusions and decoctions of *Castanea sativa* flowers as effective antitumor and antimicrobial matrices. *Ind. Crops Prod.* **2014**, *62*, 42–46.
 165. Díaz Reinoso, B.; Couto, D.; Moure, A.; Fernandes, E.; Domínguez, H.; Parajó, J.C. Optimization of antioxidants – Extraction from *Castanea sativa* leaves. *Chem. Eng. J.* **2012**, *203*, 101–109.
 166. Berahou, A.; Auhmani, A.; Fdil, N.; Benharref, A.; Jana, M.; Gadhi, C.A. Antibacterial activity of *Quercus ilex* bark's extracts. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *112*, 426–429.
 167. Karioti, A.; Bilia, A.R.; Skaltsa, H. *Quercus ilex* L.: A rich source of polyacylated flavonoid glucosides. *Food Chem.* **2010**, *123*, 131–142.
 168. Akroum, S. Antifungal activity of acetone extracts from *Punica granatum* L., *Quercus suber* L. and *Vicia faba* L. *J. Mycol. Médicale* **2017**, *27*, 83–89.
 169. Santos, S.A.O.; Pinto, P.C.R.O.; Silvestre, A.J.D.; Neto, C.P. Chemical composition and antioxidant activity of phenolic extracts of cork from *Quercus suber* L. *Ind. Crops Prod.* **2010**, *31*, 521–526.
 170. Weli, A.M.; Al-Blushi, A.A.M.; Hossain, M.A. Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of different leaves crude extracts of Omani *Ficus carica* against food borne pathogenic bacteria. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2015**, *5*, 13–16.
 171. Tran, H.N.K.; Nguyen, V.T.; Kim, J.A.; Rho, S.S.; Woo, M.H.; Choi, J.S.; Lee, J.-H.; Min, B.S. Anti-inflammatory activities of compounds from twigs of *Morus alba*. *Fitoterapia* **2017**, *120*, 17–24.
 172. Zheng, X.-K.; Cao, Y.-G.; Ke, Y.-Y.; Zhang, Y.-L.; Li, F.; Gong, J.-H.; Zhao, X.; Kuang, H.-X.; Feng, W.-S. Phenolic constituents from the root bark of *Morus alba* L. and their cardioprotective activity in vitro. *Phytochemistry* **2017**, *135*, 128–134.
 173. Turan, I.; Demir, S.; Kilinc, K.; Burnaz, N.A.; Yaman, S.O.; Akbulut, K.; Mentese, A.; Aliyazicioglu, Y.; Deger, O. Antiproliferative and apoptotic effect of *Morus nigra* extract on human prostate cancer cells. *Saudi Pharm. J.* **2017**, *25*, 241–248.

174. Jiang, Y.; Dai, M.; Nie, W.-J.; Yang, X.-R.; Zeng, X.-C. Effects of the ethanol extract of black mulberry (*Morus nigra* L.) fruit on experimental atherosclerosis in rats. *J. Ethnopharmacol.* **2017**, *200*, 228–235.
175. González, N.; Elissetche, J.; Pereira, M.; Fernández, K. Extraction of polyphenols from *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus*: Experimental kinetics, modeling and evaluation of their antioxidant and antifungal activities. *Ind. Crops Prod.* **2017**, *109*, 737–745.
176. Hafsa, J.; Smach, M. ali; Ben Khedher, M.R.; Charfeddine, B.; Limem, K.; Majdoub, H.; Rouatbi, S. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. *LWT - Food Sci. Technol.* **2016**, *68*, 356–364.
177. Somova, L.I.; Shode, F.O.; Ramnanan, P.; Nadar, A. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *84*, 299–305.
178. Maya, B.M.; Abedini, A.; Gangloff, S.C.; Kabouche, A.; Kabouche, Z.; Voutquenne-Nazabadioko, L. A new δ -tocotrienolic acid derivative and other constituents from the cones of *Cedrus atlantica* and their in vitro antimicrobial activity. *Phytochem. Lett.* **2017**, *20*, 252–258.
179. Fekih, N.; Allali, H.; Merghache, S.; Chaïb, F.; Merghache, D.; El Amine, M.; Djabou, N.; Muselli, A.; Tabti, B.; Costa, J. Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, *4*, 97–103.
180. Djerrad, Z.; Kadik, L.; Djouahri, A. Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *74*, 440–449.
181. Mestry, S.N.; Gawali, N.B.; Pai, S.A.; Gursahani, M.S.; Dhodi, J.B.; Munshi, R.; Juvekar, A.R. *Punica granatum* improves renal function in gentamicin-induced nephropathy in rats via attenuation of oxidative stress. *J. Ayurveda Integr. Med.* **2018**.
182. Elbatanony, M.M.; El-Feky, A.M.; Hemdan, B.A.; Azab El-Liethy, M. Assessment of the antimicrobial activity of the lipoidal and pigment extracts of *Punica granatum* L. leaves. *Acta Ecol. Sin.* **2018**.
183. Mestry, S.N.; Dhodi, J.B.; Kumbhar, S.B.; Juvekar, A.R. Attenuation of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats by *Punica granatum* Linn. leaves extract. *J. Tradit. Complement. Med.* **2017**, *7*, 273–280.
184. Koba, K.; Matsuoka, A.; Osada, K.; Huang, Y.-S. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. *Food Chem.* **2007**, *104*, 308–316.
185. Jung, H.A.; Park, J.C.; Chung, H.Y.; Kim, J.; Choi, J.S. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Arch. Pharm. Res.* **1999**, *22*, 213.
186. Xu, H.; Chen, J. Commercial quality, major bioactive compound content and antioxidant capacity of 12 cultivars of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits. *J. Sci. Food Agric.* **2011**, *91*, 1057–1063.
187. Pires, T.C.S.P.; Dias, M.I.; Barros, L.; Alves, M.J.; Oliveira, M.B.P.P.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I.C.F.R. Antioxidant and antimicrobial properties of dried Portuguese apple variety (*Malus domestica* Borkh. cv Bravo de Esmolfe). *Food Chem.* **2018**, *240*, 701–706.
188. Nowicka, P.; Wojdyło, A.; Samoticha, J. Evaluation of phytochemicals, antioxidant capacity, and antidiabetic activity of novel smoothies from selected *Prunus* fruits. *J. Funct. Foods* **2016**, *25*, 397–407.
189. Wani, S.M.; Jan, N.; Wani, T.A.; Ahmad, M.; Masoodi, F.A.; Gani, A. Optimization of antioxidant activity and total polyphenols of dried apricot fruit extracts (*Prunus armeniaca* L.) using response surface methodology. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* **2017**, *16*, 119–126.
190. Damar, İ.; Ekşi, A. Antioxidant capacity and anthocyanin profile of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food Chem.* **2012**, *135*, 2910–2914.
191. Saleh, F.A.; El-Darra, N.; Raafat, K. Hypoglycemic effects of *Prunus cerasus* L. pulp and seed extracts on Alloxan-Induced Diabetic Mice with histopathological evaluation. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *88*, 870–877.
192. Mahmood, A.; Ahmed, R.; Kosar, S. Phytochemical screening and biological activities of the oil components of *Prunus domestica* Linn. *J. Saudi Chem. Soc.* **2009**, *13*, 273–277.

