



N° d'ordre 27/2017

Fès, 5/07/2017

## THÈSE DE DOCTORAT

Présentée par

**M<sup>lle</sup> Btisam OURID**

Discipline : Biologie

Spécialité : Biotechnologie

### **Valorisation d'Artemisia herba alba Asso de l'oriental du Maroc : Caractérisation chimique et bioactivité des huiles essentielles**

Thèse présentée et soutenue le 15/07/2017 devant le jury composé de :

<b>Aziz ALAOUI BELGHITI</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques de Fès</b>	<b>Président</b>
<b>Lahcen EL GHADRAOUI</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques de Fès</b>	<b>Directeur de thèse</b>
<b>Mohamed GHANMI</b>	<b>Centre de Recherche Forestière de Rabat</b>	<b>Invité</b>
<b>Bader SATRANI</b>	<b>Centre de Recherche Forestière de Rabat</b>	<b>Invité</b>
<b>Meryem BENJELLOUN</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques de Fès</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Abdelaziz SOUKRI</b>	<b>Faculté des Sciences Ain Chok de Casablanca</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Abdelaziz CHAOUCH</b>	<b>Faculté des Sciences de Kenitra</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Khalid DERRAZ</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques de Fès</b>	<b>Examinateur</b>
<b>Abdellah FARAH</b>	<b>Faculté des Sciences et Techniques de Fès</b>	<b>Examinateur</b>

**Laboratoire d'accueil :** Laboratoire de l'Ecologie Fonctionnelle et Environnement

**Etablissement :** Faculté des Sciences et Techniques Fès

# DEDICACES

**Dieu** merci de m'avoir donné la vie, puis la faculté d'accomplir la noble tâche d'apprendre, d'aimer le savoir et le courage de continuer dans ce chemin dans les moments les plus difficiles et pour cela je te remercie.

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

**À mes chers parents,**

Sans qui je ne serai pas là, Qui m'ont appris que la vie est un défi à vivre joyeusement et à ne jamais baisser les bras quelque soit les obstacles, ils me disent toujours : «Quand on veut, on peut».

**À mes chères sœurs Nazha, Ilham et Râjaa,  
À mes chers frères Hicham et Mohammed,**

Je vous remercie pour votre soutien, votre patience à mon égard. Les paroles m'échappent, tout simplement un grand merci pour votre grand amour, vos encouragements et vos services

**À mes adorables nièces et mes neveux** qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

**À toute la famille OURID, BOURICH, JARIF et ZIYAN.** Merci pour vos conseils, vos encouragements et surtout vos bénédictions et votre amour.

**À mes amis et collègues,**

**À tous mes professeurs,**

**À tous ceux qui se rappellent encore de mon nom.**

**À tous ceux qui aiment la science.**

# Remerciements

Notre présent travail a été réalisé dans le cadre d'une convention entre le Haut Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification et l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (N° 305 /HCEFLCD/SG/CRF) d'une part et du contrat de recherche entre la Faculté des Sciences et Techniques de Fès (FST) et le Centre de Recherche Forestière de Rabat (CRF) (N° 1528/HCEFLCD/SG/CRF) d'autre part.

Mes remerciements s'adressent à Mr **Mustapha IJJAALI**, le Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et Mr **Said HAJIB**, le chef du Centre de Recherche Forestière de Rabat, pour leurs soutiens constants apportés aux chercheurs et à la recherche scientifique.

Je tiens à exprimer également mes remerciements en particulier à Mme **Salwa EL ANTARY**, Ingénieur en chef, chef du Service de Sylviculture et Santé des forêts pour l'accueil qu'elle m'a réservée au sein de son service.

J'adresse aussi ma profonde reconnaissance à mon directeur de thèse Mr **Lahsen EL GHADRAOUI**, Professeur et chef de département de la Sciences de la Vie et de la Terre à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès qui a bien voulu diriger ce travail avec beaucoup de compétence et d'efficacité. J'ai eu le privilège de bénéficier de son enseignement et de son savoir. Je le remercie d'être toujours à l'écoute, de m'avoir toujours réservé le meilleur accueil d'être soucieux de mon devenir, j'espère de ne pas avoir déçu.

Je tiens à exprimer ma très grande considération à mes co-directeurs de thèse, Mr le Docteur **Mohamed GHANMI** et Mr le Docteur **Badr SATRANI**, Ingénieurs chercheurs au sien du Centre de Recherche Forestière de Rabat, qui m'ont fait l'honneur d'avoir dirigé ce travail par leurs conseils pertinents, leurs compréhensions, leurs aides précieuses et chaleureuses et la constante disponibilité dont ils ont fait preuve pour suivre le cheminement de ce travail.

A notre maître et président du jury Mr **Aziz ALAOUI BELGHITI**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès. Honorable maître, c'est un réel plaisir pour nous que vous avez accepté de présider notre jury de thèse. Votre rigueur scientifique, votre humilité et vos qualités humaines ne font l'ombre d'aucun doute. Veuillez accepter cher Professeur, mes sentiments de sincère reconnaissance.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Mme **Meriem BENJJALOUN**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, Mr **Abdelaziz SOUKRI**, Professeur à la Faculté

des Sciences Ain Chok de Casablanca et Mr **Abdelaziz CHAOUCH** Professeur à la Faculté des Sciences Kénitra, en acceptant d'être les rapporteurs de ce travail. Je suis très heureuse de bénéficier de leurs observations et je tiens à leur exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt.

J'exprime mes vifs remerciements à Mr **Khalid DERRAZ** Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et à Mr **Abdallah FARAH** Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès pour l'honneur qu'ils me font en examinant ce travail.

Un grand merci à tous mes collègues et camarade de laboratoire du CRF-Rabat, pour leur amitié de tout instant et surtout la bonne ambiance au sien du laboratoire, je citerai tout particulièrement Mlle **Mariam FATMI** et Mlle **Jalila OUJDAD**. Merci également à Mlle **Chaimaa RAIS** (Doctorante chercheur à la FST-Fès), Mr **Moulay El ghali SADIKI** (Doctorant chercheur à la FST-Fès) et Mr **Mounyr Balouiri** (Doctorant chercheur à la FST-Fès) pour leurs accueils à chaque fois chaleureux et amical.

Pour terminer, je souhaite remercier mes amis en particulier Mlle **Habiba DIHI** et ma famille, auprès de qui j'ai trouvé un soutien sans commune mesure. A ce titre, je souhaiterais dédier une pensée particulière à mes parents, mes frère et mes sœur, qui ont toujours répondu présents et ont été d'un grand secours moral en toutes situations.

*« À la lumière de la connaissance, l'heureux résultat semble presque aller de soi ; tout étudiant (...) peut l'appréhender sans trop de difficulté. Mais les longues années de tâtonnements, de recherches dans le noir, avec leur lancinante tension, l'alternance des périodes de confiance et de découragement, puis finalement la sortie vers la lumière, seuls ceux qui ont prouvé cela peuvent le comprendre. »*

*A. Einstein (1934).*

# RÉSUMÉ

Le travail entrepris vise la valorisation d'une plante aromatique et médicinale *Artemisia herba alba* par une caractérisation chimique et microbiologique des huiles essentielles issues des échantillons de différentes provenances de la région orientale du Maroc.

Nous avons recherché à identifier la composition chimique et évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* extraites par hydro-distillation, des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre dans six provenances du l'oriental.

Les résultats obtenus ont montré que le rendement en huiles essentielles varie selon la provenance et la date de récolte des échantillons. Ainsi, le meilleur rendement en huile essentielle a été obtenu des échantillons issus de la région d'Oued Asla (2,03%). Pour la date de récolte, ce sont les échantillons qui ont été récoltés le mois de juin (période de floraison) qui ont fourni les rendements les plus importants en huile essentielle. Les analyses qualitatives et quantitatives, par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, nous ont permis de montrer la richesse des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* en monoterpènes oxygénés, en particulier, l' $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthénone et le camphre dans les échantillons issus des six provenances étudiées et ceci, pour les quatre mois de récolte.

Quant à l'activité antimicrobienne "*in vitro*" des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*, vis-à-vis des microorganismes étudiés (quatre bactéries, trois moisissures et quatre champignons de pourriture du bois), les résultats obtenus ont montré que toutes les huiles essentielles présentent une activité antimicrobienne qui diffère selon le type de microorganisme testé ainsi que du profil chimique étudié.

**Mots-clés :** *Artemisia herba alba*, huile essentielle, valorisation, provenance, date de récolte, composition chimique et activité antimicrobienne.

# Abstract

The following work aims at the valorization of an aromatic and medicinal plant *Artemisia herba alba* through a chemical and microbiological characterization of the essential oils obtained from the samples of different provenances of the eastern region of Morocco.

We sought to identify the chemical composition and evaluate the antimicrobial activity of essential oils of *Artemisia herba alba* extracted through hydro-distillation. The samples were collected during the months of March, June, September and December in six provenances of the eastern region.

The results obtained showed that the yield of essential oils varies depending on the origin and the date of collection of the samples. Thus, the best yield was obtained from samples from the Oued Asla region (2.03%). Concerning the recolting date, the samples that were harvested in June (flowering period) produced the most important yields of essential oil. The qualitative and quantitative analyzes, by gas chromatography and gas chromatography coupled with mass spectrometry, allowed us to show the richness of essential oils of *Artemisia herba alba* in oxygenated monoterpenes, in particular  $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthenone and camphor in the samples from the six provenances studied, for the four months of recolting.

As for the antimicrobial activity "*in vitro*" of the essential oils of *Artemisia herba alba*, with regard to the microorganisms studied (four bacteria, three molds and four fungi of wood rot), the results obtained showed that all Essential oils present an antimicrobial activity which differs according to the type of the microorganism tested as well as the chemical profile studied.

**Key words:** *Artemisia herba alba*, essential oil, valorization, region, date of harvest, chemical composition and antimicrobial activity.

# Liste des abréviations

PAM	: Plantes Aromatique et Médicinales
HE	: Huile Essentielle
IPP	: Isopentenyle-Pyrophosphate
DMAPP	: Pyrophosphate de diméthyle
CPG	: Chromatographie en Phase Gazeuse
SM	: Spectrométrie de Masse
IRTF	: Infra-Rouge par Transformée de Fourier
IK	: Indice de Kovats
SIBE	: Sites d'Intérêt Biologique et Ecologique
CMI	: Concentrations minimales inhibitrices
CMB	: Concentrations minimales bactéricides
ATCC	: American Type Culture Collection
PDA	: <i>Potato Dextrose Agar</i>
TSA	: Tryptic Soya Agar

# Listes des figures

<b>Figure 1:</b> Répartition de l'armoise blanche et quelques plantes aromatiques et médicinales spontanées au Maroc .....	8
<b>Figure 2:</b> <i>Artemisia herba alba</i> dans son milieu naturel .....	9
<b>Figure 3:</b> Carte chimiotaxonomique de l' <i>Artemisia herba alba</i> dans quelque région de Moyen Atlas du Maroc.....	12
<b>Figure 4:</b> Schéma des interactions des plantes avec leur environnement via les composés organiques volatils (Dudareva et <i>al.</i> , 2006). .....	15
<b>Figure 5:</b> Schéma de biosynthèse des terpènes.....	17
<b>Figure 6:</b> Exemple de quelques monoterpènes .....	18
<b>Figure 7:</b> Exemples de quelques sesquiterpènes .....	18
<b>Figure 8:</b> Montage d'un appareil d'Hydrodistillation .....	24
<b>Figure 9:</b> Appareillage de Vapo-hydrodistillation.....	25
<b>Figure 10:</b> Appareillage de Vapo-distillation.....	25
<b>Figure 11:</b> Montage d'extraction par le CO <sub>2</sub> supercritique.....	27
<b>Figure 12:</b> Montage d'extraction assisté par micro-onde .....	28
<b>Figure 13:</b> Présentation schématique du principe de fonctionnement d'un chromatographe en phase gazeuse (CPG).....	30
<b>Figure 14:</b> Schéma d'un spectromètre de masse .....	31
<b>Figure 15:</b> Schéma de la technique de micro-atmosphère (Zaica, 1988) .....	33
<b>Figure 16:</b> Schéma de la technique des aromatogrammes sur Boite de Pétri.....	34
<b>Figure 17:</b> Carte des six régions d'échantillonnage d' <i>A. herba alba</i> .....	41
<b>Figure 18:</b> Photo de l'appareil d'hydrodistillation de type «Clevenger» .....	42
<b>Figure 19:</b> Souches bactériennes étudiées .....	46
<b>Figure 20:</b> Espèces de moisissures étudiées .....	46
<b>Figure 21 :</b> Champignons de pourriture du bois étudiés.....	47
<b>Figure 22:</b> Préparation des délutions de l'huile essentielle .....	48
<b>Figure 23:</b> Rendement moyen en HE en fonction de la provenance .....	52

<b>Figure 24 :</b> Rendement en HE des échantillons d'Oued Ait Makhoulf selon la date de récolte .....	57
<b>Figure 25:</b> Rendement en HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte .....	58
<b>Figure 26:</b> Rendement en HE des échantillons de Hassi Al Abyad selon la date de récolte	58
<b>Figure 27:</b> Rendement en HE des échantillons d'Oued Agba selon la date de récolte .....	59
<b>Figure 28:</b> Rendement en HE des échantillons d'Oued Alkharoub selon la date de récolte	59
<b>Figure 29:</b> Rendement en HE des échantillons d'Oued Asla selon la date de récolte.....	60
<b>Figure 30:</b> Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Ait Makhoulf.....	63
<b>Figure 31:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Ait Makhoulf.....	64
<b>Figure 32:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Ait Makhoulf.....	64
<b>Figure 33:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Ait Makhoulf.....	65
<b>Figure 34:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance d'Ait Makhoulf.....	65
<b>Figure 35:</b> Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus de la Reserve Aswiwinia .....	69
<b>Figure 36:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de Mars dans la Reserve Aswiwinia .....	69
<b>Figure 37:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la Reserve Aswiwinia .....	70
<b>Figure 38:</b> Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la Reserve Aswiwinia .....	70
<b>Figure 39:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours mois de décembre dans la Reserve Aswiwinia.....	71
<b>Figure 40:</b> Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus de Hassi Al Abyad.....	74
<b>Figure 41:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de Hassi Al Abyad.....	74
<b>Figure 42:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de Hassi Al Abyad.....	75

<b>Figure 43:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de Hassi Al Abyad.....	76
<b>Figure 44:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de mars dans la provenance d'Oued Agba.....	79
<b>Figure 45:</b> Distribution des (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance d'Oued Agba.....	79
<b>Figure 46:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Oued Agba .....	80
<b>Figure 47:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Oued Agba .....	81
<b>Figure 48:</b> Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Agba .....	81
<b>Figure 49:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de mars dans la provenance d'Oued Alkharoub .....	84
<b>Figure 50:</b> Distribution des (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance d'Oued Alkharoub .....	84
<b>Figure 51:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Oued Alkharoub.....	85
<b>Figure 52:</b> Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Alkharoub.....	85
<b>Figure 53:</b> Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Asla.....	88
<b>Figure 54:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de mars dans la provenance d'Oued Asla .....	88
<b>Figure 55:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Oued Asla.....	89
<b>Figure 56:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Oued Asla.....	89
<b>Figure 57:</b> Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Oued Asla .....	90

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Données chimiques des HE de l'A. <i>herba-alba</i> du Maroc.....	11
<b>Tableau 2:</b> Localisation géographique des six sites d'échantillonnage d'A. <i>herba alba</i> .....	41
<b>Tableau 3:</b> Degré d'efficacité Bactériostatique ou Bactéricide des HE.....	50
<b>Tableau 4:</b> Composition chimique de l'HE de l'A. <i>herba-alba</i> selon la provenance .....	53
<b>Tableau 5:</b> Variation de la composition chimique des HE des échantillons d'Oued Ait Makhlouf selon la date de récolte .....	62
<b>Tableau 6:</b> Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE d'Oued Ait Makhlouf.....	66
<b>Tableau 7:</b> Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus de la provenance de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte .....	68
<b>Tableau 8:</b> Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE de la Reserve Aswiwinia .....	72
<b>Tableau 9:</b> Variation de la composition chimique des HE des échantillons Hassi Al Abyad selon la date de récolte.....	73
<b>Tableau 10:</b> Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE de Hassi Al Abyad.....	76
<b>Tableau 11:</b> Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus d'Oued Agba selon la date de récolte .....	78
<b>Tableau 12:</b> Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les huiles essentielles d'Oued Agba.....	82
<b>Tableau 13:</b> Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub selon la date de récolte .....	83
<b>Tableau 14:</b> Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaire contenus dans les HE d'Oued Alkharoub.....	86
<b>Tableau 15:</b> Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla selon la date de récolte .....	87
<b>Tableau 16:</b> Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE d'Oued Asla.....	91
<b>Tableau 17:</b> Variation de la composition chimique des HE analysées en fonction de la provenance et de la date de récolte .....	92
<b>Tableau 18:</b> Activité antimicrobienne des HE d'A. <i>herba alba</i> selon la provenance .....	95
<b>Tableau 19:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE issues des six provenances .....	97
<b>Tableau 20:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE selon la provenance .....	98

<b>Tableau 21:</b> Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons d'Oued Ait Makhoulf selon de la date de récolte .....	100
<b>Tableau 22:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Ait Makhoulf.....	102
<b>Tableau 23:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE d'Oued Ait Makhoulf selon la date de récolte .....	103
<b>Tableau 24:</b> Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte .....	105
<b>Tableau 25:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte .....	106
<b>Tableau 26:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte .....	107
<b>Tableau 27:</b> Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons de Hassi Al Abyad selon la date de récolte .....	109
<b>Tableau 28:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons de Hassi Al Abyad.....	110
<b>Tableau 29:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons de Hassi Al Abyad selon la date de récolte .....	111
<b>Tableau 30:</b> Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons d'Oued Agba selon la date de récolte.....	113
<b>Tableau 31:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Agba .....	114
<b>Tableau 32:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons d'Oued Agba.....	115
<b>Tableau 33 :</b> Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des échantillons d'Oued Agba selon la date de récolte.....	117
<b>Tableau 34:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Alkharoub .....	118
<b>Tableau 35:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons d'Oued Alkharoub .....	119
<b>Tableau 36:</b> Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des échantillons d'Oued Agba selon la date de récolte .....	121
<b>Tableau 37:</b> Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Asla	122
<b>Tableau 38:</b> Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons d'Oued Asla.....	123

# Sommaire

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	4
<b>I- PLANTES AROMATIQUES ET MEDECINALES</b> .....	5
1- Historique .....	5
2- Présentation de l'espèce étudiée .....	6
2-1- Origine .....	7
2-2- Localisation .....	7
2-3- Description botanique.....	8
2-4- Systématique.....	10
2-5- Utilisation .....	10
2-6- Composition chimique.....	11
<b>II- PRESENTATION DES HUILES ESSENTIELLES</b> .....	13
1- Localisation et lieu de synthèse .....	13
2- Rôle physiologique et écologique .....	14
2-1- Rôle physiologique .....	14
2-2- Rôle écologique .....	14
3- Propriétés physiques et chimiques.....	15
3-1- Propriétés physiques .....	15
3-2- Composition chimique.....	15
4- Paramètres influençant la composition chimique.....	19
4-1- Facteurs intrinsèques .....	19
4-2- Facteurs extrinsèques.....	19
5- Toxicité.....	20
6- Contrôle de qualité .....	21
7- Domaines d'utilisation.....	22
7-1- Médecine douce et industrie pharmaceutique .....	22
7-2- Parfumerie et cosmétologie .....	22
7-3- Industrie alimentaire .....	23
8- Méthodes d'extraction .....	23
8-1- Distillation .....	23
8-2- Extraction par solvant volatil.....	26
8-3- Expression à froid.....	26
8-4- Extraction par CO <sub>2</sub> supercritique.....	27
8-5- Extraction assistée par micro-onde.....	27
9- Méthodes d'analyses .....	28

9-1- Identification des constituants d'un mélange complexe.....	28
10- Activité antimicrobienne .....	32
10-1- Mode d'action.....	32
10-2- Techniques d'étude d'activité antimicrobienne.....	33
10-3- Micro-organismes étudiés.....	36
<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>40</b>
<b>I- MATERIEL VEGETAL .....</b>	<b>41</b>
1- Provenance .....	41
2- Récolte des échantillons .....	42
<b>II- EXTRACTION DES HUILES ESSENTILLES.....</b>	<b>42</b>
1- Détermination du taux d'humidité.....	43
2- Calcul du rendement.....	43
<b>III- ANALYSES DES HUILES ESSENTIELLES .....</b>	<b>43</b>
1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	43
2- identification des constituants des huiles essentielle.....	44
2-1- Indices Kováts .....	44
2-2- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) .....	45
<b>IV- METHODE D'ÉTUDE DE LA BIOACTIVITE .....</b>	<b>45</b>
1- Microorganismes étudiés.....	45
2- Activité antimicrobienne .....	47
2-1- Préparation de la solution mère .....	48
2-2- Préparation des dilutions successive de l'huile essentielle.....	48
2-3- Préparation des milieux de culture avec les concentrations finales en huile essentielle .....	48
2-4- Ensemencement et incubation des boîtes de Pétri .....	49
2-5- Lecture des résultats et détermination de CMI.....	49
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>51</b>
<b>I- EFFET DE PROVENANCE SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES .....</b>	<b>52</b>
1- Rendement en HE des échantillons issus des six provenances .....	52
2- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus des six provenances .....	53
<b>II- EFFET DE LA DATE DE RECOLTE SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES .....</b>	<b>57</b>
1- Rendement des HE en fonction de la date de récolte .....	57
2- Composition chimique des huiles essentielle des échantillons issus des six provenances étudiées .....	61
2-1- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus d'Oued Ait Makhlouf.....	61

2-2- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de la Réserve Aswiwinia selon la date de récolte .....	67
2-3- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de Hassi Al Abyad selon la date de récolte .....	72
2-4- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Agba selon la date de récolte .....	77
2-6- Composition chimique des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla selon la date de récolte.....	86
3- Etude comparative de la composition chimique des huiles essentielle des six provenances selon la date de récolte .....	91
<b>III- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES SELON LA PROVENANCE</b> .....	94
1- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des six provenances étudiées .....	94
2- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons des six provenances .....	96
<b>IV- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTILLES EN FONCTION DE LA DATE DE RECOLTE.</b> .....	99
1- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Ait Makhoulouf en fonction de la date de récolte .....	99
2- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance Réserve Aswiwinia en fonction de la date de récolte .....	104
3- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de Hassi Al Abyad en fonction de la date de récolte .....	108
4- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus des échantillons de la provenance d'Oued Agba selon la date de récolte .....	112
5- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub en fonction de la date de récolte .....	116
6- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla en fonction de la date de récolte .....	120
<b>CONCLUSION GENERALE &amp; PERSPECTIVES</b> .....	126
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	130
<b>ANNEXES</b> .....	144

***INTRODUCTION GENERALE***

Depuis la nuit des temps, les Hommes se sont toujours soignés par les plantes qu'ils avaient à leur disposition, contre les maladies bénignes, rhume, toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose, la malaria ou autres. Ce n'est pas le hasard, qui a guidé la médecine traditionnelle à employer une plante plutôt qu'une autre. C'est, certainement, l'expérience qui a mené les gents à apprécier les vertus apaisantes et analgésiques des plantes.

Le contexte géographique du Maroc, situé entre deux mers, un désert et traversé par trois chaînes montagneuses, se traduit par une gamme complète de bioclimat méditerranéens. Cette diversité de bioclimats favorise une flore terrestre riche et variée de plus de 7000 espèces, sous-espèces et variétés dont 4500 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (Ptéridophytes et Phanérogames) (Mateuh., 1998). Les endémiques sont au nombre de 930 espèces et représentant 20,6 % de la flore marocaine (Aafi, 1995). De ce fait, le Maroc est considéré comme l'un des centres de diversité génétique le plus important pour plusieurs espèces. Parmi les principales plantes aromatiques et médicinales spontanées rencontrées au Maroc, nous pouvons citer le romarin, l'armoise blanche, le thym, le laurier sauce, la camomille, le caroubier, l'origan, la lavande, le lentisque, le myrte, les cistes etc. Ces plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent des ressources naturelles à forte valeur ajoutée, pouvant jouer un rôle important dans le développement socio-économique de certaines régions économiquement défavorisées. Nous noterons aussi le grand désir de retourner à la nature et aux plantes, malgré l'important développement de la chimie, la biochimie et l'analyse organique dans le domaine thérapeutique et médical. Certaines espèces sont fortement sollicitées par l'industrie pour en extraire des principes actifs, telles que le romarin et le myrte. Les exportations de PAM ont rapporté au Maroc près de 550 millions de DH, durant la campagne 2013-2014, selon le Haut Commissariat marocain aux eaux et forêts et à la lutte contre la désertification (HCEFLCD- Maroc).

Parmi la multitude de PAM existant au Maroc, figure le genre *Artemisia* qui appartient à la famille des Astéracées. C'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille, il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces réparties sur les cinq continents (McArthur 1979, Jung et al., 2007, Yin et al., 2008). Au Maroc, le genre représenté par treize espèces. Parmi les plus importantes, on trouve l'*Artemisia herba-alba* ou armoise blanche qui est une véritable mine de molécule naturelle très intéressante. Cette armoise blanche est également d'un grand intérêt économique au Maroc (Lawrence, 1985). Une seule voie d'exploitation industrielle d'*A. herba alba* est actuellement utilisée : la production d'HE pour la parfumerie de haute gamme. La consommation du marché local

sous forme d'herboristerie reste négligeable devant la première forme de valorisation industrielle. Cependant, l'huile essentielle d'*A. herba alba* se distingue par quatre principales races chimiques, *A. herba alba* à camphre, à  $\alpha$ -thujone, à  $\beta$ -thujone et à  $\alpha$ -thujone et camphre (Benjilali et Zrira, 2005). Par ailleurs, les régions de l'oriental, du Moyen Atlas, du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas constituent les principales zones des nappes d'*A. herba alba*, mais elles ne sont pas exploitées. L'estimation de la superficie est de l'ordre de 1,5 millions d'ha (Aafi, 2004).

Toutefois, aucun travail n'a été réalisé pour étudier les huiles essentielles d'*A. herba alba* dans la région de l'orientale du Maroc. C'est dans ce contexte s'inscrit l'objectif de notre travail qui consiste à valoriser cette espèce par la caractérisation de la composition chimique des huiles essentielles des échantillons d'*A. herba alba* issus des six provenances et l'évaluation de leur pouvoir antibactérien et antifongique sur différents micro-organismes, pour une meilleure valorisation et conservation de notre patrimoine végétal.

Le présent travail est divisé en trois parties :

Une première partie sera réservée à une étude bibliographique, comportant un aperçu général sur les plantes aromatiques et médicinales, leurs utilisations, leur dérivés ainsi que les différentes techniques d'extractions des huiles essentielles, suivis des principales méthodes conventionnelles utilisées pour leurs analyses et leurs pouvoirs antimicrobiens.

La deuxième partie concerne la partie expérimentale, mettant en évidence les techniques d'extraction et d'analyse des huiles essentielles, Ainsi que, les tests d'activités antimicrobiennes utilisés.

La troisième partie sera consacrée à la présentation des résultats et discussion et en fin la conclusion générale et les perspectives relatives au travail.

***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

## I- PLANTES AROMATIQUES ET MEDECINALES

### 1- Historique

L'utilisation des plantes aromatiques à des fins médicales, voire sacrées, est une science multimillénaire qui remonte aux plus anciennes civilisations : Chinoise, Indienne ou Aztèque, la trace d'utilisation médicinale est très ancienne. Ainsi vers 4000 ans avant J.C., les populations Babyloniennes et Sumériennes utilisaient certaines plantes pour se soigner, on en compte, environ 600 tablettes d'argiles mentionnant 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes qui sont décrits par certains auteurs Egyptiens (Fouché et *al.*, 2000). Le premier livre de l'empereur Shen Nung parlant sur les traitements des PAM revient en 2900 avant J.C.

En outre, Hippocrate, le plus célèbre des médecins grecs, utilisait souvent des narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (vomitifs) vers le 5<sup>ème</sup> siècle avant J.C. ; Al-razi ou Razés (865-925), fut l'un des plus connus en médecine et en pharmacie et est aussi, l'un des précurseurs de la psychothérapie. Suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037), ayant écrit le livre "Canon de la Médecine". Celui-ci, a servi de base à l'enseignement de la médecine dans les Universités de Louvain et Montpellier jusqu'aux environ 1650. Puis après, Ibn Al Baytar (1197-1242) avait rédigé le très complet somme des simples livre contenant une liste de 1400 préparations et plantes médicinales dont un millier étaient connues des auteurs grecs (Fouché et *al.*, 2000).

En effet, les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielle datent de l'an 3000 avant J.C. lors du règne du roi Mène II. Il existe d'autres traces qui témoignent de la persistance et de l'évolution de ces pratiques. Les huiles essentielles semblent donc, avoir accompagné la civilisation humaine depuis les premières utilisations des végétaux, ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation ou autres, tels que le romarin et le thym qui étaient associés comme emblème décoratif dans la pratique des cultes et dans la célébration des triomphes chez les Romains et les Grecs,

L'étape byzantine de la civilisation avait permis l'instauration des bases de la distillation et les huiles essentielles devenaient ainsi, l'un des principaux produits de commercialisation internationale. En effet, vers l'an mille, Avicenne, avait mis en place le procédé

d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent alors, les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Suite aux croisades des XI<sup>ème</sup> et XII<sup>ème</sup> siècles l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales s'est élargie en Europe et les huiles essentielles sont utilisées lors de l'épidémie de peste du XIV<sup>ème</sup> siècle. Et il faudra attendre le XVII<sup>ème</sup> siècle, pour que la notion d'huile essentielle soit reconnue officiellement. Apothicaires et herboristes, commencent à prescrire quelques huiles essentielles. Par la suite, les HE ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'extraction et d'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. Le terme d'aromathérapie a été créé en 1928 par René-Maurice Gatte fossé (1937), qui avait édité un ouvrage sur les HE et leurs propriétés. Actuellement, les HE de certains PAM sont largement connus par leurs effets sur la santé humaine.

## **2- Présentation de l'espèce étudiée**

L'armoise blanche ou l'*Artemisia herba alba* fait partie de la famille des Asteraceae, comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont, 750 endémiques, distribuées principalement dans les zones tempérées du globe.

Le genre *Artemisia* comprend environ, 350 espèces différentes qui se trouvent principalement, dans les zones arides et semi arides d'Europe, d'Amérique, d'Afrique du Nord, ainsi qu'en d'Asie. Les espèces d'*Artemisia* ont été employées dans la médecine traditionnelle par beaucoup de cultures, depuis les périodes antiques. Des thés de fines herbes de ces espèces ont été largement, employées comme agents analgésiques, antibactériens, antispasmodiques, hémostatiques, anthelminthiques et antidiarrhéiques (Ahmed *et al.*, 1990 ; Boujumea, 2005) alors que plusieurs extraits et huiles essentielles montraient un certain nombre d'activités biologiques, telles que l'activité antihyperglycémique (Drais *et al.*, 1986 ; Bessedik, 2016), antimicrobienne, antioxydante (El-Massry *et al.*, 2002 ; Guardia *et al.*, 2003) et anti-inflammatoire (Kim *et al.*, 2003). En outre, quelques espèces du genre *Artemisia* sont fréquemment utilisées pour le traitement de certaines maladies telles que la malaria, l'hépatite, le cancer et les infections par des champignons, des bactéries et des virus (Mueller *et al.*, 2000; Kordali *et al.*, 2005 et Ribnicky *et al.*, 2005).

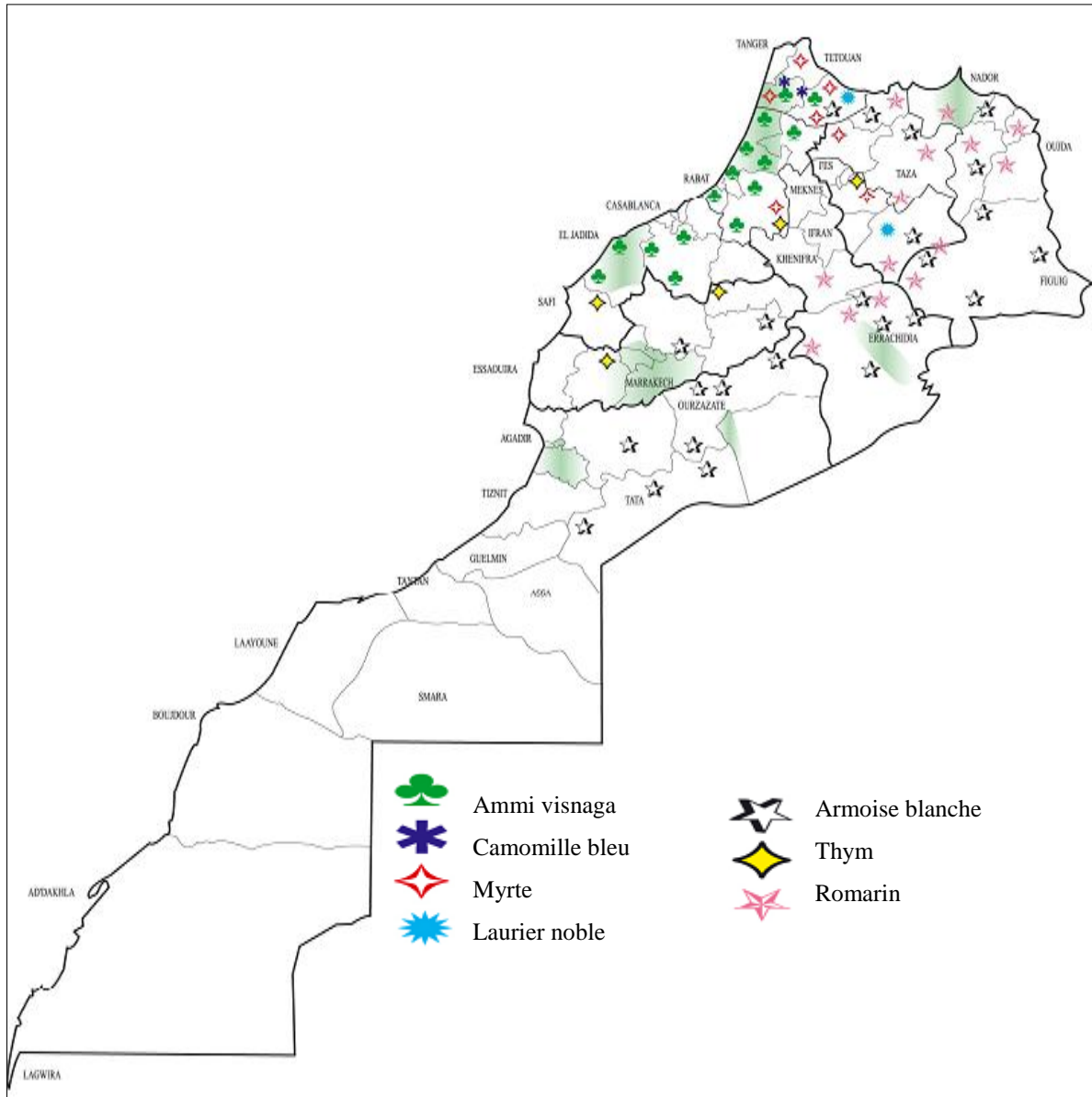
Historiquement, l'armoise a été un genre productif dans la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs. Les investigations phytochimiques ont montré que ce genre est riche en monoterpènes, sesquiterpènes, flavonoïdes et coumarines (Ourid et *al.*, 2016a ; Setzer et *al.*, 2004).

### **2-1- Origine**

Connue depuis des millénaires, l'armoise blanche a été décrite par l'historien grec Xénophon au début du IV siècle avant J-C, dans les steppes de la mésopotamie (Joannès, 2001). Elle a été ensuite répertoriée en 1779 par le botaniste espagnole Ignacio Claudio de Asso y del Rio. C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail, elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989).

### **2-2- Localisation**

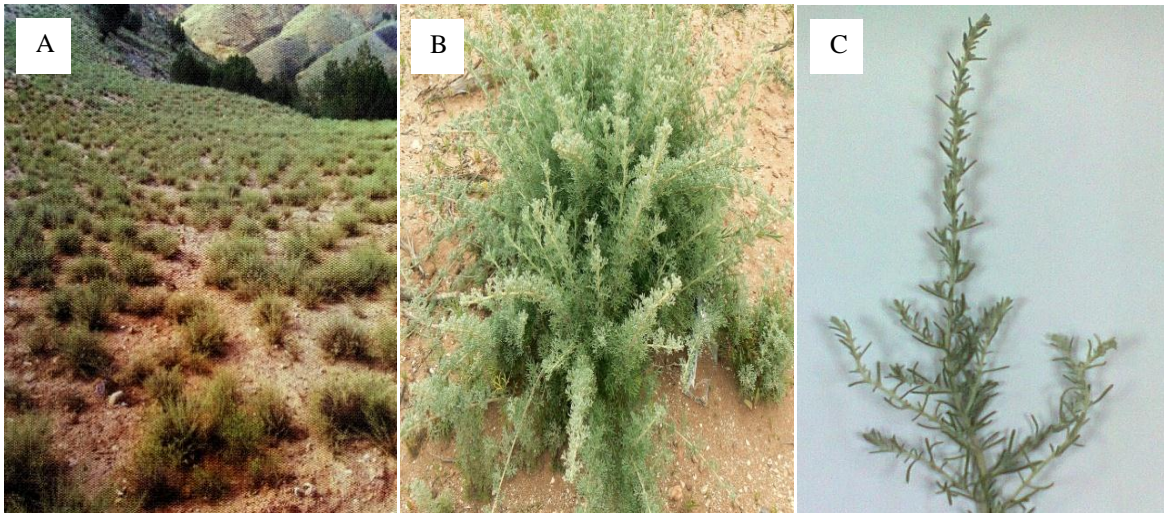
L'armoise blanche (*Artemisia herba alba*), s'étend depuis le littoral de l'Espagne méridionale jusqu'à la Palestine en passant par l'Afrique du nord et de l'Égypte. Au Maroc, elle s'étend sur les hauts plateaux de l'Est, de la Moulouya, dans la région Ouest aride du Haouz, dans les basses et moyennes altitudes (500 à 2000 m) du Moyen Atlas, Anti-Atlas et quelques stations dans le Rif Oriental (Hammoumi et Pourrat, 1982). Elle est rencontrée dans les bioclimats aride et semi-aride à variantes chaudes, tempérées et fraîches au niveau des étages de végétation thermo méditerranéen et méso méditerranéen (Figure 1).



**Figure 1:** Répartition de l'armoise blanche et quelques plantes aromatiques et médicinales spontanées au Maroc

### 2-3- Description botanique

*Artemisia herba alba* est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées de 30 à 50 centimètres de long. La touffe des tiges est plus importante selon la pluviométrie (Ozenda, 1985). Les feuilles sont courtes, alternées, très divisée, laineuses, blanche pubescentes et pennatipartites. Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent (Figure 2). Cette diminution de taille des feuilles entraîne une réduction considérable de la surface transparente, et par conséquent, permet à la plante de résister à la sécheresse (Pourrat, 1974). Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (1,5 à 3 mm) et ovoïdes.



**Figure 2:** *Artemisia herba alba* dans son milieu naturel

A: Nappe d'*Artemisia herba alba*; B: *Artemisia herba alba* ; C: Feuilles d'*Artemisia herba alba*

Les caractéristiques morphologiques et physiologiques de l'*A. herba alba* font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui sert à diminuer la surface transpirante et d'éviter ainsi, les pertes d'eau (Ourcival, 1992) Grâce à son dispositif racinaire, particulièrement dense à la surface, l'*A. herba-alba* est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies (Le Floc'h, 1989).

Cette espèce est aussi capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur (Floret et Pontannier, 1982) et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, surtout dans les sols à encroûtement calcaire (Ourcival, 1992). Chez les plantes âgées d'*Artemisia herba-alba*, la tige principale se divise en «branches» physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière (Evenari, et *al.*, 1980).

La floraison de cette espèce commence le plus fréquemment en juin, mais les fleurs se développent principalement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'armoise blanche présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (Nabli, 1989).

En effet, Ferchich et ses collaborateurs (2009), ont montré que le cycle annuel d'*A. herba alba* suit un modèle phénologique standard qui peut être décrit comme suit :

- Une période de débourrement automnal ;
- Une période de repos hivernal ;
- Une période de végétation active printanière ;
- L'apparition des bourgons floraux au mois de mai ;
- Un optimum de fructification au mois de décembre ;
- Un maximum de dissémination à la mi-février.

#### **2-4- Systématique**

La classification de l'*A. herba alba* la plus utilisée dans la systématique du genre *Artemisia* est celle donnée par Quézel et Santa (Quézel, et Santa 1963) et que nous pouvons résumer comme suit :

Embranchement : Spermatophytes

Classe : Dicotyledones

Ordre : Aristolochiales

Famille : Asteraceae

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia herba alba* (Asso)

*Artemisia herba alba* est connue sous le nom d'Ifsi (Tamazight), Chih (Arabe), armoise blanche (Français).

#### **2-5- Utilisation**

Au Maroc l'*A. herba alba*, est considérée comme une panacée en médecine traditionnelle (emménagogue, antidiarrhéique, antiplasmodique...) (Darias et al., 1986 ; Benjumea et al., 2005). Tandis qu'à l'échelle internationale, les extraits et les huiles essentielles d'*A. herba alba* sont largement connus par leur activités biologiques, telles que l'activité antimicrobienne (Ghanmi et al., 2010, Jehad Al-Shuneigat et al., 2014), antioxydante (Kordali et al., 2005, Adel Kadri et al., 2011), anti-inflammatoire (Guadria et al., 2003) et insecticide (Zaim et al., 2012).

## 2-6- Composition chimique

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle, ces molécules sont différentes selon l'origine géographique et la date de récolte de la plante. Par la suite de la diversité des molécules contenues dans une huile essentielle, lorsqu'une molécule est présente en fort pourcentage, on l'appelle le type chimique ou chémotype. Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais d'une composition chimique différente.

Cette classification capitale permet de sélectionner les HE pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace.

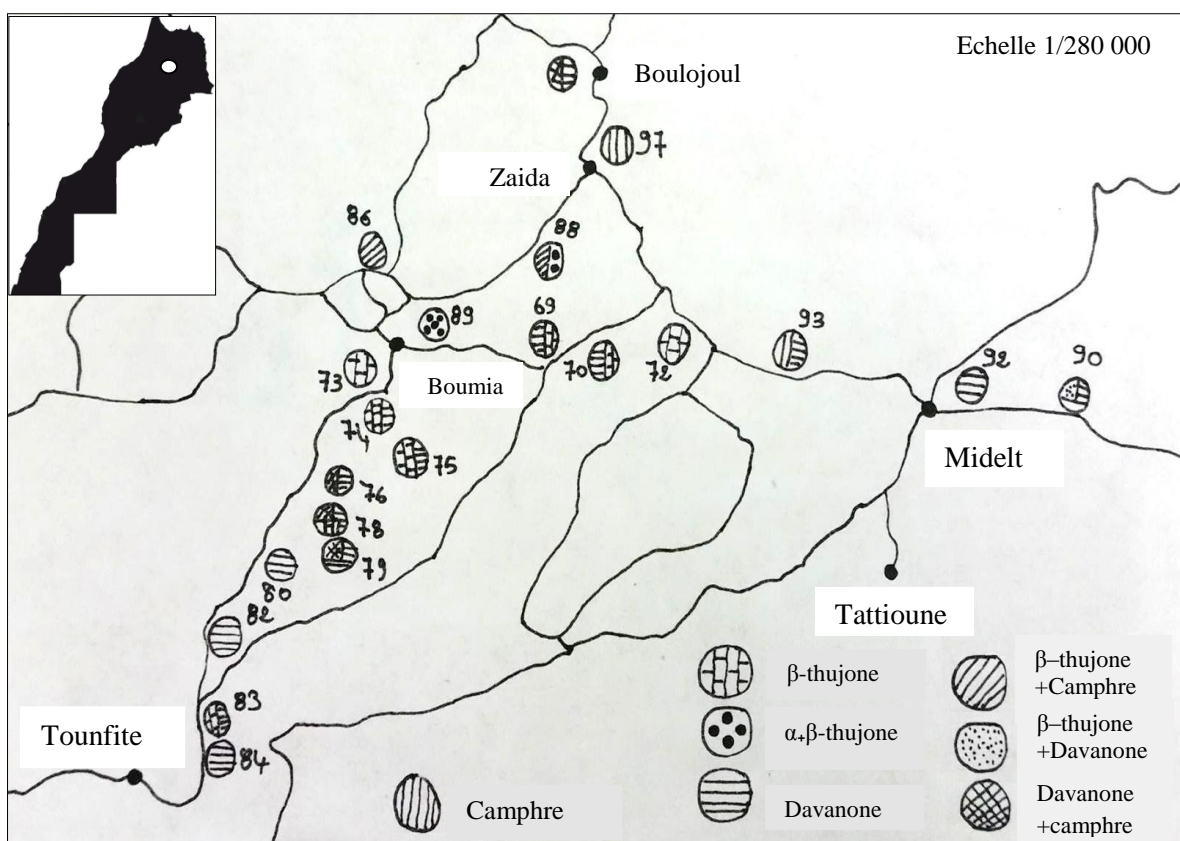
À titre d'exemple, Benjilali et Richard (1980) ont identifié dans l'huile essentielle d'*A. herba alba* du Maroc 8 chémotypes différents correspondant généralement, à des territoires bien différenciés (Tableau 1).

**Tableau 1:** Données chimiques des HE de l'*A. herba-alba* de quelques régions du Maroc

Chémotype	Pourcentage	Région
$\alpha$ -thujone	64 à 72%	Ouarzazate Errachidia
$\beta$ -thujone	41 à 81%	Boulmane Midelt Missour
Camphre	52%	Souss
Camphre et Cétone	40 à 46%	Nador Guercif Taourirt
Acétate de chrysantényle	38 à 71%	Versant nord du Haut Atlas Versant sud du Moyen Atlas
Davanone	39 à 55%	Ouarzazate Errachidia Souss
$\alpha$ -thujone et camphre	28 à 34%	Marrakech Essaouira
$\alpha$ -thujone et $\beta$ -thujone	40 à 42% 29 à 35%	Versant nord du Haut Atlas Versant sud du Moyen Atlas

Les autres substances contenues dans les huiles essentielles d'*A. herba alba* du Maroc, en quantité significative, sont le camphène, le cinéole- 1,8, le santalina-alcool et des dérivés de cet alcool, des composés à noyau furrannique. Dans la plante on a isolé aussi des flavonoïdes, des lactones sésquitérpiniques, des protides, des matières grasses, des glucides, des teneurs conséquentes en  $\beta$ -carotène, des sels de potassium (Benjilali, 1982).

Similairement, seize chémotypes de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* ont été trouvés, dont douze ayant les monotères comme composés principaux tandis que les quatre autres sont prédominés par les sesquiterpènes représentant la majeure partie de l'huile essentielle. Parmi les chémotypes trouvés, on peut citer à titre d'exemple : type  $\beta$ -thujone et type  $\beta$ -thujone-camphre dans les régions de Boumia (Lamiri et al., 1997) (Figure 3).



**Figure 3:** Carte chimiotaxonomique de l'*A. herba alba* dans quelque région de Moyen Atlas du Maroc

Ghanmi et ses collaborateurs (2010), ont été révélés l'existence de deux type de composition chimique dans les huiles essentielles d'*A. herba alba* des échantillons issus de la région de Guerçif, type "chrysanthénone et camphre" pour l'HE des échantillons récoltés durant les mois d'avril et de juin et type "chrysanthénone et  $\alpha$ -terpène-7-al" pour les échantillons récoltés au moi de septembre.

Cependant, ce polymorphisme remarquable pourrait être corrélé à des différences dans les caractéristiques écologiques, climatiques et aux lieux de prélèvement des échantillons, ainsi de la date de récolte.

## **II- PRESENTATION DES HUILES ESSENTIELLES**

Chaque fois, après avoir écrasé un pétale de fleur; une feuille, une branchette ou une quelconque partie d'une plante. Un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée.

Les huiles essentielles ont, à toute époque, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'Homme, qui les utilisaient pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. De nombreux travaux ont été réalisés dans ce sens, du fait de l'importance incontestable des HE dans divers secteurs économiques, comme par exemple, l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides (Bakkali et *al.*, 2008). Cependant, la définition retenue, est celle adoptée par la commission de la Pharmacopée Européenne (2008) : "huile essentielle étant le produit obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, par procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition".

Contrairement à ce que le terme "huile essentielle" pourrait laisser penser, celles-ci ne contiennent pas de corps gras, et ne sont pas essentielles dans le sens qu'elles sont nécessaires à la croissance. Leur composition chimique leur confère la propriété d'être biologiquement actives. Elles englobent toutes les classes chimiques : acides, aldéhydes, cétones, alcools, phénols, etc.

### **1- Localisation et lieu de synthèse**

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules végétales sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouverte d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules, dite cellules à huiles essentielles (*Lauraceae*) ou dans des poiles sécrétrices (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae*) ou dans des canaux sécrétrices (*Asteraceae*).

Les HE peuvent être stockées dans divers organes végétaux en fonction de l'espèce : les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rose,...), les sommités fleuries (tagète, lavande), les feuilles (laurier, eucalyptus), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre), les fruits (badiane), le bois (bois de rose, santal) ou les graines (ambrette, muscade) (Bruneton *et al.*, 1999 ; Oussla *et al.*, 2006 ).

Il est très intéressant de dégager des caractéristiques botaniques de certaines familles de plantes, en rapport avec la présence d'huiles essentielles. La famille des Astéracées étant la plus grande par le nombre d'espèces qu'elle englobe, environ 2000, et par leur présence sur tous les continents, autant dans les basses terres que les hauts plateaux. Ces plantes, considérées comme les plus évoluées, sont principalement des herbes qui se trouvent dans des zones sèches. Beaucoup de ces plantes contiennent des huiles essentielles. Il est à noter qu'un polymorphisme chimique est omniprésent chez les espèces de cette famille (Ntezurubanza, 2000).

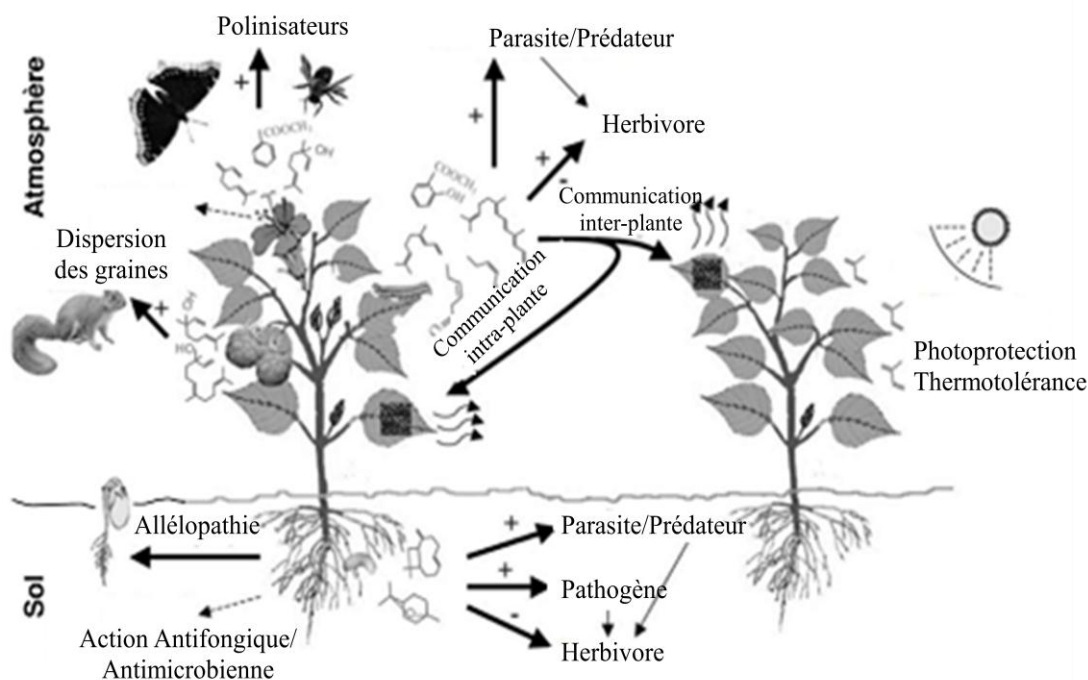
## **2- Rôle physiologique et écologique**

### **2-1- Rôle physiologique**

Les huiles essentielles sont produites en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu. Certains auteurs pensent qu'une plante utilise ses huiles essentielles pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. Alors que d'autres considèrent ces huiles essentielles, comme source énergétique, facilitant des réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979).

### **2-2- Rôle écologique**

Il semble que Les composés organiques volatils des huiles essentielles permettent à la plante de communiquer avec les plantes voisines (Baldwin, 2006) et également, entre ses propres organes. Ils lui servent également, de moyen de défense (Dudareva *et al.*, 2006 ; Kigathi *et al.*, 2009). Les interactions des plantes avec leur environnement via les composés organiques volatils sont résumées sur la figure 4.



**Figure 4:** Schéma des interactions des plantes avec leur environnement via les composés organiques volatils (Dudareva et *al.*, 2006).

→ Émission d'un signal pour attraction (+) ou répulsion (-); → Se nourrit/Attaque ;  
 ↪ Défenses induite par les COV ; ---- Défenses contre les pathogènes

### 3- Propriétés physiques et chimiques

#### 3-1- Propriétés physiques

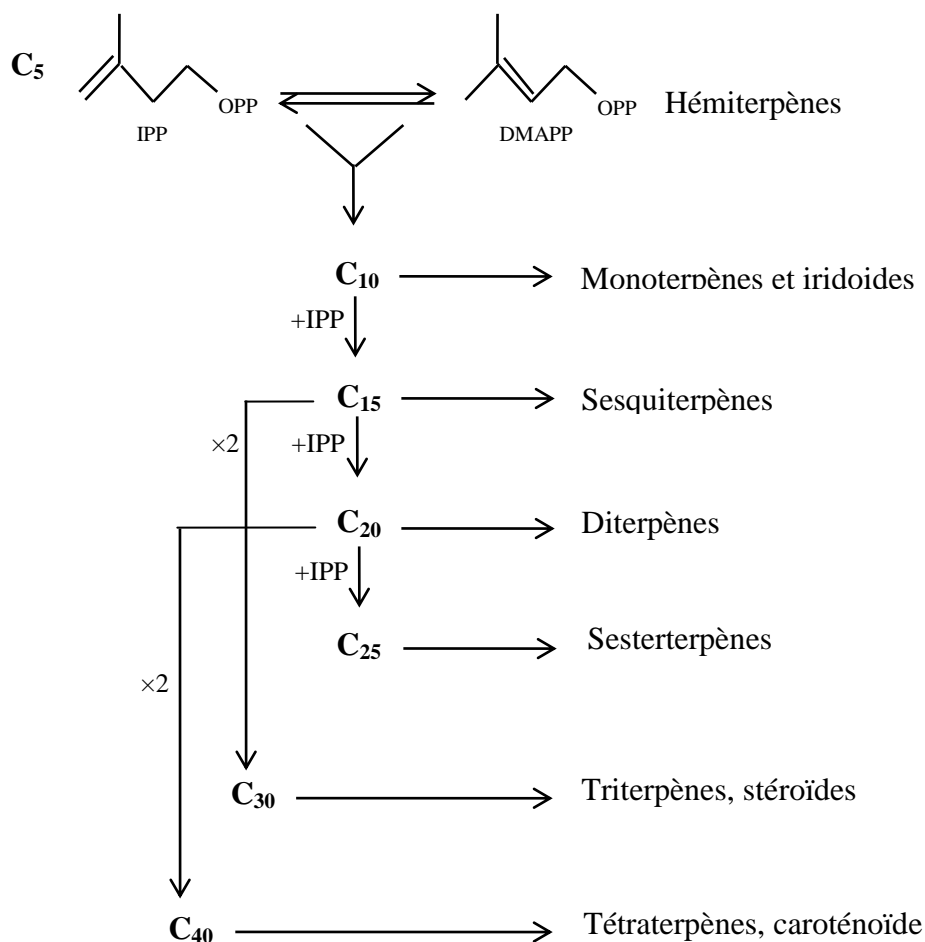
Les huiles essentielles sont des substances odorantes, volatiles contenues dans les végétaux. Liquides à température ambiante, elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement, inférieure à celle de l'eau à laquelle, elles sont généralement, peu miscibles, voire non miscibles. Liposolubles, elles sont en revanche solubles dans les solvants organiques usuels (Bruneton et *al.*, 2009).

#### 3-2- Composition chimique

Les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses (Garnero, 1991). Ainsi, par l'analyse instrumentale moderne, on peut reconnaître plusieurs dizaines voire des centaines de constituants dans une huile essentielle (vétiver, patchouli et géranium). Par contre, certaines HE ne contiennent que quelques composés, avec généralement, la prédominance d'un composé. Enfin les propriétés odorantes de ces HE sont souvent, sous l'influence de

plusieurs composés qui ne sont présents qu'à de très faibles proportions. L'ensemble de ces composés peut être divisé en deux grands groupes à savoir, les hydrocarbures terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes) et les composés oxygénés, qui sont considérés comme substances aromatiques (Kurt, 1982).

Biogénétiquement, le précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique, obtenu après condensation enzymatique de trois molécules d'acide acétique (Cane, 1999). Sa phosphorylation suivie d'une décarboxylation aboutie à l'unité isoprénique de base : l'isopentenyle-pyrophosphate (IPP). Il peut isomériser en pyrophosphate de diméthyle (DMAPP). Par condensation des deux molécules isomères, on obtient le pyrophosphate de géranyle (en C<sub>10</sub>). Une molécule de pyrophosphate de géranyle peut s'unir à une nouvelle molécule d'IPP et donner le pyrophosphate de farnésyle (C<sub>15</sub>), sesquiterpène auquel peut s'ajouter une nouvelle unité en C<sub>5</sub> pour former le géranyle-géranyle pyrophosphate (diterpènes en C<sub>20</sub>). Deux molécules de pyrophosphate de farnésyle peuvent se lier pour former un triterpènes (le squalène C<sub>30</sub>), et à partir des squalène, se formeront, d'une part les stéroïdes, et d'autre part les triterpènes cyclique (Ramos-Valdivia et *al.*, 1997 ; Ogura et Koyama, 1998 ; Koyama et Ogura 1999 ; Takahashi et Koyama, 2006) (Figure 5).



**Figure 5:** Schéma de biosynthèse des terpènes

(Modifiée d'après Bohlmann et Keeling, 2008)

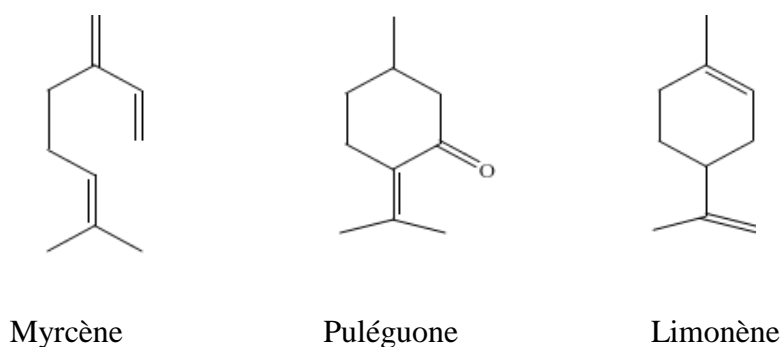
IPP : Isopentényl-pyrophosphate ; DMAPP : Diméthylallyl-pyrophosphate ; (C<sub>5</sub>) : Isoprène.  
(C<sub>10</sub>) : Géranyle pyrophosphate; (C<sub>15</sub>) : Franésyle pyphosphate; (C<sub>20</sub>) : Géranyle géranyle prophosphate

### a- Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes, dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), selon le mode de couplage "tête-queue". Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (Figure 6).

Dans la nature, ces molécules interviendraient dans l'attraction des insectes pollinisateurs (Croteau et *al.*, 2000). Les propriétés sensorielles de ces molécules leur confèrent un grand

intérêt commercial dans les industries agro-alimentaires et cosmétiques puisqu'elles composent les arômes et les parfums.

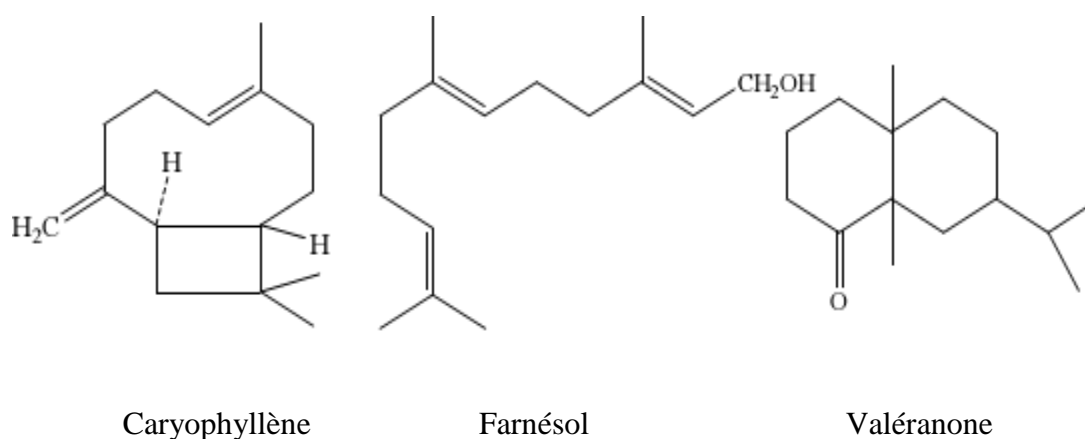


**Figure 6:** Exemple de quelques monoterpènes

### b- Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{15}H_{22}$  (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés, comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Figure 7).

Un très grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des HE des végétaux supérieurs et, en tant que tels, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles.



**Figure 7:** Exemples de quelques sesquiterpènes

#### **4- Paramètres influençant la composition chimique**

Les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales présentent une très grande variabilité, aussi bien au niveau de leur composition, qu'au niveau du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut entraîner une différence au niveau de leurs activités biologiques (Garnero, 1991 ; Bruneton, 1999 et Benini, 2007). Ceci peut être lié aux différents facteurs d'origine intrinsèque (génétique) de la plante ou extrinsèque (liés aux conditions de croissance et de développement de la plante).

##### **4-1- Facteurs intrinsèques**

###### **a-Facteur génotypique**

Les variations de la composition des huiles essentielles provenant d'un même phénotype se développent dans le même environnement sont l'expression de différences génotypiques. Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique ou à des mutations (polyploïdies, aberration chromosomique).

- Les hybridations introduisent une hétérogénéité dans un peuplement végétal et sont à l'origine de modifications dans la composition chimique des huiles essentielle ;
- En cas de polymorphisme génétique, la composition chimique de l'huile essentielle varie au sein du même genre (Bernard et *al.*, 1988) ;
- La composition chimique des HE change selon les races chimique ou chémotypes ou parfois des formes physiologiques quand il s'agit de la même espèce (Heinrich et *al.*, 1983).

###### **b- Facteur structural**

Le potentiel et la composition de l'HE dépendant de l'organe, ainsi la racine, l'écorce et les feuilles peuvent produire des HE différentes (Pingot, 1998). La position de l'organe végétal qui sert à l'extraction des huiles essentielles influence à son tour la composition chimique. Selon Alfatuni (2005) pour obtenir une composition parfaite d'HE à partir des feuilles, il est conseillé de les récolter de la partie basale de la plante, puisqu'elles contiennent plus de menthol et donnent une huile renfermant la majorité des composés d'autre organe.

##### **4-2- Facteurs extrinsèques**

Les causes potentielles de variation de la composition chimique des HE d'une plante aromatique et médicinale donnée sont : la température, la quantité de lumière, la

pluviométrie et les conditions édaphiques (Mohammad *et al.*, 2009 ; Olle et Bender, 2010). En outre, de nombreux travaux ont montré que d'autres facteurs peuvent influencer la composition chimique de ces HE, ainsi que leurs rendement : l'origine géographique de la plante (Marzoukia *et al.*, 2009 ; Ourid *et al.*, 2016a), les conditions culturales, à savoir la date de semis, de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte, de séchage et de conservation (Lahlou, 2004 ; Stefanini *et al.*, 2006a ; Benini, 2007).

## 5- Toxicité

Les plantes aromatiques et médicinales ainsi que leurs huiles essentielles ont été largement utilisées dans de nombreux domaines et plus particulièrement dans la médecine traditionnelle. Cependant, on en trouve celles qui présentent une certaine toxicité liée à un mauvais usage ou au non connaissance de ces substances. Donc, il serait d'une grande importance d'apporter un éclairage sur la cytotoxicité et la génotoxicité des huiles essentielles (Franchomme *et al.*, 2001). On en distingue plusieurs types des HE en fonction de leur composition.

**-Huiles essentielles dermo-caustiques :** Les HE riches en phénols, aldéhydes aromatiques et terpéniques sont irritantes pour la peau et les muqueuses. D'où une dilution d'HE est nécessaire avec une huile végétale (20% d'HE maximum dans 80% d'huile végétale) et une application sur des surfaces corporelles bien localisées (Baudoux, 2010). Ce principe de dilution est valable pour toute application d'HE sur les peaux sensibles.

**-Huiles essentielles allergisantes :** Les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique, les phénylpropanoïdes et les hyperoxydes sont les principales molécules responsables de l'allergie, dont le risque varie avec le terrain du patient (Franchomme *et al.*, 2001).

**-Huiles essentielles hépato-toxiques :** Les phénols à haute dose et sur une durée prolongée peuvent altérer les hépatocytes. Le plus toxique étant le carvacrol. Les pyranocoumarines (*Ammi visnaga*) sont aussi hépatotoxiques (Baudoux *et al.*, 2006). Pour des traitements plus longs, il est préférable d'appliquer des doses plus diluées.

**-Huiles essentielles néphrotoxiques :** L'absorption orale d'huiles essentielles riches en monoterpènes sur de longues périodes peut enflammer et détériorer, à terme, les néphrons.

La prudence s'impose pour l'absorption de ces huiles essentielles surtout pour les *Pinus* sp (toutes les espèces de Pin), les *Abies* sp (toutes les espèces de Sapin), les *Juniperus* sp (toutes les espèces de Genévrier), de même pour le *Santalum album* (Santal blanc de Mysore) (Barlier, 2014).

**-Huiles essentielles neurotoxiques et abortives :** Les cétones et les lactones peuvent se montrer agressives pour les tissus nerveux et développer une toxicité variable selon le type de cétone, la dose appliquée, la voie d'administration et la posologie. C'est le cas du *Thuya* occidental, d'*Aneth* odorante, de la sauge officinale... (Baudoux D., 2000 ; Franchomme P et al., 2007)

**-Huiles essentielles photo-sensibilisantes :** L'application cutanée des huiles essentielles contenant des furo- et pyro-coumarines provoque, sous exposition solaire, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogenèse (Franchomme et al., 2001). Toutes les essences des zestes de *Citrus* (Citron, Orange, Mandarine, Lime, Cédrat, Pamplemousse, Combawa) ainsi que *Ammi visnaga* (Khella) et *Angelica archangelica* (Angélique) peuvent présenter un risque de photosensibilisation après application et exposition solaire.

## 6- Contrôle de qualité

Les huiles essentielles doivent répondre à des normes analytiques, imposées par les pays importateurs ou exportateurs, et établies par des commissions nationales et internationales d'experts. Ces normes décrivent avec précision les caractéristiques physico-chimiques et chromatographiques que doit avoir une HE de qualité reconnue.

Le contrôle des HE s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants.

Les points de contrôles à effectuer pour se prémunir de la falsification des HE sont :

- Origine géographique.
- Espèce botanique: la dénomination latine précisant le genre et l'espèce (et parfois la variété) permet d'éviter les confusions.
- Organe producteur (feuilles, fleurs, fruits, écorces ...)
- Caractéristiques organoleptiques (couleur, odeur...).

- Cependant, la meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une HE reste le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître exactement la composition chimique et de chercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels, les pesticides ou des produits chimiques ajoutés.

Les huiles essentielles se conservent entre 2 et 5 ans, à l'abri de la lumière et de l'air. Il est donc indispensable qu'elles soient conservées dans un flacon brun, hermétiquement fermé.

## **7- Domaines d'utilisation**

Les HE sont des mélanges naturels à haute valeur ajoutée, utilisées dans de nombreuses industries aussi diverses que la parfumerie, la cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire ou encore l'aromathérapie. Elles entrent dans la composition d'un grand nombre de produits, tels que les additifs alimentaires (épices ou aromates), certaines préparations pharmaceutiques, de nombreux parfums, ou même de détergents. Les propriétés antiseptique des HE de plus en plus leurs utilisation à des fins diverse.

### **7-1- Médecine douce et industrie pharmaceutique**

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie, qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de troubles et de maladies humaines. Cette spécialité intéresse de plus en plus, les médecins et les pharmaciens qui ont ignoré un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie. Actuellement, un retour très net aux HE pour la désinfection des maladies infectieuses a été signalé. Ce retour est stimulé par le danger que représente l'usage de certains antibiotiques. Les HE ont une efficacité durable, sans aucune résistance, contrairement aux antibiotiques (Valnet et *al.*, 1978). Deux récepteurs offrent un abord évident quant à la puissance des HE : la peau et la sphère otorhino larynologique et broncho-pulmonaire (Franchomme, 1981). Cette efficacité des HE est due au fait qu'elles contiennent plus de 20 molécules actives différentes, tandis que dans le médicament de synthèse, on ne peut évaluer les interactions de plus de 3 molécules. Les HE ont donc, une action globale et un large spectre sur la physiologie.

### **7-2- Parfumerie et cosmétologie**

Un grand nombre d'HE est utilisé dans l'élaboration de la majorité des parfums, des produits de beauté, produits d'hygiène et produits de toilette. Ces essences servent à préserver ces

cosmétiques grâce à leur activité antiseptique, tout en leur assurant leur odeur agréable (Porter, 2001).

Le 1,8-cinéol connu commercialement, sous le non d'eucalyptol, est le principal constituant de la majorité des HE d'Eucalyptus. Il entre dans la fabrication des médicaments, des savons de toilette, des dentifrices et des lotions désodorisantes.

En plus de ces utilisations, Lahlou (2004) a aussi démontré la grande activité de plusieurs composés d'HE sur la microflore de la peau, d'où leurs utilisations dans des formulations cosmétiques et thérapeutiques. L'utilisation des HE dans la désinfection des locaux est assez courante.

### **7-3- Industrie alimentaire**

Les huiles essentielles peuvent être utilisées dans la conservation des denrées alimentaires. Elles y sont rajoutées pour rehausser le goût et pour empêcher les contaminants alimentaires (Svoboda et Hampson, 1999; Porter, 2001 ; Smallfield, 2001). Certains auteurs ont montré que les HE de certaines PAM, tels que le thym, l'origan et la cannelle ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogénèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infection alimentaire (Madhyastha et Bhat, 1984 ; Beraoud, 1991 ; Bilgrami et *al.*, 1992).

## **8- Méthodes d'extraction**

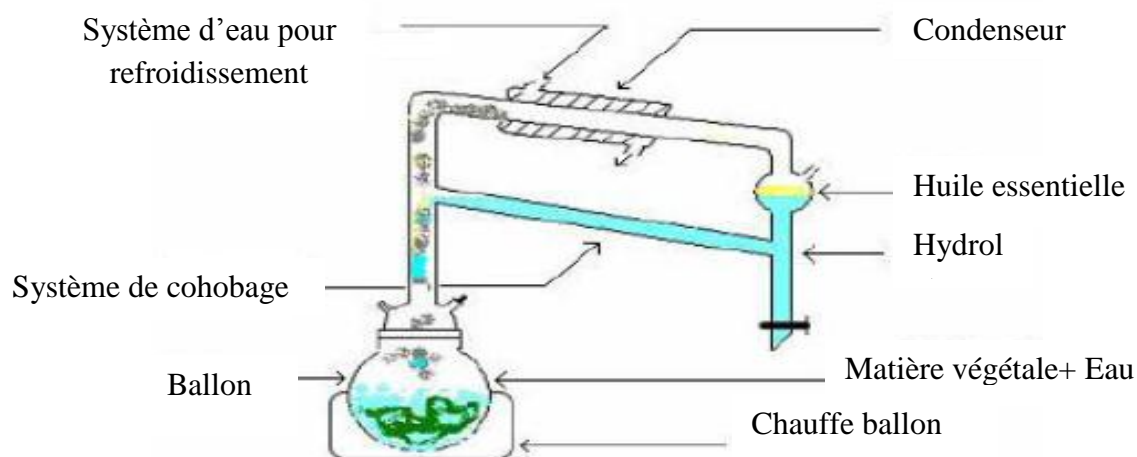
Parmi les nombreuses techniques d'extraction des huiles essentielles des PAM, la distillation étant la plus ancienne et est, la plus utilisée. D'autres techniques plus récentes restent d'un emploi très limité. En général, le choix de la méthode d'extraction des HE dépend de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en HE et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hillal, 2010). Parmi les différentes techniques, on distingue l'extraction par distillation, par solvant volatil, par expression à froid, extraction par CO<sub>2</sub> liquide et enfin l'extraction assistée par micro-onde.

### **8-1- Distillation**

#### **a- Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est le procédé chimique le plus ancien, et est le plus utilisé. Il convient le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique. Cependant, cette technique présente parfois des inconvénients non négligeables (Bruneton, 1993), dont le plus

important est un risque de discrimination des composés les plus volatils par dégradation thermique ou par hydrolyse (Richard, 1992). Cette méthode peut facilement être reproduite au laboratoire, celle-ci, consiste à placer le matériel végétal à distiller est placé dans un ballon avec de l'eau, en chauffant l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense (Figure 8). Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer où on distingue 2 phases : HE et eau aromatique (ou hydrolat).