193. Rop, O.; Jurikova, T.; Mlcek, J.; Kramarova, D.; Sengee, Z. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains. *Sci. Hortic.* **2009**, *122*, 545–549.
194. Qureshi, M.N.; Numonov, S.; Abudurexiti, A.; Aisa, H.A. Phytochemical investigations and evaluation of antidiabetic potential of *Prunus dulcis* nuts. *LWT - Food Sci. Technol.* **2016**, *66*, 311–317.
195. Dhingra, N.; Kar, A.; Sharma, R.; Bhasin, S. In-vitro antioxidative potential of different fractions from *Prunus dulcis* seeds: Vis a vis antiproliferative and antibacterial activities of active compounds. *South Afr. J. Bot.* **2017**, *108*, 184–192.
196. Dhingra, N.; Sharma, R.; Kar, A. Towards further understanding on the antioxidative activities of *Prunus persica* fruit: A comparative study with four different fractions. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, *132*, 582–587.
197. Hernández-Corroto, E.; Marina, M.L.; García, M.C. Multiple protective effect of peptides released from *Olea europaea* and *Prunus persica* seeds against oxidative damage and cancer cell proliferation. *Food Res. Int.* **2018**, *106*, 458–467.
198. Kang, P.; Ryu, K.-H.; Lee, J.-M.; Kim, H.-K.; Seol, G.H. Endothelium- and smooth muscle-dependent vasodilator effects of *Citrus aurantium* L. var. *amara*: Focus on Ca²⁺ modulation. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *82*, 467–471.
199. Park, K.-I.; Park, H.-S.; Kim, M.-K.; Hong, G.-E.; Nagappan, A.; Lee, H.-J.; Yumnam, S.; Lee, W.-S.; Won, C.-K.; Shin, S.-C.; et al. Flavonoids identified from Korean *Citrus aurantium* L. inhibit Non-Small Cell Lung Cancer growth in vivo and in vitro. *J. Funct. Foods* **2014**, *7*, 287–297.
200. Otang, W.M.; Afolayan, A.J. Antimicrobial and antioxidant efficacy of *Citrus limon* L. peel extracts used for skin diseases by Xhosa tribe of Amathole District, Eastern Cape, South Africa. *South Afr. J. Bot.* **2016**, *102*, 46–49.
201. Matsumoto, T.; Koike, M.; Arai, C.; Kitagawa, T.; Inoue, E.; Imahori, D.; Watanabe, T. Chemical structures and antimutagenic effects of unusual oximes from the peels of *Citrus limon*. *Phytochem. Lett.* **2018**, *25*, 118–121.
202. Zhang, H.; Yang, Y.; Zhou, Z. Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods. *J. Integr. Agric.* **2018**, *17*, 256–263.
203. Ferreira, S.S.; Silva, A.M.; Nunes, F.M. *Citrus reticulata* Blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *111*, 141–148.
204. Sathiyabama, R.G.; Rajiv Gandhi, G.; Denadai, M.; Sridharan, G.; Jothi, G.; Sasikumar, P.; Siqueira Quintans, J. de S.; Narain, N.; Cuevas, L.E.; Coutinho, H.D.M.; et al. Evidence of insulin-dependent signalling mechanisms produced by *Citrus sinensis* (L.) Osbeck fruit peel in an insulin resistant diabetic animal model. *Food Chem. Toxicol.* **2018**, *116*, 86–99.
205. El-Akhal, F.; Lalami, A.E.O.; Guemmouh, R. Larvicidal activity of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* (Rutaceae) cultivated in Morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2015**, *5*, 458–462.
206. Kwon, D.-J.; Bae, Y.-S. Phenolic glucosides from bark of *Populus alba* × *glandulosa* (Salicaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **2009**, *37*, 130–132.
207. Alcalde-Eon, C.; García-Estévez, I.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Rodríguez de la Cruz, D.; Escribano-Bailón, M.T. Anthocyanins of the anthers as chemotaxonomic markers in the genus *Populus* L.. Differentiation between *Populus nigra*, *Populus alba* and *Populus tremula*. *Phytochemistry* **2016**, *128*, 35–49.
208. Barth, A.; Hovhannisyán, A.; Jamalyán, K.; Narimanyán, M. Antitussive effect of a fixed combination of *Justicia adhatoda*, *Echinacea purpurea* and *Eleutherococcus senticosus* extracts in patients with acute upper respiratory tract infection: A comparative, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Phytomedicine* **2015**, *22*, 1195–1200.
209. Pa, R.; Mathew, L. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Justicia adhatoda* L. in comparison with vasicine. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2012**, *2*, S1556–S1560.
210. Mehenni, C.; Atmani-Kilani, D.; Dumarçay, S.; Perrin, D.; Gérardin, P.; Atmani, D. Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *J. Food Drug Anal.* **2016**, *24*, 653–669.

211. Mezni, F.; Slama, A.; Ksouri, R.; Hamdaoui, G.; Khouja, M.L.; Khaldi, A. Phenolic profile and effect of growing area on Pistacia lentiscus seed oil. *Food Chem.* **2018**, *257*, 206–210.
212. Bencheraiet, R.; Kabouche, A.; Kabouche, Z.; Touzani, R.; Jay, M. Flavonol 3-O-Glycosides from Three Algerian Bupleurum Species. *Rec. Nat. Prod.* **2012**, *6*.
213. Poli, F.; Appendino, G.; Sacchetti, G.; Ballero, M.; Maggiano, N.; Ranelletti, F.O. Antiproliferative effects of daucane esters from Ferula communis and F. arrigonii on human colon cancer cell lines. *Phytother. Res. PTR* **2005**, *19*, 152–157.
214. Maggi, F.; Cecchini, C.; Cresci, A.; Coman, M.M.; Tirillini, B.; Sagratini, G.; Papa, F. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from Ferula glauca L. (F. communis L. subsp. glauca) growing in Marche (central Italy). *Fitoterapia* **2009**, *80*, 68–72.
215. Bakour, M.; Al-Waili, N.; El-Haskoury, R.; El-Menyiy, N.; Al-Waili, T.; AL-Waili, A.; Lyoussi, B. Comparison of hypotensive, diuretic and renal effects between cladodes of Opuntia ficus-indica and furosemide. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2017**, *10*, 900–906.
216. Ammar, I.; Ben Salem, M.; Harrabi, B.; Mzid, M.; Bardaa, S.; Sahnoun, Z.; Attia, H.; Ennouri, M. Anti-inflammatory activity and phenolic composition of prickly pear (Opuntia ficus-indica) flowers. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *112*, 313–319.
217. Kalantari, H.; Foruozandeh, H.; Khodayar, M.J.; Siahpoosh, A.; Saki, N.; Kheradmand, P. Antioxidant and hepatoprotective effects of Capparis spinosa L. fractions and Quercetin on tert-butyl hydroperoxide- induced acute liver damage in mice. *J. Tradit. Complement. Med.* **2018**, *8*, 120–127.
218. Vahid, H.; Rakhshandeh, H.; Ghorbani, A. Antidiabetic properties of Capparis spinosa L. and its components. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *92*, 293–302.
219. Tahiri, O.; Atmani-Kilani, D.; Sanchez-Fidalgo, S.; Aparicio-Soto, M.; Alarcón-de-la-Lastra, C.; Barrajón-Catalán, E.; Micol, V.; Atmani, D. The flavonol-enriched Cistus albidus chloroform extract possesses in vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive activity. *J. Ethnopharmacol.* **2017**, *209*, 210–218.
220. Barros, L.; Dueñas, M.; Alves, C.T.; Silva, S.; Henriques, M.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I.C.F.R. Antifungal activity and detailed chemical characterization of Cistus ladanifer phenolic extracts. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *41*, 41–45.
221. El Euch, S.K.; Bouajila, J.; Bouzouita, N. Chemical composition, biological and cytotoxic activities of Cistus salviifolius flower buds and leaves extracts. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *76*, 1100–1105.
222. Sayah, K.; Chemlal, L.; Marmouzi, I.; El Jemli, M.; Cherrah, Y.; Faouzi, M.E.A. In vivo anti-inflammatory and analgesic activities of Cistus salviifolius (L.) and Cistus monspeliensis (L.) aqueous extracts. *South Afr. J. Bot.* **2017**, *113*, 160–163.
223. Vasilijević, B.; Knežević-Vukčević, J.; Mitić-Ćulafić, D.; Orčić, D.; Francišković, M.; Srdic-Rajic, T.; Jovanović, M.; Nikolić, B. Chemical characterization, antioxidant, genotoxic and in vitro cytotoxic activity assessment of Juniperus communis var. saxatilis. *Food Chem. Toxicol.* **2018**, *112*, 118–125.
224. Orhan, N.; Aslan, M.; Demirci, B.; Ergun, F. A bioactivity guided study on the antidiabetic activity of Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus L. leaves. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *140*, 409–415.
225. Mariem, S.; Hanen, F.; Inès, J.; Mejdi, S.; Riadh, K. Phenolic profile, biological activities and fraction analysis of the medicinal halophyte Retama raetam. *South Afr. J. Bot.* **2014**, *94*, 114–121.
226. Algandaby, M.M.; Alghamdi, H.A.; Ashour, O.M.; Abdel-Naim, A.B.; Ghareib, S.A.; Abdel-Sattar, E.A.; Hajar, A.S. Mechanisms of the antihyperglycemic activity of Retama raetam in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 2448–2453.
227. Pistelli, L.; Fiumi, C.; Morelli, I.; Giachi, I. Flavonoids from Calicotome villosa. *Fitoterapia* **2003**, *74*, 417–419.
228. Barhouchi, B.; Aouadi, S.; Abdi, A. Preparations based on minerals extracts of Calicotome villosa roots and bovine butyrate matter: Evaluation in vitro of their antifungal activity. *J. Mycol. Médicale* **2017**, *27*, 210–219.
229. Ghilissi, Z.; Kallel, R.; Sila, A.; Harrabi, B.; Atheymen, R.; Zeghal, K.; Bougatef, A.; Sahnoun, Z. Globularia alypum methanolic extract improves burn wound healing process and