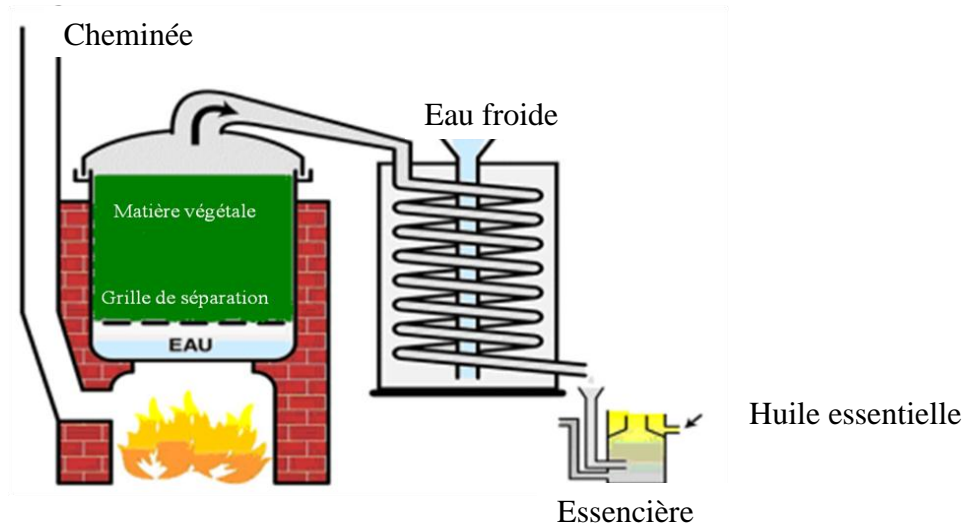


**Figure 8:** Montage d'un appareil d'Hydrodistillation  
(Ngkegni Limbili, 2012)

Le protocole est le même pour une extraction à grande échelle, mais le ballon et le chauffe-ballon sont remplacés par un alambic et l'erlenmeyer par un vase florentin.

### **b- Vapo-hydrodistillation**

A la différence de l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (Figure 9).

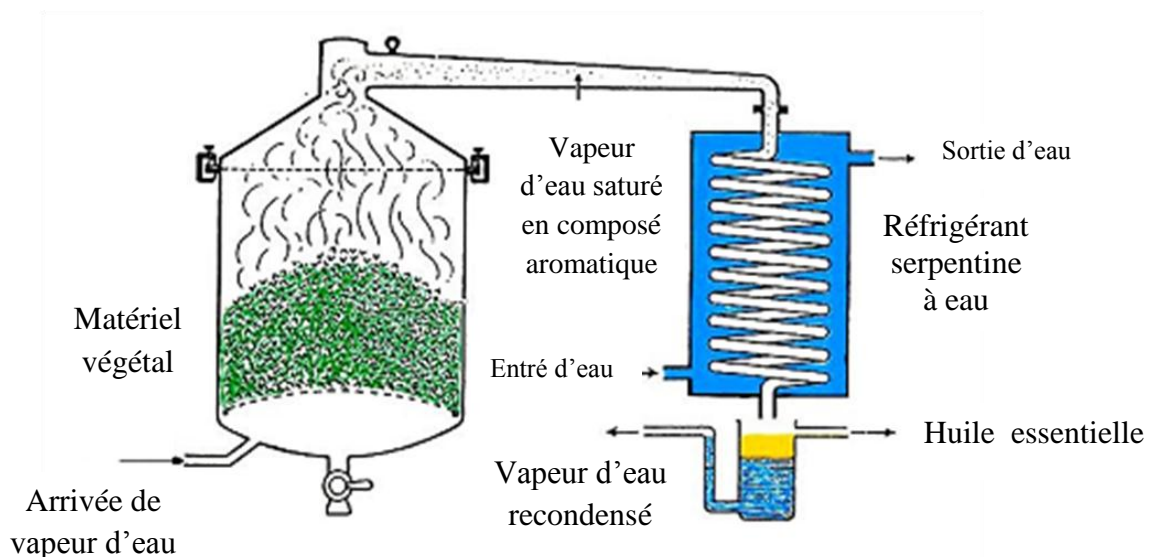


**Figure 9:** Appareillage de Vapo-hydrodistillation

La vapeur d'eau fournie par une chaudière, traverse la matière végétale située au dessus d'une grille et durant son passage à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'HE qui est vaporisée et puis condensée. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Baudoux et *al.*, 2012).

### c- Vapo-distillation

Dans cette technique d'extraction la vapeur est introduite en-dessous de la charge végétale à des pressions généralement supérieures à la pression atmosphérique. La vapeur provient d'une chaudière indépendante. Ce procédé permet une réduction du coût de l'opération suite à une faible consommation d'énergie (Pellerin, 2000) (figure 10).



**Figure 10:** Appareillage de Vapo-distillation

### **8-2- Extraction par solvant volatil**

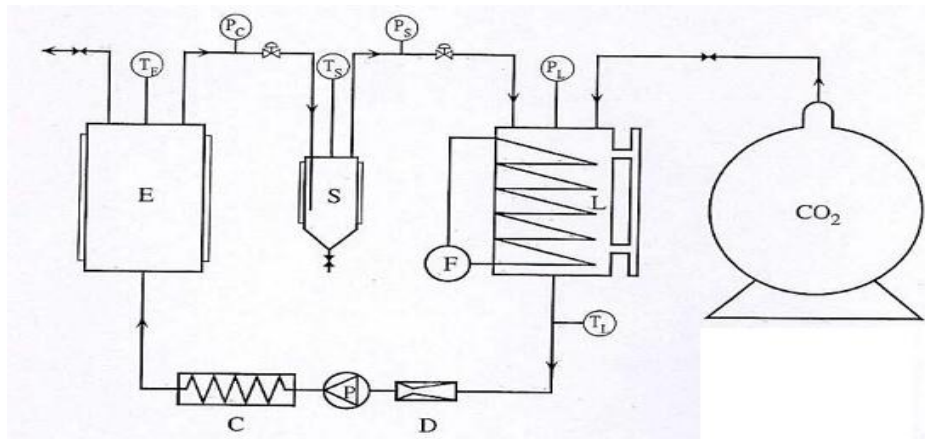
La technique d'extraction par solvant volatil, consiste à placer dans un extracteur la matière végétale à traiter et un solvant. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en huiles essentielles, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé sous pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau. Aussi les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres (Richard et Multon, 1992; Robert, 2000).

### **8-3- Expression à froid**

Le procédé d'extraction par expression à froid est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout habituellement de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle (Roux, 2011 ; Baudoux et *al.*, 2012).

#### 8-4- Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique



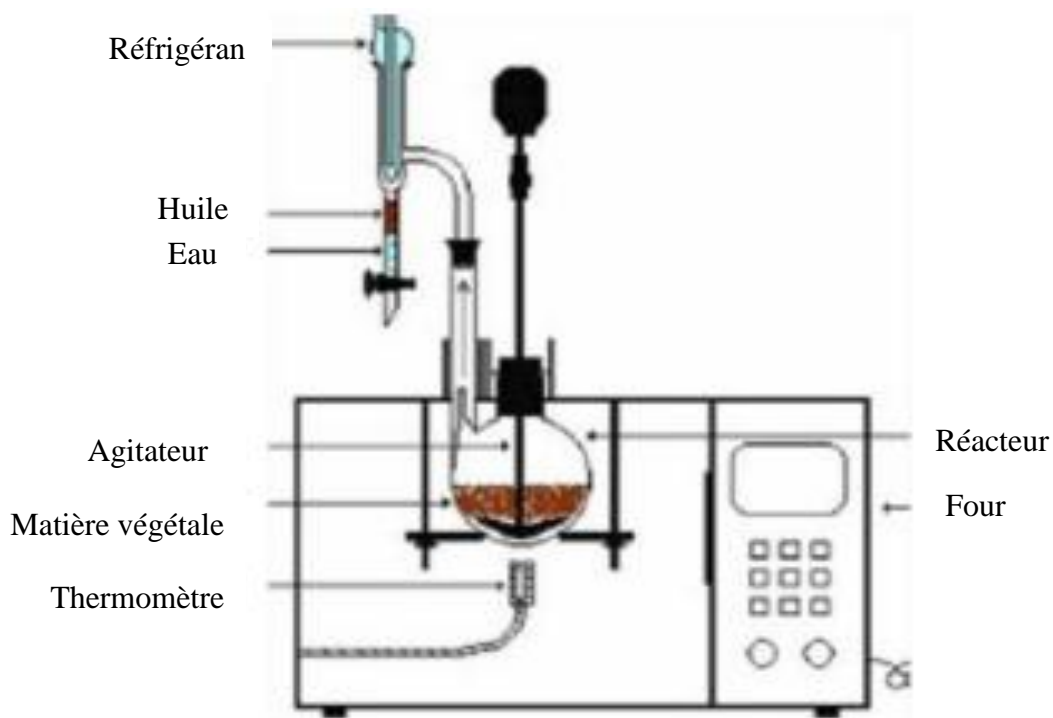
**Figure 11:** Montage d'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique

**E:** Extracteur **S:** Séparateur **L:** Liquéfacteur **P:** Pompe  
**F:** Echangeur froid **C:** Echangeur chaud **D:** Débitmètre

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique (Figure 11). Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pur se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Bruneton, 2009).

#### 8-5- Extraction assistée par micro-onde

Le procédé est basé sur la propriété d'absorption de l'énergie micro-onde par les composantes chimiques irradiées. Les paramètres utilisés pour mesurer cette propriété s'appellent les constantes diélectriques. En général plus la valeur absolue de cette constante est élevée, plus l'énergie micro-onde est absorbée. L'absorption de l'énergie micro-onde varie avec la fréquence de l'onde et de la température de la matière à extraire (figure 12) (Bruneton, 2009).



**Figure 12:** Montage d'extraction assisté par micro-onde

## 9- Méthodes d'analyses

Une bonne connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire aux industriels pour en contrôler la qualité et la régularité, en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation. En effet, ces HE constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des HE reste une étape importante qui, malgré le développement constant des méthodes de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques (Joulian, 1994).

### 9-1- Identification des constituants d'un mélange complexe

L'analyse des HE est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. La première approche, qui est la plus couramment employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique, généralement la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) permettant l'individualisation des constituants, avec une technique spectroscopique, la Spectrométrie de Masse (SM) et/ou la spectrométrie Infra-Rouge par

Transformée de Fourier (IRTF), permettant l'identification des constituants par comparaison des données spectrales avec celles de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. Les données spectrales sont systématiquement associées à l'utilisation des indices de rétention, qui sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane. Pour faciliter l'identification des composés minoritaires.

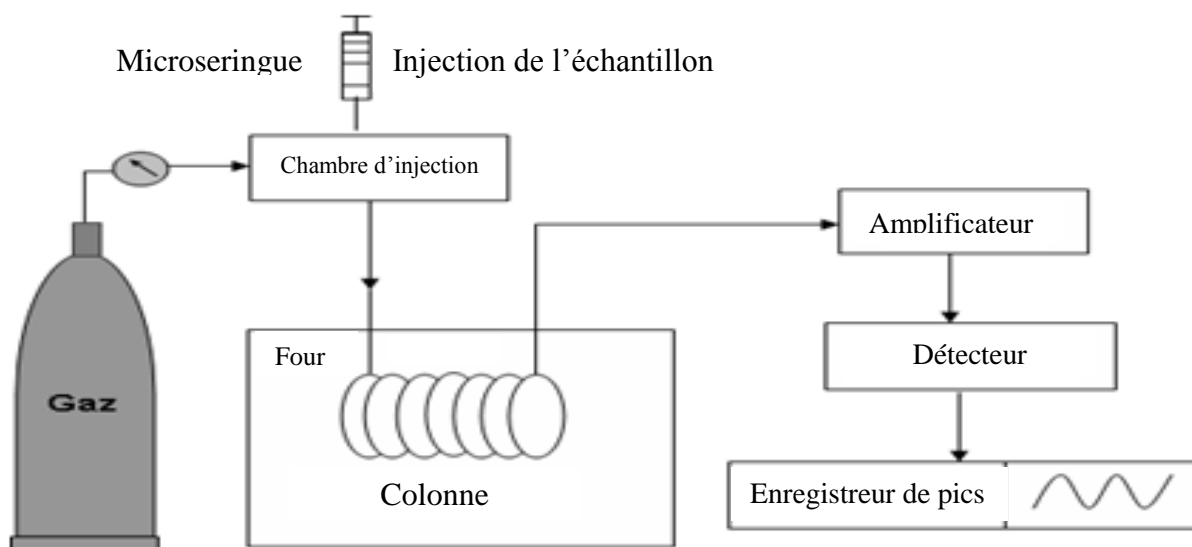
### **a- Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Arpino, 1995). La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des HE. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit.

Pour chacun des composés, deux indices de rétention, polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (Indice de Kováts) (Kováts, 1965) ou en programmation de température (Indice de Rétention) (Van Den Dool et Kratz, 1963). Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature.

Cependant, la combinaison de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (CPG/SM) ou plus rarement l'IRTF s'avère indispensable pour l'amélioration de l'identification d'un grand nombre de substances organiques, aussi bien gazeuses que liquides.

Un appareil chromatographique en phase gazeuse (CPG) comprend schématiquement trois modules spécifiques: injecteur, colonne contenue dans un four et un détecteur relié à un intégrateur sur lequel apparaît le chromatogramme (figure 13).



**Figure 13:** Présentation schématique du principe de fonctionnement d'un chromatographe en phase gazeuse (CPG)

- **Injecteur :** Il permet l'introduction, à l'aide d'une micro-seringue, de l'échantillon directement dans la colonne. Il est porté à une température élevée lui permettant de faciliter la vaporisation de l'échantillon. Cette température est toujours supérieure à celle du four en début de l'analyse. Pour assurer une bonne analyse chromatographique, en CPG, deux types d'injecteurs sont utilisés : l'injecteur Split et l'injecteur On-column. L'injecteur Split est actuellement le plus utilisé.

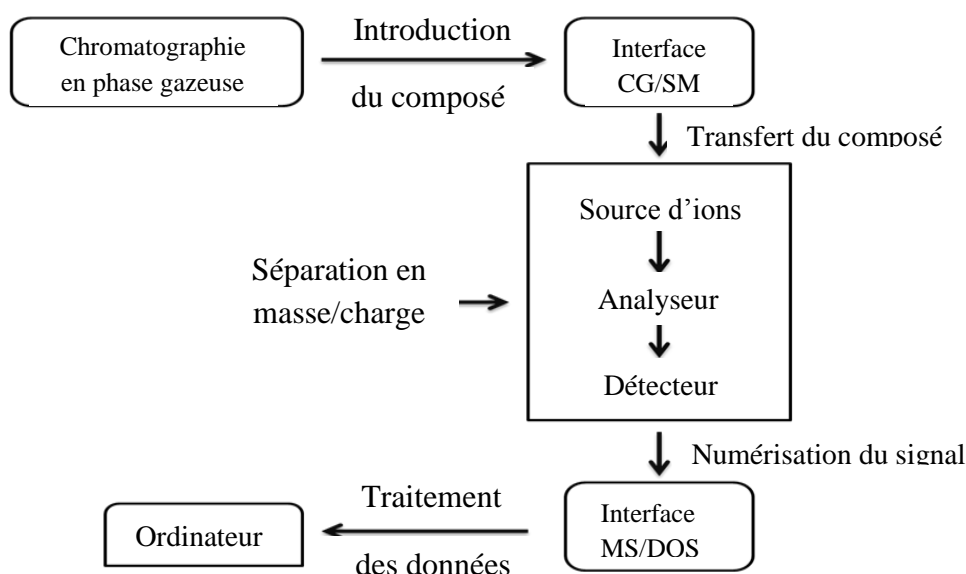
- **Colonne :** contient la phase stationnaire, dans laquelle se déroule la séparation. Le four permet de thermostatier la colonne. Deux types de colonnes sont essentiellement utilisés en CPG : colonnes capillaires et colonnes remplies. La température peut être constante ou variable.

- **Détecteur :** est placé à l'extrémité de la colonne. Il permet de détecter et mesurer les quantités des constituants contenus dans l'échantillon à analyser. Lors du passage d'une substance, le détecteur produit un signal électrique traité par un enregistreur. Le signal est proportionnel à la quantité de substance détectée. L'ensemble de ces signaux est appelé chromatogramme. Trois types de détecteur sont utilisés le cathétomètre, ionisation de flamme et détecteur à capture d'électrons. Le choix du type de détecteur est basé sur le fait que les détecteurs n'ont pas la même sensibilité pour tous les composés.

## b- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

Le couplage CPG/SM est la technique la plus utilisée dans le domaine des HE. Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996). En plus de leurs spectres de masse, il permet de recueillir des informations en vue d'élucider la structure des composés présents même en faible quantité dans un échantillon. Les composés sont parfois recensés dans les banques de données ou la littérature, en fonction de leur indice de rétention, soit l'indice de Kovats (IK) (c'est le temps qui s'écoule entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal maximum du soluté au détecteur).

Les spectres de masse sont constitués de quatre parties fondamentales. Un système de manipulation destiné à introduire l'échantillon inconnu dans le dispositif, une source d'ions, dans laquelle un faisceau de particules caractéristiques de l'échantillon est produit ; un analyseur ou filtre de masse qui sépare les particules en fonction d'une masse ; et un détecteur dans lequel les composants des ions séparés sont récupérés et caractérisés (Figure 14). Cet appareil peut également analyser des composés peu volatiles par introduction directe au niveau de la source, sans passage par le chromatographe. La comparaison des spectres de masse obtenus avec ceux présents dans une base de données constitue une aide à l'identification des composés.



**Figure 14:** Schéma d'un spectromètre de masse

## 10- Activité antimicrobienne

### 10-1- Mode d'action

Les HE sont utilisées depuis des siècles, mais la recherche scientifique sur leur activité antimicrobienne est récente, n'a débuté qu'en début du siècle dernier. Depuis, l'utilisation des HE s'est développée jusqu'à devenir une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques dans les pathologies infectieuses.

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson *et al.*, 2002). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielle sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de protons, fuite d'électrons et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu de type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions ( $k^+$ ) : ce mécanisme a été observé *in vitro* avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram<sup>+</sup> (*Staphylococcus aureus*), Gram<sup>-</sup> (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) (Cox *et al.* 2000 ; Carson *et al.*, 2002).

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organisme comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Knobloch *et al.*, 1989 ; Sikkema *et al.*, 1995). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez Entérobactérie aérogènes aussi été rapporté (Wendakoon, 1995). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse d'ADN, d'ARN, des protéines est des polysaccharides (Zani *et al.*, 1991)

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes. En générale, les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ grâce à la structure de leur membrane externe, plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram+ qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhère.

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman et Deans, 2000).

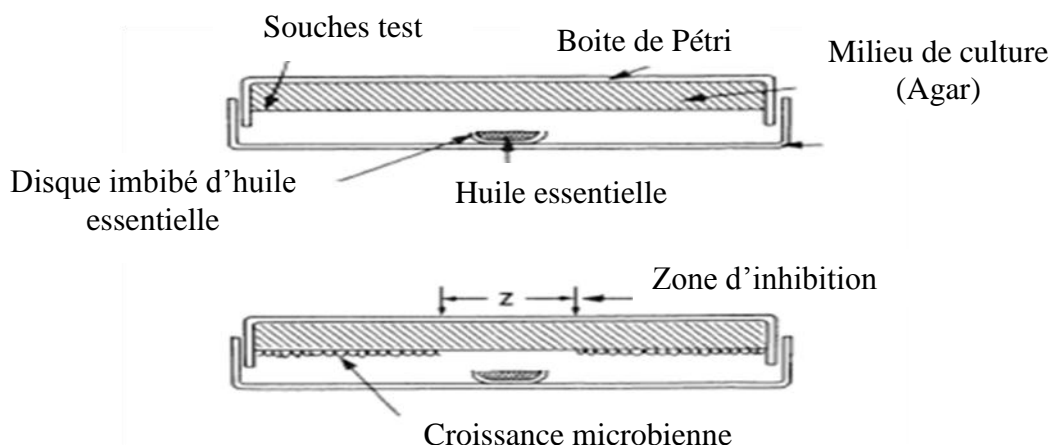
## 10-2- Techniques d'étude d'activité antimicrobienne

L'utilisation thérapeutique des HE, comme tous les antibiotiques et les fongicides, ne pourra être envisagé qu'après avoir subi un nombre de tests biologiques en particulier la détermination *in vitro* de leur spectre d'activité antimicrobienne. L'examen des données de la bibliographie fait apparaître la diversité des techniques utilisées. Elles se répartissent en trois principales catégories :

- Technique d'étude en phase vapeur : méthode de micro-atmosphère ;
- Technique de contact direct en milieu solide ;
- Technique de contact directe en milieu liquide.

### a- Technique de micro- atmosphère

Cette technique consiste à poser un disque de papier filtre imprégné d'une quantité déterminée d'huile essentielle au centre du couvercle d'une boîte de pétri sans entrer en contact avec la géloseensemencée par les germes (Figure 15) ; de ce fait l'essence n'agit qu'à l'état de vapeur (Kellner et Kober, 1954).

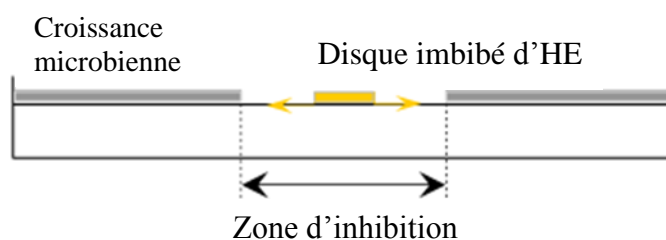


**Figure 15:** Schéma de la technique de micro-atmosphère (Zaica, 1988)

Cependant, cette technique ne permet d'évaluer qu'une partie de l'activité antimicrobienne éventuelle d'une essence, celle de la fraction la plus volatile. Les produits forçément à l'expérimentation.

### b- Technique de contact direct en milieu solide

C'est une technique utilisée essentiellement dans les laboratoires médicaux pour le titrage des antibiotiques dans les liquides organiques, appelée aussi technique d'antibioaromatogramme (Kar et Jain, 1971) (Figure 16).



**Figure 16:** Schéma de la technique des aromatochromes sur Boite de Pétri  
Technique de dilution en milieu de culture liquide ou gélosé

Le résultat s'exprime par la mesure de diamètre d'inhibition. Une variante de cette technique consiste à poser à la surface de la gélose des cylindres métalliques que l'on remplit avec l'huile essentielle qui va diffuser dans la gélose et détermine l'inhibition des germes. Cette technique est parfois améliorée par l'utilisation de détergent pour faciliter la diffusion de l'huile essentielle dans la gélose.

Cette technique de diffusion a été critiquée par un grand nombre d'auteurs, elle présente les inconvénients suivants :

Le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles car leurs différents constituants ne diffusent pas tous de la même façon dans le milieu gélosé. Il varie aussi en fonction de la densité de l'inoculum et de l'épaisseur du milieu de culture (Janssen et *al.*, 1986).

Cependant, La densité de l'inoculum a fait l'objet de plusieurs études, King et *al.* (1972) ont avancé qu'une augmentation de la densité de la population microbienne exige des concentrations élevées en huile essentielle ou en ses constituants pour l'éliminer. Par ailleurs cette influence de l'effectif de l'inoculum sur l'activité antimicrobienne est un phénomène bien connu avec les antibiotiques (Handwerger et Tomazes, 1985 ; Drugeon et *al.*, 1991).

Remmal et ses collaborateurs (1993) ont essayé de trouver une densité optimale de l'inoculum permettant d'obtenir des valeurs de concentrations minimales inhibitrices (CMI) fiables et reproductibles. Il a utilisé des inocula comportant un nombre croissant de bactéries par dépôt. Les résultats ont montré une variation non négligeable des CMI qui passent du simple au double pour la même bactérie, avec la même huile essentielle quand la densité d'inoculum varie. En général, les CMI augmentent avec la densité de l'inoculum bactérien.

### **c- Technique de dilution en milieu de culture liquide ou gélosé**

L'étude de l'activité antimicrobienne des essences par dilution directe en milieu liquide ou solide était toujours pour les chercheurs un problème complexe à aborder à cause de leur insolubilité dans l'eau. Ils ont tenté de solubiliser les huiles essentielles avant de les introduire dans le milieu de culture, mais les solvants par leur action bactéricide peuvent fausser aussi le résultat.

Pour éviter cet écueil, Raymond (1961) dans ses travaux, a déposé un disque du papier buvard imprégné d'une quantité déterminée d'huile essentielle au fond du tube à essai contenant un bouillon de cultureensemencée de bactéries.

Plus tard, Allegrini et ses collaborateurs (1972) ont dispersé les huiles essentielles dans une solution de détergent (Tween 80). Morris et ses collaborateurs (1978), ont solubilisé les HE dans l'éthanol avant de les introduire dans le bouillon de culture. En faisant varier les concentrations d'HE, on peut déterminer les CMI et par repiquage, on peut déterminer les concentrations minimales bactéricides (CMB).

Cette technique de détermination de la CMI et la CMB en milieu gélosée ou liquide a été mise au point par Tantaoui et ses collaborateurs (1992), et modifiée par Remmal et ses collaborateurs (1993). C'est une méthode inspirée d'une technique d'étude de l'effet de certains antibiotiques sur les bactéries (Courvalin et *al.*, 1985) et d'une méthode d'étude des propriétés antiseptiques des HE (Beylier et Maurel, 1976), modifiée par Benjilali et ses collaborateurs (1986) en raison de l'insolubilité des HE dans les milieux de culture pour microorganismes.

Elle consiste à disperser l'agent antimicrobien à des concentrations variables de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié (Drugeon et *al.*, 1991) ; et compte tenu de la non miscibilité des composés des HE à l'eau et donc aux milieux de culture, l'utilisation des solvants comme l'éthanol et des détergents comme le tween 20 et le

tween 80, permet d'avoir une dispersion homogène des HE dans le milieu liquide et une bonne diffusion dans les milieux gélosés.

Dans le but d'exclure l'influence de tout agent étranger sur les résultats, Remmal et ses collaborateurs (1993), a mis au point la méthode de dispersion des HE dans les milieux de culture bactérien sans détergent ni solvant. Il s'agit de la dispersion des HE dans l'agar agar à 0,2%.

### 10-3- Micro-organismes étudiés

#### a- Bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes (caractérisées par une absence de noyau et d'organites). Leur taille varie de 0,5 à 15µm et leur forme est variable (sphère, bâtonnet, spirale, chaînette, virgule...) et visible au microscope optique. Une caractéristique importante des bactéries est la paroi cellulaire. Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (Gram<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup>) basé sur la différence de la structure et de la composition chimique de la paroi cellulaire, mise en évidence grâce à la coloration de Gram. Les bactéries à coloration Gram positif possèdent entre autre une paroi cellulaire plus épaisse que les bactéries à coloration Gram négatif. Les bactéries peuvent provoquer une inflammation des parois intestinales. Certaines d'entre elles peuvent même traverser ces parois et infecter d'autres organes en provoquant des dommages graves et parfois mortels. Elles sont la cause de 90% des intoxications alimentaires (Larpen, 2004). *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes* sont des bactéries pathogènes fréquemment rencontrées en alimentaire.

- ***Escherichia coli*** : C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. C'est un colibacille à Gram<sup>-</sup>, habituellement commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers. Son pouvoir pathogène se traduit par : infections urinaires communautaires, infections intestinales et infections néonatales.

- ***Bacillus subtilis*** : Le genre *Bacillus* comprend des bacilles ubiquistes hôtes normaux de sol. Ce sont des bacilles à Gram positif, aérobies, anaérobies facultatifs ou aérobies stricts. Ils sont à l'origine des souillures des produits alimentaires ou, par leur thermo-résistance, posent des problèmes de stérilisation dans l'industrie alimentaire. *Bacillus*

*subtilis* se différencie des autres *Bacillus* par la présence de spores non déformantes. C'est un bacille aérobie strict.

- ***Micrococcus luteus*** : Le genre *Micrococcus* est représenté par des bactéries à coloration de Gram positif appartenant à la famille des Micrococcaeaceae. Les cellules sont des coques souvent groupés en paire ou en tétrade, ce sont des bactéries aérobies, à métabolisme oxydatif. Ces bactéries ont pour habitat le sol, les eaux douces, les aliments et elles sont fréquentes sur la peau de l'homme et des animaux. *Micrococcus luteus* est isolé de la peau des mammifères.

- ***Staphylococcus aureus*** : C'est une bactérie qui doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies, elle possède une coagulase, ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, et peut produire de nombreuses toxines. *Staphylococcus aureus* est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Son pouvoir pathogène se traduit par : des lésions suppurées septicémies des endocardites et des manifestations d'origine toxique.

### **b- Moisissures**

Les moisissures sont des champignons microscopiques visibles au microscope optique. Ce sont des organismes unis ou pluricellulaires dépourvus de chlorophylle. Ils peuvent être soit bénéfiques pour la transformation des matières premières dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique ou encore dans la production d'enzymes... ; soit nuisibles par altération des matières premières et produits alimentaires, par la formation de métabolites toxiques, les mycotoxines ou par la présence d'agents pathogènes entraînant mycoses et allergies (Cahagnier, 1998).

- ***Aspergillus niger*** : C'est une espèce cosmopolite, elle peut se trouver aussi bien dans les sols glacés, dans les environnements marins que dans les steppes, pâturages, forêts et dunes. C'est une espèce plus courante en zones sèches et dans les sols chauds. Elle se développe aussi bien sous peu de lumière que sous la forte lumière de l'extérieur. C'est une espèce toxique et pathogène, elle provoque des otomycoses (mycoses pulmonaires) chez l'homme et les oiseaux. Elle peut provoquer l'aspergillose du conduit auditif externe chez les sujets présentant une lésion préalable ou une malformation anatomique du conduit

auditif. Cependant elle possède des toxines à propriété insecticide, actives sur les moustiques responsables de la fièvre jaune.

- *Penicillium digitatum* : espèce responsable de « la pourriture verte » des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores qui, en fin d'évolution, couvrent la totalité des fruits atteints. C'est strictement un parasite de blessures, ne pouvant pénétrer les épidermes intacts. L'essentiel des infections survient à la récolte, à l'emballage et dans les étapes suivantes de la commercialisation et de la consommation.

- *Penicillium expansum* : c'est parmi les espèces les plus rencontrés sur les poires et les pommes en conservation et cause une pourriture beige ou bleu verte. La mycotoxine produite par cette moisissure est la patuline, qui représente un danger pour la santé publique et dont la concentration dans les jus des pommes ne doit pas dépasser une certaine limite. La présence de la patuline n'est pas décelable sans analyse. Les jus qui en contiennent ne présentent ni goût particulier, ni modification d'aspect.

### **c- Champignons de pourriture du bois**

Le bois est un matériau écologique, et économique de point de vue, ses propriétés physiques, mécaniques et esthétiques font de lui un matériau de choix dans plusieurs utilisations. Néanmoins, à cause de son origine biologique, le bois soumis à différentes agressions, champignons, insectes et termites. Le bois attaqué par ses différents organismes se dégrade et perd ses propriétés physiques et mécaniques. Parmi les champignons qui détruisent le bois on peut distinguer les champignons lignivores qui sont responsables de la pourriture blanche et brune.

En effet, la pourriture blanche est provoquée par une dégradation des trois composants du bois (la lignine, les hémicelluloses et la cellulose). La dégradation est toutefois plus marquée dans la lignine. La cellulose restante donne au bois sa couleur typique blanchâtre et son aspect fibreux. Parmi les principaux champignons lignivores de la pourriture blanche figure le champignon *Coriolus versicolor* appelé parfois, *Trametes versicolor* ou *polypore versicolore*, c'est un champignon basidiomycète lignivore vecteur de la pourriture blanche. Son mycélium est le plus souvent caché dans la masse du bois. Il s'attaque surtout au bois de feuillus, en particulier le hêtre ou il détruit la lignine (Faraji, 2005)

Cependant, la pourriture cubique est provoquée par la dégradation des hémicelluloses. Les parois du bois perdent leur structure et sont réduites en une substance amorphe. Les cubes observés sur un bois fortement attaqué représentent le squelette de la lignine. Le bois perd toute sa résistance mécanique. La formation des cubes se fait par l'extraction de l'eau contenue dans le bois par le champignon. Le bois en se desséchant se rétracte et se fracture dans le sens transversal et longitudinal (Pingolet., 2008).

Les principaux champignons basidiomycètes responsables de la pourriture brune sont :

- ***Coniophora puteana*** : Le conioflore des caves, aussi appelé conioflore bosselé, est un champignon basidiomycètes lignivore saprophyte et ubiquiste responsable de la pourriture cubique. La partie végétative du conioflore des caves est un mycélium composé d'hyphes qui se développent dans les cavités du bois. En surface, les hyphes s'agglomèrent et forment soit un amas cotonneux d'abord de couleur jaune-blanc, puis devient brun à brun foncé avec l'âge, soit des rhizomorphes bruns qui tournent au noir en vieillissant. Le conioflore des caves se nourrit du bois en détruisant la cellulose.

- ***Poria placenta*** : C'est le plus important champignon lignivore de la pourriture brune en Europe. Il s'attaque surtout au bois de résineux ou il détruit la cellulose. Il se caractérise par un mycélium de couleur blanche avec parfois des filaments forts comme des cristaux de glace. *Poria placenta* se développe surtout dans les anciens bâtiments humides, dans les mines et à l'air libre.

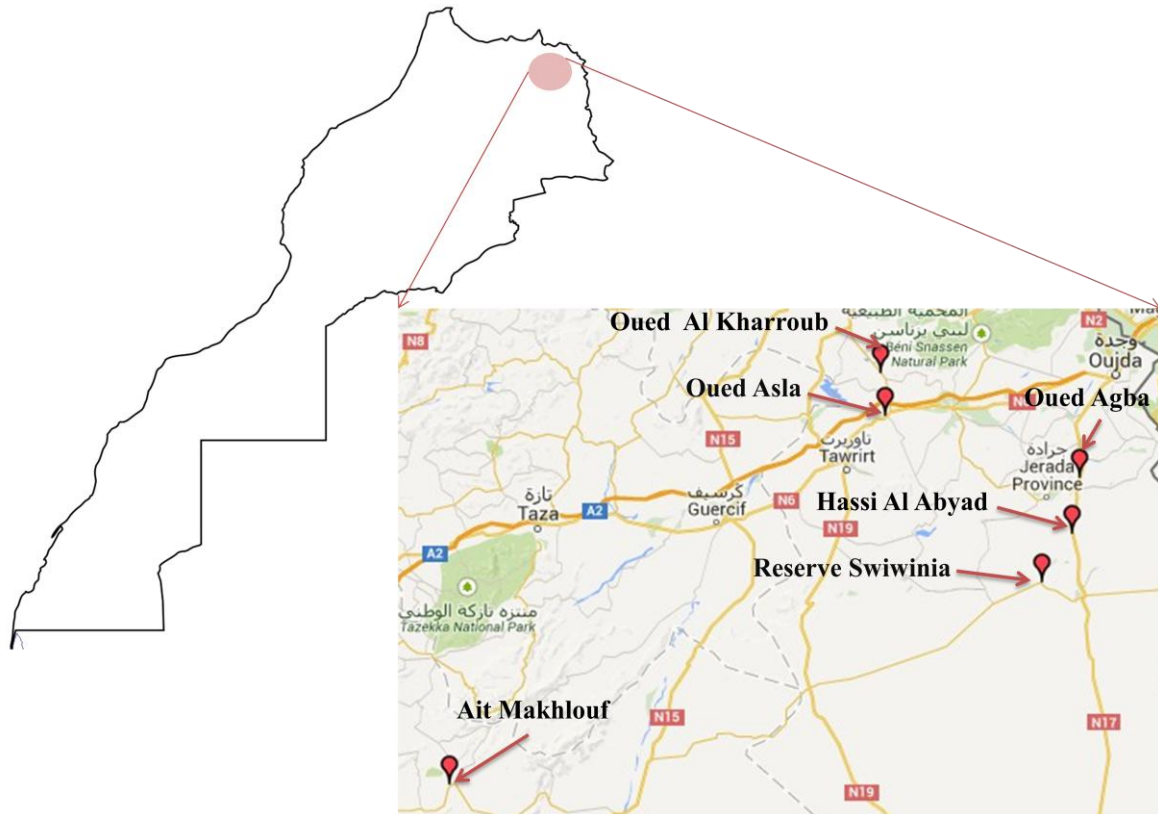
- ***Gloeophyllum trabeum*** : C'est un champignon appartenant à l'ordre des Gloeophyllales. C'est un des champignons basidiomycètes lignivores vecteur de la pourriture brune du bois.

## ***MATERIEL ET METHODES***

## I- MATERIEL VEGETAL

### 1- Provenance

Les échantillons d'*A. herba alba* utilisés dans le présent travail ont été récoltés dans l'oriental du Maroc (Figure 17) et plus particulièrement, dans six provenances qui sont : Oued Ait Makhoulf Reserve Aswiwinia, Hassi Al Abyad, Oued Agba, Oued Al Kharoub et Oued Asla (Tableau 2).



**Figure 17:** Carte des six régions d'échantillonnage d'*A. herba alba*

**Tableau 2:** Localisation géographique des six sites d'échantillonnage d'*A. herba alba*

Site de collecte	Localisation	Cordonnées GPS
Reserve Aswiwinia	Avant Oued Arabtte	N : 34.04650 W : 002.17829
Hassi Al Abyad	Oued Al Basbass	N : 39.19851 W : 002.06900
Oued Agba	Avant le SIBE	N : 34.37069 W : 002.04538
Oued Al Kharoub	Avant barrage Machraa Mammadi	N : 34.96157 W : 002.76603
Oued Asla	Entre Taourirt et Layoun Charkia	N : 34.56060 W : 002.75211

## 2- Récolte des échantillons

Pour chacune des provenances, nous avons récolté les parties aériennes des échantillons d'*A. herba alba* pendant les mois de mars, juin, septembre et décembre. Les mesures de rendement en huiles essentielles sont réalisées aussitôt, après chaque récolte, afin de limiter le risque d'erreur lié à une certaine dessiccation des organes récoltés. Autrement dit, les rendements en huile essentielle de toutes les provenances sont déterminés dans un intervalle de temps réduit.

## II- EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

La technique utilisée dans l'extraction des huiles essentielles est l'hydrodistillation. Celle-ci a été effectuée, au laboratoire de chimie du Centre de Recherche Forestière de Rabat, à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928). Ainsi, 200g de matériel végétal frais sont additionnés d'un litre d'eau dans un ballon de deux litres, surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur, reliée à un réfrigérant. Trois distillations ont été réalisées par ébullition pendant deux heures.

Le protocole expérimental consiste à porter à ébullition, l'échantillon étudié composé d'un mélange du matériel végétal et d'eau. Sous l'action de la chaleur, les cellules éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils. La vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant. La condensation de ce mélange gazeux, provoque sa séparation en deux phases liquides (figure 18) : une phase organique huileuse et une phase aqueuse.



**Figure 18:** Photo de l'appareil d'hydrodistillation de type «Clevenger»

### 1- Détermination du taux d'humidité

La détermination du taux d'humidité a été effectuée, jusqu'à l'obtention d'un poids constant, à 60 °C pendant 48 à heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, la moyenne des pertes en poids est calculée et le taux d'humidité est déterminé par la relation suivante :

$$H(\%) = \left[ \frac{m_f - m_s}{m_f} \right] \times 100$$

Avec  $m_f$  et  $m_s$  sont respectivement, les masses de la plante à l'état fraîche et sec. Trois pesées par échantillon sont séchées à l'étuve jusqu'au poids constant.

### 2- Calcul du rendement

Le rendement est exprimé en ml de distillat par 200g de matière sèche, en utilisant la relation suivante :

$$\text{Rdt} (\%) = \left[ \frac{\Delta}{m_s} \times 100 \right] \pm \left[ \frac{\Delta V}{m_s} \times 100 \right]$$

Rdt (%) : Rendement en HE (ml/g)

V: Volume d'HE recueilli (ml)

$\Delta V$  : Erreur sur la lecture

ms: Masse végétale sèche (g)

## III- ANALYSES DES HUILES ESSENTIELLES

### 1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les analyses chromatographiques des HE de l'armoise blanche ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse, à régulation électronique de pression de type Hewlett-Packard (série HP 6890), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (5 % diphényl, 95 % diméthylpolysiloxane) de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25  $\mu\text{m}$  d'épaisseur du film. La détection est assurée par un détecteur à ionisation de flamme (FID) alimenté par un mélange de gaz  $\text{H}_2$ /air.

L'injecteur de type split-splitless est chauffé à une température de 250 °C. Le volume injecté est de 1  $\mu\text{l}$ . Le mode d'injection est split (rapport de fuite : 1/50, débit : 66 ml/min). Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1,7 ml/min. La température de la colonne est programmée à raison d'une montée de 4 °C/min, de 50 à 200 °C et un palier de 5 mn à la température finale. La limite de détection est inférieure à 1 ppm. L'appareil est piloté par un

système informatique de type "HP ChemStation" gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur leur indice de Kováts (IK) (Adams, 2007) et sur leur spectre de masse obtenu par chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse à impact électronique (CPG-SMIE).

## 2- identification des constituants des huiles essentielle

### 2-1- Indices Kováts

C'est un système d'indice basé sur la notion de rétention relative. Il compare la rétention d'un produit quelconque à celle d'un alcane linéaire. Ce système est applicable en chromatographie en phase gazeuse à tout composé sur toute colonne. Par définition, il attribue un indice de 800 à l'alcane linéaire en C<sub>8</sub> (n-octane), 1 000 à l'alcane linéaire en C<sub>10</sub> (n-décane), et ce, quels que soient la phase stationnaire, la longueur de la colonne, la température ou le débit. Les IK sont déterminés en injectant un mélange des alcanes de C<sub>9</sub> à C<sub>24</sub> dans les mêmes conditions opératoires (Kovats, 1965). Ils sont calculés à partir de la relation suivante :

$$Ik = \left[ \frac{TR_x - TR_n}{TR_{n+1} - TR_n} + n \right] \times 100$$

n : nombre d'atomes de carbone de l'alcane qui sortant juste avant le composé A,

(n+1) : nombre d'atomes de carbone de l'alcane qui sortant juste après le composé A,

TR<sub>x</sub> : temps de rétention réduit du composé A,

TR<sub>n</sub> : temps de rétention réduit de l'alcane à n atomes de carbone qui sort justant avant le composé A,

TR<sub>n+1</sub> : temps de rétention réduit de l'alcane à (n+1) atomes de carbone qui sortant juste avant le composé A.

Globalement, la technique des IK est largement employée pour identifier les composés habituels des HE, mais celle-ci, est insuffisante pour déterminer la composition chimique totale. Des tables d'IK spécifiques à chaque produit sont proposées dans la littérature. Elles ont été élaborées en utilisant des analyses sur différents types de colonnes. Ces indices de référence sont comparés à ceux calculés à partir des échantillons étudiés.

## 2-2- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

En plus des indices de Kovats, l'identification des constituants a été réalisée en se basant sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Cette dernière est réalisée sur chromatographie en phase gazeuse de type Hewlett-Packard (série HP 6890), couplé avec un spectromètre de masse (série HP 5973).

La fragmentation est effectuée par impact électronique, sous un champ de 70 eV (Electron Volt). La colonne utilisée est une colonne capillaire type HP-5 SM (5% diphenyl, 95% diméthylpolysiloxane) ; (30 m × 0.25 mm, épaisseur du film : 0.25 µm). La température de la colonne est programmée de 50 à 200°C à raison d'une montée de 4°C/min. Le gaz vecteur est l'hélium, dont le débit est fixé à 1.5 ml/mn. Le mode d'injection est split (rapport de fuite: 1/70 ; débit: 112 ml/mn). L'appareil est piloté par un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse NIST98.

## IV- METHODE D'ÉTUDE DE LA BIOACTIVITE

### 1- Microorganismes étudiés

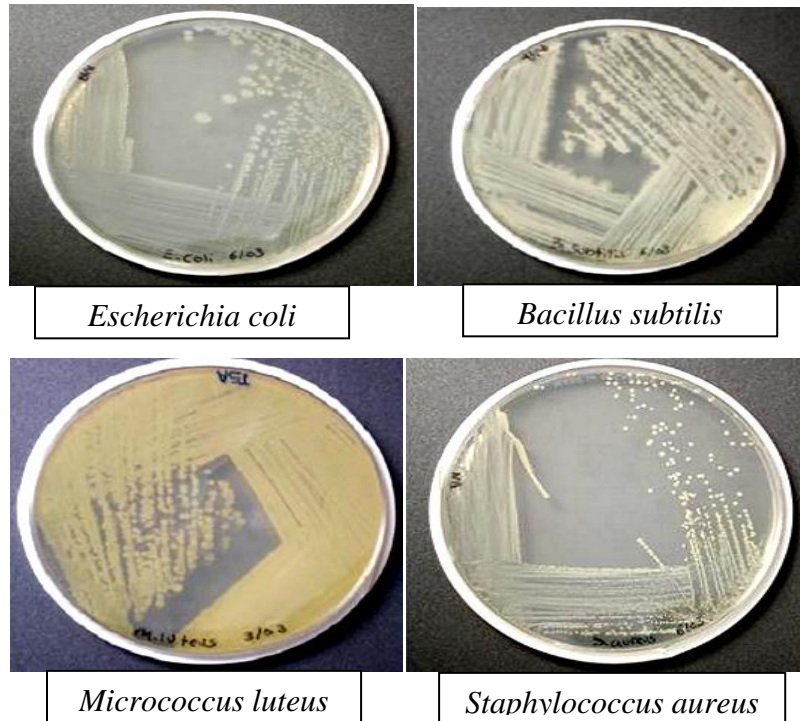
Dans la présente étude, nous avons étudié onze souches microbiennes. Ces microorganismes sont des bactéries (Figure 19), des moisissures (Figure 20) et des champignons de pourriture de bois d'œuvre (Figure 21).

- **Bactéries** : *Bacillus subtilis* (gram+), *Escherichia coli* (gram-), *Micrococcus luteus* (gram+) et *Staphylococcus aureus* (gram+).
- **Moisissures** : *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*.
- **Champignons de pourriture de bois d'œuvre** : *Gloeophyllum trabeum*, *Poria placenta*, *Coniophora puteana* et *Coriolus versicolor*.

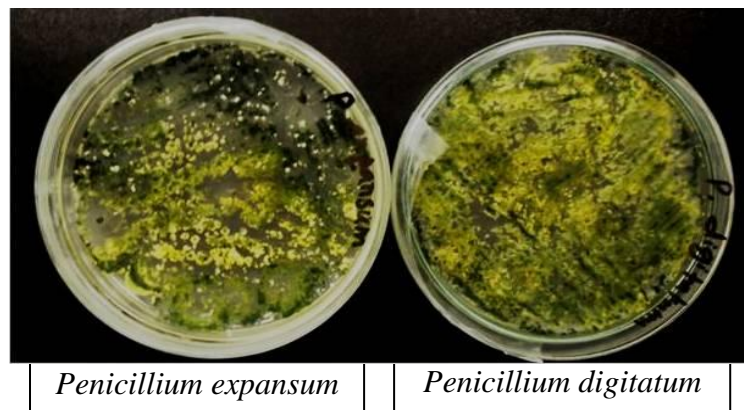
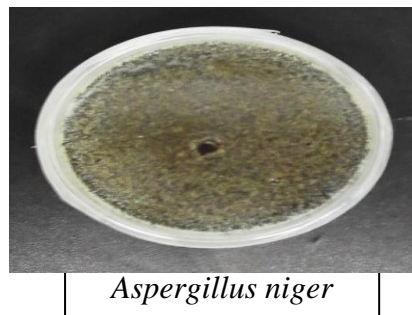
Les quatre bactéries utilisées dans la présente étude sont pathogènes et caractérisées par leur forte antibiorésistances et leur pouvoir invasif et toxique chez l'Homme. Elles sont fréquemment rencontrées dans de nombreuses infections au Maroc et posent un problème clinique et thérapeutique.

En outre, les trois moisissures étudiées sont des agents de pourriture fréquente des denrées alimentaires et des fruits, elles peuvent être toxiques et pathogènes pour l'Homme. Cependant, Les quatre champignons utilisés dans ce travail, sont des espèces fongiques

responsables de pourriture brune (*Poria placenta*, *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum*) et blanche du bois (*Coriolus versicolor*). Ils ont été choisis sur des dégâts considérables qu'ils causent au bois d'œuvre et aux produits dérivés.



**Figure 19:** Souches bactériennes étudiées



**Figure 20:** Espèces de moisissures étudiées



**Figure 21 :** Champignons de pourriture du bois étudiés

**PP:** *Poria placenta*, **CP:** *Coniophora puteana*,  
**GT:** *Gloeophyllum trabeum*, **CV:** *Coriolus versicolor*

Généralement, les souches bactériennes sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection). Elles sont entretenues, par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance, pendant 24 heures, à l'obscurité à 37°C. Les moisissures et les champignons appartiennent à la collection de la mycothèque du laboratoire de mycologie du Centre de Recherche Forestière (Rabat, Maroc). Elles sont cultivées sur le milieu nutritif PDA (*Potato Dextrose Agar*) pendant sept jours à 25°C à l'obscurité.

## 2- Activité antimicrobienne

Nous avons utilisé la technique de dispersion des HE dans l'agar agar à 0,2% qui a été mise en évidence par Tantaoui-Elaraki et coll. (1992) ; modifiée par Remmal et ses collaborateurs (1993) et Satrani et ses collaborateurs (2001).

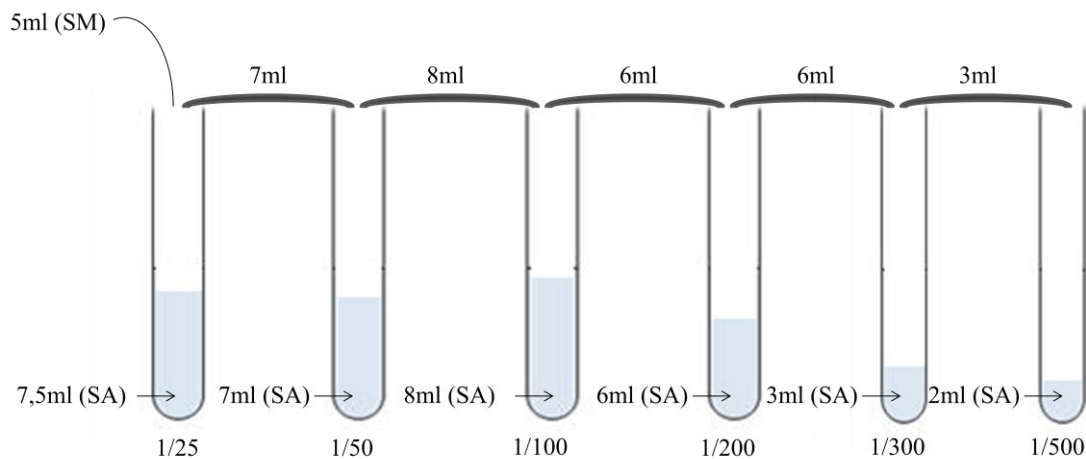
Cette technique présente l'avantage de favoriser l'incorporation du composé dans les milieux de culture solides ou liquides et augmente le contact germe/composé, tout en excluant l'apport d'un agent étranger. En outre l'agar-agar choisi est couramment utilisé en microbiologie et surtout ne présente pas d'effets secondaires connus (Remmal et al., 1993).

### 2-1- Préparation de la solution mère

La solution mère (SM) est préparée au  $1/10^{\text{ème}}$  et qui correspond à la première concentration de la gamme des dilutions. Elle est préparée de la façon suivante : un volume de 1 ml de l'HE est ajouté aseptiquement à 9 ml d'eau gélosée à 0,2% (SA) stérilisée à l'autoclave à  $120^{\circ}\text{C}$  pendant 20 min. Ensuite, une agitation vigoureusement au vortex pendant quelques minutes a été effectuée pour bien disperser l'huile essentielle dans la solution (SA).

### 2-2- Préparation des dilutions successive de l'huile essentielle

A partir de la SM, nous avons procédé à des dilutions successives en utilisant la solution d'agar à 0.2% (SA) pour obtenir les concentrations suivantes :  $1/250$ ,  $1/500$ ,  $1/1000$ ,  $1/2000$ ,  $1/3000$  et  $1/5000$  v/v (Figure 22). Celles-ci sont préparées de la façon suivante:



**Figure 22:** Préparation des dilutions de l'huile essentielle

### 2-3- Préparation des milieux de culture avec les concentrations finales en huile essentielle

Nous avons préparé des tubes à essai contenant chacun 13,5 ml du milieu solide TSA (Tryptic Soya Agar) pour les bactéries et le PDA (Potato Dextrose Agar) pour les moisissures et les champignons de pourriture du bois, stérilisées à l'autoclave pendant 20 mn à  $121^{\circ}\text{C}$  et refroidis à  $45^{\circ}\text{C}$ . Auxquels nous avons ajouté aseptiquement, 1 ml de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations finales de :  $1/100$ ,  $1/250$ ,  $1/500$ ,  $1/1000$ ,  $1/2000$ ,  $1/3000$  et  $1/5000$  (v/v).

À l'aide du vortex, nous avons agité convenablement les tubes préparés afin de bien disperser les HE dans le milieu de culture avant de couler dans les boîtes de Pétri, préalablement stérilisées.

Des témoins, constitués du milieu de culture plus la solution d'agar agar à 0,2% seule, sont également préparés.

#### **2-4- Ensemencement et incubation des boîtes de Pétri**

L'ensemencement du bouillon de culture se fait par stries, à l'aide d'une anse de platine calibrée, afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier se présente, sous forme de bouillon de culture de 24 heures, pour les bactéries et, sous forme d'une suspension dans l'eau physiologique de spores, provenant d'une culture de sept jours dans le PDA, pour les moisissures. Pour les champignons de pourriture du bois, l'ensemencement se fait par dépôt de fragments de 1cm<sup>2</sup> de diamètre, prélevés à partir de la périphérie d'un tapis mycélien et provenant d'une culture de 7 jours dans le PDA.

La température d'incubation est de l'ordre 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et de 25°C pendant 7 jours pour les champignons. Chaque essai est répété trois, fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

#### **2-5- Lecture des résultats et détermination de CMI**

La CMI est comprise entre la concentration correspondante à la dernière boîte où une croissance est encore visible, et la concentration correspondante à la première boîte où aucune pousse n'est visible. La détermination de la CMI, permet l'évaluation de l'activité antimicrobienne des HE testées et donc l'établissement d'une comparaison entre elles.

Pour mieux apprécier les activités antimicrobiennes des HE étudiées et pour pouvoir les comparer entre elles, nous avons traduit les valeurs de CMI (Tableau 2) en essayant de les quantifier selon le système de notation proposé par Benjilali et *al.* (1986) comme indiqué au tableau ci-dessous.

Dans ce système de notation, à toutes les HE qui ont une action inhibitrice à une dilution inférieure à 1/100 v/v on attribue une valeur d'activité arbitraire (0), à celles qui ont une action allant jusqu'à 1/250 on attribue la valeur (1) et ainsi de suite (Tableau 3).

**Tableau 3:** Degré d'efficacité Bactériostatique ou Bactéricide des HE en fonction de CMI ou CMB (Benjlali et *al.*, 1986).

<b>CMI ou CMB</b>	<b>Note d'efficacité des HE ou de sensibilité des Bactéries</b>
1/100 < CMI ou CMB	0
1/250 < CMI < 1/100	1
1/500 < CMI < 1/250	2
1/1000 < CMI < 1/500	3
1/10000 < CMI < 1/1000	4
CMI ou CMB < 1/10000	5

Pour chaque essence nous avons calculé l'activité moyenne inhibitrice, qui correspond au rapport de la somme des valeurs affectées aux CMI sur le nombre de souches bactériennes, la formule est la suivante :

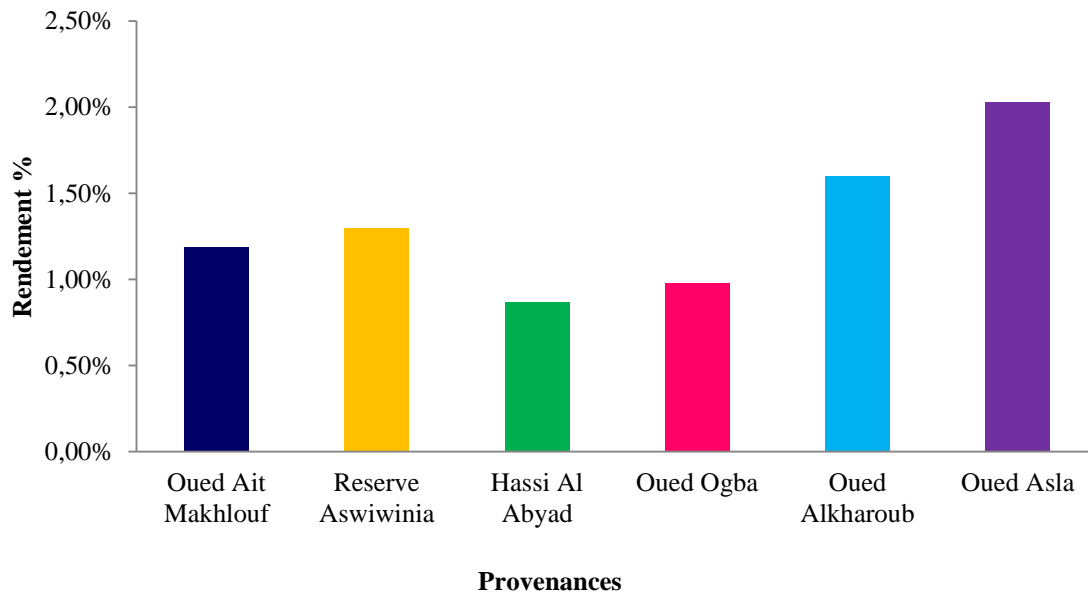
$$\text{Activité moyenne} = \frac{\sum \text{Des degrés d'efficacité}}{\text{Nombre de germes testés}}$$

## ***RESULTATS & DISCUSSION***

## I- EFFET DE PROVENANCE SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

### 1- Rendement en HE des échantillons issus des six provenances

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière sèche de la partie aérienne de la plante. Ils sont représentés dans la figure (23) :



**Figure 23:** Rendement moyen en HE en fonction de la provenance

Le rendement en huiles essentielles des échantillons d'*A. herba alba* de l'oriental du Maroc, récoltés au mois de Juin, se montre variable en fonction de la région de récolte de 0.87% à 2.03%. La meilleure teneur en HE obtenue est celle de la provenance d'Oued Asla, suivi d'Oued Alkharoub, Reserve Aswiwinia, ensuite Oued Ait Makhoulouf puis Oued Agba et enfin celle de Hassi Al Abyad. Soit des taux respectifs de  $2.03 \pm 0.002\%$ ,  $1.60 \pm 0.02\%$ ,  $1.30 \pm 0.07$  ;  $1.19\% \pm 0.25$ ,  $0.98 \pm 0,02\%$  et  $0.87 \pm 0.01\%$ .

Concernant la teneur en HE obtenus, elle est relativement élevée par rapport à celle obtenue par Imelouane et ses collaborateurs (2010) et Ghanmi et ses collaborateurs (2010), qui est respectivement de 1% et 1.23%. Il est à noter, qu'une variation de rendement a été notée au sud de l'Espagne dans une étude de 16 plantes d'armoise blanche récoltée dans quatre localités différentes où le rendement variait de 0.41% à 2.30% (Salido *et al.*, 2004). En outre, il a été souligné que les rendements obtenus sont relativement élevés par rapport à ceux de certaines plantes qui sont exploitées industriellement, comme source des huiles essentielles (Edward *et al.*, 1987).

Cette variation observée pour les rendements en huile essentielle de *l'A. herba-alba* des six provenances peut être attribuée à de nombreux facteurs dont les conditions climatiques et édaphiques spécifique de chaque une des régions étudiés.

## 2- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus des six provenances

**Tableau 4:** Composition chimique de l'HE de *l'A. herba-alba* selon la provenance

(-): Absence ; **IK:** Indice de Kovats ; %: Pourcentage ; **P1:** Oued Ait Makhlouf ; **P2:** Reserve Aswiwinia ; **P3:** Hassi Alabyad ; **P4:** Oued Agba ; **P5:** Oued Alkharoub ; **P6:** Oued Asla

<b>IK</b>	<b>Constituants</b>	<b>P<sub>1</sub></b>	<b>P<sub>2</sub></b>	<b>P<sub>3</sub></b>	<b>P<sub>4</sub></b>	<b>P<sub>5</sub></b>	<b>P<sub>6</sub></b>
921	Tricyclène	0,31	-	-	-	-	-
924	$\alpha$ -thujène	0,31	0,32	0,21	0,43	0,41	0,48
932	$\alpha$ -pinène	0,62	2,8	2,21	3,07	5,71	6,42
1002	$\alpha$ -phellandrène	0,67	1,14	1,14	0,78	0,69	0,85
1012	1-4 cinéole	-	9,7	8,33	5,62	3,71	0,32
1014	$\alpha$ -terpinène	2,49	-	-	-	-	-
1065	Cis-hydrate de sabinène	-	0,26	0,3	-	-	-
1069	Dihydro myrcenol	1,64	-	-	-	-	-
1080	Alcool d'artémisia	22,28	4,46	5,35	4,43	8,65	1,83
1101	$\alpha$ - thujone	21,1	40,19	48,91	48,27	24,18	17,52
1112	$\beta$ -thujone	1,67	-	-	-	-	-
1119	Trans hydrate de pinène	8,98	-	-	-	-	-
1124	Chrysanthénone	-	29,15	26,64	27,7	43,35	48,11
1134	Iso-3-thujanol	7,75	0,14	0,16	0,17	0,17	1,74
1141	Camphre	0,8	1,49	0,04	1,14	2,95	6,68
1147	Neoiso-3-thujanol	0,87	0,86	0,98	0,94	0,52	0,64
1164	3-thujanol	-	-	-	-	-	0,34
1169	Acetate d'artemisia	-	-	-	-	0,06	-
1174	Terpinène-4-ol	-	0,18	0,44	0,06	0,16	0,37
1214	Dehydro acetate de myrcenol	-	0,42	0,33	-	0,38	0,06
1219	Cis-hydrate acetate de sabinène	-	-	-	-	0,24	0,65
1228	Nor-davanone	27,09	0,35	0,79	0,62	0,34	0,36
1235	Trans acetate de chrysanthonyl	0,32	0,79	1,12	0,8	0,37	0,35
1244	carvatanacétone	-	0,58	-	-	0,71	1,15
1253	Trans hydrate acetate de sabinene	1,32	-	-	-	-	-
1269	Acetate d'artemisia	0,69	-	-	-	-	-
1277	Trans-ethyl chrysanthemumate	-	1,54	1,43	1,56	0,84	0,57
1335	$\delta$ -elemène	1,31	2,99	0,17	3,94	1,8	1,14
1385	Trans acetate de myrtanol	-	0,4	0,56	0,35	-	-
1429	Cis-thujopsène	-	-	-	-	0,61	-
1522	$\delta$ -cadinène	-	0,05	0,37	0,12	0,61	0,17
1537	$\alpha$ -cadinène	-	-	-	-	0,14	0,27
<b>Total %</b>		<b>99,98</b>	<b>96,32</b>	<b>99,48</b>	<b>100</b>	<b>96,6</b>	<b>83,34</b>
Monoterpènes hydrocarbonés %		27	14,46	3,57	9,9	10,89	8,96
Monoterpènes oxygénés %		44,44	83,39	95,08	85,42	85,48	88,88
Sesquiterpènes hydrocarbonés %		5,55	3,15	0,54	4,06	3,27	1,75
Sesquiterpènes oxygénés %		5,5	0,36	-	0,62	0,35	0,39

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* des six provenances étudiés sont consignées dans le tableau au dessus. Le nombre de composés identifiés diffère d'une provenance à l'autre. Vingt-deux composés pour l'HE de la provenance d'Oued Al Kharoub, 21 composés pour celle de la provenance Oued Asla, 20 composés pour l'HE de la provenance de Reserve Aswiwinia. Pour les trois autres provenances Hassi Al Abyad, Ait Makhlouf et Oued Agba, le nombre de constituants détectés dans leurs huiles essentielles sont respectivement de 19, 18 et 17 composés (Tableau 4).

Le dépouillement des analyses chromatographiques des huiles essentielles de ces provenances d'armoise blanche a montré leurs richesses en composés monoterpéniques par rapport aux composés sésquitérpiniques.

En effet, la qualité chimique de l'HE extraite des échantillons de la provenance d'Oued Ait Makhlouf, montre que celle-ci est dominée par Trois composés chimiques : Nordavanone (27.09%), alcool d'artemisia (22.28%) et  $\alpha$ -thujone (21.1%), d'autres constituants sont présents avec des teneurs faibles : Trans hydrate de pinène (8.98%), Iso-3-thujanol (7.75%),  $\alpha$ -terpinène (2.49%),  $\beta$ -thujone (1.67%), Dihydro myrcenol (1.64%), Trans hydrate acetate de sabinène (1.32%) et  $\delta$ -elemène (1.31%).

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des échantillons de la provenance de la Reserve Aswiwinia, se distingue par la présence de l' $\alpha$ -thujone (40.19%), comme composé majoritaire, suivi de la Chrysanthénone (29.15%). D'autres composés sont aussi identifiés, mais à des teneurs moins importantes : 1-4 cineole (9.7%), alcool d'artemisia (4.46%),  $\delta$ -elemène (2.99%),  $\alpha$ -pinène (2.8%) et le camphre (1.49%).

Nous avons aussi constaté que les échantillons de la provenance de Hassi Al Abyad présentent une huile essentielle riche en  $\alpha$ -thujone (48.91%) et en chrysanthénone (26.64%), accompagnés d'autres constituants minoritaires qui ne sont pas dénués d'importance : 1-4 cineole (8.33%), alcool d'artemisia (5.35%),  $\alpha$ -pinène (2.21%), trans-ethyl chrysanthemumate (1.43%),  $\alpha$ -phyllandrène (1.14%) et trans-acétate de chrysanthonyl (1.12%).

De même, l'huile essentielle de la provenance d'Oued Agba est composée principalement de l' $\alpha$ -thujone (48.27%), de le Chrysanthénone (27.7%), ainsi que d'autres constituants intéressants à des teneurs faibles : 1-4 cineole (5.62%), alcool d'artemisia (4.43%),  $\delta$ -

elemène (3.94%),  $\alpha$ -pinène (3.07%), trans-ethyl chrysanthemumate (1.56%) et le camphre (114%).

Par ailleurs, l'huile essentielle de l'armoise provenant d'Oued al Kharoub est dominée par le chrysanthénone (43.35%) et l' $\alpha$ -thujone (24.18%), accompagnés d'autres constituants tels que, l'alcool d'artémisia (8.65%),  $\alpha$ -pinène (5.71%), 1-4 cineole (3.71%), le camphre (2.95%) et  $\delta$ -elemène (1.8%).

Enfin, l'HE de la provenance d'Oued Asla est caractérisée par la dominance de la chrysanthénone (48.45%), l' $\alpha$ -thujone (17.52%), le camphre (6,68%), l' $\alpha$ -pinène (6.42%) et en faible teneur, l'alcool d'artémisia (1.83%), la carvatanacetone (1.15%) et l' $\delta$ -elemène (1.14%).

En comparant l'HE de la provenance d'Ait Makhoulf avec les HE des autres provenances étudiées, nous avons remarqué une différence notable entre elles. En revanche, les HE d'Ait Makhoulf se caractérisent par la dominance des trois constituants: nordavanone, alcool d'artémisia et  $\alpha$ -thujone. Cependant, les deux composés nordavanone et alcool d'artémisia ne se présentent qu'en faibles teneurs dans les HE des échantillons issus des autres provenances. Par conséquent, l'HE de la provenance d'Ait Makhoulf se caractérise par la présence de chémotype " nordavanone et alcool d'artémisia- $\alpha$ -thujone".

En outre, la composition de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* des deux provenances : Reserve Aswiwinia et Hassi Alabyad est dominée par l' $\alpha$ -thujone suivi du chrysanthénone, donc la présence de l' $\alpha$ -thujone avec un pourcentage supérieure de 40% et la chrysanthénone avec un pourcentage supérieure de 25%, laisse penser que "l' $\alpha$ -thujone et chrysanthénone" est le chémotype qui caractérise ces deux provenances. Par contre, l'huile de la provenance Oued Agba est de chémotype " $\alpha$ -thujone". Cependant, Imelouane et ses collaborateurs (2010), ont montré l'absence de l' $\alpha$ -thujone dans la région de Taforalt (oriental du Maroc), par contre, certains auteurs ont pu observer un faible taux de 4.4% en  $\alpha$ -thujone dans la région de Guercif (Ghanmi *et al.*, 2010). De même, Benjilali et ses collaborateurs (1980), ont déjà signalé aussi, un faible taux en  $\alpha$ -thujone sur les sites de Tahla 2%, Boulmane 10%, Midelt 3% et dans huit localités de Taliouine 2.2 - 4%. Mais, celui-ci se trouve prépondérant sur 4 sites d'Agdz Ait-Saoum avec un pourcentage de 65-74%. Le taux obtenu est fort par rapport aux HE d'Algérie (6.9% à Benifouda, 28.1% à Bougaa, 27,7% à Boussada et 23,5% à Boutaleb) (Belhattab *et al.*, 2014). Il en est de même, pour celles de la Tunisie 16.5- 42.2% (Houari *et al.*, 2009).

En effet, les deux provenances: Oued Alkharoub et Oued Asla se caractérisent par une homogénéité de composition chimique de leur huiles essentielles à savoir, une forte teneur en chrysanthénone (43.35%, 48.11% respectivement) et en  $\alpha$ -thujone (24,18%, 17,52% respectivement) par rapport aux autres provenances étudiés. Par conséquent, le chémotype "chrysanthénone et  $\alpha$ -thujone" caractérise l'HE des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub, et le chémotype "chrysanthénone" pour l'HE des échantillons collecté dans la provenance d'Oued Asla. Nos résultats concordent avec ceux décrit par Benjilali (2005) et Ghanmi et ses collaborateurs (2010), ayant montré que seules les huiles essentielles du Maroc sont riches en chrysanthénone en s'approchant de 50%. Par contre Akrouf (1999), a montré que les huiles essentielles en Tunisie sont pauvres en chrysanthénone et ne dépassent pas la valeur de 2.3%.

Des travaux récents menés par Belhattab et ses collaborateurs (2014) sur les huiles essentielles d'*A. herba-alba* dans quatre régions différentes, par leur climat et leur localité géographique au centre-nord d'Algérie, ont montré que la chrysanthénone varie entre 3.9 et 19%. Par contre, en Espagne, le pourcentage en chrysanthénone varie entre 0,1 et 3.6% sur les 16 échantillons étudiés d'*A. herba-alba* (Salido et al., 2004), Cette teneur reste toujours inférieure à celles obtenus dans notre étude. Sur la lumière de ces données, nos résultats restent en très bon accord avec ceux de la littérature et confirment bien le pourcentage élevé en chrysanthénone justifiant, ainsi cette spécificité des huiles essentielles marocaines par ce composé chimique au nord d'Afrique et dans tout le pourtour méditerranéen.

## Conclusion

Au cours de ce travail nous avons conclure que le rendement et la composition chimique des huiles essentielles de l'*A. herba-alba*, prélevés dans les régions de l'oriental du Maroc, varient selon le lieu de récolte.

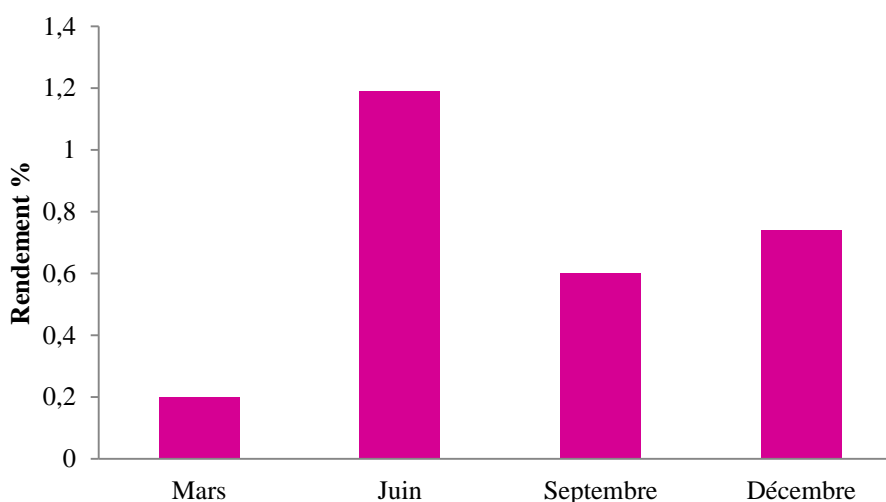
Ainsi, La meilleure teneur en HE obtenue est celle de la provenance d'Oued Asla, suivi d'Oued Alkharoub, Reserve Aswiwinia, ensuite Oued Ait Makhoulf puis Oued Agba et enfin celle de Hassi Al Abyad. Soit des taux respectifs de 2.03%, 1.60%, 1.30%, 1.19%, 0.98% et 0.87%. Nous avons révélé d'après les analyses chromatographiques et spectrométriques l'existence de 3 chémotypes : alcool d'artémisia,  $\alpha$ -thujone et nordavanone pour la provenance Ait Makhoulf et type  $\alpha$ -thujone et chrysanthénone pour les provenances Reserve Aswiwinia, Hassi Alabyad et Oued Agba et type chrysanthénone et  $\alpha$ -thujone pour les deux provenances Oued Alkharoub et Oued Asla. De ce fait, l'*A. herba*

*alba* est caractérisée par un extraordinaire polymorphisme chimique tel que décrit par la composition chimique de son huile essentielle elle offre un champ particulièrement riche pour la sélection et la mise au point de produits distincts ayant chacun sa propre caractéristique, aromatique et /ou médicinale. Par ailleurs, l'*A. herba alba* apparaît être une source très intéressante pour divers produits naturels dont certains sont plutôt rares comme la chrysanthénone.

## II- EFFET DE LA DATE DE RECOLTE SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

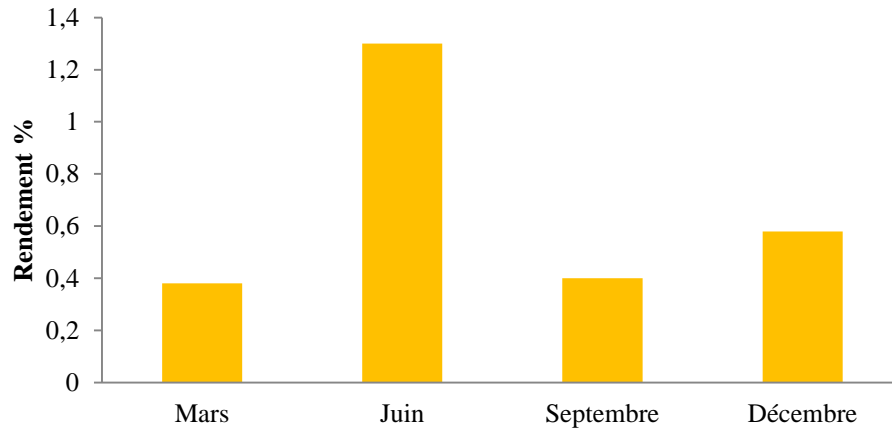
### 1- Rendement des HE en fonction de la date de récolte

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Ils sont représentés dans les figures 24, 25, 26, 27, 28 et 29.