- inflammation in rats and possesses antibacterial and antioxidant activities. *Biomed. Pharmacother.* **2016**, *84*, 1488–1495.
230. Yadikar, N.; Bobakulov, K.; Li, G.; Aisa, H.A. Seven new phenolic compounds from *Lavandula angustifolia*. *Phytochem. Lett.* **2018**, *23*, 149–154.
 231. Sosa, S.; Altinier, G.; Politi, M.; Braca, A.; Morelli, I.; Della Loggia, R. Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine* **2005**, *12*, 271–277.
 232. Selmi, S.; Rtibi, K.; Grami, D.; Sebai, H.; Marzouki, L. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil components exhibit anti-hyperglycemic, anti-hyperlipidemic and antioxidant effects in experimental diabetes. *Pathophysiology* **2017**, *24*, 297–303.
 233. Jiang, Y.; Zhang, L.; Rupasinghe, H.P.V. Antiproliferative effects of extracts from *Salvia officinalis* L. and *Salvia miltiorrhiza* Bunge on hepatocellular carcinoma cells. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *85*, 57–67.
 234. Habashy, N.H.; Abu Serie, M.M.; Attia, W.E.; Abdelgaleil, S.A.M. Chemical characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of Greek *Thymus vulgaris* extracts and their possible synergism with Egyptian *Chlorella vulgaris*. *J. Funct. Foods* **2018**, *40*, 317–328.
 235. Aleksic, V.; Knezevic, P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiol. Res.* **2014**, *169*, 240–254.
 236. Naili, M.B.; Alghazeer, R.O.; Saleh, N.A.; Al-Najjar, A.Y. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* **2010**, *3*, 79–84.
 237. McCune, L.M. A Review of the Antioxidant Actions of Three Herbal Medicines (*Crataegus monogyna*, *Ginkgo biloba*, and *Aesculus hippocastanum*) on the Treatment of Cardiovascular Diseases. In *Bioactive Food as Dietary Interventions for Cardiovascular Disease*; Elsevier, 2013; pp. 243–253 ISBN 978-0-12-396485-4.
 238. Czyzowska, A.; Klewicka, E.; Pogorzelski, E.; Nowak, A. Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from *Rosa canina* L. and *Rosa rugosa* Thunb. *J. Food Compos. Anal.* **2015**, *39*, 62–68.
 239. Sisti, M.; De Santi, M.; Fraternali, D.; Ninfali, P.; Scoccianti, V.; Brandi, G. Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT - Food Sci. Technol.* **2008**, *41*, 946–950.
 240. França Orlanda, J.F.; Nascimento, A.R. Chemical composition and antibacterial activity of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) volatile oils, from São Luís, Maranhão, Brazil. *South Afr. J. Bot.* **2015**, *99*, 103–106.
 241. Ouerghemmi, I.; Bettaieb Rebey, I.; Rahali, F.Z.; Bourgou, S.; Pistelli, L.; Ksouri, R.; Marzouk, B.; Saidani Tounsi, M. Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *J. Food Drug Anal.* **2017**, *25*, 350–359.
 242. Longo, L.; Vasapollo, G. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chem.* **2006**, *94*, 226–231.
 243. Araldi, R.P.; dos Santos, M.O.; Barbon, F.F.; Manjerona, B.A.; Meirelles, B.R.; de Oliva Neto, P.; da Silva, P.I.; dos Santos, L.; Camargo, I.C.C.; de Souza, E.B. Analysis of antioxidant, cytotoxic and mutagenic potential of *Agave sisalana* Perrine extracts using Vero cells, human lymphocytes and mice polychromatic erythrocytes. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *98*, 873–885.
 244. Wang, H.-F.; Yih, K.-H.; Yang, C.-H.; Huang, K.-F. Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *J. Food Drug Anal.* **2017**, *25*, 881–889.
 245. Kaur, G.J.; Arora, D.S. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*. *BMC Complement. Altern. Med.* **2009**, *9*.
 246. Thippeswamy, N.B.; Naidu, K.A.; Achur, R.N. Antioxidant and antibacterial properties of phenolic extract from *Carum carvi* L. *J. Pharm. Res.* **2013**, *7*, 352–357.
 247. Msaada, K.; Jemia, M.B.; Salem, N.; Bachrouch, O.; Sriti, J.; Tammar, S.; Bettaieb, I.; Jabri, I.; Kefi, S.; Limam, F.; et al. Antioxidant activity of methanolic extracts from three coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit varieties. *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, S3176–S3183.

248. K peli, E.; Kartal, M.; Aslan, S.; Yesilada, E. Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *107*, 32–37.
249. Rather, M.A.; Dar, B.A.; Sofi, S.N.; Bhat, B.A.; Qurishi, M.A. *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arab. J. Chem.* **2016**, *9*, S1574–S1583.
250. Al-Bayati, F.A. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *116*, 403–406.
251. Boutennoun, H.; Boussouf, L.; Kebieche, M.; Al-Qaoud, K.; Madani, K. In vivo analgesic, anti-inflammatory and antioxidant potentials of *Achillea odorata* from north Algeria. *South Afr. J. Bot.* **2017**, *112*, 307–313.
252. Chems , A.E.; Zellagui, A.; Ozturk, M.; Erol, E.; Ceylan, O.; Duru, M.E.; Lahouel, M. Chemical composition, antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial and antibiofilm activities of essential oil and methanolic extract of *Anthemis stiparum* subsp. *sabulicola* (Pomel) Oberpr. *Microb. Pathog.* **2018**, *119*, 233–240.
253. Bertella, A.; Benlahcen, K.; Abouamama, S.; Pinto, D.C.G.A.; Maamar, K.; Kihal, M.; Silva, A.M.S. *Artemisia herba-alba* Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *116*, 137–143.
254. Nicolaus, C.; Junghanns, S.; Hartmann, A.; Murillo, R.; Ganzera, M.; Merfort, I. In vitro studies to evaluate the wound healing properties of *Calendula officinalis* extracts. *J. Ethnopharmacol.* **2017**, *196*, 94–103.
255. Efstratiou, E.; Hussain, A.I.; Nigam, P.S.; Moore, J.E.; Ayub, M.A.; Rao, J.R. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complement. Ther. Clin. Pract.* **2012**, *18*, 173–176.
256. Szab , I.; Pallag, A.; Blidar, C.-F. The antimicrobial activity of the *Cnicus benedictus* L. extracts. *Analele Univ. Din Oradea Fasc. Biol. Tom XVI* **2009**, *1*, 126–128.
257. Rhimi, W.; Ben Salem, I.; Iatta, R.; Chaabane, H.; Saidi, M.; Boulila, A.; Cafarchia, C. *Dittrichia viscosa* L. leaves lipid extract: An unexploited source of essential fatty acids and tocopherols with antifungal and anti-inflammatory properties. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *113*, 196–201.
258. Hamama Bouriche, Abdallah Kherbache, Seoussen Kada, Abderrahmane Senator,; Ibrahim Demirtas Phenolic content, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Anacyclus clavatus* extracts. *Environ. Exp. Biol.* **2016**, *14*, 127–135.
259. Selles, C.; Dib, M.E.A.; Allali, H.; Tabti, B. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts of *Anacyclus pyrethrum* L., from Algeria. *Mediterr. J. Chem.* **2012**, *2*, 408–415.
260. Greger, H. Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus*. *Biochem. Syst. Ecol.* **1978**, *6*, 11–17.
261. Mandade, R.; Sreenivas, S.A.; Choudhury, A. Radical Scavenging and Antioxidant Activity of *Carthamus tinctorius* Extracts. *Free Radic. Antioxid.* **2011**, *1*, 87–93.
262. Awaad, A.A.; El-Meligy, R.M.; Zain, G.M.; Safhi, A.A.; Al Qurain, N.A.; Almoqren, S.S.; Zain, Y.M.; Sesh Adri, V.D.; Al-Saikhan, F.I. Experimental and clinical antihypertensive activity of *Matricaria chamomilla* extracts and their angiotensin-converting enzyme inhibitory activity. *Phytother. Res. PTR* **2018**.
263. Alali, F.Q.; Tawaha, K.; El-Elimat, T.; Syouf, M.; El-Fayad, M.; Abulaila, K.; Nielsen, S.J.; Wheaton, W.D.; III, J.O.F.; Oberlies, N.H. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG project. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 1121–1131.
264. Morales, P.; Ferreira, I.C.F.R.; Carvalho, A.M.; S nchez-Mata, M.C.; C mara, M.; Fern ndez-Ruiz, V.; Pardo-de-Santayana, M.; Tard o, J. Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity. *LWT - Food Sci. Technol.* **2014**, *55*, 389–396.
265. Zhu, S.Y.; Jiang, N.; Yang, J.; Tu, J.; Zhou, Y.; Xiao, X.; Dong, Y. *Silybum marianum* oil attenuates hepatic steatosis and oxidative stress in high fat diet-fed mice. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *100*, 191–197.