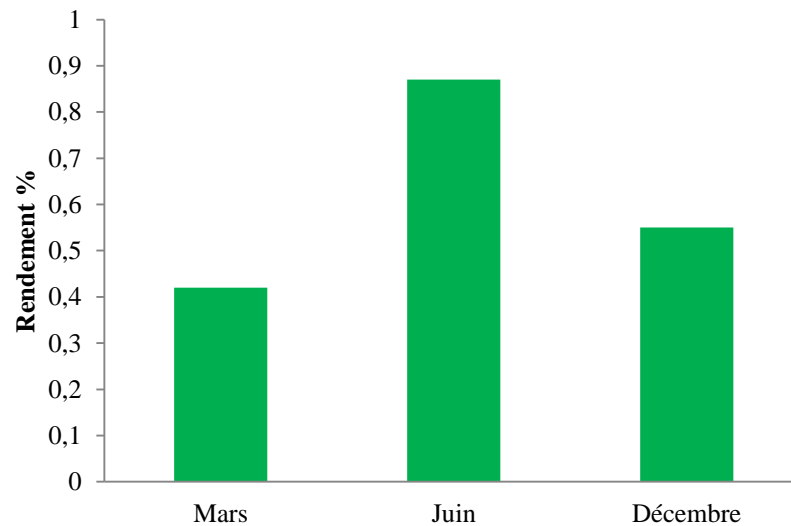
**Figure 24 :** Rendement en HE des échantillons d'Oued Ait Makhlouf selon la date de récolte

Les rendements moyens en huiles essentielles des échantillons étudiés ont fournis un taux de  $0.20 \pm 0,01\%$  au mois de mars, pour atteindre un maximum de  $1.19 \pm 0,25\%$  au mois de juin, et redescend ensuite, au  $0.60 \pm 0,07\%$  au mois de septembre. Cependant, le rendement moyen de l'huile essentielle augmente à nouveau pour atteindre un taux de  $0.74 \pm 0,001\%$  au mois de décembre (Figure 24).



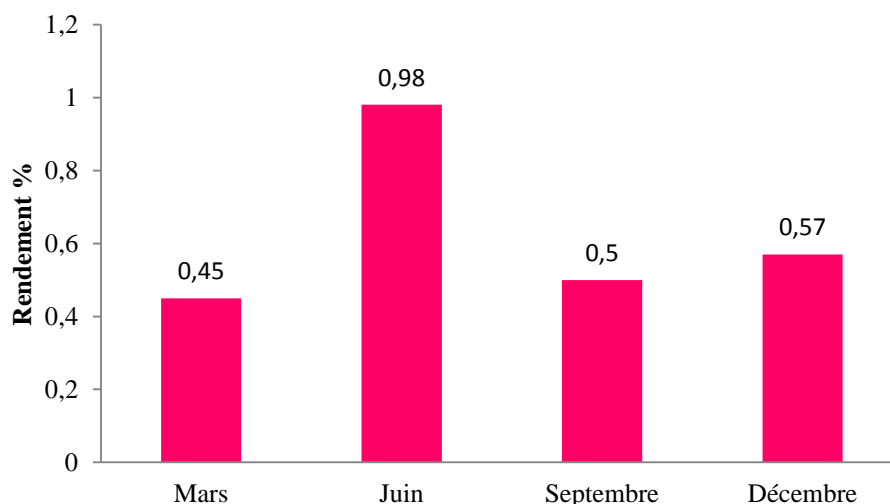
**Figure 25:** Rendement en HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte

De ces résultats, nous avons constaté que les rendements moyens en HE obtenues à partir des échantillons d'*Artemisia herba alba* prélevés dans la provenance de la Reserve Aswiwinia, pendant les quatre mois, s'échelonnent entre  $0,38 \pm 0,004\%$  et  $1,03 \pm 0,07\%$  avec une forte teneur en HE pendant le moi de juin ( $1,30 \pm 0,07\%$ ) (Figure 25).



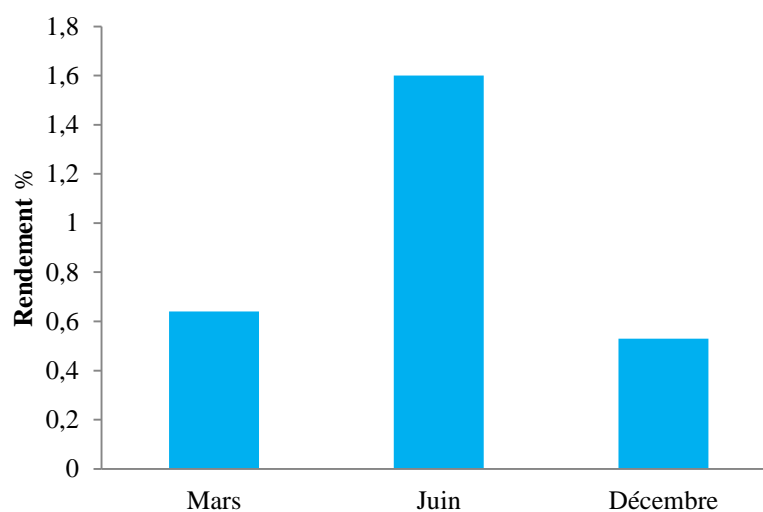
**Figure 26:** Rendement en HE des échantillons de Hassi Al Abyad selon la date de récolte

Les résultats obtenus sur les rendements en HE d'*Artemisia herba alba* provenant de la provenance Hassi Al Abyad montrent que le meilleur rendement en HE a été obtenu pour la récolte du mois de juin, avec un taux de  $0,87 \pm 0,01\%$ , ceux des récoltes des mois de mars et de décembre sont respectivement  $0,42 \pm 0,001\%$  et  $0,55 \pm 0,002\%$  (Figure 26).



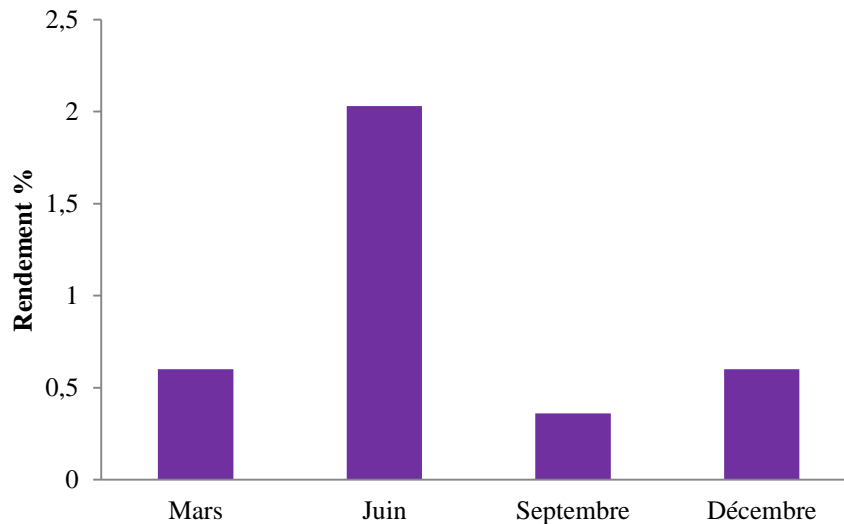
**Figure 27:** Rendement en HE des échantillons d'Oued Agba selon la date de récolte

Concernant, les échantillons d'*A. herba alba* provenant de la provenance d'Oued Agba ont présenté des rendements en HE de  $0.45 \pm 0.0009\%$  ;  $0.98 \pm 0.02\%$  ;  $0.5 \pm 0.002\%$  et  $0.57 \pm 0.0002\%$  respectivement pendant les mois de mars, juin, Septembre et Décembre, avec une meilleur teneur en HE obtenu pendant le moi de Juin  $0.98 \pm 0.02\%$  (Figure 27).



**Figure 28:** Rendement en HE des échantillons d'Oued Alkharoub selon la date de récolte

Le rendement moyen en HE des échantillons d'*A. herba alba* de la provenance Oued Alkharoub récolté pendant le mois de juin est de l'ordre  $1,60 \pm 0.002\%$  ; il est plus important que celui obtenu à partir des échantillons récoltés pendant les mois mars, septembre et décembre respectivement  $0.64 \pm 0.01\%$ ,  $0.53 \pm 0.0008\%$  (Figure 28).



**Figure 29:** Rendement en HE des échantillons d'Oued Asla selon la date de récolte

En se basant sur la figure 29, nous avons constaté que les échantillons prélevés dans la provenance d'Oued Asla ont la teneur la plus élevée en HE pendant le mois de juin, avec un taux de  $2.03 \pm 0.002\%$ , suivis de ceux du mois de mars et de décembre qui ont le même rendement en HE avec un taux de  $0.6 \pm 0.0001\%$  et enfin, ceux de Septembre avec un taux en HE de  $0.36 \pm 0,0002\%$

Au terme de cette partie d'étude, il découle de ce qui précède que le rendement en HE des échantillons d'*A. herba alba* récoltés, dans les six provenances durant les mois d'étude (mars, juin, septembre et décembre), varie en fonction de la période de récolte. En effet, les échantillons ont fourni des taux importants pendant le mois de mars (période végétative) et des teneurs maximum en HE pendant le moi de juin (période florale), mais avec des taux plus faible ou nulles pendant le moi de septembre (période de fructification). Ce pendant, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et par conséquent le rendement en HE augmente à nouveau pendant le mois de décembre.

En effet, la croissance végétative de l'*A. herba-alba* a lieu en automne, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement fin d'été (Gharabi et *al.*, 2008). Il a été montré que lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'armoise blanche présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (Nabli, 1989 ; Chaieb et *al.*, 2004). Ce qui explique le rendement élevé obtenu en juin et leur augmentation au mois de décembre.

L'ensemble de nos résultats se montrent très concordants avec ceux de nombreux auteurs (Ghanmi *et al.*, 2010, Bencheqroun *et al.*, 2012 et Ennajar *et al.*, 2007). Ces derniers ont travaillé respectivement sur les huiles essentielles d'*A. herba alba*, d'*Artemisia mesatlantica* et de *Juniperus phonicea* L. Ainsi, ils ont montré que le meilleur rendement coïncide avec le stade de la floraison.

En outre, il a été montré en Italie que le rendement en HE des échantillons d'*Artemisia verlotiorum* varie en fonction de la date de récolte (Cheroconi, 2004). Ainsi, un maximum de 0.60% a été obtenu au mois d'avril et un minimum de 0.1% au mois de janvier. Par contre, en Espagne le rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba alba* récolté dans quatre localités différentes, variait de 0.41% à 2.30% (Salido *et al.*, 2004). Cette différence en rendement entre les armoises semble être liée à de nombreux facteurs dont la date de récolte, stade de croissance, conditions pédoclimatiques de la région, partie de la plante distillée, technique d'extraction... (Ourid *et al.*, 2016b). Il semble aussi, que le rendement en huile essentielle au cours de la croissance est particulièrement, sensible à la température quotidienne et aux conditions environnementales, à savoir la lumière, la disponibilité des nutriments et la longueur du jour (Circella *et al.*, 1995 ; Skoula *et al.*, 2000).

## **2- Composition chimique des huiles essentielle des échantillons issus des six provenances étudiées**

Les huiles essentielles sont largement considérés comme des mélanges les plus difficiles à caractériser, vu leur complexité. L'ensemble des techniques d'analyses décrites à savoir la CPG et le couplage CPG/SM, nous ont permis d'identifier la majorité des composés des huiles essentielles étudiées.

### **2-1- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus d'Oued Ait Makhoulf**

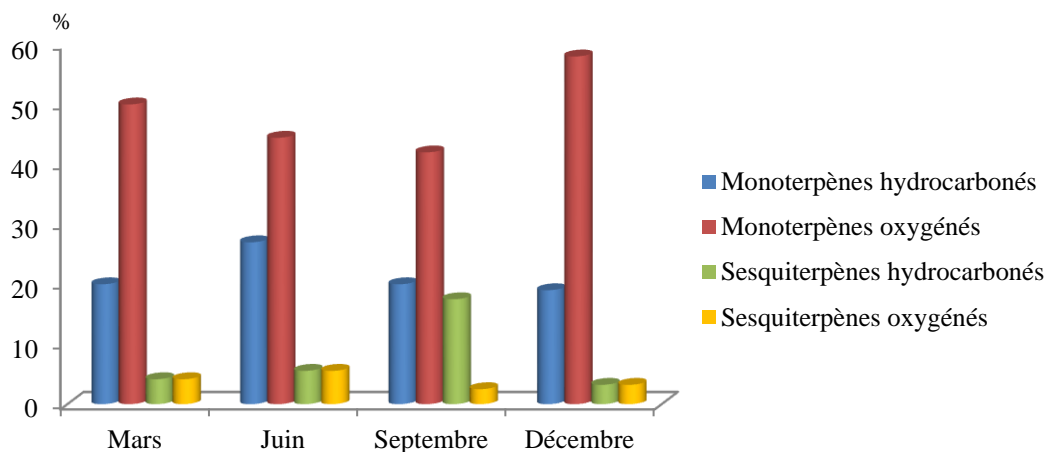
L'identification des différents constituants chimiques des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Ait Makhoulf récoltés en mars, juin et septembre sont regroupés dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Variation de la composition chimique des HE des échantillons d'Oued Ait Makhlouf selon la date de récolte

**IK : Indice de Kovats ; - : absence**

IK	Constituants	Mars	Juin	Septembre	Décembre
921	Tricyclène	0,55	0,31	-	0,18
924	$\alpha$ -thujène	-	0,31	0,84	-
932	$\alpha$ -pinène	0,27	0,62	1,13	0,59
946	Camphène	-	-	0,14	0,31
969	Sabinène	0,21	-	0,63	-
971	artemiseole	-	-	1,13	-
988	Myrcène	1,64	-	0,13	0,72
1002	$\alpha$ -phyllandrène	10,04	0,67	3,19	1,2
1014	$\alpha$ -terpinène	-	2,49	-	-
1024	limonène	-	-	0,33	-
1055	Cétone d'artemisia	5,1	-	0,1	-
1065	Cis-hydrate de sabinène	5,57	-	4,23	2,81
1069	Dihydro myrcenol	3,24	1,64	-	-
1081	Alcool d'artemisia	10,88	22,28	26,36	31,81
1095	6-camphenone	-	-	15,9	27,85
1098	Trans hydrate de sabinène	9,28	-	6,16	8,67
1099	$\alpha$ -oxide pinene	0,17	-	-	-
1101	$\alpha$ -thujone	1,27	21,1	0,67	1,09
1111	6-camphenole	-	-	1,25	-
1112	$\beta$ -thujone	43,03	1,67	10,91	14,24
1119	Trans hydrate de pinène	1,53	8,98	-	0,21
1122	$\alpha$ -campholenal	-	-	-	0,74
1224	chrysanthenone	0,19	-	5,05	0,82
1130	1-terpineol	-	-	-	0,7
1134	Iso-3-thujanol	1,45	7,75	1,39	0,7
1141	camphre	1,42	0,8	0,14	0,17
1147	3-neo iso thujanol	-	0,87	0,02	0,14
1159	Trans- $\beta$ -terpineol	-	-	0,47	0,84
1164	3-thujanol	0,42	-	0,33	0,17
1186	$\alpha$ -terpineol	-	-	0,08	0,19
1199	Y-terpineol	-	-	-	0,07
1207	Trans-piperitol	-	-	-	0,06
1219	Cis-hydrate acetate de sabinène	0,14	-	13,63	2,44
1228	Nordavanone	2,03	27,09	0,38	0,32
1235	Trans acetate de chrysanthenyl	-	0,32	1,08	0,36
1253	Trans hydrate acetate de sabinene	0,14	1,32	-	-
1267	Iso-3 thujanol acetate	1,08	-	0,41	0,52
1269	Acetate d'artemisia	0,01	0,69	-	-
1295	3-thujanol acetate	-	-	0,25	-
1324	Acetate de mertenyl	-	-	-	1,61
1335	$\delta$ -elemène	0,2	1,31	1,01	-
1346	$\alpha$ -Terpinyl acetate	-	-	0,04	-
1385	Trans myrtanol acetate	-	-	0,17	0,09
1389	Iso-longifolène	-	-	0,27	-
1400	$\beta$ -longipinene	-	-	0,08	-
1417	e-caryophyllene	-	-	1,09	-
1434	$\gamma$ -elemène	-	-	0,17	-
1499	$\alpha$ -muurolene	-	-	0,02	-
1505	$\alpha$ -thujaplicinol	-	-	0,01	0,2
1513	$\gamma$ -cadinnène	-	-	0,03	0,02
1863	Cis-thujopsenic acid	-	-	0,03	-
<b>Totale %</b>		<b>96,44</b>	<b>99,98</b>	<b>99,93</b>	<b>99,84</b>

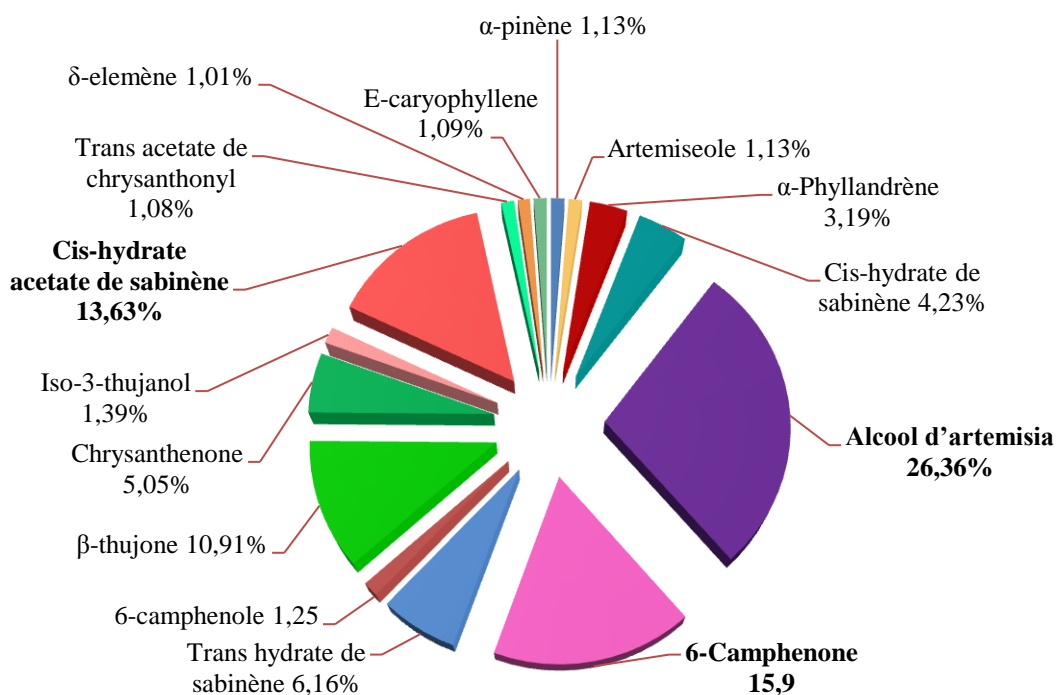
D'après ces résultats obtenus, nous avons noté que la composition chimique des huiles essentielles des quatre récoltes est dominée par les monoterpènes. Parmi les monoterpènes, les composés oxygénés constituent une importante partie de la composition chimique de l'huile essentielle, par rapport aux composés hydrocarbonés. Cependant, les sesquiterpènes représentent une faible quantité (Figure 30).



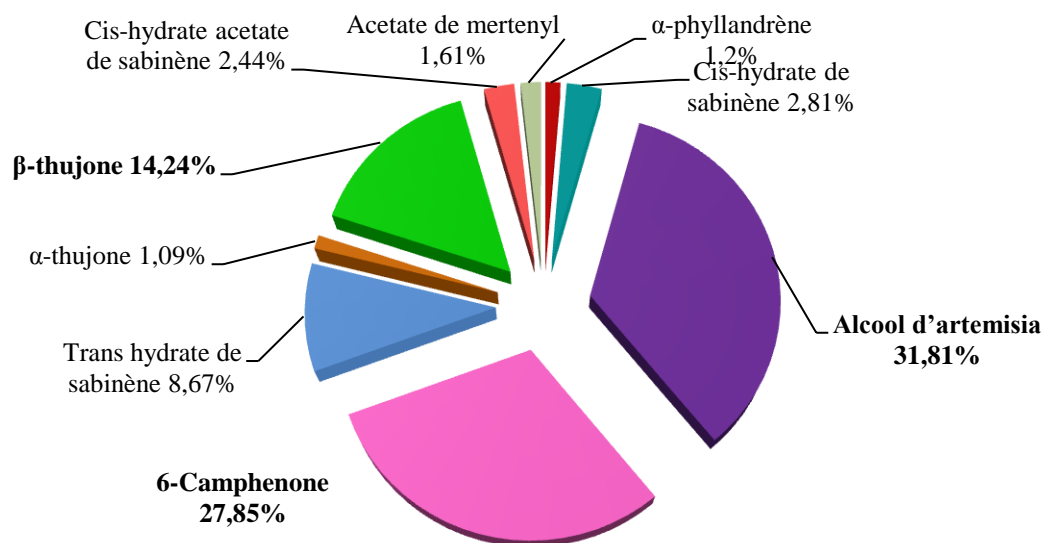
**Figure 30:** Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Ait Makhoulf

Le nombre de composés identifiés dans les HE varie en fonction de la date de récolte. Ainsi, on en distingue 24 composés pour la récolte de mois de mars et 18 composés pour celle de mois de juin. Pour les deux autres récoltes : mois de septembre et de décembre, le nombre de constituants détectés dans les HE sont respectivement de 40 et 31. Les rendements obtenus représentent environ 96.44%, 99.98%, 99.93% et 99.84% de la totalité des huiles essentielles des plantes récoltées respectivement au cours des mois de mars, juin, septembre et décembre (Tableau 5).

En outre, des différences qualitatives et quantitatives, entre les échantillons des quatre récoltes, ont été notées. En effet, les collectes de mois de septembre et décembre sont caractérisées par la présence d'alcool d'artémisia, comme principal constituant (respectivement 26.36% et 31.81%) suivi du 6-camphène (respectivement 15.9% et 27.85%), de  $\beta$ -thujone (respectivement 10.91% et 14.24%), de cis-hydrate acétate de sabinène (respectivement 13.63% et 2.44%) et trans hydrate de sabinène (respectivement 6.16% et 8.67%). Ces composés sont accompagnés d'autres constituants minoritaires qui ne sont pas dénués d'importance à savoir, chrysanthène (5,05% et 0.82%), cis-hydrate de sabinène (4 .23% et 2.81%) et  $\alpha$ -phyllandrene (3.19% et 1.2%) (Figures 31 et 32).

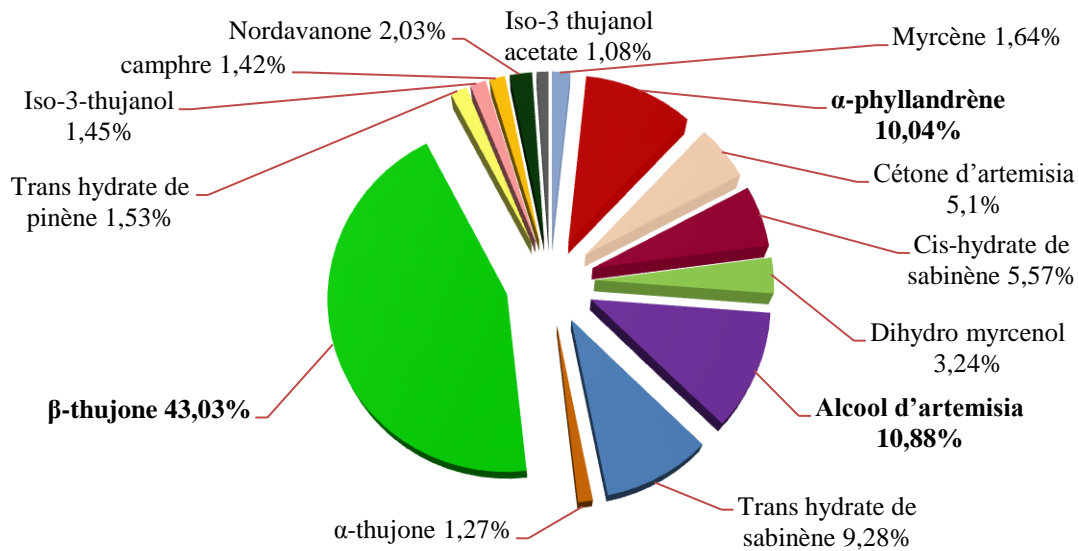


**Figure 31:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Ait Makhlouf



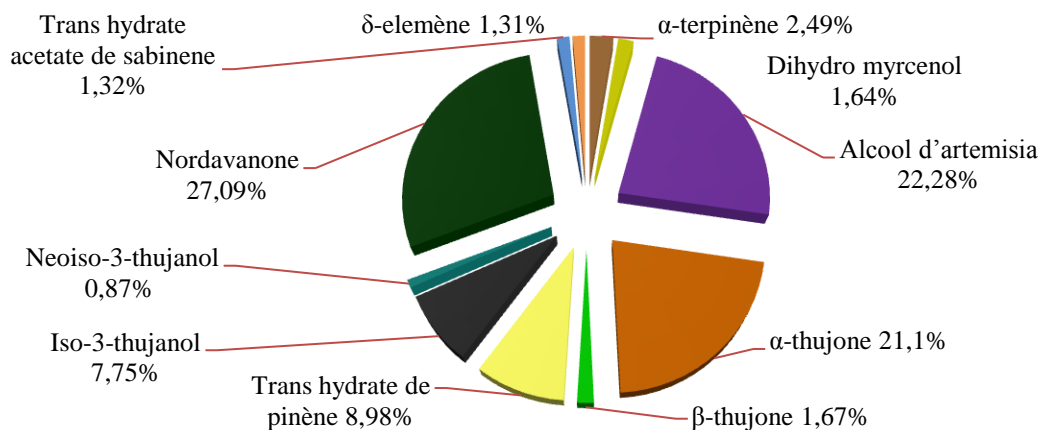
**Figure 32:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Ait Makhlouf

Par contre, les échantillons récoltés au mois de mars, se distinguent par la présence du  $\beta$ -thujone, comme composé majoritaire, suivi d'alcool d'artemisia et  $\alpha$ -phyllandrène avec des taux respectifs de 43.03% ; 10.88% et 10.04%. D'autres composés sont aussi identifiés, mais à des teneurs moins importantes: trans-hydrate de sabinène (9.28%), cis-hydrate de sabinène (5.57%), cétone d'artemisia (5.1%) et dihydro mercynol (3.24%) (Figure 33).



**Figure 33:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Ait Makhoulouf

Cependant, La composition chimique des huiles essentielles, extraites des échantillons de la récolte de mois de juin, est caractérisée par la présence de Nordavanone, comme principal constituant (27.09%), suivi d'alcool d'artemisia (22.28%) et l' $\alpha$ -thujone (21.1%). D'autres composés ont été également identifiés à des pourcentages relativement faibles, tels que le Trans-hydrate de pinène (8.98%), l'iso-3-thujanol (7.52%), le 1-4 cineole (2.49%), le  $\beta$ -thujone (1.76%) et l'alcool d'artemisia (1.64%) (Figure 34).



**Figure 34:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance d'Ait Makhoulouf

Nous avons noté que les huiles essentielles analysées sont riches en alcool d'artémisia. Ainsi, les HE des collectes de septembre et décembre se caractérisent par l'abondance de 6-camphénone, suivi de  $\beta$ -thujone, mais avec la présence de cis-hydrate acétate de sabinène avec une teneur intéressante dans la récolte de mois de septembre. Par contre, l'huile essentielle de la collecte de mois de juin est spécialement riche en nordavanone et en  $\alpha$ -thujone. Cependant, celle de mois de mars se caractérise par l'abondance du  $\beta$ -thujone par rapport aux HE des autres collectes (Tableau 6). Ces résultats peuvent être considérés comme des indicateurs pour différencier ces collectes.

**Tableau 6:** Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE d'Oued Ait Makhoulouf

Composé chimique	Mars	Juin	Septembre	Décembre
Alcool d'artémisia	10,88%	22,2%	26,36%	31,81%
6-camphénone	-	-	15,9%	27,85%
$\alpha$ -thujone	1,27%	21,1%	0,67%	1,09%
$\beta$ -thujone	43,03%	1,67%	10,91%	14,24%
Cis-hydrate acétate de sabinène	0,14%	-	13,63%	2,44%
Nordavanone	2,03%	27,09%	0,38%	2,44%

La variabilité chimique notée lors de l'analyse qualitative et selon les périodes de récolte pourrait probablement, être expliquée par le processus de la biosynthèse de ces principaux constituants. En effet, il paraît qu'au cours du mois de mars qui correspond à la période végétative, les voies de biosynthèse de l' $\alpha$ -phyllandrène, l'alcool d'artémisia et  $\beta$ -thujone sont favorisées avec la prépondérance de ce dernier. En outre, au cours de mois de juin, période florale, la biosynthèse est orientée vers la formation des 3 constituants: l' $\alpha$ -thujone, l'alcool d'artémisia et le nordavanone. Cependant, au cours du de septembre et décembre, période coïncidant avec des conditions de stress biotique et abiotique, la biosynthèse favorise la formation de l'alcool d'artémisia et du 6-camphénone.

En tenant compte de ces variations, nous avons pu définir une composition chimique de type  $\beta$ -thujone pour l'huile essentielle de la collecte du mois de mars et une composition de type nordavanone-alcool d'artémisia caractéristique de l'HE de la collecte du mois de juin. Par contre, l'huile essentielle de la récolte du mois de septembre contient un composé différent qui se caractérise par une composition de type alcool d'artémisia, 6-camphénone et Cis-

hydrate acétate de sabinène. Par contre, l'HE de la récolte du mois de décembre se caractérise par une composition de type alcool d'artémisia, 6-camphénone et  $\beta$ -thujone.

De nos résultats, il ressort que la composition chimique de l'huile essentielle étudiée est largement différente de celle de la région de Guerçif (Oriental du Maroc), Ghanmi et ses collaborateurs (2010), ont montré que les principaux constituants des huiles essentielles d'armoise blanche sont la chrysanthénone (47.71% à 0.28%) et le camphre (24.59% à 45.03%). Cette composition est différente de celle de la région de Benifouda (Algérie) qui est dominée par le camphre (33.1%) et la chrysanthénone (12.2%) (Belhattab et *al.*, 2014). Quand à l'huile essentielle de la région de Bir Elhfay (Tunisie), elle présente l' $\alpha$ -thujone (24.88%) et la D-Germacrene (14.48%) comme principaux composés (Kadri et *al.*, 2011).

### **2-2- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte**

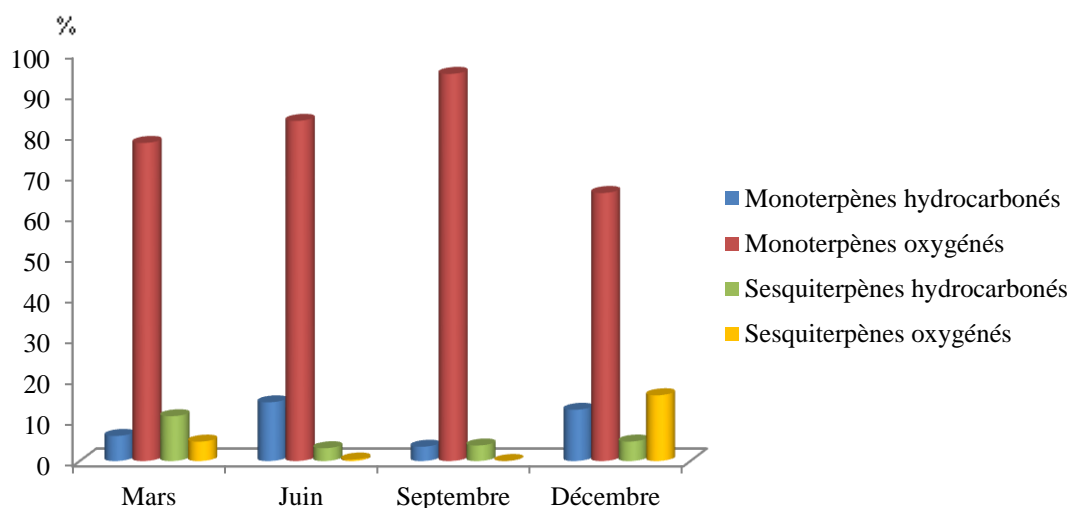
Les pourcentages des composants volatils de l'huile essentielle des échantillons d'*A. herba alba* collectés pendant les mois de mars, de juin, de septembre et décembre dans la provenance de la Reserve Aswiwinia sont reportés dans le tableau 7. Les profils chimiques des huiles essentielles montrent une différence quantitative et qualitative entre les huiles essentielles des quatre récoltes.

**Tableau 7:** Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus de la provenance de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte

**IK : Indice de Kovats ; (-) : absence**

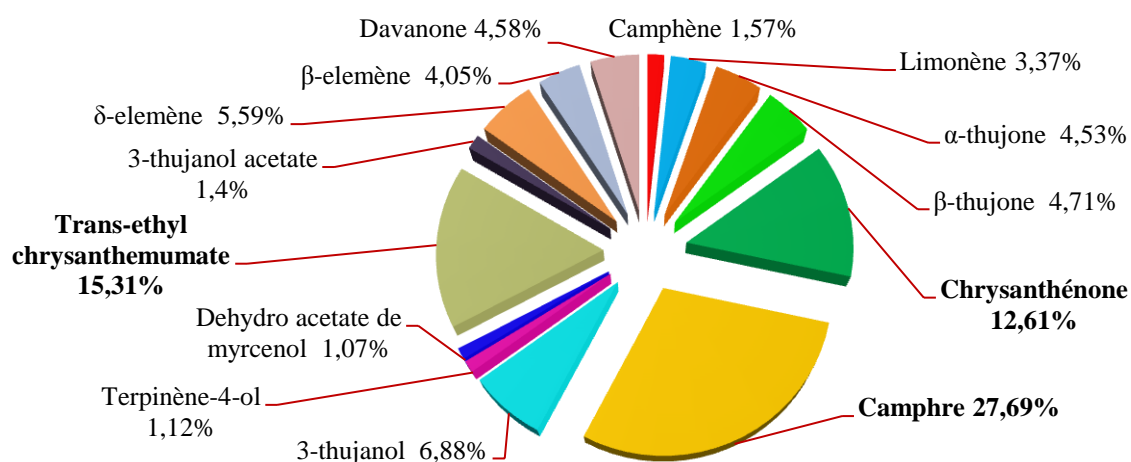
<b>IK</b>	<b>Constituants</b>	<b>Mars</b>	<b>Juin</b>	<b>Septembre</b>	<b>Décembre</b>
921	Tricyclène	-	-	-	0,23
924	$\alpha$ -thujène	-	0,32	-	-
932	$\alpha$ -pinène	0,46	2,8	-	0,72
946	Camphène	1,57	-	-	3,65
969	Sabinène	0,18	-	-	0,06
988	Myrcène	0,41	-	0,43	1,04
1002	$\alpha$ -phyllandrène	0,15	1,14	0,31	-
1012	1-4 cinéole	-	9,7	0,46	0,4
1024	limonène	3,37	-	1,98	5,37
1055	Cétone d'artémisia	-	-	-	0,21
1065	Cis-hydrate de sabinène	0,24	0,26	0,08	0,26
1081	Alcool d'artémisia	-	4,46	-	0,24
1101	$\alpha$ -thujone	4,53	40,19	8,58	7,11
1112	$\beta$ -thujone	4,71	-	4,29	6,29
1124	chrysanthénone	12,61	29,15	19,01	14,39
1134	Iso-3-thujanol	-	0,14	-	-
1141	camphre	27,69	1,49	43,73	27,07
1147	3-neo iso thujanol	-	0,86	-	-
1164	3-thujanol	6,88	-	-	-
1174	Terpinène-4-ol	1,38	0,18	0,63	0,9
1186	$\alpha$ -terpineol	-	-	-	0,85
1199	$\gamma$ -terpineol	1,12	-	-	0,54
1214	Dehydro acetate de myrcenol	1,07	0,42	1,61	0,67
1228	Nordavanone	0,17	0,35	-	-
1235	Trans acetate de chrysanthenyl	0,40	0,79	-	-
1244	carvotanacétone	0,07	0,58	-	0,09
1253	Trans hydrate acetate de sabinene	-	-	2,01	-
1267	Iso-3 thujanol acetate	-	-	-	0,24
1277	Trans-ethyl chrysanthemumate	15,31	1,54	2,93	1,09
1295	3-thujanol acetate	1,40	-	-	0,06
1327	Acetate de mertenyl	-	-	-	-
1335	$\delta$ -elemène	5,59	2,99	0,33	1,94
1346	$\alpha$ -Terpinyl acetate	-	-	0,48	0,29
1385	Trans myrtanol acetate	-	0,4	0,19	-
1389	$\beta$ -elemène	4,05	-	1,44	-
1400	$\beta$ -longipinene	0,52	-	-	0,25
1417	e-caryophyllene	-	-	-	-
1429	Cis-thujopsène	0,46	0,05	1,68	0,26
1434	$\gamma$ -elemène	-	-	-	0,3
1484	D-germacrène	0,22	-	-	0,08
1522	$\delta$ -cadinène	0,12	-	-	1,53
1564	B-davanone	-	-	-	13,66
1571	Alcool de caryophyllène	-	-	-	0,3
1586	Davanone	4,58	-	-	0,77
	<b>Totale %</b>	<b>99,26</b>	<b>96,48</b>	<b>90,17</b>	<b>90,86</b>

D'après ces analyses chimiques, nous avons constaté que les huiles essentielles de la Reserve Aswiwinia se caractérisent par une teneur abondante en monoterpènes oxygénés dans les huiles essentielles analysées, surtout dans les récoltes de mois de juin et de septembre alors que les monoterpènes hydrocarbonés, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés ne représentent que de faible teneur (Figure 35).



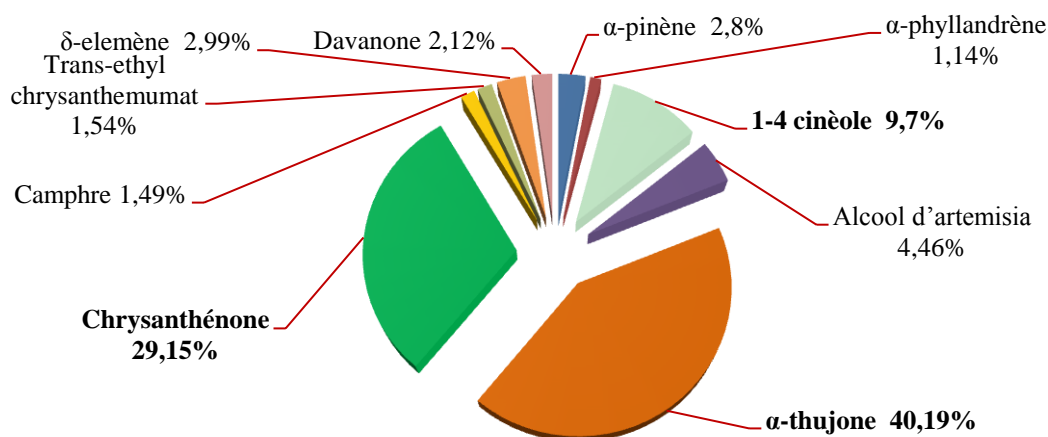
**Figure 35:** Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus de la Reserve Aswiwinia

Les échantillons récoltés en mois de mars sont constituée de 27 composés, qui représentent environ 99.26% de la totalité de l'huile essentielle de la plante (Tableau 7). Les composés majoritaires sont le camphre (27.61%), le trans-ethyl chrysanthemumate (15.31%) et le chrysanthénone (12.61%). D'autres composés ont été également détectés tels que: 3-thujanol (6.88%),  $\delta$ -elemène (5.59%),  $\beta$ -thujone (4.71%), davanone (4.58%),  $\alpha$ -thujone (4.53%),  $\beta$ -elemène (4.05%) et limonène (3.37%) (Figure 36).



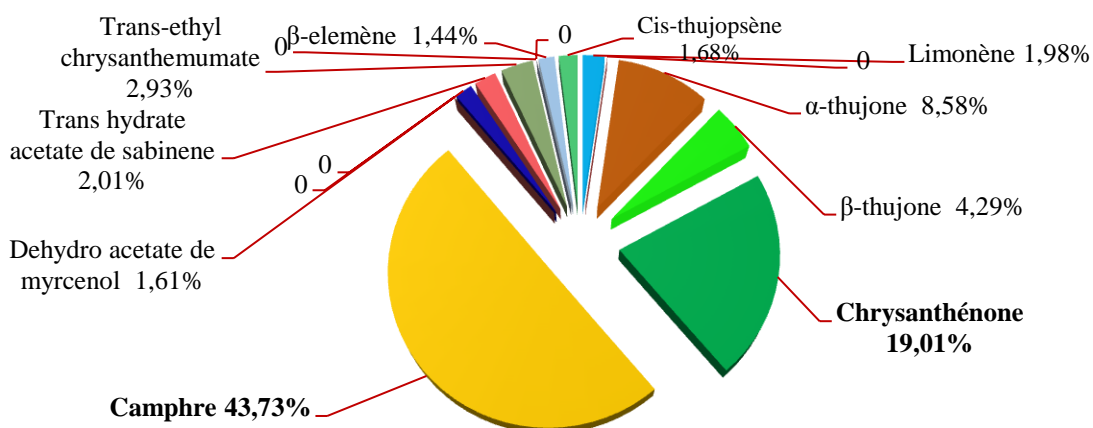
**Figure 36:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de Mars dans la Reserve Aswiwinia

Concernant les échantillons récoltés en mois de juin, les résultats relatifs à la composition chimique des HE ont permis d'identifier 21 composés qui représentent 96,48% de la totalité des HE (Tableau 7). L' $\alpha$ -thujone (40.19) est le composé majoritaire accompagné du chrysanthénone (29.15%) et de 1-4 cinéole (9.7%). Alcool d'artémisia (4.46%),  $\delta$ -elemène (2.99%),  $\alpha$ -pinène (2.8%), trans-ethyl chrysanthemumate (1.45%), camphre (1.49%) et  $\alpha$ -phyllandrène (1.14%) sont des composés minoritaires (Figure 37).



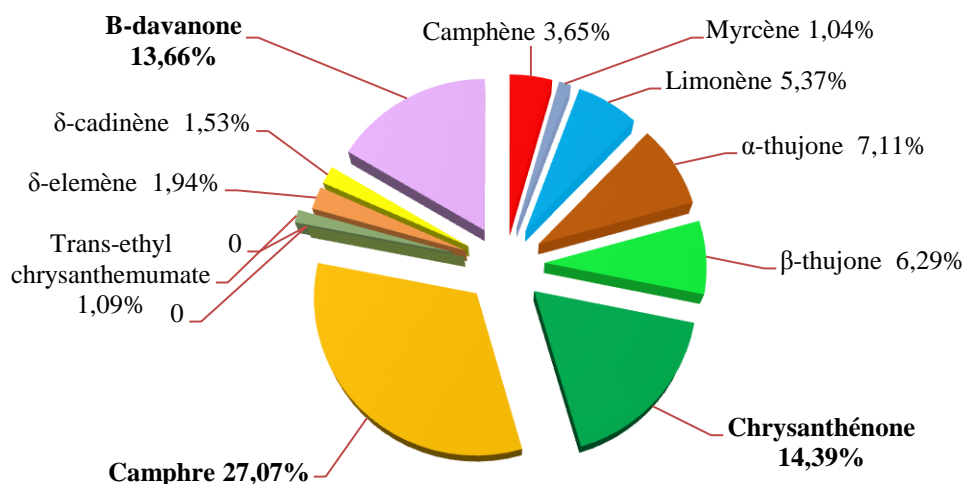
**Figure 37:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la Reserve Aswiwinia

Les échantillons récoltés au cours du mois de Septembre ont fourni des HE constituée de 18 composés (Tableau 7), représentant un pourcentage global d'environ 90.17%. Cette huile essentielle est caractérisée par une richesse en camphre (43.73%) et en chrysanthénone (19.01%). D'autres composés sont aussi identifiés mais à des teneurs moins importantes :  $\alpha$ -thujone (8.58%),  $\beta$ -thujone (4.29%), trans-ethyl chrysanthemumate (2.93%), trans hydrate acetate de sabinene (2.01%), limonène (1.98%), cis-thujopsène (1.68%), dehydro acetate de myrcenol (1.61%) et  $\beta$ -elemène (1.44%) (Figure 38).



**Figure 38:** Distribution (%) des principaux composés de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la Reserve Aswiwinia

Les analyses chromatographiques des HE des échantillons récoltés au cours du mois de décembre, nous ont permis d'identifier 32 composés qui représentent environ 90.68% (Tableau 7). On en distingue trois constituants chimiques dominant : camphre (27.07%), chrysanthénone (14.39%), et B-davanone (13.66%), accompagnés d'autres constituants avec des pourcentages moins importants :  $\alpha$ -thujone (7.11%),  $\beta$ -thujone (6.29%), limonène (5.37%), elemène (1.94%),  $\delta$ -cadinène (1.53%), trans-ethyl chrysanthemumate (1.09%) et le myrcène (1.04%) (Figure 39).



**Figure 39:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours mois de décembre dans la Réserve Aswiwinia

Nous avons constaté que les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles des quatre récoltes présentent les mêmes composés majoritaires qui sont la chrysanthénone et le camphre (Tableau 8). Seul le composé  $\alpha$ -thujone est plus abondant dans l'huile essentielle de la récolte de mois Juin que dans les huiles essentielles des autres récoltes. De même, l'huile essentielle de la récolte de mois de mars se caractérise par une teneur assez importante de composé trans-ethyl chrysanthemumate par rapport aux huiles essentielles des autres récoltes. De même, l'huile essentielle de la récolte de mois de décembre se montre riche en B-davanone, celui-ci, est absent dans les huiles essentielles des autres récoltes.

**Tableau 8:** Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE de la Reserve Aswiwinia

Composé chimique	Mars	Juin	Septembre	Décembre
Chrysanthénone	12,61%	29,15%	19,01%	14,39%
Camphre	27,61%	1,49%	43,73%	27,07%
$\alpha$ -thujone	4,53%	40,19%	8,58%	7,11%
Trans-ethyl chrysanthemumate	15,31%	1,54%	2,93%	1,09%
B-davanone	-	-	-	13,66%

Cette différence de la composition chimique observée entre les HE des échantillons issus de la provenance Reserve Aswiwinia pourrait s'expliquer par le processus de biosynthèse de ces principaux constituants. En effets, la formation du chrysanthénone et du camphre se produit à partir des pinènes et leurs dérivés (Bessière, 2008).

Cependant, nous avons bien distingué une divergence qualitative et quantitative entre la composition des huiles essentielles de deux provenances: Reserve Aswiwinia et Oued Ait Makhlof. Certains travaux antérieurs ont montré que les HE des échantillons d'*A. herba alba* récoltés, pendant les mois de mars, juin et septembre sont dominées par la chrysanthénone à des taux variant de 0.28% à 47.71% et le camphre varie de 2.59% à 45.03% (Ghanmi et al., 2010). Cette composition chimique présente une certaine similitude avec nos huiles essentielles. D'autres travaux (Zouari et al., 2010) sur la composition chimique des HE d'*A. herba alba* de la Tunisie ont prouvé la dominance de cis-chrysanterenyl acétate, sabinyl et  $\alpha$ -thujone. Al-shuneigat et ses collaborateurs (2014) ont montré que l'HE d'*A. herba alba* de Jordanie est dominée par le 1.8-cinèole, le cis-limonène et le cis-chrysanthénol.

### **2-3- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de Hassi Al Abyad selon la date de récolte**

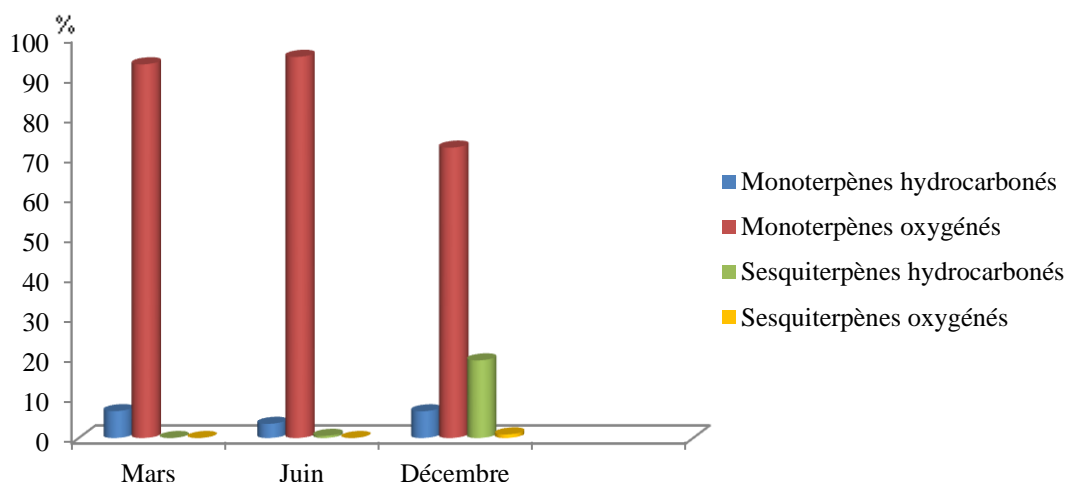
Les résultats de l'identification des composés chimiques des HE des échantillons collectés dans la provenance de Hassi Al Abyad, pendant les mois de mars, juin, septembre et décembre, sont présentés dans le tableau 9.

**Tableau 9:** Variation de la composition chimique des HE des échantillons Hassi Al Abyad selon la date de récolte

**IK : Indice de Kovats ; (-) : absence**

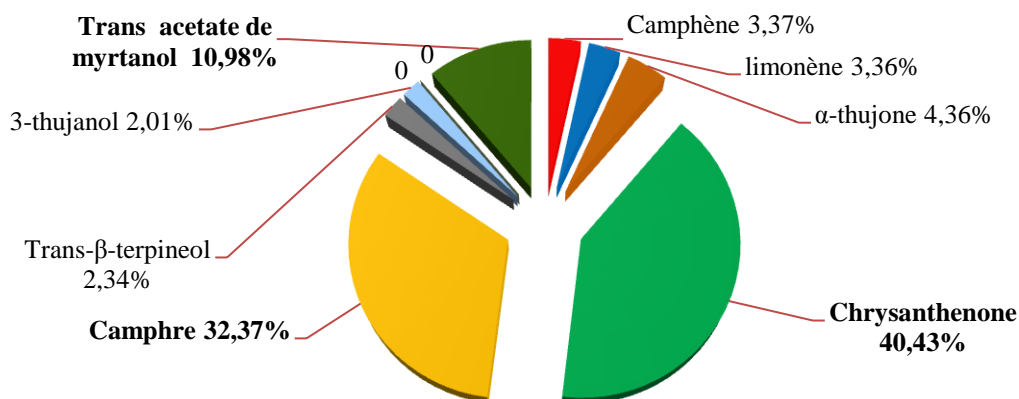
<b>IK</b>	<b>Constituants</b>	<b>Mars</b>	<b>Juin</b>	<b>Décembre</b>
924	$\alpha$ -thujène	-	0,21	-
932	$\alpha$ -pinène	-	2,21	0,25
946	Camphène	3,37	-	0,81
969	Sabinène	-	-	0,2
971	artemiseole	-	-	0,17
988	Myrcène	-	-	0,60
1002	$\alpha$ -phyllandrène	-	1,14	0,32
1012	1-4 cinéole	-	8,33	0,36
1025	$\beta$ -phyllandrène	3,36	-	4,09
1055	Cétone d'artémisia	-	-	0,24
1065	Cis-hydrate de sabinène	-	0,3	0,15
1081	Alcool d'artémisia	-	5,35	0,36
1101	$\alpha$ -thujone	4,36	48,91	3,52
1112	$\beta$ -thujone	-	-	4,11
1124	chrysanthenone	40,43	26,64	19,68
1134	Iso-3-thujanol	-	0,16	-
1141	camphre	32,37	0,04	28,03
1147	Neoiso-3-thujanol	-	0,98	-
1159	Trans- $\beta$ -terpineol	2,34	-	-
1164	3-thujanol	2,01	-	0,49
1169	Artemisyl acetate	0,15	-	3,85
1174	Terpinène-4-ol	-	0,44	0,85
1186	$\alpha$ -terpineol	-	-	1,11
1214	Dehydro acetate de myrcenol	-	0,33	1,79
1228	Nordavanone	-	0,79	0,27
1235	Trans acetate de chrysanthenyl	-	1,12	0,34
1244	carvotanacétone	-	-	0,18
1253	Trans hydrate acetate de sabinene	-	-	0,37
1277	Trans-ethyl chrysanthemumate	-	1,43	1,66
1289	Trans acetate de sabinyl	-	-	0,38
1300	Trans-dihydro- $\alpha$ -acetate de terpinyl	-	-	0,84
1312	Neoiso-isopulegyle acetate	0,11	-	-
1335	$\delta$ -elemène	-	0,17	5,78
1346	$\alpha$ -Terpinyl acetate	-	-	0,94
1350	$\alpha$ -longipinène	-	-	1,05
1385	Trans acetate de myrtanol	10,98	0,56	-
1389	$\beta$ -elemène	-	-	9,39
1400	$\beta$ -longipinene	-	-	0,46
1417	e-caryophyllene	-	-	0,47
1434	$\gamma$ -elemène	-	-	0,47
1484	D-germacrène	-	-	0,25
1505	$\alpha$ -thujaplicinol	-	-	0,2
1522	$\delta$ -cadinène	-	0,37	-
1537	$\alpha$ -cadinène	-	-	0,84
1571	Alcool de caryophyllène	-	-	0,31
1586	Davanone	-	-	0,56
<b>Totale %</b>		<b>99,48</b>	<b>99,48</b>	<b>95,74</b>

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles des échantillons collectés dans la provenance de Hassi Al Abyad, montrent que la teneur et la nature des composés varient considérablement d'un échantillon à l'autre et en fonction de la date de récolte (Tableau 9). De plus, ces HE analysées ont montré la prédominance de composés monoterpéniques oxygénés dans les trois collectes (mars, juin et décembre). Tandis que, les monoterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes hydrocarbonés sont très minoritaires (Figure 40).



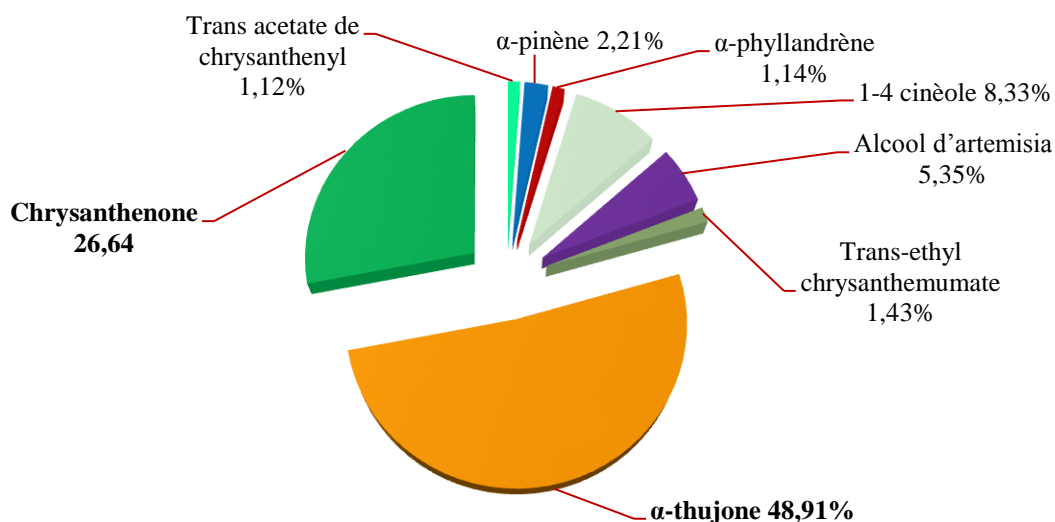
**Figure 40:** Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus de Hassi Al Abyad

Les résultats obtenus révèlent que l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours du mois de mars est composée de 10 constituants représentant un taux global de 99.48% (Tableau 9). Les constituants majoritaires de cette HE sont le chrysanthénone (40.43%), le camphre (32.37%) et le trans acétate de myrtanol (10.98%). D'autres constituants sont présents à des teneurs moins importantes : l' $\alpha$ -thujone (4.36%), le camphène (3.37%), le limonène (3.36%), le trans- $\beta$ -terpineol (2.34%) et le 3-thujanol (2.01%) (Figure 41).



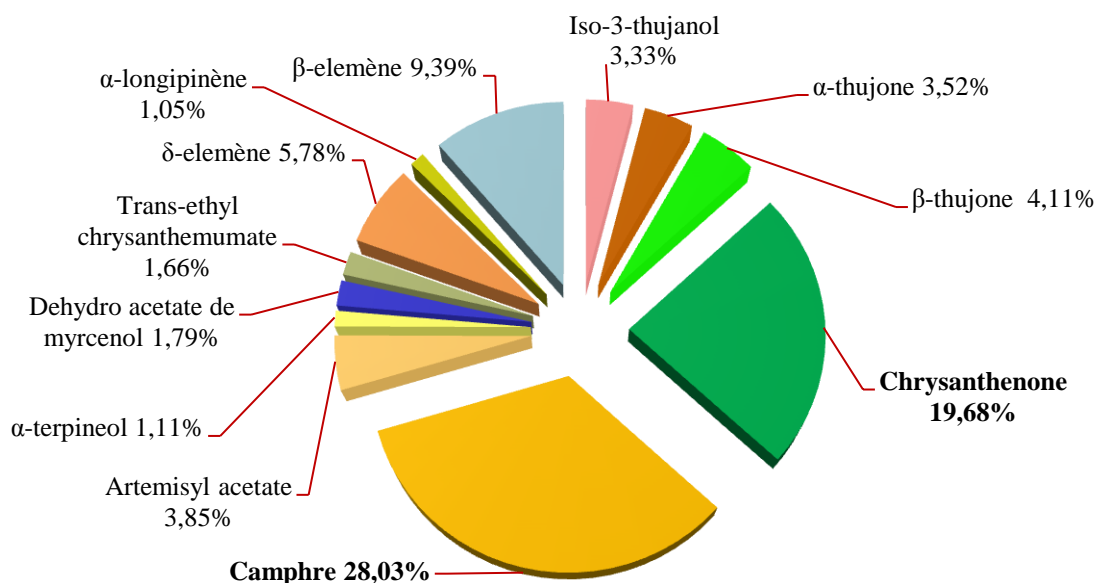
**Figure 41:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de Hassi Al Abyad

Un total de 19 composés représentant 99.48% ont été identifiés dans l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours du mois de juin (Tableau 9). Cette huile essentielle est dominée par deux composés qui sont l' $\alpha$ -thujone (48.91%) et le chrysanthénone (26.64%). La présence d'autres composés minoritaires est marquante par ses pourcentages relativement importants, comme le 1,4-cinéole (8.33%), l'alcool d'artémisia (5.35%), l' $\alpha$ -pinène (2.21%), le trans-ethyl chrysanthemumate (1.43%), l' $\alpha$ -phyllandrène (1.14%) et le trans acétate de chrysanthonyl (1.12%) (Figure 42).



**Figure 42:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de Hassi Al Abyad

En revanche, l'HE de mois de décembre présente quelques modifications significatives par rapport aux celles des autres récolte. Quarante composés ont été identifiés et représentent environ 95.74% de la composition chimique totale (Tableau 9). Les composés majoritaires sont le camphre (28.03%) et la chrysanthénone (19.68%), mais ils ont des taux plus faibles par rapport à ceux obtenus dans les huiles essentielles des échantillons récoltés durant le mois de mars. Cependant, l'HE de mois de décembre est caractérisée par l'apparition de plusieurs nouveaux composants par rapport aux HE des autres récoltes telles que : la  $\beta$ -elemène (9.39%), la  $\beta$ -thujone (4.11%) et l'iso-3-thujanol (3.33%) (Figure 43).



**Figure 43:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de Hassi Al Abyad

D'après ces résultats, nous avons observé que les huiles essentielles d'*A. herba alba* des trois collectes de la provenance de Hassi Al Abyad, présentent une immense variation qualitative et quantitative. Cependant, l'huile essentielle de la collecte du mois de juin se singularise par une abondance particulièrement forte en  $\alpha$ -thujone et à moindre degré de camphre. En outre, les profils chimiques des huiles essentielles de mois de mars et de septembre ont montré la prédominance de deux composés qui sont la chrysanthénone et le camphre, dont ils ont été détectés comme 1<sup>er</sup> ou 2<sup>ème</sup> composé majoritaire (Tableau 10).

**Tableau 10:** Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE de Hassi Al Abyad

Composé chimique	Mars	Juin	Décembre
$\alpha$ -thujone	4,36%	48,6%	3,52%
Chrysanthénone	40,43%	26,64%	19,68%
Camphre	32,37%	0,04%	28,03%

Globalement, les profils chimiques obtenus des huiles essentielles d'*A. herba alba* de la provenance de Hassi Al Abyad, se rapprochent de ceux obtenus dans la provenance de la Reserve Aswiwinia et sont légèrement différent aux huiles essentielles d'Oued Ait Makhlouf.

En revanche, les types chimiques obtenus et ceux publiés par de nombreux auteurs (Lamiri, 1997 ; Benjilali et al., 2005 ; Ghanmi et al., 2010, Imlouane et al., 2010, Zaim et al., 2012) diffèrent complètement de type chimique obtenu dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* récoltée dans la région d'Imlchil (Maroc), et ayant l'HE se caractérisant par un profil chimique jamais retrouvé, dont une composition chimique type "verbenol et farnesene epoxide-bisabolone" (Tilaoui et al., 2011).

Tout ceci, montre que la variabilité existante dans la composition chimiques des huiles essentielles, peut être corroborée à la biogenèse et la biosynthèse des constituants ainsi qu'à la date de récolte de la plante (Mighri et al., 2009 et Ourid et al., 2016b).

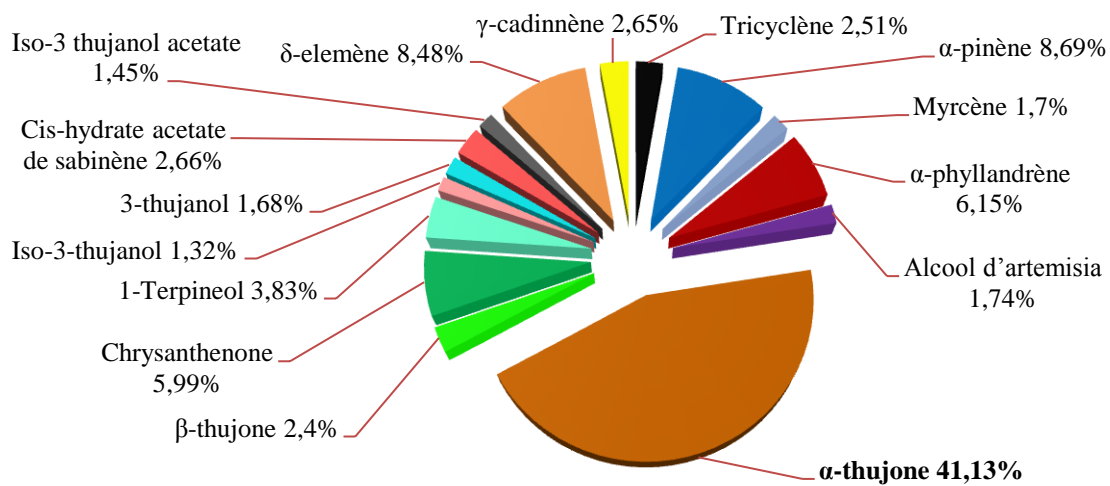
#### **2-4- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Agba selon la date de récolte**

Les constituants des huiles essentielles extraites des échantillons d'*A. herba alba* durant les quatre périodes de récolte (mars, juin, septembre et décembre), ont montré des différences au niveau de la teneur et de la nature de certains composés chimiques (Tableau 11).

**Tableau 11:** Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus d'Oued Agba selon la date de récolte

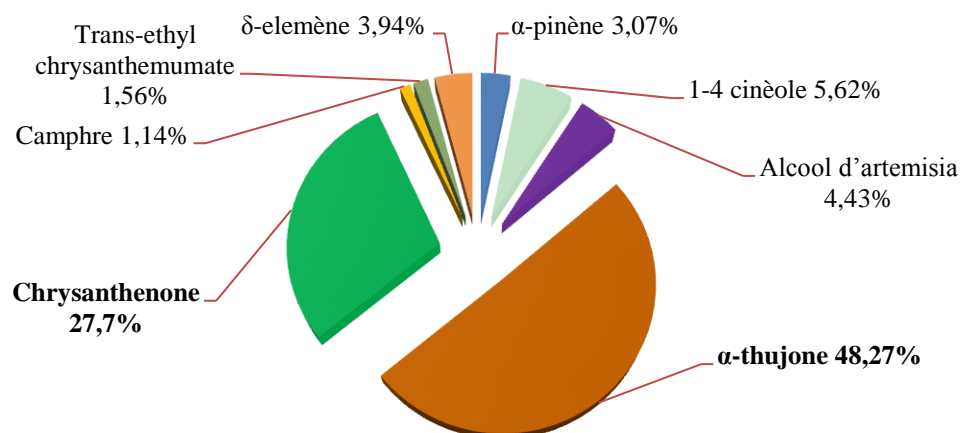
IK : Indice de Kovats ; (-) : absence					
IK	Constituants	Mars	Juin	Septembre	Décembre
921	Tricyclène	2,51	-	1,09	0,28
924	$\alpha$ -thujène	-	0,43	-	-
932	$\alpha$ -pinène	8,69	3,07	5,02	1,33
946	Camphène	0,4	-	0,71	0,22
969	Sabinène	0,51	-	0,68	0,51
971	artemiseole	-	-	1,25	0,88
988	Myrcène	1,7	-	-	1,16
1002	$\alpha$ -phyllandrène	6,15	0,78	6,64	3,92
1012	1-4 cinéole	-	5,62	-	-
1024	limonène	0,49	-	0,21	-
1055	Cétone d'artemisia	-	-	0,1	-
1065	Cis-hydrate de sabinène	0,37	-	8,52	1,48
1069	Dihydro myrcenol	-	-	-	-
1081	Alcool d'artemisia	1,74	4,43	0,88	2,15
1101	$\alpha$ -thujone	41,13	48,27	19,01	30,32
1111	6-camphenole	-	-	-	-
1112	$\beta$ -thujone	2,4	-	40,90	32,98
1122	$\alpha$ -campholenal	-	-	-	0,9
1124	chrysanthone	5,99	27,7	2,54	1,28
1130	1-terpineol	3,83	-	1,47	-
1134	Iso-3-thujanol	1,32	0,17	0,9	0,87
1141	camphre	0,15	1,14	-	0,43
1147	3-neo iso thujanol	-	0,94	0,3	-
1164	3-thujanol	1,68	-	-	0,08
1169	Artemisyl acetate	-	-	0,4	1,28
1174	Terpinène-4-ol	-	0,06	-	-
1186	$\alpha$ -terpineol	0,22	-	-	0,18
1199	Y-terpineol	0,67	-	-	0,45
1214	Dehydro acetate de myrcenol	-	-	-	1,17
1219	Cis-hydrate acetate de sabinène	2,66	-	0,09	1,54
1228	Nordavanone	-	0,62	-	-
1235	Trans acetate de chrysanthenyl	0,4	0,8	-	0,06
1253	Trans hydrate acetate de sabinene	-	-	-	0,1
1258	Trans myrtanol	0,18	-	-	0,09
1261	Cis acetate de chrysanthenyl	-	-	0,33	-
1267	Iso-3 thujanol acetate	1,45	-	2,03	2,14
1269	Acetate d'artemisia	-	-	-	3,85
1277	Trans-ethyl chrysanthemumate	-	1,56	-	-
1295	3-thujanol acetate	0,44	-	0,64	7,02
1324	Acetate de mertenyl	0,76	-	-	-
1335	$\delta$ -elemène	8,48	3,94	4,45	0,25
1346	$\alpha$ -Terpinyl acetate	0,92	-	-	0,22
1385	Trans myrtanol acetate	-	0,35	0,41	0,46
1389	$\beta$ -elemène	0,27	-	-	-
1400	$\beta$ -longipinene	0,23	-	-	-
1417	e-caryophyllene	0,18	-	0,54	-
1484	D-germacrène	0,29	-	-	-
1508	A-germacrène	-	-	0,69	-
1513	$\gamma$ -cadinnène	2,65	-	-	0,81
1522	$\delta$ -cadinène	-	0,12	0,15	0,68
<b>Totale %</b>		<b>98,86</b>	<b>100</b>	<b>99,55</b>	<b>99,09</b>

L'analyse chimique de l'HE des échantillons collectés au cours de mois de mars, a fait ressortir 31 composés (Tableau 11). Elle est constituée majoritairement de l' $\alpha$ -thujone (41.13%) suivi par l' $\alpha$ -pinène (8.69%), l' $\delta$ -elemène (8.48%), l' $\alpha$ -phyllandrène (6.5%), le chrysanthénone (5.99%), le 1-terpineol (3.83%), le cis-hydrate de sabinène (2.66%), le  $\gamma$ -cadinène (2.65%), le tricyclène (2.51%), le  $\beta$ -thujone (2.4%), l'alcool d'artémisia (1.74%), le myrcène (1.7%), le 3-thujanol (1.68%) et le iso-3 thujanol acétate (1.45%) (Figure 44).



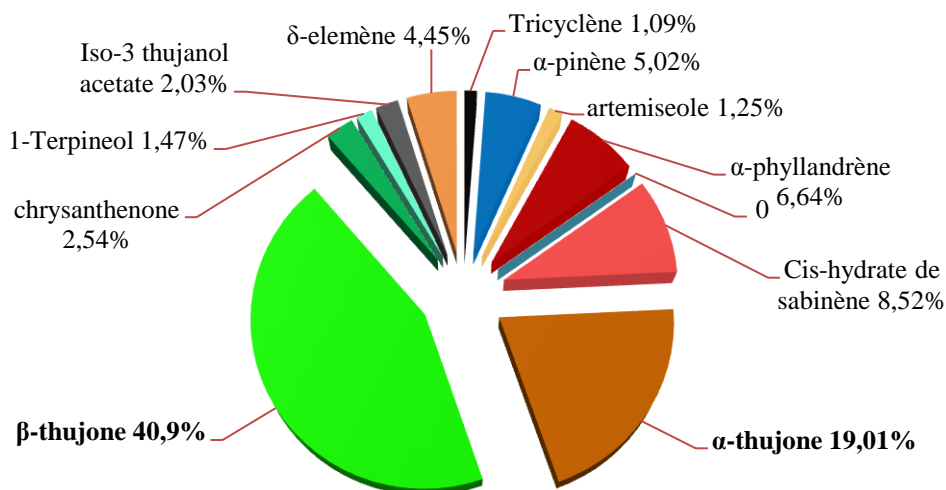
**Figure 44:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de mars dans la provenance d'Oued Agba

Dans l'HE des échantillons récoltés au cours du mois de Juin, on en distingue 17 composés (Tableau 11), dont l' $\alpha$ -thujone (48.27%) et le Chrysanthénone (27.7%) sont les deux constituants majoritaires, ainsi que d'autres constituants intéressants à des teneurs faibles : 1-4 cineole (5.62%), alcool d'artémisia (4.43%),  $\delta$ -elemène (3.94%),  $\alpha$ -pinène (3.07%), trans-ethyl chrysanthemumate (1.56%) et le camphre (1.14%) (Figure 45).



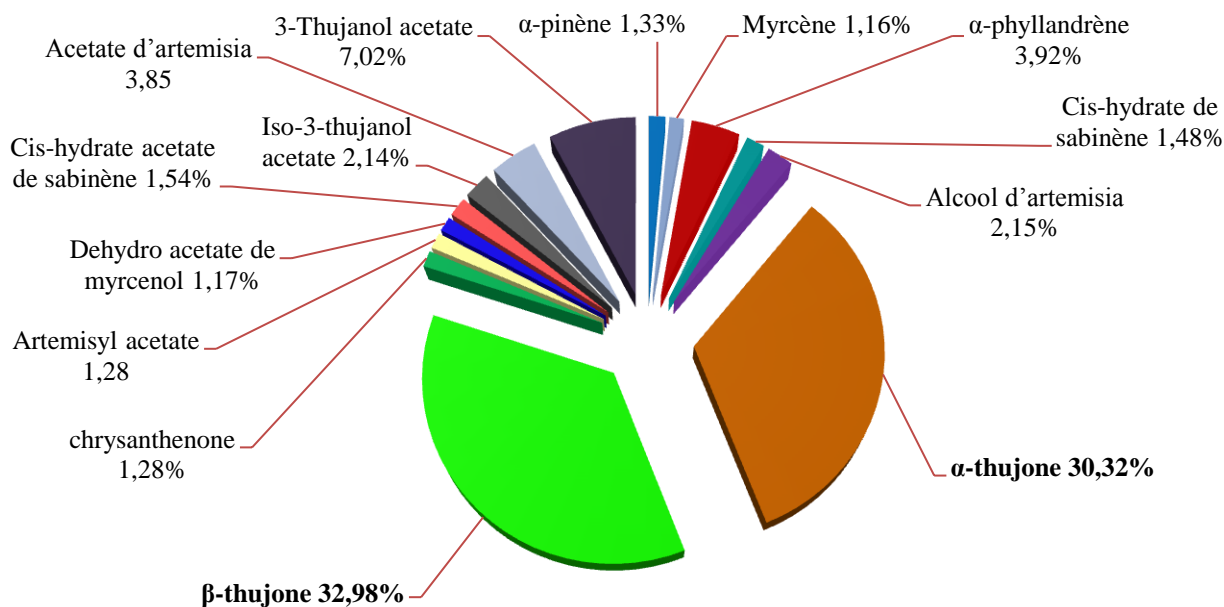
**Figure 45:** Distribution des (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance d'Oued Agba

Par ailleurs l'analyse de l'huile essentielle des échantillons collectés au mois de septembre a révélé la présence de 26 composés qui représentent 99.55% de la totalité de l'huile essentielle (Tableau 11). Cette HE est largement dominée par l' $\beta$ -thujone (40.90%) et l' $\alpha$ -thujone (19.01%) accompagnées d'autres composés, tels que le cis-hydrate de sabinène (8.52%),  $\alpha$ -phyllandrène (6.64%),  $\alpha$ -pinène (5.02%),  $\delta$ -elemène (4.45%), chrysanthénone (2,54%), 1-terpineol (1,47%), artemiseol (1.25%) et le tricyclène (1,06%) (Figure 46).