266. Pascual-Villalobos, M.J.; Robledo, A. Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain. *Biochem. Syst. Ecol.* **1999**, *27*, 1–10.
267. Cartea, M.E.; Francisco, M.; Soengas, P.; Velasco, P. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. *Molecules* **2010**, *16*, 251–280.
268. Benzekri, R.; Bouslama, L.; Papetti, A.; Snoussi, M.; Benslimene, I.; Hamami, M.; Limam, F. Isolation and identification of an antibacterial compound from *Diplotaxis harra* (Forssk.) Boiss. *Ind. Crops Prod.* **2016**, *80*, 228–234.
269. Khoobchandani, M.; Ganesh, N.; Gabbanini, S.; Valgimigli, L.; Srivastava, M.M. Phytochemical potential of *Eruca sativa* for inhibition of melanoma tumor growth. *Fitoterapia* **2011**, *82*, 647–653.
270. Tabaraki, R.; Ghadiri, F. In vitro antioxidant activities of aqueous and methanolic extracts of *Smyrnum cordifolium* Boiss and *Sinapis arvensis* L. *Int. Food Res. J.* **2013**, *20*, 2111–2115.
271. Liu, X.-G.; Huang, M.-Y.; Gao, P.-Y.; Liu, C.-F.; Sun, Y.-Q.; Lv, M.-C.; Yao, G.-D.; Zhang, L.-X.; Li, D.-Q. Bioactive constituents from *Medicago sativa* L. with antioxidant, neuroprotective and acetylcholinesterase inhibitory activities. *J. Funct. Foods* **2018**, *45*, 371–380.
272. Ergene Öz, B.; Saltan İşcan, G.; Küpeli Akkol, E.; Süntar, İ.; Keleş, H.; Bahadır Acıkara, Ö. Wound healing and anti-inflammatory activity of some *Ononis* taxons. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *91*, 1096–1105.
273. Božunović, J.; Živković, S.; Gašić, U.; Glamočlija, J.; Ćirić, A.; Matekalo, D.; Šiler, B.; Soković, M.; Tešić, Ž.; Mišić, D. In vitro and in vivo transformations of *Centaurium erythraea* secoiridoid glucosides alternate their antioxidant and antimicrobial capacity. *Ind. Crops Prod.* **2018**, *111*, 705–721.
274. Matusinsky, P.; Zouhar, M.; Pavela, R.; Novy, P. Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *67*, 208–215.
275. Basgedik, B.; Ugur, A.; Sarac, N. Antimicrobial, antioxidant, antimutagenic activities, and phenolic compounds of *Iris germanica*. *Ind. Crops Prod.* **2014**, *61*, 526–530.
276. Wang, J.-J.; Jin, H.; Zheng, S.-L.; Xia, P.; Cai, Y.; Ni, X.-J. Phytoecdysteroids from *Ajuga iva* act as potential antidiabetic agent against alloxan-induced diabetic male albino rats. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *96*, 480–488.
277. Akther, N.; Shawl, A.S.; Sultana, S.; Chandan, B.K.; Akhter, M. Hepatoprotective activity of *Marrubium vulgare* against paracetamol induced toxicity. *J. Pharm. Res.* **2013**, *7*, 565–570.
278. Singh, R.; Shushni, M.A.M.; Belkheir, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arab. J. Chem.* **2015**, *8*, 322–328.
279. Mahboubi, M.; Haghi, G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *119*, 325–327.
280. Boussouf, L.; Boutennoune, H.; Kebieche, M.; Adjerdoud, N.; Al-Qaoud, K.; Madani, K. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *South Afr. J. Bot.* **2017**, *113*, 77–83.
281. Mahboubi, M. *Mentha spicata* as natural analgesia for treatment of pain in osteoarthritis patients. *Complement. Ther. Clin. Pract.* **2017**, *26*, 1–4.
282. Belfeki, H.; Mejri, M.; Hassouna, M. Antioxidant and anti-lipases activities in vitro of *Mentha viridis* and *Eucalyptus globulus* extracts. *Ind. Crops Prod.* **2016**, *89*, 514–521.
283. Dhull, S.B.; Kaur, P.; Purewal, S.S. Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts. *Resour.-Effic. Technol.* **2016**, *2*, 168–174.
284. Khan, M.; Khan, S.T.; Khan, N.A.; Mahmood, A.; Al-Kedhairi, A.A.; Alkhatlan, H.Z. The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity. *Arab. J. Chem.* **2018**.
285. Zuo, H.; Li, Y.; Cui, Y.; An, Y. Cardioprotective effect of *Malva sylvestris* L. in myocardial ischemic/reperfused rats. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *95*, 679–684.
286. Orhan, I.E.; Ozturk, N.; Sener, B. Antiprotozoal assessment and phenolic acid profiling of five *Fumaria* (fumitory) species. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2015**, *8*, 283–286.

287. Lee, I.-K.; Hwang, B.; Kim, D.-W.; Kim, J.-Y.; Woo, E.-E.; Lee, Y.-J.; Choi, H.; Yun, B.-S. Characterization of Neuraminidase Inhibitors in Korean Papaver rhoeas Bee Pollen Contributing to Anti-Influenza Activities In Vitro. *Planta Med.* **2016**, *82*, 524–529.
288. Senatore, F.; Rigano, D.; Formisano, C.; Grassia, A.; Basile, A.; Sorbo, S. Phyto-growth-inhibitory and antibacterial activity of Verbascum sinuatum. *Fitoterapia* **2007**, *78*, 244–247.
289. Fatma, B.; Fatiha, M.; Elattafia, B.; Noureddine, D. Phytochemical and antimicrobial study of the seeds and leaves of Peganum harmala L. against urinary tract infection pathogens. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2016**, *6*, 822–826.
290. Fu, K.-L.; Li, X.; Ye, J.; Lu, L.; Xu, X.-K.; Li, H.-L.; Zhang, W.-D.; Shen, Y.-H. Chemical constituents of Narcissus tazetta var. chinensis and their antioxidant activities. *Fitoterapia* **2016**, *113*, 110–116.
291. Maazoun, A.M.; Hlel, T.B.; Hamdi, S.H.; Belhadj, F.; Jemâa, J.M.B.; Marzouki, M.N. Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of Urginea maritima bulbs extract for the control of Sitophilus oryzae (L.). *J. Asia-Pac. Entomol.* **2017**, *20*, 752–760.
292. Zengin, G.; Arkan, T.; Aktumsek, A.; Guler, G.O.; Cakmak, Y.S. A Study on Antioxidant Capacities and Fatty Acid Compositions of Two *Daphne* Species from Turkey: New Sources of Antioxidants and Essential Fatty Acids: ANTIOXIDANT CAPACITY AND FATTY ACID COMPOSITION. *J. Food Biochem.* **2013**, *37*, 646–653.
293. Mărghitaş, L.A.; Stanciu, O.G.; Dezmiorean, D.S.; Bobiş, O.; Popescu, O.; Bogdanov, S.; Campos, M.G. In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chem.* **2009**, *115*, 878–883.
294. Miguel, M. da G.; Doughmi, O.; Aazza, S.; Antunes, D.; Lyoussi, B. Antioxidant, anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibitory activities of propolis from different regions of Morocco. *Food Sci. Biotechnol.* **2014**, *23*, 313–322.
295. Silva, T.M.S.; dos Santos, F.P.; Evangelista-Rodrigues, A.; da Silva, E.M.S.; da Silva, G.S.; de Novais, J.S.; dos Santos, F. de A.R.; Camara, C.A. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (Melipona subnitida) honey. *J. Food Compos. Anal.* **2013**, *29*, 10–18.
296. Padmanabhan, P.; Jangle, S.N. Evaluation of DPPH radical scavenging activity and reducing power of four selected medicinal plants and their combinations. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res.* **2012**, *4*, 143–146.
297. CAMPOS, M.G. Caracterização do pólen apícola pelo seu perfil em compostos fenólicos e pesquisa de algumas actividades biológicas. PhD Thesis, 1997.
298. Campos, M.; Markham, K.R.; Mitchell, K.A.; da Cunha, A.P. An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. *Phytochem. Anal.* **1997**, *8*, 181–185.
299. CAMPOS, M. G. & Markham, K. R. *Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra – Flavone, Flavonols and Phenolic Acids C. U.*; Press. Portugal (Ed.), 2007;
300. Bauer, A.W.; Kirby, W.M.; Sherris, J.C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, *45*, 493–496.
301. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Document M100-S11 . Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. National committee for clinical laboratory Standard, Wayne, PA, USA.». **2003**.
302. Dimitrijević, D. Antioxidant and antimicrobial activity of different extracts from leaves and roots of Jovibarba heuffelii (Schott.) A. Löve and D. Löve. *J. Med. Plants Res.* **2012**, *6*.
303. Berche P., Gaillard J. L., Simonet M. *Les bactéries des infections humaines.*; Éditeur : Flammarion Médecine & Sciences., 1991;
304. Kähkönen, M.P.; Hopia, A.I.; Vuorela, H.J.; Rauha, J.-P.; Pihlaja, K.; Kujala, T.S.; Heinonen, M. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3954–3962.
305. Ghasemi, K.; Ghasemi, Y.; Ebrahimzadeh, M.A. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci* **2009**, *22*, 277–281.

306. Campos, M.G.; Webby, R.F.; Markham, K.R.; Mitchell, K.A.; Da Cunha, A.P. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 742–745.
307. Boulanouar, B.; Abdelaziz, G.; Aazza, S.; Gago, C.; Miguel, M.G. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Ind. Crops Prod.* **2013**, *46*, 85–96.
308. Avşar, C.; Özler, H.; Berber, İ.; Civek, S. Phenolic composition, antimicrobial and antioxidant activity of *Castanea sativa* Mill. pollen grains from Black Sea region of Turkey. *Int. Food Res. J.* **2016**, *23*.
309. Žilić, S.; Vančetović, J.; Janković, M.; Maksimović, V. Chemical composition, bioactive compounds, antioxidant capacity and stability of floral maize (*Zea mays* L.) pollen. *J. Funct. Foods* **2014**, *10*, 65–74.
310. Akter, A.; Neela, F.A.; Khan, M.S.I.; Islam, M.S.; Alam, M.F. Screening of ethanol, petroleum ether and chloroform extracts of medicinal plants, *Lawsonia inermis* L. and *Mimosa pudica* L. for antibacterial activity. *Indian J. Pharm. Sci.* **2010**, *72*, 388.
311. Semeniuc, C.A.; Pop, C.R.; Rotar, A.M. Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J. Food Drug Anal.* **2017**, *25*, 403–408.
312. Silhavy, T.J.; Kahne, D.; Walker, S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, *2*, a000414–a000414.
313. de Freitas Araújo, M.G.; Hilário, F.; Vilegas, W.; dos Santos, L.C.; Brunetti, I.L.; Sotomayor, C.E.; Bauab, T.M. Correlation among Antioxidant, Antimicrobial, Hemolytic, and Antiproliferative Properties of *Leiosthix spiralis* Leaves Extract. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 9260–9277.
314. Dinkov, D.H. Correlation between antibacterial and antioxidant activity in oak honeydew and *Acacia* (*Robinia pseudoacacia* L.) bee honeys. In Proceedings of the The V. International Scientific and Practical Conference on “Current State and Perspectives of Food Industry and Catering Development”, Chelyabinsk, Russia; 2013; Vol. 1, pp. 265–277.
315. Todorovic, V.; Milenkovic, M.; Vidovic, B.; Todorovic, Z.; Sobajic, S. Correlation between Antimicrobial, Antioxidant Activity, and Polyphenols of Alkalized/Nonalkalized Cocoa Powders: Functional properties of cocoa powder.... *J. Food Sci.* **2017**, *82*, 1020–1027.
316. Herbert Jr, E.W.; Shimanuki, H. Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *apiculture* **1978**, *9*, 33–40.
317. Kostić, A.Ž.; Barać, M.B.; Stanojević, S.P.; Milojković-Opsenica, D.M.; Tešić, Ž.L.; Šikoparija, B.; Radišić, P.; Prentović, M.; Pešić, M.B. Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT - Food Sci. Technol.* **2015**, *62*, 301–309.
318. Schüler, L.; Hemp, A. Atlas of pollen and spores and their parent taxa of Mt Kilimanjaro and tropical East Africa. *Quat. Int.* **2016**, *425*, 301–386.
319. Gosling, W.D.; Miller, C.S.; Livingstone, D.A. Atlas of the tropical West African pollen flora. *Rev. Palaeobot. Palynol.* **2013**, *199*, 1–135.
320. Harmanescu, M.; Popovici, D.; Gergen, I. MINERAL MICRONUTRIENTS COMPOSITION OF BEE’S POLLEN. *J. Agroaliment. Process. Technol.* **2007**, *13*, 175–182.
321. Costa, M.C.A.; Morgano, M.A.; Ferreira, M.M.C.; Milani, R.F. Analysis of bee pollen constituents from different Brazilian regions: Quantification by NIR spectroscopy and PLS regression. *LWT* **2017**, *80*, 76–83.
322. W. Dr. George & J. Latimer, Eds.) *OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL*; 20th ed.; 2016;
323. Barros, L.; Pereira, E.; Calhella, R.C.; Dueñas, M.; Carvalho, A.M.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I.C. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. *J. Funct. Foods* **2013**, *5*, 1732–1740.
324. Bessada, S.M.F.; Barreira, J.C.M.; Barros, L.; Ferreira, I.C.F.R.; Oliveira, M.B.P.P. Phenolic profile and antioxidant activity of *Coleostephus myconis* (L.) Rchb.f.: An underexploited and highly disseminated species. *Ind. Crops Prod.* **2016**, *89*, 45–51.