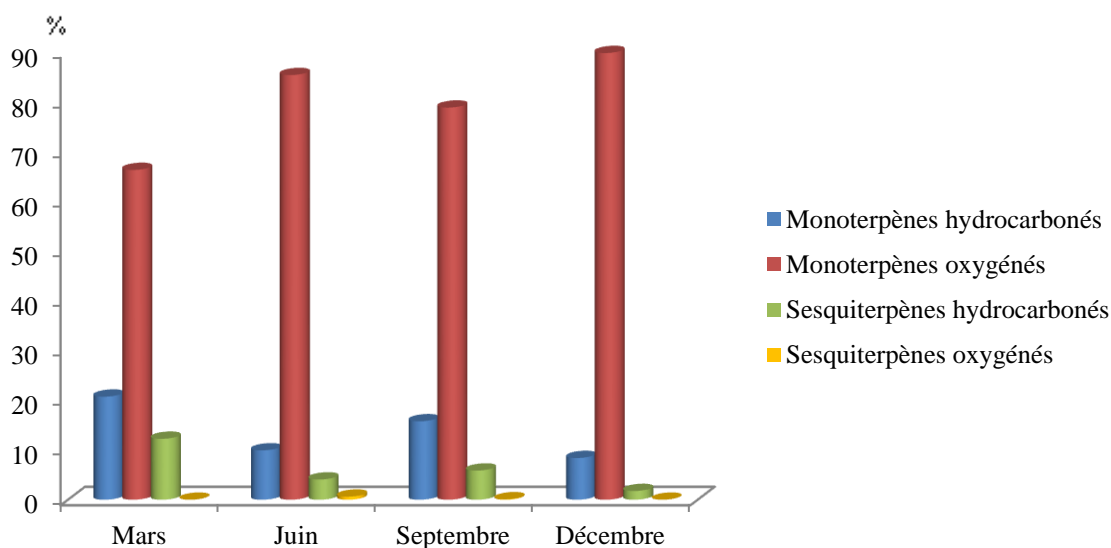
**Figure 46:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Oued Agba

Finalement, 32 constituants ont été dénombrés pour l'huile essentielle des échantillons collectés dans le mois décembre (Tableau 11). Deux constituants chimiques qui dominent cette huile essentielle et qui sont :  $\beta$ -thujone (32.98%) et de  $\alpha$ -thujone (30.32%). D'autres composés sont également, présents mais à des teneurs relativement faibles : 3-thujanol acetate (7.02%),  $\alpha$ -phyllandrène (3.92%), acetate d'artemisia (3.85%), alcool d'artemisia (2.15%), iso-3 thujanol acetate (2.14%), cis-hydrate de sabinène (1.54%),  $\alpha$ -pinène (1.33%), chrysanthénone (1.28%), artemisyl acetate (1.28%), dehydro acetate de myrcenol (1.17%) et le myrcène (1.16%) (Figure 47).



**Figure 47:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Oued Agba

Par ailleurs, les résultats compilés dans la figure 48, nous pouvons constater que les monoterpènes oxygénés sont distribués du mois de mars au mois de décembre en grande quantité (de 66.31% à 89.86%), alors que l'HE du mois de septembre, semble être riche en monoterpènes hydrocarbonés (20.68%) contre 9.9% en juin, 15.47% en septembre et 8.37% en décembre.



**Figure 48:** Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Agba

Les constituants des huiles essentielles, durant ces quatre périodes de récoltes, ont montré des différences notables, aussi bien au niveau des teneurs, qu'au niveau de l'apparition et/ou la disparition de certains composés chimiques. En effet, les HE des collectes des mois de mars et mois de juin se caractérisent par la dominance du composé chimique  $\alpha$ -thujone avec des taux de 40.13% et 48.27% respectivement. Par contre les HE des échantillons récoltés durant les mois de septembre et décembre, se distinguent par la présence de  $\beta$ -thujone comme composé majoritaire (40.50% et 32.98% respectivement) secondé par l' $\alpha$ -thujone (19.01% et 30.32%) (Tableau 12).

**Tableau 12:** Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les huiles essentielles d'Oued Agba

Composé chimique	Mars	Juin	Septembre	Décembre
$\alpha$ -thujone	41,13%	48,27%	19,01%	30,32%
$\beta$ -thujone	2,4%	-	40,50%	32,98%

En comparaison avec les résultats rapportés dans la littérature, dans les régions orientales du Maroc, la composition chimique des huiles essentielles d'*A. herba alba* diffèrent de nos résultats, elles sont dominées par le camphre, 43% pour l'HE de Tafoghalt (Berkane) (Imelouane et al., 2010), 32.37% pour l'HE de Hassi Al Abyad (Jerrada) ; 43,73% pour l'HE de la Reserve Aswiwinia (Ain Beni Mthar) (Ourid et al., 2016a).

Cependant, les travaux de Mighri et ses collaborateurs (2008), ont montré une variabilité dans les composés des huiles essentielles d'*A. herba alba* récoltées, pendant le stade végétative et de floraison dans la région de Kirchaou (sud-est de la Tinisie), particulièrement pour la  $\beta$ -thujone (27.8% - 23.4%),  $\alpha$ -thujone (24.2% - 24.4%), 1-8 cineole (6.1% - 8.8%) et le camphre (6.3% - 3,6%).

#### **2-5- Composition chimique des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub selon la date de récolte**

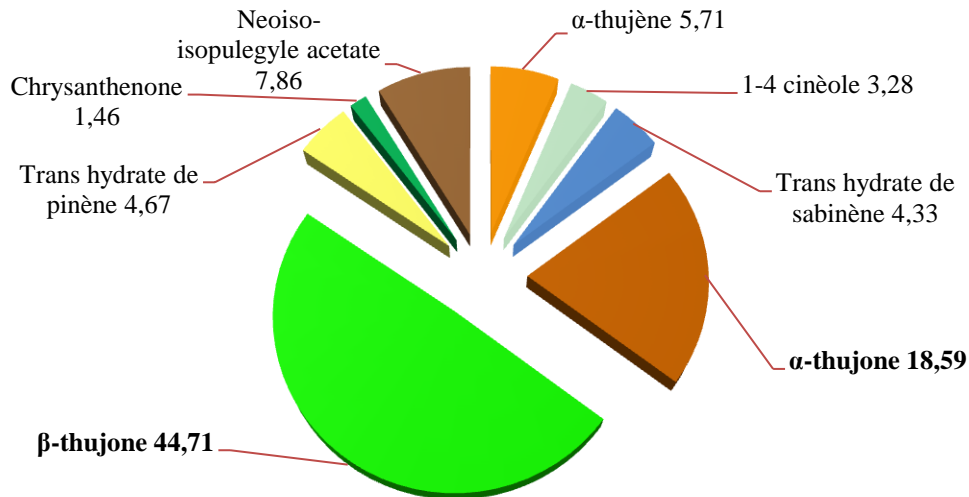
Les analyses chromatographiques des huiles essentielles des quatre récoltes sont consignées dans le tableau 13. Le nombre de composés identifiés diffère d'une collecte à l'autre. Vingt-quatre composés identifiés pour l'huile essentielle de la récolte de moies de mars. Pour les deux récoltes de mois de juin et décembre, le nombre de constituants détectés dans leurs huiles essentielles sont respectivement: 23 et 22 composés.

**Tableau 13:** Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub selon la date de récolte

IK : Indice de Kovats ; (-) : absence

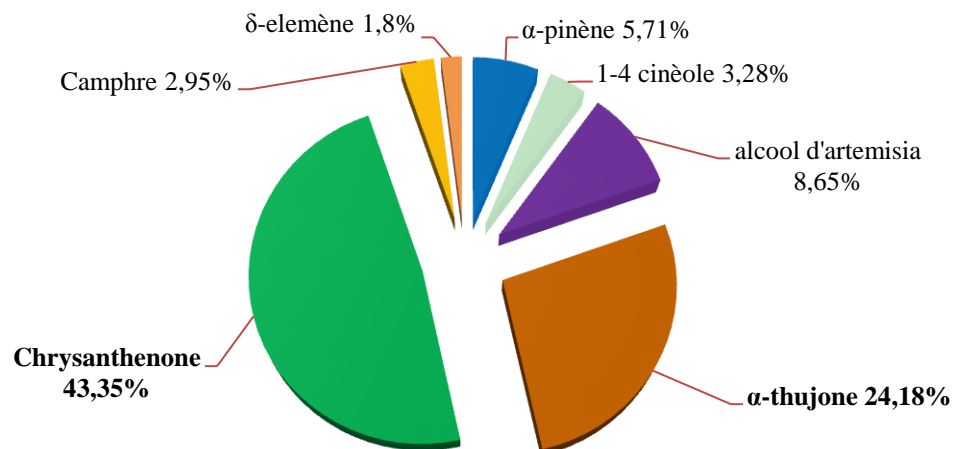
IK	Constituants	Mars	Juin	Décembre
921	Tricyclène	-	-	0,8
924	$\alpha$ -thujène	5,71	0,41	4,95
932	$\alpha$ -pinène	0,60	5,71	0,50
946	Camphène	0,17	-	2,46
1002	$\alpha$ -phyllandrène	0,41	0,69	0,20
1012	1-4 cinéole	3,28	3,71	4,28
1024	limonène	0,41	-	-
1034	Iso-3-thujanol	0,13	-	5,62
1081	Alcool d'artémisia	-	8,65	-
1098	Trans hydrate de sabinène	4,33	-	-
1101	$\alpha$ -thujone	18,59	24,18	10,90
1112	$\beta$ -thujone	44,71	-	43,98
1119	Trans hydrate de pinène	4,67	-	7,30
1124	chrysanthène	1,46	43,35	1,88
1134	Iso-3-thujanol	-	0,17	-
1141	camphre	-	2,95	-
1147	Neoiso-3-thujanol	-	0,52	-
1169	Artemisyl acetate	-	0,06	-
1174	Terpinène-4-ol	-	0,16	-
1199	$\gamma$ -terpineol	0,81	-	0,87
1207	Trans-piperitol	0,68	-	0,48
1214	Dehydro acetate de myrcenol	0,76	0,38	2,1
1219	Cis-hydrate acetate de sabinène	0,88	0,24	0,86
1228	Nordavanone	-	0,34	-
1235	Trans acetate de chrysanthenyl	-	0,37	-
1244	carvatanacétone	-	0,71	-
1277	Trans-ethyl chrysanthemumate	-	0,84	-
1295	3-thujanol acetate	0,61	-	-
1300	Trans-dihydro- $\alpha$ -acetate de terpinyl	0,40	-	0,79
1309	6-hydro-carvatanacetone	-	-	1,61
1312	Neoiso-isopulegyle acetate	7,86	-	3,58
1335	$\delta$ -elemène	-	1,8	-
1400	$\beta$ -longipinène	0,39	-	-
1417	e-caryophyllène	0,41	-	1,3
1429	Cis-thujopsène	-	0,61	0,08
1505	$\alpha$ -thujaplicinol	0,27	-	-
1513	$\gamma$ -cadinène	0,93	-	4,18
1522	$\delta$ -cadinène	-	0,61	-
1537	$\alpha$ -cadinène	-	0,14	-
1586	Davanone	0,34	-	1,27
<b>Totale %</b>		<b>98,81</b>	<b>96,6</b>	<b>99,99</b>

La composition chimique de l'huile essentielle des échantillons d'*A. herba alba* collectés pendant le mois de mars, se distinguent par la présence de  $\beta$ -thujone (44.71%) comme composé majoritaire suivi de l' $\alpha$ -thujone (18.59%). D'autres composés sont aussi identifiés mais à des teneurs moins importantes : neoiso-isopulegyle acetate (7.86%),  $\alpha$ -thujène (5.71%), trans hydrate de pinène (4.67%), trans hydrate de sabinène (4.33%), 1-4 cinéole (3.28%) et le chrysanthénone (1.46%) (Figure 49).



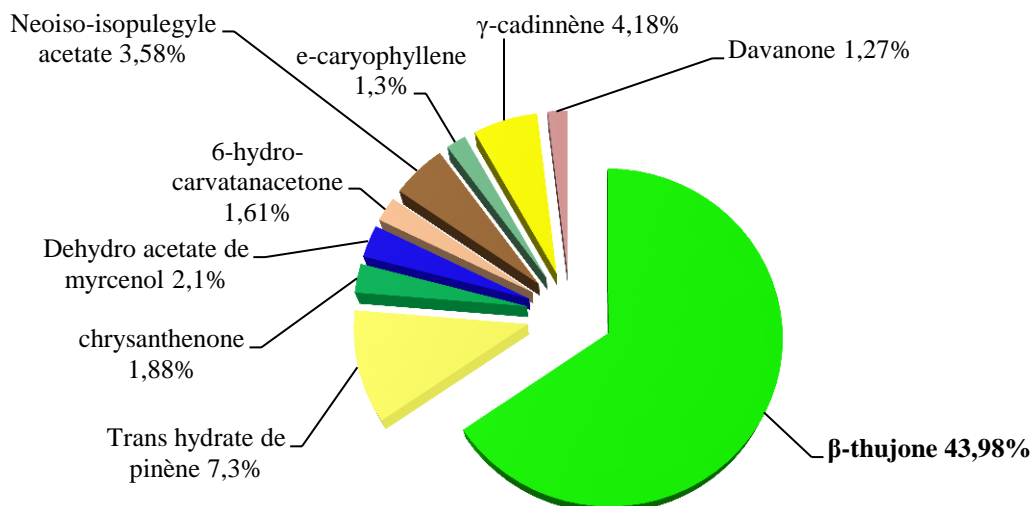
**Figure 49:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de mars dans la provenance d'Oued Alkharoub

Nous avons remarqué, que les échantillons collectés au cours de mois de juin présentent une huile essentielle riche en chrysanthénone (43.35%) et en  $\alpha$ -thujone (18.59%), accompagnés d'autres constituants minoritaires qui ne sont pas dénués d'importance à savoir, alcool d'artémisia (8.65%),  $\alpha$ -pinène (5.71%), 1-4 cinéole (3.71%), camphre (2.95%) et  $\delta$ -elemène (1.8%) (Figure 50).



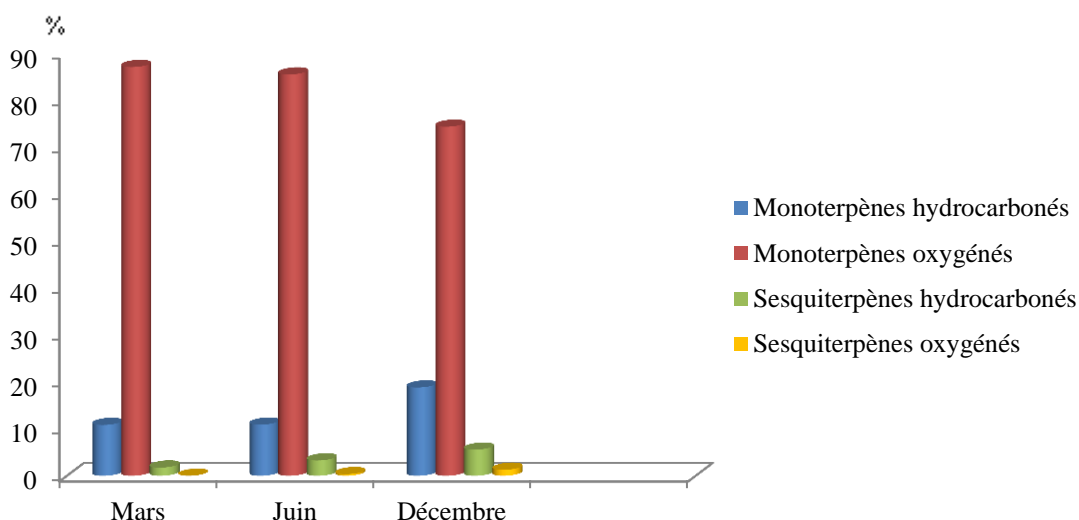
**Figure 50:** Distribution des (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance d'Oued Alkharoub

Enfin, l'huile essentielle des échantillons d'*A. herba alba* collectés pendant le mois de septembre est dominée par la  $\beta$ -thujone (43.98%), suivie par l' $\alpha$ -thujone (10.90%), et accompagnés d'autres composés, tels que le trans hydrate de sabinène (7.30%), l'iso-3-thujanol (5.62%),  $\alpha$ -thujène (4.95%), 1-4 cinéole (4.28%),  $\gamma$ -cadinène (4.18%), camphène (2.46%), dehydro acétate de myrcenol (2,1%), chrysanthénone (1.88%), 6-hydroxy-carvotanacétone (1.61%), e-caryophyllène (1.3%) et le davanone (1.27%) (Figure 51).



**Figure 51:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Oued Alkharoub

L'analyse des composants des huiles essentielles selon leur groupe fonctionnel montre qu'elles sont caractérisées par la dominance des monoterpènes oxygénés dans les trois récoltes. Les monoterpènes hydrocarbonés sont moins abondants et les sesquiterpènes (hydrocarbonés et oxygénés) sont en états de traces (Figure 52).



**Figure 52:** Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Alkharoub

Dans cette partie nous avons pu montrer que les teneurs en constituants des HE varient en fonction de développement de la plante et donc avec la date de récolte. Nous avons noté aussi qu'il y a des constituants ayant des comportements opposés au cours de la croissance de la plante, à titre d'exemple, le composé chrysanthénone avec le composé  $\beta$ -thujone (Tableau 14). Il semble que la détermination de la composition chimique des huiles essentielles analysées pourrait être considérées comme l'une des éléments de différenciation entre nos différentes collectes et nous renseigner sur la qualité d'une HE de l'ensemble de ces résultats.

**Tableau 14:** Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaire contenus dans les HE d'Oued Alkharoub

Composé chimique	Mars	Juin	Septembre
$\alpha$ -thujone	18,59%	24,18%	10,90%
$\beta$ -thujone	44,7%	0%	43,98%
Chrysanthénone	1,46%	43,35%	1,88%

Généralement, la composition chimique des huiles essentielles des échantillons récoltés dans la provenance d'Oued Alkharoub présente une certaine similitude avec celle de la provenance d'Oued Agba. Par contre, celle-ci, est différente de celle d'Oued Ait Makhlof. En outre, elle se montre largement différente de l'HE des échantillons récoltés dans la région de Boukhlil en Algérie qu'elle est dominée par le camphre 15.96% et le davanone 42.80% (Goudjil et al., 2015).

#### **2-6- Composition chimique des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla selon la date de récolte**

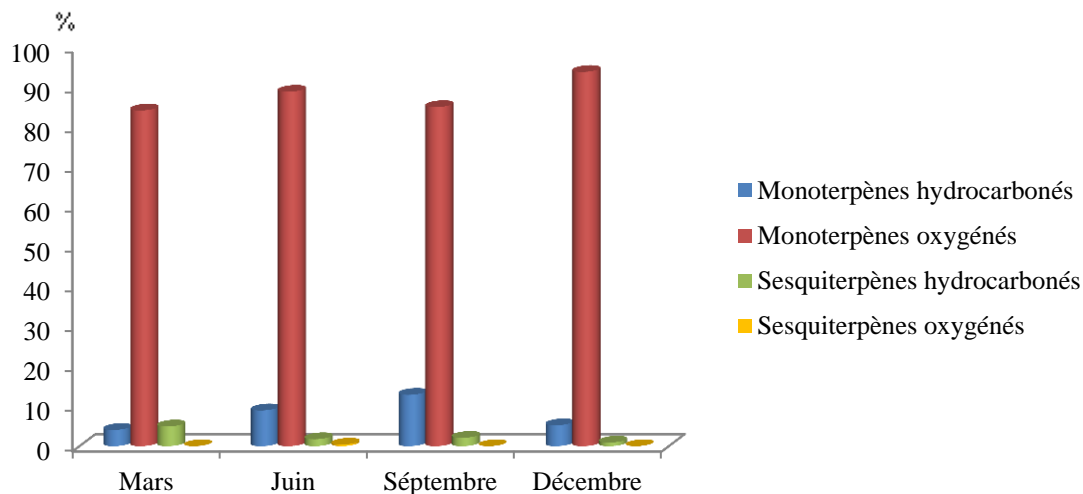
Les résultats de l'identification des composés chimiques des huiles essentielles des échantillons collectés dans la provenance d'Oued Asla pendant les quatre mois d'étude : mars, juin, septembre et décembre, sont présentés dans le tableau 15.

**Tableau 15:** Variation de la composition chimique des HE des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla selon la date de récolte

**IK : Indice de Kovats ; (-) : absence**

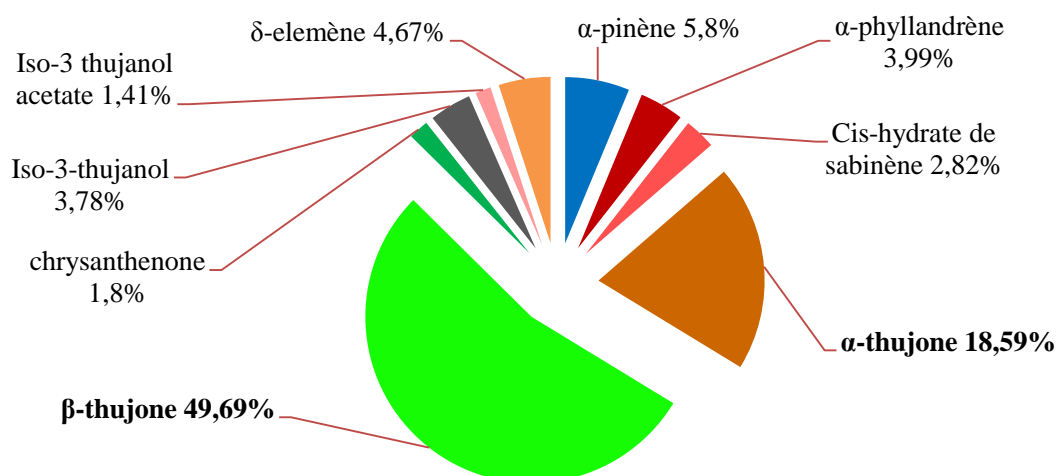
IK	Constituants	Mars	Juin	Septembre	Décembre
921	Tricyclène	0,5		0,55	
924	$\alpha$ -thujène		0,48	7,44	
932	$\alpha$ -pinène	5,8	6,42	0,18	1,59
946	Camphène			0,12	
969	Sabinène				0,16
971	artemiseole			0,51	
988	Myrcène	0,53		0,93	0,66
1002	$\alpha$ -phyllandrène	3,99	0,85	3,62	2,81
1012	1-4 cinéole		0,32		
1024	limonène				
1065	Cis-hydrate de sabinène	2,82		4,54	2,24
1078	Camphenilone				4,67
1081	Alcool d'artémisia	0,96	1,83	1,05	1,69
1101	$\alpha$ -thujone	18,59	17,52	8,59	12,36
1112	$\beta$ -thujone	49,69		54,28	57,46
1124	chrysanthénone	1,8	48,11	2,31	7,97
1134	Iso-3-thujanol	3,78	1,74		
1141	camphre	0,64	6,68	7,87	0,88
1147	Neoiso-3- thujanol	0,67	0,64	0,72	
1164	3-thujanol	0,31	0,34		
1169	Artemisyl acetate	0,42		0,73	
1174	Terpinène-4-ol	0,11	0,37	0,35	
1186	$\alpha$ -terpineol	0,15			0,62
1214	Dehydro acetate de myrcenol	0,69	0,06		
1219	Cis-hydrate acetate de sabinène	0,77	0,65	0,85	0,58
1228	Nordavanone		0,36		
1235	Trans acetate de chrysanthenyl		0,35	0,81	0,74
1244	carvotanacétone		1,15		
1267	Iso-3 thujanol acetate	1,41		0,53	
1273	Neo-3-thujanol acetate				1,58
1277	Trans-ethyl chrysanthemumate		0,57		
1335	$\delta$ -elemène	4,67	1,14	1,85	0,19
1346	$\alpha$ -Terpinyl acetate	0,2			
1429	Cis-thujopsène				
1505	$\alpha$ -thujaplicinol	0,83		1,64	2,83
1522	$\delta$ -cadinène		0,17		0,72
1537	$\alpha$ -cadinène	0,25	0,27	0,24	
Totale %		99,58	90,02	99,71	99,75

Les huiles essentielles analysées ont montré que les monoterpènes oxygénés constituent le groupe chimique majoritaire, alors que les monoterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes hydrocarbonés sont en faible quantité et les sesquiterpènes oxygénés sont en états de trace voire absents (Figure 53).



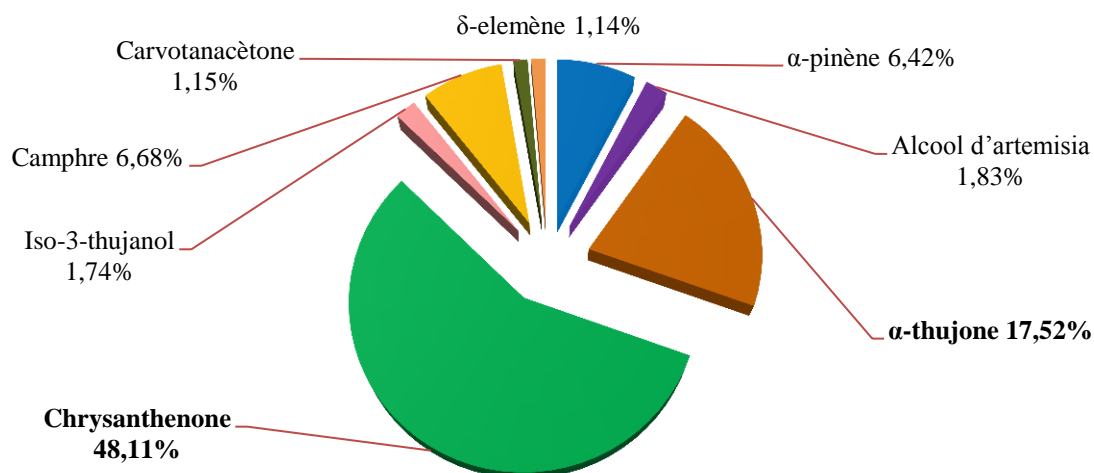
**Figure 53:** Représentation graphique (%) des principales familles de composés des HE des échantillons issus d'Oued Asla

Des différences qualitatives et quantitatives entre les quatre récoltes ont été notées (Tableau 15). Cependant, l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours de mois de mars est constituée de 23 composés. Les composés majoritaires sont le  $\beta$ -thujone (49.69%) et l' $\alpha$ -thujone (8.59%). Ils sont accompagnés d'autres composés :  $\alpha$ -pinène (5.8%),  $\delta$ -elemène (4.67%),  $\alpha$ -phyllandène (3.99%), cis-hydrate de sabinène (2.82%), chrysanthénone (1.8%) et iso-3 thujanol acétate (1.41%) (Figure 54).



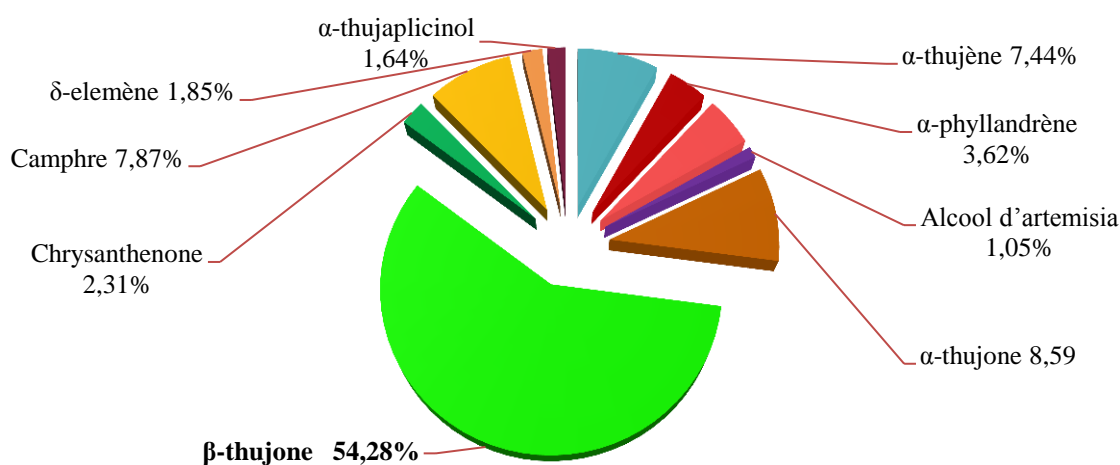
**Figure 54:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de mars dans la provenance d'Oued Asla

En effet, 21 constituants apparaissent dans l'analyse de l'HE d'*A. herba alba* des échantillons récoltés pendant le mois de juin (Tableau 15). Cette HE est caractérisée par la dominance de chrysanthénone qui est le composé majoritaire (48.11%), suivi d' $\alpha$ -thujone (17.52%), le camphre (6.68%),  $\alpha$ -pinène (6.42%) et en faible teneur : alcool d'artémisia (1.83%), carvotanacétone (1.15%) et  $\delta$ -elemène (1.14%) (Figure 55).



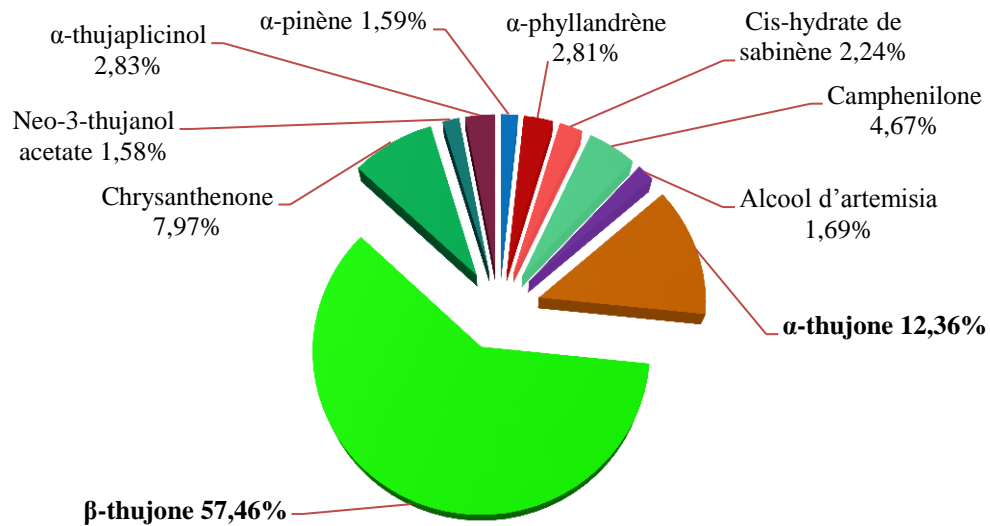
**Figure 55:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Oued Asla

En revanche, nous avons noté 22 composants caractérisent la composition chimique de l'HE de mois de Septembre (Tableau 15). Celle-ci, est constituée de  $\beta$ -thujone (54.28%), comme constituant majoritaire, et d'autres constituants minoritaires, avec des pourcentages relativement intéressants :  $\alpha$ -thujone (8.59%), camphre (7.87%),  $\alpha$ -thujène (7.44%), cis-hydrate de sabinène (4.54%),  $\alpha$ -phyllandrène (3.62%), chrysanthénone (2.31%),  $\delta$ -elemène (1.85%),  $\alpha$ -thujaplicinol (1.64%) et alcool d'artémisia (1.05 %) (Figure 56).



**Figure 56:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de septembre dans la provenance d'Oued Asla

De même, l'analyse chimique de l'HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre a révélée la présence de 18 constituants (Tableau 15), elle est composée principalement de la  $\beta$ -thujone (57.46%), suivi de l' $\alpha$ -thujone (12.36%), et d'autres composés intéressants comme: chrysanthénone (7.97%), camphenilone (4.67%),  $\alpha$ -phyllandrène (2.81%), cis-hydrate de sabinène (2,24%), alcool d'artémisia (1.69%),  $\alpha$ -pinène (1.59%) et neo-3-thujanol acétate (1.3%) (Figure 57).



**Figure 57:** Distribution (%) des principaux composés des HE des échantillons récoltés au cours de mois de décembre dans la provenance d'Oued Asla

En comparant la composition chimique des huiles essentielles étudiées, nous avons noté que la  $\beta$ -thujone est un composé majoritaire commun dans les HE des échantillons récoltés pendant le mois de mars (stade végétatif) (mars 49.69%), septembre (54.28%) et de décembre (57.64%) (stade de fructification). Par contre, celui-ci, il est absent dans les HE des échantillons récoltés durant le mois de juin (stade de floraison).

Si le chrysanthénone est le composé prédominant pendant le stade de floraison, il est présent en faible teneur dans les échantillons récoltés avant et après le stade de floraison, son taux de présence est de l'ordre de 1.8% et 2.31% respectivement. Par contre, l' $\alpha$ -thujone est présent avec des taux important dans les huiles essentielles analysées (varie de 8.59% à 18.59%).

**Tableau 16:** Comparaison entre les pourcentages des composés chimiques majoritaires contenus dans les HE d'Oued Asla

Composé chimique	Mars	Juin	Septembre	Décembre
$\alpha$ -thujone	18,59%	17,52%	8,59%	12,36%
$\beta$ -thujone	49,69%	-	54,28%	57,64%
Chrysanthénone	1,8%	48,11%	2,31%	7,97%

D'après ces résultats, nous avons remarqué une complexité au niveau de la composition chimique des HE avec une variabilité de leurs constituants, si un à trois composés sont majoritaires, elles renferment en parallèle un très grand nombre d'autre molécules.

Par ailleurs, il a été montré que les échantillons des HE d'*A. herba alba* récoltés dans les régions de Midelt et Boulmane occupent la première place, en ce qui concerne la teneur en  $\beta$ -thujone avec des taux de 84% et 75% respectivement. Cependant, dans d'autres régions du Maroc ne représentent qu'un faible taux variant entre 3-16% pour Agdz Ait-Saoun, 1-2% à Taliouine (Benjlali et al., 1980). De même, dans la station de Sidi Ahmed en Algérie, il a été identifié avec une faible teneur de 1,08% (Bouzidi et al., 2016), et de 1,74% dans la région de Djelfa (Lakhel et al., 2016). Cependant, les HE des échantillons récoltés dans la région de Maknessy en Tunisie, présentent des quantités appréciables en  $\beta$ -thujone et qui varie selon la date de récolte, elle est de l'ordre de 10,73% en mai et de 11,53% dans le mois de décembre (Jaouadi et al., 2014).

### **3- Etude comparative de la composition chimique des huiles essentielle des six provenances selon la date de récolte**

D'après la comparaison entre les huiles essentielles étudiées, il semble que l'*A. herba alba* est caractérisée par un extraordinaire polymorphisme chimique (Tableau 17).

**Tableau 17:** Variation de la composition chimique des HE analysées en fonction de la provenance et de la date de récolte

Provenance	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Oued Ait Makhoulf</b>	$\beta$ -thujone 43,03%	Nordavanone 27,09% $\alpha$ -thujone 22,2% Alcool d'artémisia 21,1%	Alcool d'artémisia 26,36%	Alcool d'artémisia 31,81% 6-camphénone 27,85%
<b>Reserve Aswiwinia</b>	Camphre 27,61%	$\alpha$ -thujone 40,19% Chrysanthénone 29,15%	Camphre 43,73%	Camphre 27,07%
<b>Hassi Al Abyad</b>	Chrysanthénone 40,43% Camphre 32,37%	$\alpha$ -thujone 48,6% Chrysanthénone 26,64%	-	Camphre 28,03%
<b>Oued Agba</b>	$\alpha$ -thujone 41,13%	$\alpha$ -thujone 48,27%	$\alpha$ -thujone 40,50%	$\beta$ -thujone 32,98% $\alpha$ -thujone 30,32%
<b>Oued Alkharoub</b>	$\beta$ -thujone 44,7%	Chrysanthénone 43,35% $\alpha$ -thujone 24,18%	-	$\beta$ -thujone 43,98%
<b>Oued Asla</b>	$\beta$ -thujone 40,69%	Chrysanthénone 48,11 %	$\beta$ -thujone 54,28%	$\beta$ -thujone 57,64%

Nos résultats confirment ceux d'autres études en nous indiquant que les variations chimiques observées dans les HE d'*A. herba alba* pourraient être due à l'existence de différents chémotypes pour cette espèce.

En outre, on peut distinguer nombreux facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'induire des modifications chimiques qui peuvent influencer la composition chimique d'une HE, à savoir, la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol. En effet, Coassni (1987), a montré que la variabilité chimique des HE d'*Artemisia alba* en Italie, peut être en relation avec les fluctuations du climat au cours de l'année. Les fortes précipitations et les basses températures favorisent la biosynthèse des sesquiterpènes et ses dérivés. Tandis que les températures élevées et les précipitations basses, semblent être favorables à la biosynthèse des terpènes oxygénés et leurs dérivés. En plus, il a été montré

que, chez la *mentha piperita*, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofurane (Bruneton, 1999).

Les études portant sur la variation de la composition chimique des HE en fonction du site de récolte, du cycle circadien et de la date de récolte sont nombreuses (Assad et al., 1997 ; Ozcan et al., 2004). L'heure de la récolte du matériel végétal, ainsi que les saisons sont en effet, des facteurs importants. À titre d'exemple, il a été démontré que la composition chimique de l'HE de feuilles d'*Ocimum gratissimum* varie considérablement en fonction de l'heure de la récolte (Vasconcelos et al., 1999). En outre, l'influence du procédé d'extraction sur la labilité des constituants des HE peut expliquer que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal.