325. Kong, K.W.; Mat-Junit, S.; Aminudin, N.; Ismail, A.; Abdul-Aziz, A. Antioxidant activities and polyphenolics from the shoots of *Barringtonia racemosa* (L.) Spreng in a polar to apolar medium system. *Food Chem.* **2012**, *134*, 324–332.
326. Soković, M.; Glamočlija, J.; Marin, P.D.; Brkić, D.; Griensven, L.J.L.D. van Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. *Molecules* **2010**, *15*, 7532–7546.
327. Saavedra-Carhuatocto, D.M.; Aguinaga-Castro, F.; Rojas-Idrogo, C.; Delgado-Paredes, G.E. ANALYSIS OF POLLEN LOADS COLLECTED BY HONEY BEES (*APIS MELLIFERA* L.) FROM LAMBAYEQUE PROVINCE (PERU): BOTANICAL ORIGIN AND PROTEIN CONTENT. *J. Glob. Biosci. ISSN* **2014**, *3*, 285–298.
328. Čeksterytė, V.; Jansen, E.H. Composition and content of fatty acids of various floral origin beebread collected in Lithuania and prepared for storage in different. *Chem. Technol.* **2012**, *60*.
329. Human, H.; Nicolson, S.W. Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (*Asphodelaceae*). *Phytochemistry* **2006**, *67*, 1486–1492.
330. Urcan, A.; Criste, A.; Dezmirean, D.; Mărgăoan, R.; Caeiro, A.; Graça Campos, M. Similarity of Data from Bee Bread with the Same Taxa Collected in India and Romania. *Molecules* **2018**, *23*, 2491.
331. Vattem, D.A.; Lin, Y.-T.; Labbe, R.G.; Shetty, K. Antimicrobial activity against select food-borne pathogens by phenolic antioxidants enriched in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using the food grade fungus *Rhizopus oligosporus*. *Process Biochem.* **2004**, *39*, 1939–1946.
332. Kamonwannasit, S.; Nantapong, N.; Kumkrai, P.; Luecha, P.; Kupittayanant, S.; Chudapongse, N. Antibacterial activity of *Aquilaria crassna* leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* by disruption of cell wall. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2013**, *12*, 20.
333. Majida A.J. Al-Qayim, Laith Sadiq Ghali & Tahani S. Al-Azwai COMPARATIVE EFFECTS OF PROPOLIS AND MALIC ACID ON HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF ALUMINUM EXPOSED MALE RATS. *Glob. J. Bio-Sci. Biotechnol.* **2014**, *3*, 6–11.
334. Bazzoni, G.B.; Bollini, A.N.; Hernández, G.N.; Contini, M. del C.; Chiarotto, M.M.; Rasia, M.L. In vivo effect of aluminium upon the physical properties of the erythrocyte membrane. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 822–827.
335. Ghorbel, I.; Maktouf, S.; Kallel, C.; Ellouze Chaabouni, S.; Boudawara, T.; Zeghal, N. Disruption of erythrocyte antioxidant defense system, hematological parameters, induction of pro-inflammatory cytokines and DNA damage in liver of co-exposed rats to aluminium and acrylamide. *Chem. Biol. Interact.* **2015**, *236*, 31–40.
336. Farina, M.; Lara, F.S.; Brandao, R.; Jacques, R.; Rocha, J.B.T. Effects of aluminum sulfate on erythropoiesis in rats. *Toxicol. Lett.* **2002**, *132*, 131–139.
337. Al-Waili, N.S. Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals. *J. Med. Food* **2003**, *6*, 135–140.
338. Oda, S.S. The influence of Omega3 fatty acids supplementation against aluminum-induced toxicity in male albino rats. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2016**, *23*, 14354–14361.
339. Sharma, D.R.; Wani, W.Y.; Sunkaria, A.; Kandimalla, R.J.; Sharma, R.K.; Verma, D.; Bal, A.; Gill, K.D. Quercetin attenuates neuronal death against aluminum-induced neurodegeneration in the rat hippocampus. *Neuroscience* **2016**, *324*, 163–176.
340. Shati, A.A.; Alamri, S.A. Role of saffron (*Crocus sativus* L.) and honey syrup on aluminum-induced hepatotoxicity. *Saudi Med. J.* **2010**, *31*, 1106–1113.
341. Yousef, M.I.; Salama, A.F. Propolis protection from reproductive toxicity caused by aluminium chloride in male rats. *Food Chem. Toxicol.* **2009**, *47*, 1168–1175.
342. Al-Waili, N.S.; Saloom, K.Y.; Akmal, M.; Al-Waili, F.; Al-Waili, T.N.; Al-Waili, A.N.; Ali, A. Honey ameliorates influence of hemorrhage and food restriction on renal and hepatic functions, and hematological and biochemical variables. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2006**, *57*, 353–362.
343. Al Dera, H. Protective effect of resveratrol against aluminum chloride induced nephrotoxicity in rats. *Saudi Med. J.* **2016**, *37*, 369–378.
344. Fihri, A.F.; Al-Waili, N.S.; El-Haskoury, R.; Bakour, M.; Amarti, A.; Ansari, M.J.; Lyoussi, B. Protective Effect of Morocco Carob Honey Against Lead-Induced Anemia and Hepato-Renal Toxicity. *Cell. Physiol. Biochem.* **2016**, *39*, 115–122.

345. Al-Waili, N.S. Effects of honey on the urinary total nitrite and prostaglandins concentration. *Int. Urol. Nephrol.* **2005**, *37*, 107–111.
346. El Hilaly, J.; Lyoussi, B. Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *80*, 109–113.
347. Dimo, T.; Rakotonirina, S.V.; Tan, P.V.; Azay, J.; Dongo, E.; Kamtchouing, P.; Cros, G. Effect of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) stem bark methylene chloride/methanol extract on streptozotocin-diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *110*, 434–438.
348. Zhou, Y.; Li, X.-L.; Xie, H.-L.; Cao, D.-N.; Nie, B.-B.; Zhao, Y.; Sun, Z.-R. Voxel-based morphology analysis of STZ-induced type 1 diabetes mellitus rats with and without cognitive impairment. *Neurosci. Lett.* **2018**, *684*, 210–217.
349. Wojnar, W.; Zych, M.; Kaczmarczyk-Sedlak, I. Antioxidative effect of flavonoid naringenin in the lenses of type 1 diabetic rats. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *108*, 974–984.
350. Faure, S. Les insulinosécréteurs, sulfamides et glinides. *Actual. Pharm.* **2017**, *56*, 7–11.
351. Nandhini, A.T.A.; Thirunavukkarasu, V.; Anuradha, C.V. Stimulation of glucose utilization and inhibition of protein glycation and AGE products by taurine. *Acta Physiol. Scand.* **2004**, *181*, 297–303.
352. Singh, V.; Singh, S.P.; Singh, M.; Gupta, A.K.; Kumar, A. Combined Potentiating Action of Phytochemical(s) from *Cinnamomum tamala* and *Aloe vera* for their Anti-diabetic and Insulinomimetic Effect Using In Vivo Rat and In Vitro NIH/3T3 Cell Culture System. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2015**, *175*, 2542–2563.
353. Toshihiro Miura; Atsushi Kato Hypoglycemic action of *Embelia madagascariensis* in Normal and Diabetic Mice. *Am. J. Chin. Med.* **XXV**, 169–173.
354. Li, Y.; Wen, S.; Kota, B.P.; Peng, G.; Li, G.Q.; Yamahara, J.; Roufogalis, B.D. *Punica granatum* flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *99*, 239–244.
355. Pari, L.; Venkateswaran, S. Protective role of *Phaseolus vulgaris* on changes in the fatty acid composition in experimental diabetes. *J. Med. Food* **2004**, *7*, 204–209.
356. Garg, A. Management of dyslipidemia in IDDM patients. *Diabetes Care* **1994**, *17*, 224–234.
357. Vergès, B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia* **2015**, *58*, 886–899.
358. Chandramohan, G.; Al-Numair, K.S.; Sridevi, M.; Pugalendi, K.V. Antihyperlipidemic activity of 3-hydroxymethyl xylitol, a novel antidiabetic compound isolated from *Casearia esculenta* (Roxb.) root, in streptozotocin-diabetic rats. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **2010**, *24*, 95–101.
359. Postic, C.; Dentin, R.; Girard, J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab.* **2004**, *30*, 398–408.
360. Bacanlı, M.; Anlar, H.G.; Aydın, S.; Çal, T.; Arı, N.; Ündeğer Bucurgat, Ü.; Başaran, A.A.; Başaran, N. d -limonene ameliorates diabetes and its complications in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem. Toxicol.* **2017**, *110*, 434–442.
361. Souza, A.C.F.; Bastos, D.S.S.; Santos, F.C.; Sertorio, M.N.; Ervilha, L.O.G.; Gonçalves, R.V.; de Oliveira, L.L.; Machado-Neves, M. Arsenic aggravates oxidative stress causing hepatic alterations and inflammation in diabetic rats. *Life Sci.* **2018**, *209*, 472–480.
362. Amri, F.S.A.; Hossain, M.A. Comparison of total phenols, flavonoids and antioxidant potential of local and imported ripe bananas. *Egypt. J. Basic Appl. Sci.* **2018**.
363. Mujwah, A.A.; Mohammed, M.A.; Ahmed, M.H. First isolation of a flavonoid from *Juniperus procera* using ethyl acetate extract. *Arab. J. Chem.* **2010**, *3*, 85–88.
364. Adeoye, A.O.; Ojowu, J.; Daniel, O.O.; Olorunsogo, O.O. Inhibition of liver mitochondrial membrane permeability transition pore opening by quercetin and vitamin E in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2018**, *504*, 460–469.
365. Srinivasan, P.; Vijayakumar, S.; Kothandaraman, S.; Palani, M. Anti-diabetic activity of quercetin extracted from *Phyllanthus emblica* L. fruit: In silico and in vivo approaches. *J. Pharm. Anal.* **2018**, *8*, 109–118.
366. Hamilton, K.E.; Rekman, J.F.; Gunnink, L.K.; Busscher, B.M.; Scott, J.L.; Tidball, A.M.; Stehouwer, N.R.; Johnecheck, G.N.; Looyenga, B.D.; Louters, L.L. Quercetin inhibits glucose transport by binding to an exofacial site on GLUT1. *Biochimie* **2018**, *151*, 107–114.

367. Liang, W.; Zhang, D.; Kang, J.; Meng, X.; Yang, J.; Yang, L.; Xue, N.; Gao, Q.; Han, S.; Gou, X. Protective effects of rutin on liver injury in type 2 diabetic db/db mice. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *107*, 721–728.
368. Ren, B.; Qin, W.; Wu, F.; Wang, S.; Pan, C.; Wang, L.; Zeng, B.; Ma, S.; Liang, J. Apigenin and naringenin regulate glucose and lipid metabolism, and ameliorate vascular dysfunction in type 2 diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* **2016**, *773*, 13–23.

Annexe

Inventaire des plantes mellifères de la région Fès-Meknès et leurs intérêts apicoles

Doctorante : *Meryem Bakour* – Laboratoire physiologie pharmacologie et santé environnementale

Informations sur l'apiculteur

1. Le sexe

- Masculin Féminin

2. Niveau d'étude

- Analphabète Primaire
 Secondaire universitaire

3. Tranche d'âge

- 1.<20 ans 2. Entre 20 ans et 40 ans
 3. entre 40 ans et 60 ans 4. > à 60 ans

4. Durée d'expérience

- 1.<10 ans 2. Entre 10 ans et 15 ans
 3. entre 15 ans et 20 ans 4. > à 20 ans

Informations sur le rucher

5. Combien de ruches avez-vous gérer ?

1. < 20 ruches
 2. Entre 20 ruches et 40 ruches
 3. Entre 40 ruches et 60 ruches
 4. Entre 60 ruches et 80 ruches
 5. Entre 80 ruches et 100 ruches
 6. > à 100 ruches

6. Qu'il est la production annuelle du miel de/ ruche?

1. <20 Kg 2. Entre 20 et 40 Kg
 3. Entre 40 et 60Kg 4. Entre 60 et 80 Kg
 5. Entre 80 et 100 Kg 6. > à 100Kg

7. Qu'ils sont les autres produits de la ruche que vous avez fournis par votre rucher ?

1. Pollen frais
 2. Pollen séché
 3. Pain d'abeille frais
 4. Pain d'abeille séché
 5. La gelée royale
 6. Propolis
 7. cire d'abeille
 8. Venin d'abeille

8. Qu'il est la préfecture ou la province dans la région Fès-Meknès que vous préférez pour l'installation de votre rucher?

1. La préfecture de Fès 2. La province de Boulemane 3. La province de Séfrou
 4. La province de Moulay-yaacoub 5. La province de Taounat 6. La province de Taza
 7. La préfecture de Meknès 8. La province de d'Elhajeb 9. La province d'Ifrane

Informations sur les plantes mellifères de chaque préfecture ou province

9. Qu'ils sont les plantes mellifères qui sont abondants dans chaque préfecture ou province dans la région Fès-Meknès ?

.....(liste)

10. Vous préférez d'installer vos ruches près des plantes qui sont :

- Pollinifères Nectarifères
 Résineuses Plantes à miellat

11. Qu'ils sont les meilleures plantes résineuses pour la production d'une propolis de bonne qualité ?

.....(liste)

12. Qu'ils sont les meilleures plantes nectarifères pour la production d'un miel de bonne qualité ?

.....(liste)

13. Pouvez vous identifier quel pollen est bénéfique pour la santé de la ruche ?

- Oui Non

14. Si oui qu'il est le facteur qui influence votre évaluation de la qualité du pollen ?

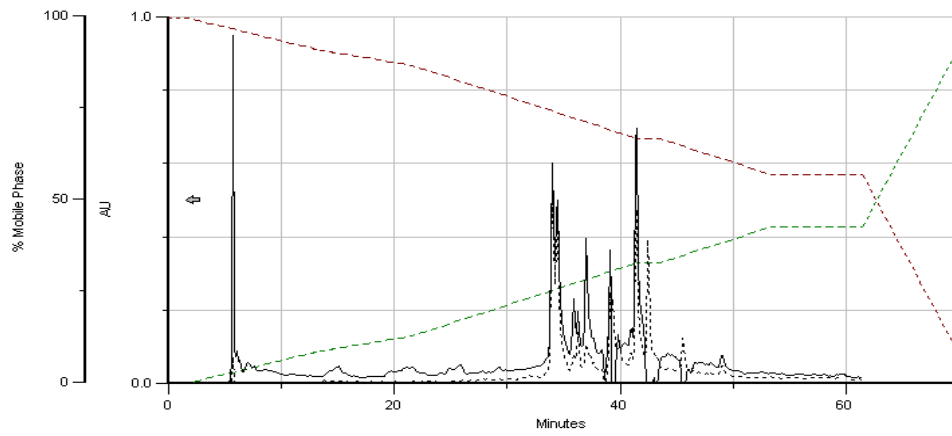
- La taille
 La couleur
 Le gout
 Le type du sol
 La quantité du pollen collecté par l'abeille
 Autre

15. Y a-t-il des espèces de pollen préférées par les abeilles??

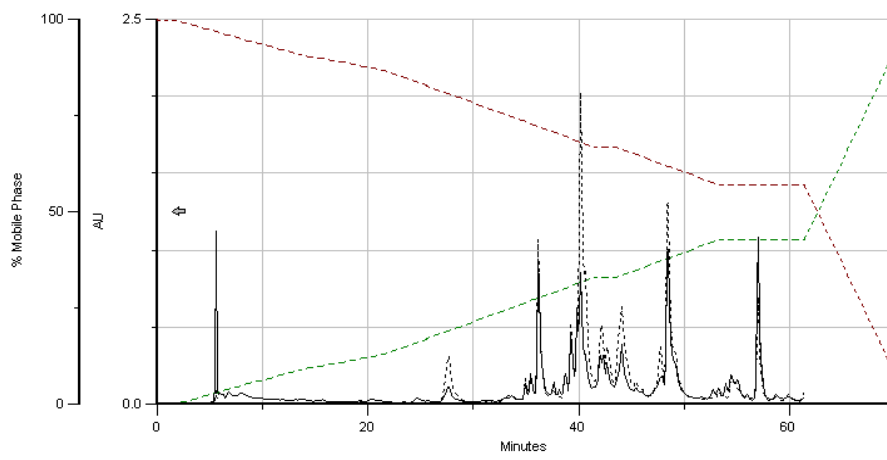
- Oui
 Non

Si oui, veuillez fournir des exemples

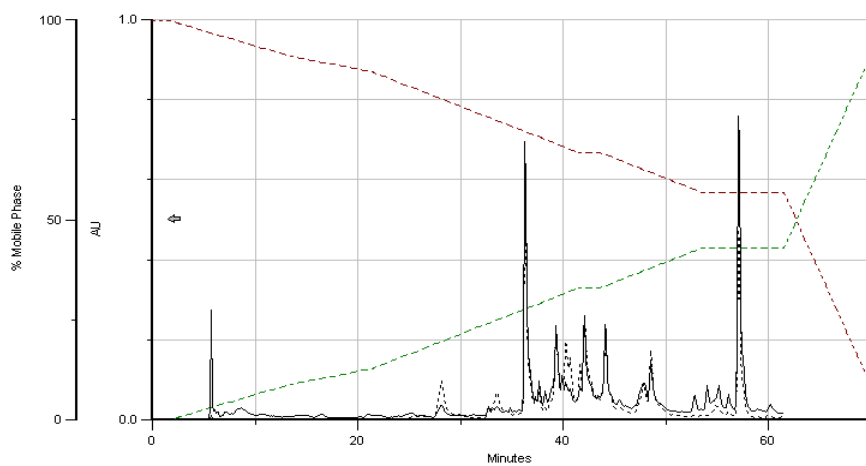
.....(liste)



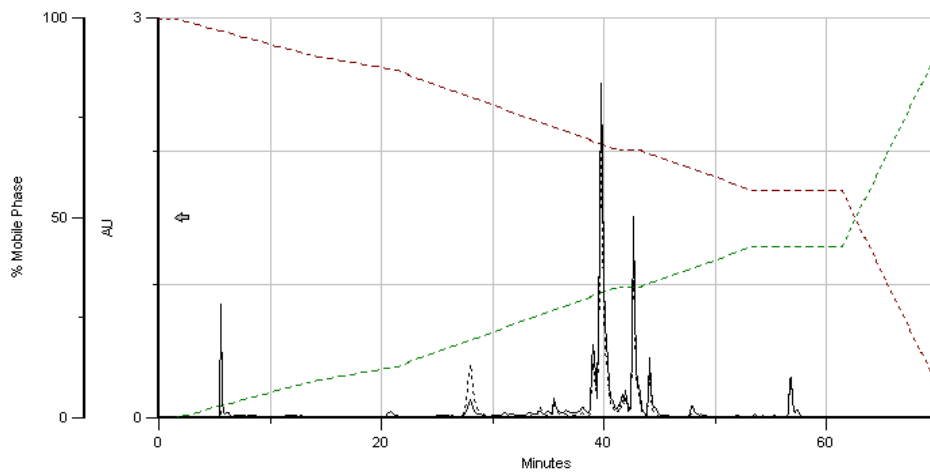
Chromatogramme des pollens d'*Acacia pycnantha*



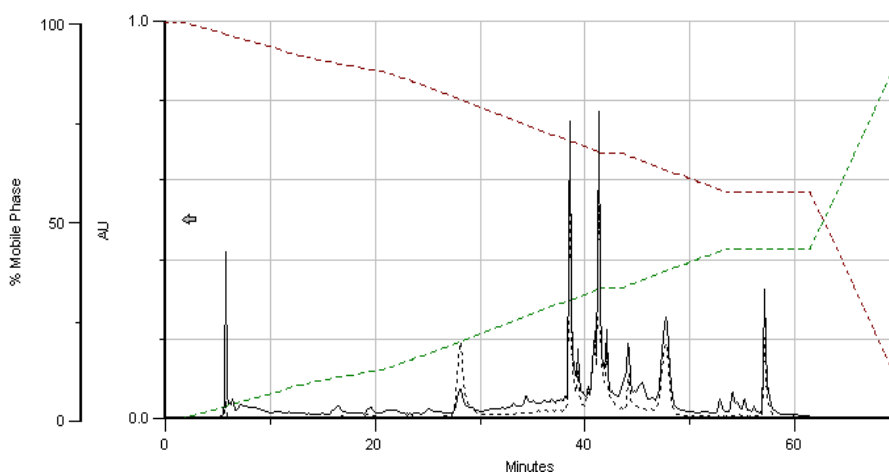
Chromatogramme des pollens d'*Anacyclus clavatus*



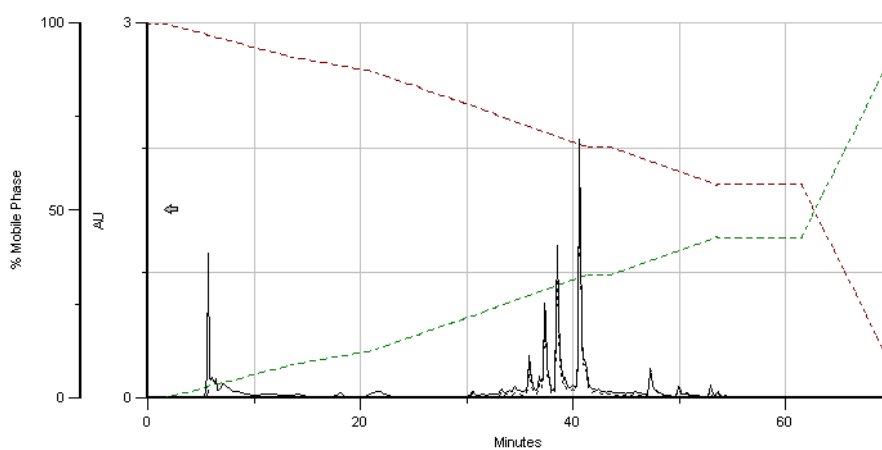
Chromatogramme des pollens d'*Anacyclus radiatus*



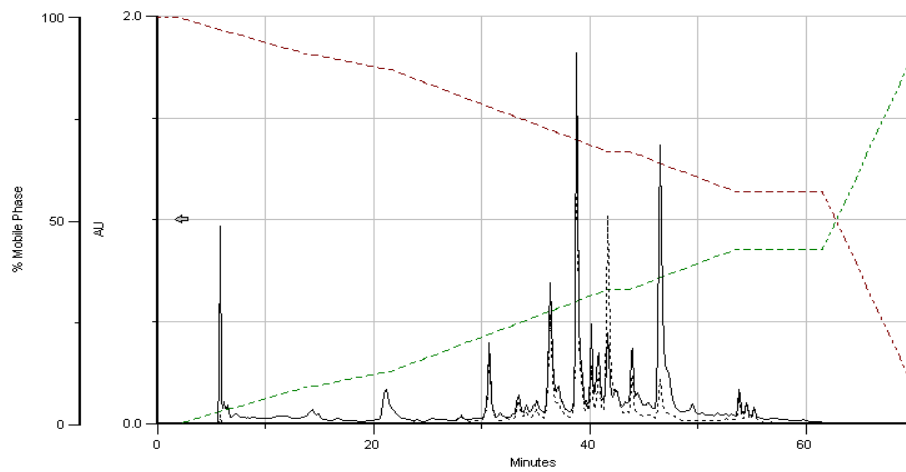
Chromatogramme des pollens d'*Anethum graveolens*



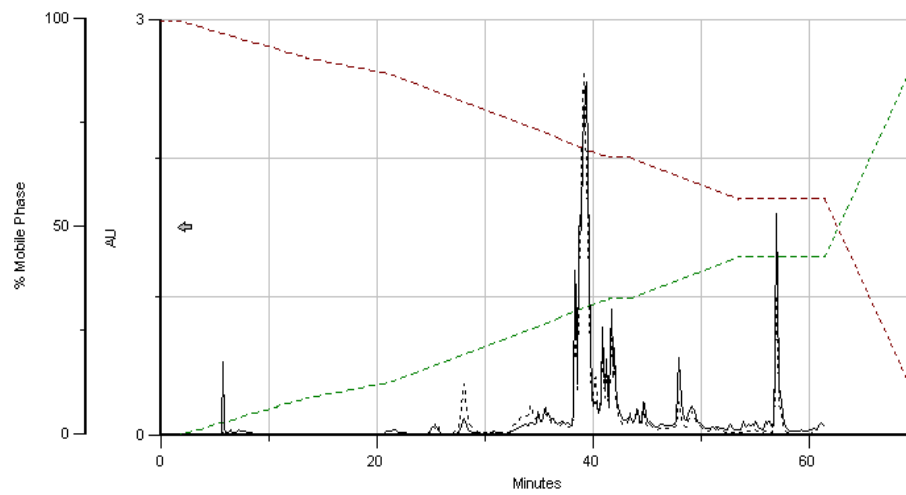
Chromatogramme des pollens de *Calendula officinalis*



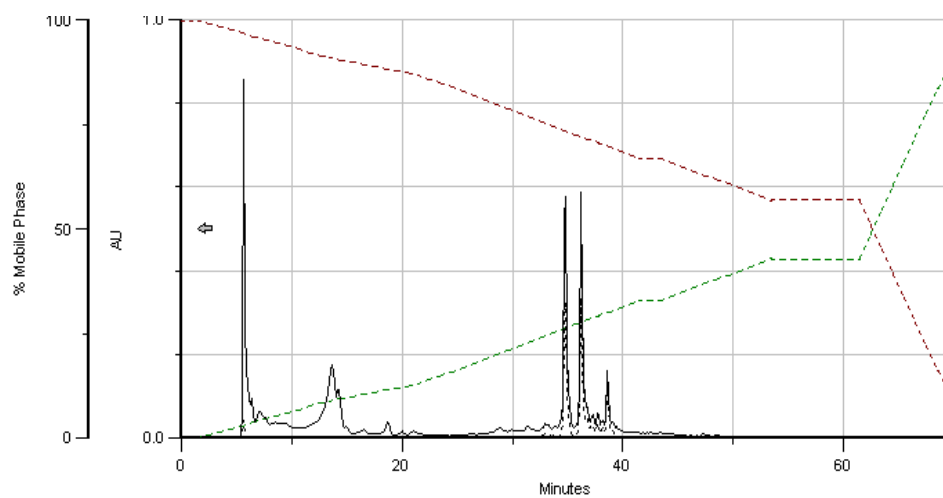
Chromatogramme des pollens de *Capparis spinosa*



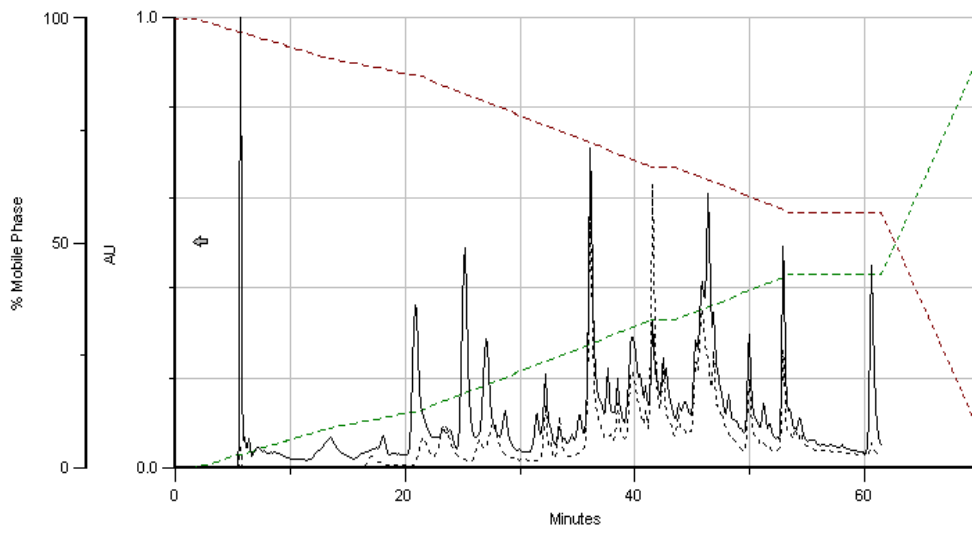
Chromatogramme des pollens d'*Echium creticum*



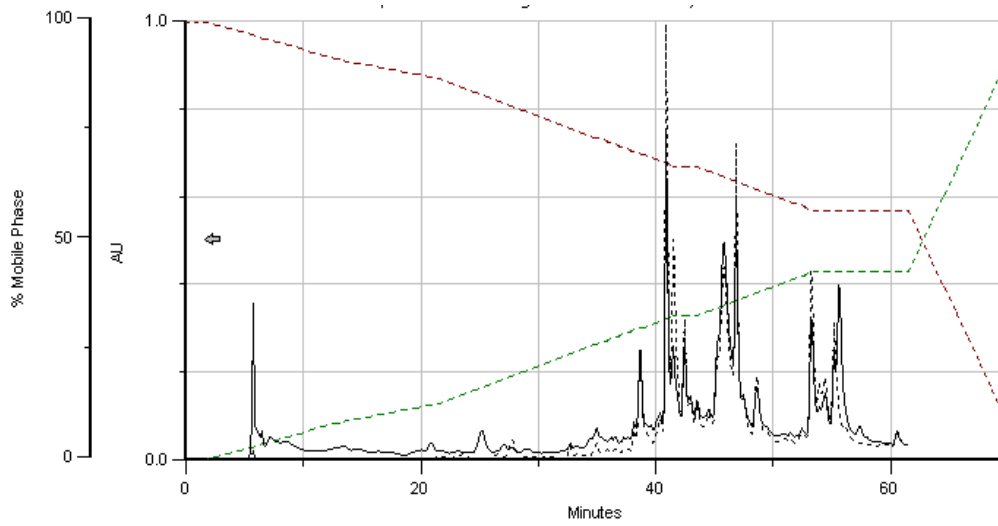
Chromatogramme des pollens de *Justicia adhatoda*



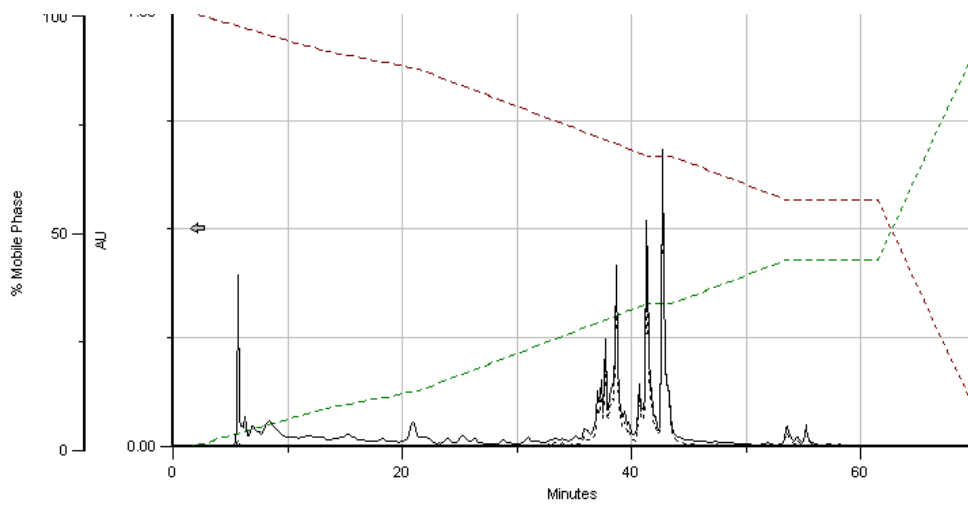
Chromatogramme des pollens de *Malva sylvestris*



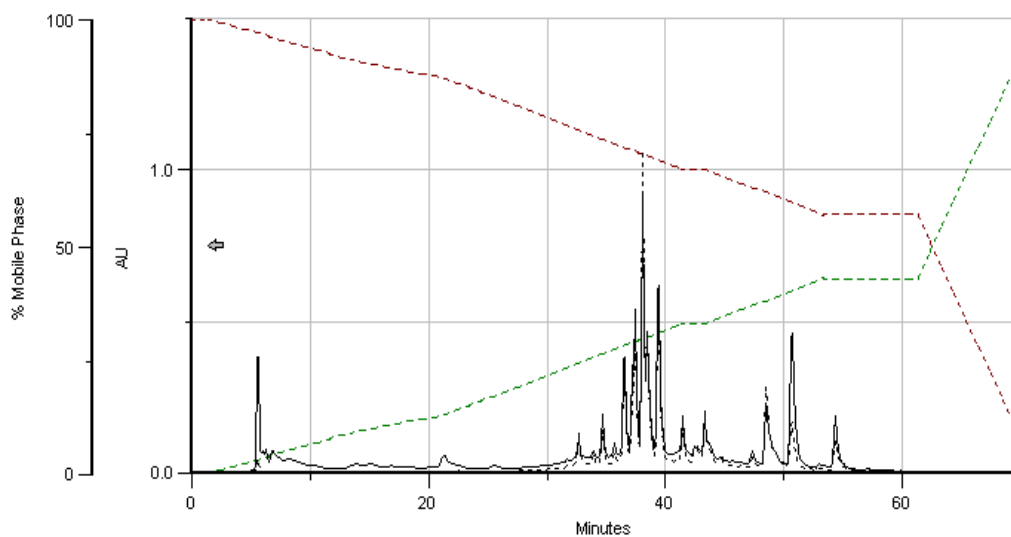
Chromatogramme des pollens de *Mentha pulegium*



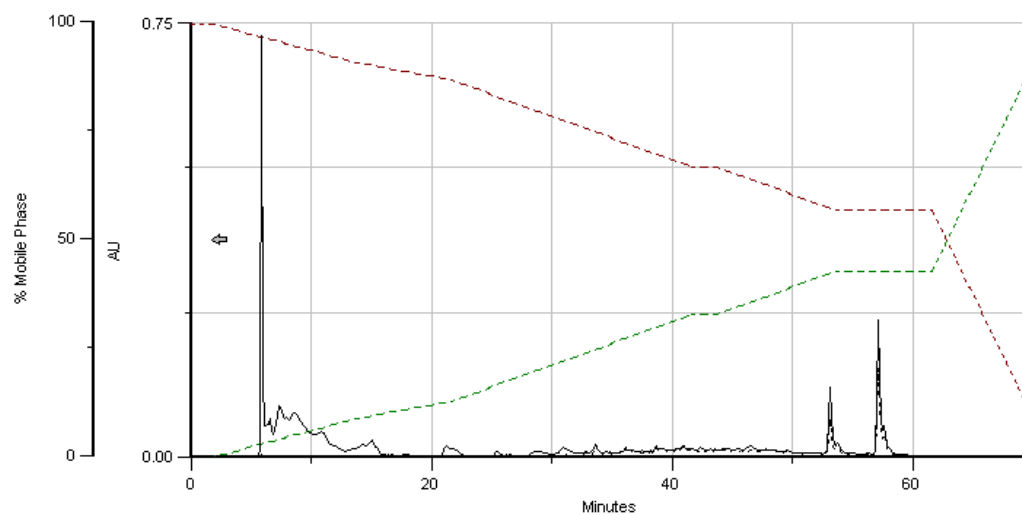
Chromatogramme des pollens de *Mentha Spicata*



Chromatogramme des pollens d'*Opuntia ficus-indica*



Chromatogramme des pollens de *Papaver rhoeas*



Chromatogramme des pollens de *Scolymus hispanicus*