## Conclusion

L'ensemble de ces résultats obtenus nous avons pu montrer que les rendements et la composition chimique des huiles essentielles d'*A. herba alba* variaient selon provenance et la date de récolte. que dans les six provenances d'étude, les plus forte teneurs en huile essentielles sont révélées durant la récolte de mois de juin qui coincide avec la période de la floraison.

Les analyses chimiques par CPG et CG/SM ont permis d'identifier la richesse de ces huiles essentielles en monoterpènes oxygénés, notamment, l' $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthénone et le camphre, qui sont les principaux constituants des huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre, dans les six provenances étudiées. Cependant, nous avons noté une variabilité des autres constituants majoritaires comme l'alcool d'artémisia, nordavanone, trans-ethyl-chrysanthemumate, cis-hydrate de sabinène et B-davanone. De ce fait, la connaissance de la composition chimique des HE d'*A. herba alba* sera d'une grande importance pour discuter à la fois l'activité antimicrobienne propre à chaque HE.

### **III- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES SELON LA PROVENANCE**

#### **1- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des six provenances étudiées**

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'*A. herba-alba* de six provenances sont regroupés dans le tableau 18. Toutes, les huiles essentielles des différents échantillons étudiés ont montré une efficacité contre la totalité des moisissures et champignons de pourriture de bois et contre certaines bactéries.

**Tableau 18:** Activité antimicrobienne des HE d'*A. herba alba* selon la provenance

Concentra- tions (v/v)	1/100						1/250						1/500						1/1000						1/2000						1/3000						1/5000						T									
	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F										
<b>Bactéries</b>																																																				
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
<i>B.subtilis</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
<i>M.luteus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>S.aureus</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>Moisissures</b>																																																				
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																																																				
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
<i>C.puteana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**A:** Oued Ait Makhoulf; **B:** Reserve Aswiwinia; **C:** Hassi Al Abyad,  
**D:** Oued Agba; **E:** Oued Al Kharoub; **F:** Oued Asla,  
 (-) : Inhibition ; (+) : Croissance ; **T** : Témoin

En effet, nous avons noté que les huiles essentielles testées ont été exercés une importante activité antimicrobienne. À la concentration de 1/250 v/v les quatre souches bactériennes étudiées ont été inhibées par des huiles essentielles extraites des échantillons issus d'Oued Aghba, Oued Alkharoub et Oued Asla, à l'exception de la souche bactérienne *Escherichia Coli* qui a été inhibé à la faible concentration de 1/1000 v/v par l'huile essentielle d'Oued Alkharoub. À l'égard de l'huile essentielle de Hassi Alabyad, *S. aureus* s'est montrée plus résistante alors que les *B. subtilis*, les *M. leutus* et les *E. Coli* ont été inhibés à la même concentration de 1/250 v/v. De même, *Bacillus subtilis* et *S. aureus* ont manifesté une résistance à l'huile essentielle d'Oued Ait Makhlof. Par contre, les bactéries à Gram+ sont toutes inhibées à la concentration de 1/250 v/v, à l'exception *E. coli*, bactérie à Gram-, à été inhibée à la faible concentration de 1/500 v/v par l'huile essentielle de la Reserve Aswiwinia.

Par ailleurs, les moisissures ont été tous inhibés à la concentration de 1/500 v/v des huiles essentielles de six provenances. Le germe le plus sensible est l'*Aspergillus niger*, dont la croissance a été inhibée à 1/1000 v/v de l'huile essentielle provenant de la Reserve Aswiwinia.

Concernant, les champignons de pourriture de bois, ils ont montré une grande sensibilité à l'huile essentielle d'*A.herba-alba* de six provenances. En effet, *C. versicolor*, *C. puteana* et *G. trabeum* ont été inhibées à la concentration de 1/2000 v/v, tandis que, *Coniophora puteana* a été inhibée à la concentration de 1/1000 v/v par l'huile essentielle des échantillons issus d'Oued Ait Makhlof. Cependant, *C. puteana*, *P. placenta* et *G. trabeum* sont les plus sensibles, elles ont été inhibées à la concentration de 1/3000 v/v de l'huile essentielle des échantillons issus de la Reserve Aswiwinia, et à la concentration de 1/2000 v/v de l'huile essentielle des échantillons de la région de Hassi Alabyad. Nous avons noté aussi que *C. versicolor* et *P. placenta* ont été inhibées à la concentration de 1/3000 v/v de l'huile essentielle d'Oued Alkharoub.

## **2- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons des six provenances**

Les concentrations minimales inhibitrice (CMI) des huiles essentielles issus de six provenances étudiées sont présentées dans le tableau 19.

**Tableau 19:** Concentration minimales inhibitrices des HE issues des six provenances

Provenances	Oued Ait Makhlouf	Reserve Aswiwinia	Hassi Al Abyad	Oued Agba	Oued Alkharoub	Oued Asla
<b>Bactéries</b>						
<i>E.coli</i>	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/2000<CMI<1/3000	1/500<CMI<1/1000
<i>B.subtilis</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250
<i>M.luteus</i>	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000
<i>S.aureus</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500
<b>Moisissures</b>						
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/1000<CMI<1/2000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000
<i>P.expansum</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000
<i>P.digitatum</i>	1/500<CMI<1/000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000
<b>Champignons de pourritures du bois</b>						
<i>C.versicolor</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000
<i>C.puteana</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/1000<CMI<1/2000
<i>P.placenta</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/1000<CMI<1/2000
<i>G.trabeum</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000

D'après les résultats configurés dans le tableau 20, nous avons calculé pour chaque huile essentielle, l'activité moyenne inhibitrice selon le système de notation de Benjilali et ses collaborateurs (1986).

**Tableau 20:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE selon la provenance

Provenances	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>6</sub>
<b>Bactéries</b>						
<i>E.coli</i>	1	1	2	3	4	3
<i>B.subtilis</i>	0	2	1	2	2	1
<i>M.luteus</i>	2	2	2	2	2	3
<i>S.aureus</i>	0	2	0	2	2	2
<b>Activité moyenne</b>	<b>0,75</b>	<b>1,75</b>	<b>1,25</b>	<b>2,25</b>	<b>2,5</b>	<b>2,25</b>
<b>Moisissures</b>						
<i>A.niger</i>	3	4	3	2	3	3
<i>P.expansum</i>	3	3	3	2	3	3
<i>P.digitatum</i>	3	3	3	2	3	3
<b>Activité moyenne</b>	<b>3</b>	<b>3,33</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>						
<i>C.versicolor</i>	4	4	4	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

Il ressort que la provenance d'Oued Alkharoub paraît plus active contre les quatre souches bactériennes (*E.coli*, *B.subtilis*, *M.luteus* et *S.aureus*) par rapport à celles des autres provenances. Par contre, l'huile essentielle de la provenance de la Reserve Aswiwinia présente une activité inhibitrice très importante sur les trois moisissures (*A.niger*, *P.digitatum* et *P. expansum*), que celles des autres provenances. Cependant, toutes les huiles essentielles des échantillons issus de six provenances ont une forte activité inhibitrice sur les quatre champignons de pourriture du bois (*G.trabeum*, *P.placenta*, *C.puteana* et *C.versicolor*).

D'après nos résultats, nous avons constaté que les champignons sont plus sensibles que les bactéries vis-à-vis des huiles essentielles d'*A. herba-alba*, ce qui est aussi en accord avec les investigations de nombreux auteurs, qui ont montré que, pour les huiles essentielles de plusieurs plantes aromatiques et médicinales, les champignons sont plus sensibles que les

bactéries (Franchomme, 1981 ; Lahlou, 2004 ; Viuda-Martos et al., 2008). De plus, Nous avons pu montrer que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles testées varie en fonction de site de récolte.

L'activité antibactérienne et antifongique peut être expliquée par la richesse des huiles essentielles en composés hydrocarbonés et oxygénés notamment :  $\alpha$ -thujone, chrysanthénone, 1-4 cineole, alcool d'artémisia,  $\alpha$ -pinène et camphre. Donc, il semble que le taux le plus élevé des composés oxygénés dans nos huiles essentielles et leur effet de synergie serait probablement, responsable du pouvoir inhibiteur important manifesté contre les bactéries et les champignons. De même, dans une étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de plusieurs chémotypes d'*A. herba alba*, les chercheurs tunisiens ont montré que le type d'huile essentielle marqué par une codominance des quatre principaux composants (1,8-cinéole, camphre,  $\beta$ -thujone et  $\alpha$ -thujone) était le plus actif contre certains germes bactériens et les levures que ceux avec une dominance seule de la  $\beta$ -thujone (Mighri et al., 2010). En outre, Tantaoui-Elaraki (1993) a souligné l'effet antifongique de l'huile essentielle d'*A. herba alba* dont plusieurs de ses constituants se sont révélés toxiques aux pathogènes. Cette HE inhibe les trois stades de la reproduction asexuée des moisissures : la germination des spores, la sporulation et le développement mycélien.

Globalement, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'*A. herba-alba* peut être expliquée d'une part, par les composés majoritaires et d'autre part, par la synergie entre tous les constituants volatils. Il a été montré que les réactions de synergie entre les différents composés peuvent être l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaire. (Gueldener et al., 1985 ; Kivank et al., 1988 ; Thomson et al., 2003 ; Burt, 2004 ; Zahiri et al., 2005 ; Viuda-Martos et al., 2008).

#### **IV- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTILLES EN FONCTION DE LA DATE DE RECOLTE.**

##### **1- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Ait Makhoulf en fonction de la date de récolte**

Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre sont regroupés dans le tableau 21.

**Tableau 21:** Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons d'Oued Ait Makhoulf selon de la date de récolte

Concentrations v/v	1/100				1/250				1/500				1/1000				1/2000				1/3000				1/5000				T			
	Echantillons	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S		D		
<b>Bactéries</b>																																
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M.luteus</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Moisissures</b>																																
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																																
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.putearia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

M : Mars ; J : Juin ; S : Septembre ; D : Décembre  
 (-) : Inhibition, (+) : Croissance ; T : Témoin

A la concentration de 1/250 v/v les quatre souches bactériennes étudiées ont été inhibées par l'huile essentielle des échantillons récoltés dans le mois de septembre. En contre partie, les HE des échantillons récoltés au cours des mois de mars, juin et décembre n'ont manifesté aucune activité inhibitrice contre certaines bactéries, même à la plus forte concentration de 1/100 v/v. Cependant, la concentration 1/2000 v/v de l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours de mois de décembre a été suffisante pour arrêter la croissance d'*E. Coli* et à la concentration de 1/250 v/v des huiles essentielles des échantillons des récoltes des mois de mars et septembre, et à la même concentration de l'huile essentielle de mois de juin, *M. luteus* a été inhibée. Nous avons noté aussi que *S. aureus* a été inhibée à 1/100 v/v de l'huile essentielle de la récolte de mois de décembre.

Quant aux moisissures, elles sont toutes inhibées à la concentration de 1/250 v/v des huiles essentielles des échantillons récoltés dans les mois de septembre et décembre, et à la concentration de 1/500 v/v des huiles essentielles des mois de mars et juin. Le germe le plus sensible est *A. niger*, dont la croissance a été inhibée à la faible concentration de 1/2000 v/v de l'huile essentielle du mois de décembre.

Les champignons ont manifesté une grande sensibilité à l'huile essentielle d'*A. herba alba* récoltée, pendant les mois de mars, juin et de décembre. *C. versicolor*, *C. puteana* et *P. placenta* étant les plus sensibles. Leur croissance a été inhibée à la faible concentration de 1/3000 v/v de l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours du mois de mois de décembre. Par contre, la concentration 1/2000 v/v de l'huile essentielle de juin a été suffisante pour inhiber la croissance de *C. versicolor*, *C. puteana* et *G. trabeum*.

Suivant nos résultats, l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours du mois de septembre est plus active contre tous les microorganismes testés, alors que celle des mois de mars, juin et décembre, présente efficacité plus importante contre les champignons que les bactéries. En effet, Le taux le plus élevé en composés monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés des huiles essentielles des échantillons collectés au cours du mois de septembre, ainsi que leur effet de synergie seraient probablement responsable de l'élévation du pouvoir inhibiteur contre les bactéries et les champignons. Il a été montré que plusieurs types d'huiles essentielles de différentes plantes de la famille d'*Asteraceae*, ont une inhibition efficace contre des bactéries et des champignons grâce à leur richesse en monoterpènes oxygénés (Kordali et al., 2006, Bakkali et al., 2008, Imelouane et al., 2010, Ghanmi et al., 2010, Benchaqroun et al., 2012, Pelkonen et al., 2013, Kamatou et al., 2013). Cependant,

Akrout et ses collaborateurs (2010) ont montré que *A. campestris*, composée essentiellement de monoterpènes hydrocarbonés, a une faible activité antimicrobienne contre les germes pathogènes comme *E. coli* et *S. aureus*.

**a- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons issues de la provenance d'Oued Ait Makhoul**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont regroupées dans le tableau 22:

**Tableau 22:** Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Ait Makhoul

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/2000<CMI<1/3000
<i>B.subtilis</i>	CMI<1/100	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	CMI<1/100
<i>M.luteus</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	CMI<1/100
<i>S.aureus</i>	CMI<1/100	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/1000<CMI<1/3000
<i>P.expansum</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500
<i>P.digitatum</i>	1/500<CMI<1/000	1/500<CMI<1/000	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000
<i>C.putearia</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000
<i>P.placenta</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000
<i>G.trabeum</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000

Les résultats figurant sur le tableau 22 montrent que, les huiles essentielles des échantillons récoltés au cours de mois de mars, de juin et de décembre ont une activité antibactérienne plus faible, que celle observée chez l'huile essentielle des échantillons récoltés pendant le mois de septembre. Par contre, les huiles essentielles de différentes récoltes ont été exercées une importante activité antifongique.

D'après ces CMI nous avons calculé pour chaque huile essentielle de l'activité moyenne inhibitrice (Tableau 23).

**Tableau 23:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE d'Oued Ait Makhlouf selon la date de récolte

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	4	1	2	4
<i>B.subtilis</i>	0	0	2	0
<i>M.luteus</i>	0	2	2	0
<i>S.aureus</i>	0	0	2	1
<b>Activité moyenne</b>	<b>1</b>	<b>0,75</b>	<b>2</b>	<b>1,25</b>
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	3	3	2	4
<i>P.expansum</i>	3	3	2	2
<i>P.digitatum</i>	3	3	2	2
<b>Activité moyenne</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2,66</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	4	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

Les résultats figurés dans le tableau 23, montrent que l'huile essentielle des échantillons récolté en mois de septembre, est plus active contre toutes les bactéries testées (degré d'efficacité 2) que celles des échantillons récolté en mois de mars, juin et décembre. Tandis que, les huiles essentielles des échantillons récoltés en mois de mars et juin (degré d'efficacité 3) ont été montrés plus active contre les trois moisissures testés que celles des récoltes de mois de septembre et décembre. Par contre, ces huiles essentielles ont été exercées une forte activité antifongique contre tous les champignons de pourriture du bois testés (degré d'efficacité 4).

Sur la lumière de ces résultats, nous pouvons souligner que les champignons sont plus vulnérables à l'huile essentielle d'*A. herba-alba* par rapport aux bactéries. En outre le pouvoir antibactérienne et antifongique des HE des échantillons de *A. herba-alba* récoltée dans les régions de Taforalt a été largement souligné par Imelouane et ses collaborateurs (2010), ainsi que dans la région de Guerçif par Ghanmi et ses collaborateurs (2010).

## 2- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance Reserve Aswiwinia en fonction de la date de récolte

D'après la lecture du tableau 24, nous avons noté que l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* présente une activité inhibitrice importante sur les champignons et les bactéries. Les champignons se montrant plus sensibles que les bactéries. En effet, l'inhibition d'*E. coli* a été observée à partir de la concentration 1/1000 v/v et à partir de 1/500 v/v chez *S. aureus*, alors que, *Bacillus subtilis* et *Micrococcus leutus* ont montré une résistance contre l'huile essentielle de la récolte de mois de mars. Ces résultats sont en accord avec ceux de Charai et ses collaborateurs (1996), ayant montré que *S. aureus* et *B. subtilis* sont plus résistants qu'*Escherichia coli* aux huiles essentielles d'*Origanum compactum* et d'*Origanum majorana*. Cependant, les bactéries gram+ et Gram- étudiées (*E. coli*, *B. subtilis*, *M. leutus* et *S. aureus*) ont manifesté la même sensibilité à l'huile essentielle des échantillons récoltés durant les mois de septembre et décembre.

Quant aux, les trois moisissures testés, ils ont été inhibés à la même concentration de 1/500 v/v des huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin et de décembre, à l'exception, d'*Aspergillus niger* qui a été inhibée à partir de la concentration 1/1000 v/v de l'huile essentielle de la récolte de mois de juin. Concernant l'huile essentielle des échantillons de la récolte de mois de septembre, nous avons constaté que l'*Aspergillus niger* a été inhibée à partir de la concentration 1/500 v/v, par contre, *Penicillium expansum* et *Penicillium digitatum* ils sont inhibés à partir de la concentration de 1/250 v/v.

Les HE des échantillons collectés, durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre, ont montré une activité inhibitrice contre tous les champignons de pourriture de bois testés. Cependant, *Coniophora puteana*, *Poria placenta* et *Gloeophyllum trabeum* ont été inhibés à la concentration de 1/3000 v/v et *Coriolus versicolor* à 1/2000 v/v de l'huile essentielle des échantillons de la récolte de mois de juin.

**Tableau 24:** Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte

Concentrations v/v	1/100				1/250				1/500				1/1000				1/2000				1/3000				1/5000				T			
	Echantillons	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S		D		
<b>Bactéries</b>																																
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M.luteus</i>	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Moisissures</b>																																
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																																
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.puteana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

M : Mars ; J : Juin ; S : Septembre ; D : Décembre

(-) : Inhibition ; (+) : Croissance ; T : Témoin

Les résultats obtenus, nous ont permis de souligner que *C. versicolor* a montré une certaine résistance à cette HE. Ceci est en accord avec des études réalisées par El ajjouri et ses collaborateurs (2008), qui ont été montré la résistance de *Coriolus versicolor* aux produits phénoliques des huiles essentielles du thym, en comparaisant avec d'autres champignons lignivores. Ceci peut être expliqué par le fait que le champignon produit de la laccase ainsi que des enzymes extracellulaires qui catalysent l'oxydation des composés phénoliques et conduit donc à leur inactivation (Banci, 1997 ; Mester et al., 2000).

**a- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de la Reserve Aswiwinia**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*A. herba alba* sont présentés dans le tableau 25

**Tableau 25:** Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250
<i>B.subtilis</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250
<i>M.luteus</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250
<i>S.aureus</i>	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/1000<CMI<1/2000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000
<i>P.expansum</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000
<i>P.digitatum</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000
<i>C.puteana</i>	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000
<i>P.placenta</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000
<i>G.trabeum</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000

Nous avons constaté d'après le tableau 25 que les huiles essentielles ont montré une forte activité antifongique avec des CMI allant jusqu'à 1/3000 v/v et avec des CMI entre 1/500 et 1/1000 v/v pour les moisissures. Inversement, elles ont montré une faible activité antibactérienne avec des CMI entre 1/100 et 1/250 v/v.

**Tableau 26:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons de la Reserve Aswiwinia selon la date de récolte

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	4	1	1	1
<i>B.subtilis</i>	0	2	1	1
<i>M.luteus</i>	0	2	1	1
<i>S.aureus</i>	3	2	1	1
<b>Activité moyenne</b>	<b>1,75</b>	<b>1,75</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	3	4	3	3
<i>P.expansum</i>	3	3	2	3
<i>P.digitatum</i>	3	3	2	3
<b>Activité moyenne</b>	<b>3</b>	<b>3,33</b>	<b>2,33</b>	<b>3</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	4	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

En comparant des activités des huiles essentielles testées, nous avons constaté que l'huile essentielle de mois de juin étant la plus active contre les microorganismes étudiés ; bactéries (degré d'efficacité 1.75), moisissures (degré d'efficacité 3.33) et champignons de pourriture du bois (degré d'efficacité 4).

Nous avons souligné que le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle issue des échantillons collectés au cours de mois de juin est principalement lié à son profil chimique. Celui-ci, montre une dominance des composés monoterpéniques oxygénés tels que l' $\alpha$ -thujone (40,19%) et la chrysanthénone (29,15%). Tandis que, l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de l'*A. herba alba* testées peut être expliquée par leurs richesses en composés oxygénés. Par conséquent, il semble difficile d'attribuer l'activité d'un mélange aussi complexe à un constituant particulier. Les composés majeurs ou même en état de trace peuvent avoir un effet synergique sur l'activité biologique.

En effet, Kordali et ses collaborateurs (2005) ont démontré que les huiles essentielles d'*Artemisia santonicum* et *Artemisia spicigera*, qui possèdent le taux le plus élevé en

composés oxygénés monoterpéniques sont plus actives que celles d'*Artemisia dracunculus* et *Artemisia absinthium*, ayant des taux faible en composés oxygénés.

De même, des études sur l'activité de l'huile essentielle d'*A. siebiri*, ont suggéré que sa haute activité antifongique est associée à la présence de terpénoïdes ( $\alpha$  et  $\beta$  thujone, camphre et 1,8-cinéole), comme principaux constituants. En effet, il semble que le mode d'action antifongique est attribué à son potentiel d'induire un état de stress oxydatif à travers une cascade de radicaux libres généré par la fonction endopéroxyde qui alkyle les protéines et entraîne la dépolarisation de la membrane mitochondriale (Oliaro, 2001).

### **3- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de Hassi Al Abyad en fonction de la date de récolte**

Les résultats des tests des activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont regroupés dans le tableau 27.

Des résultats obtenus, nous avons pu montrer que le germe le plus sensible été *E. coli* chez les bactéries pour l'huile essentielle des échantillons récoltés au cours de mois de mars avec une concentration d'inhibition de l'ordre de 1/2000 v/v de 1/1000 v/v pour l'huile essentielle des échantillons de la collecte de mois de décembre. En outre, le germe le plus résistant est *S. aureus* pour l'huile essentielle des échantillons récoltés pendant les mois de juin et décembre.

Nous avons montré également l'inhibition des trois Moisissures testés à la concentration de 1/1000 v/v pour l'huile essentielle de mois de décembre et à 1/500 pour l'huile essentielle de mois de juin. Par contre, *A. niger* et *P. expansum* ont été inhibés à la concentration de 1/250 v/v, quant au *P. digitatum*, a été inhibé à la concentration de 1/1000 v/v pour l'huile essentielle des échantillons récoltés dans le mois de mars.

En outre, l'inhibition de *P. placenta* et *G. trabeum* à la faible concentration de 1/2000 v/v a été observée pour l'huile essentielle des échantillons de la récolte de mois de juin. De meme, les quatre champignons testés ont été inhibés à la concentration de 1/2000 v/v pour l'huile essentielle des échantillons récoltés en mars. *C. versicolor*, *C. puteana* et *P. placenta* ont été aussi inhibés à la même concentration de 1/2000 v/v, alors que, *G. trabeum* a été inhibé à la concentration de 1/1000 v/v.

**Tableau 27:** Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons de Hassi Al Abyad selon la date de récolte

Concentrations v/v	1/100			1/250			1/500			1/1000			1/2000			1/3000			1/5000			T	
	Echantillons	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J		D
<b>Bactéries</b>																							
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M.luteus</i>	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Moisissures</b>																							
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																							
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.puteana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+

M : Mars ; J : Juin ; S : Septembre ; D : Décembre

(-) : Inhibition ; (+) : Croissance ; T : Témoin

**a- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance de Hassi Al Abyad**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont présentés dans le tableau 28.

**Tableau 28:** Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons de Hassi Al Abyad

Echantillons	Mars	Juin	Décembre
<b>Bactéries</b>			
<i>E.coli</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/250<CMI<1/500	1/1000<CMI<1/2000
<i>B.subtilis</i>	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500
<i>M.luteus</i>	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500
<i>S.aureus</i>	1/250<CMI<1/500	CMI<1/100	CMI<1/100
<b>Moisissures</b>			
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/1000<CMI<1/2000
<i>P.expansum</i>	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/1000<CMI<1/2000
<i>P.digitatum</i>	1/100<CMI<1/250	1/500<CMI<1/1000	1/1000<CMI<1/2000
<b>Champignons de pourritures du bois</b>			
<i>C.versicolor</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000
<i>C.puteana</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000
<i>P.placenta</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000
<i>G.trabeum</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000

D'après les résultats figurés dans le tableau 28, nous avons noté que les huiles essentielles des trois collectes présentent une importante activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries, des moisissures et de champignons de pourriture du bois. Nous avons noté également que les concentrations minimales inhibitrices varient légèrement d'une huile essentielle à l'autre. Cependant, l'huile essentielle de la récolte de mois de septembre est plus active que celles des autres récoltes. En effet, les champignons de pourriture du bois sont plus vulnérables à ces huiles essentielles (degré d'efficacité 4), mais ils le sont moins que les bactéries (degré d'efficacité varie de 1,25 à 2) (Tableau 29).

**Tableau 29:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons de Hassi Al Abyad selon la date de récolte

Echantillons	Mars	Juin	Décembre
<b>Bactéries</b>			
<i>E.coli</i>	4	2	4
<i>B.subtilis</i>	1	1	2
<i>M.luteus</i>	1	2	2
<i>S.aureus</i>	2	0	0
<b>Activité moyenne</b>	<b>2</b>	<b>1,25</b>	<b>2</b>
<b>Moisissures</b>			
<i>A.niger</i>	3	3	4
<i>P.expansum</i>	2	3	4
<i>P.digitatum</i>	1	3	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>			
<i>C.versicolor</i>	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

En se basant sur les profils chimiques des huiles essentielles d'*A. herba alba*, nous avons pu corréler ces pouvoirs inhibiteurs, à certaines molécules de nos constituants monoterpènes oxygénés majoritaires et minoritaires, tels que le camphre, l' $\alpha$ -thujone, la chrysanthénone, le trans acétate de myrtanol, 1,4-cinéole, l'alcool d'artémisia et le  $\beta$ -thujone. Donc, une fois combinés ensemble, ces composés semblent contribuer par effet de synergie aux activités biologique antibactérienne et antifongique. Ceci est confirmé par les résultats des tests effectués. Et ceci, en tenant compte l'effet de certains monoterpènes hydrocarbonés comme l' $\alpha$ -pinène et le limonène, ce dernier est connu pour ses propriétés antivirales et antitumorales (Damnjanovic, 2000).

Parallèlement, dans des études réalisées par Cox et ses collaborateurs (2000), ont été montré aussi que les composés oxygénés ont une activité supérieure par rapport aux huiles essentielles dans lesquelles ils se trouvent. Ceci a été observé également pour la carvone et de la pipéritone (Al-Saleh., 2006).

#### 4- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus des échantillons de la provenance d'Oued Agba selon la date de récolte

Les résultats obtenus sur l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des différents échantillons récoltés pendant les mois de mars, juin, septembre et décembre sont regroupés dans le tableau 30.

Nous avons pu montrer que les HE des échantillons récoltés durant les mois de juin et septembre ont le même effet sur les souches bactériennes testées. Ainsi, l'inhibition des bactéries Gram+ a été obtenue à partir de la concentration de 1/250 v/v, par contre *E. coli*, bactérie gram-, a été inhibé à la concentration de 1/1000 v/v.

Cependant, la totalité des bactéries a été inhibée à la concentration de 1/250 de l'huile essentielle de mois de décembre. Alors que, l'huile essentielle des échantillons récoltés pendant le mois de mars, n'a montré aucun effet antibactérien, à l'exception d'*Escherichia coli* et du *Staphylococcus aureus* qui ont été inhibées à la concentration de 1/250 v/v. En outre, la présence d'une fonction oxygène dans la structure des composés chimiques augmente les propriétés bactériostatiques des terpénoïdes, en effet, la teneur élevée des monoterpènes oxygénés ( $\alpha$  et  $\beta$ -thujone, chrysanthénone, iso-3-thujanol acétate, alcool d'artémisia...), dans nos huiles essentielles, est peut être responsable de leurs activité prononcée contre les souches bactériennes testées. En effet, il a été démontré que le *Staphylococcus aureus* est affecté par les monoterpènes cétoniques, tels que les thujones (Oussalah, 2007).

Quand aux moisissures, ils ont été tous inhibés à la concentration de 1/500 v/v des huiles essentielles des échantillons récoltés pendant les mois de mars, juin et décembre, et à la concentration de 1/250 v/v de l'huile essentielle des échantillons de mois de septembre.

**Tableau 30:** Activité antibactérienne et antifongique des HE des échantillons d'Oued Agba selon la date de récolte

Concentrations v/v	1/100				1/250				1/500				1/1000				1/2000				1/3000				1/5000				T
	Echantillons	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	
<b>Bactéries</b>																													
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M.luteus</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Moisissures</b>																													
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																													
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>C.puteana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+

M : Mars ; J : Juin ; S : Septembre ; D : Décembre,

(-) : Inhibition ; (+) : Croissance ; T : Témoin

**a- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Agba**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont présentés dans le tableau 31.

**Tableau 31:** Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Agba

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250
<i>B.subtilis</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250
<i>M.luteus</i>	CMI<1/100	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250
<i>S.aureus</i>	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000
<i>P.expansum</i>	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000
<i>P.digitatum</i>	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000
<i>C.puteana</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000
<i>P.placenta</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000
<i>G.trabeum</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000	1/3000<CMI<1/5000	1/3000<CMI<1/5000

Nous avons constaté, que les champignons de pourriture de bois étaient plus vulnérables par rapport aux bactéries aux huiles essentielles d'*A. herba alba*. En effet, les huiles essentielles des échantillons récoltés pendant les mois de septembre et décembre ont été exercés une forte activité contre les champignons de pourriture de bois avec des concentration très faibles allant entre 1/3000 et 1/5000 v/v, et avec une concentration minimales inhibitrice allant jusqu'à 1/2000 v/v des huiles essentielles des récoltes du mois de mars et juin. Nos résultats présentent une certaines similitudes avec ceux de Bencheqroun et ses collaborateurs (2012), qui ont obtenus une inhibition totales des moisissures et des champignons de pourriture du bois à des concentrations différentes des huiles essentielles des échantillons d'*Artemisia mesatlantica* récoltés durant les mois de mars, juin et septembre dans la région d'Ifrane.

D'après ces CMI nous avons calculé pour chaque huile essentielle de l'activité moyenne inhibitrice (Tableau 32).

**Tableau 32:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons d'Oued Alkharoub

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	4	3	3	1
<i>B.subtilis</i>	0	2	2	1
<i>M.luteus</i>	0	2	2	1
<i>S.aureus</i>	2	2	2	1
<b>Activité moyenne</b>	<b>1,5</b>	<b>2,25</b>	<b>2,25</b>	<b>1</b>
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	3	2	2	3
<i>P.expansum</i>	3	2	2	3
<i>P.digitatum</i>	3	2	2	3
<b>Activité moyenne</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	4	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

Les résultats figurant sur le tableau 32 montrent clairement que, les huiles essentielles des échantillons récoltés pendant les mois de juin et septembre ont une activité antibactérienne très importante (degrés d'efficacité 2,25) comparée à celles des échantillons récoltes durant les mois de mars et de décembre (degrés d'efficacité 1,5 et 1 respectivement). Tandis que, les moisissures sont plus sensibles aux huiles essentielles des mois de mars et décembre (degrés d'efficacité 3) que celles des mois de juin et septembre (degrés d'efficacité 2). Cependant, les champignons de pourriture du bois ont montré un comportement de sensibilité très important vis-à-vis les quatre huiles essentielles d'*A. herba alba*.

L'importante bioactivité démontrée pour les quatre huiles essentielles peut être en relation avec leur forte teneur en composés monoterpéniques oxygénés, notamment, l' $\alpha$ -thujone et  $\beta$ -thujone. Ces composés cétoniques ( $\alpha$ -thujone et  $\beta$ -thujone) présente plusieurs activités biologique intéressantes ayant des propriétés insecticides, larvicides, vermifuges et anti-mycosique (Duke, 1998 ; Zaim et *al.*, 2012). Il semble aussi que les thujones sont des composés très actifs physiologiquement et leurs utilisations doivent être bien contrôlées de

peur de devenir rapidement toxiques. En particulier, ils ont plusieurs actions : une lyse démontrée envers les mucosités. Celles-ci, peuvent être abortives pour les femmes enceintes, neurotoxiques, stupéfiantes, voir épiléptisantes et fortement immunostimulantes (Duke, 1998).

### **5- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub en fonction de la date de récolte**

Les résultats obtenus sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons récoltés pendant les mois de mars, juin et décembre sont présentés dans le tableau 33. Cependant, les quatre souches bactériennes testées (*E. coli*, *B. subtilis*, *M. leutus* et *S. aureus*) sont très sensibles aux huiles essentielles des échantillons récoltés en mois de juin. Les bactéries à Gram+ sont toutes inhibées à la concentration de 1/250 v/v, alors que *E. coli*, à Gram-, à été inhibée à la faible concentration de 1/2000 v/v. Par contre, *E. coli* et *S. aureus* présentent une résistance à l'huile essentielle des échantillons récoltés en mois de décembre, et *B. subtilis* et *M. lotus* ont été inhibés à la plus haute concentration de 1/100 v/v de l'huile essentielle de mois de mars.

Nous avons noté que les moisissures sont plus sensibles que les bactéries. La plus grande activité antifongique est attribuée à l'huile essentielle des échantillons récoltés en mois de juin, qui a montrée une inhibition efficace contre tous les moisissures à la concentration de 1/500 v/v. pour l'huile essentielle de mois de mars, quant au *P. expansum* et *P. digitatum* ont été inhibés à la concentration de 1/250 v/v et *E. coli* à la concentration de 1/500 v/v. Cependant, ils ont été tous inhibés à la plus forte concentration de 1/100 v/v de l'huile essentielle de mois de décembre.

Nous avons noté également, que les HE testées présentent une bonne activité antifongique. En effet, les champignons les plus sensibles sont *C. puteana* et *P. placenta* qui ont été inhibés à la faible concentration de 1/3000 v/v des HE des échantillons récoltés au mois de juin. Les huiles essentielles des échantillons récoltés en mois de mars et de décembre ont montré aussi une activité inhibitrice très importante. Tous les champignons sont inhibés à la concentration de 1/1000 v/v de l'huile essentielle de mois de décembre et à la concentration de 1/2000 v/v, à l'exception de *G. trabeum* qui a été inhibé à la concentration de 1/2000 d'HE des échantillons de mois de mars.

**Tableau 33** : Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des échantillons d'Oued Alkharoub selon la date de récolte

Concentration s v/v	1/100			1/250			1/500			1/1000			1/2000			1/3000			1/5000			T
	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	M	J	D	
<b>Bactéries</b>																						
<i>E.coli</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i>	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M.luteus</i>	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Moisissures</b>																						
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																						
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.puteana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

M : Mars ; J : Juin ; S : Septembre ; D : Décembre

(-) : Inhibition ; (+) : Croissance ; T : Témoin

**a- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Alkharoub**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont présentés dans le tableau 34.

**Tableau 34:** Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Alkharoub

Echantillons	Mars	Juin	Décembre
<b>Bactéries</b>			
<i>E.coli</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	CMI<1/100
<i>B.subtilis</i>	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/100<CMI<1/250
<i>M.luteus</i>	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500
<i>S.aureus</i>	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500	CMI<1/100
<b>Moisissures</b>			
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250
<i>P.expansum</i>	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250
<i>P.digitatum</i>	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250
<b>Champignons de pourritures du bois</b>			
<i>C.versicolor</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/1000<CMI<1/2000
<i>C.puteana</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000	1/1000<CMI<1/2000
<i>P.placenta</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000	1/1000<CMI<1/2000
<i>G.trabeum</i>	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000

Il ressort des résultats consignés dans le tableau 34 que les champignons de pourriture du bois présentent une sensibilité très importante vis-à-vis des huiles essentielles des quatre récoltes, avec des concentrations minimales inhibitrices allant entre 1/3000 v/v et 1/5000 v/v. Tandis que les huiles essentielles des échantillons des récoltes de mois de mars et décembre ont montré une faible activité inhibitrice contre la majorité des moisissures et certaines bactéries.

**Tableau 35:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons d'Oued Alkharoub

Echantillons	Mars	Juin	Décembre
<b>Bactéries</b>			
<i>E.coli</i>	4	4	0
<i>B.subtilis</i>	1	2	1
<i>M.luteus</i>	1	2	2
<i>S.aureus</i>	2	2	0
<b>Activité moyenne</b>	<b>2</b>	<b>2,5</b>	<b>2</b>
<b>Moisissures</b>			
<i>A.niger</i>	3	3	1
<i>P.expansum</i>	2	3	1
<i>P.digitatum</i>	2	3	1
<b>Activité moyenne</b>	<b>2,33</b>	<b>3</b>	<b>1</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>			
<i>C.versicolor</i>	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

En se basant sur les résultats présentés dans le tableau, nous avons pu souligner que les huiles essentielles testées ont été montrée actives vis-à-vis de toutes les souches de champignons et certaines bactéries. Le meilleur résultat a été obtenu pour l'huile essentielle des échantillons de la récolte de mois du juin, en manifestant un pouvoir antibactérienne et antifongique très important.

Nos résultats suggèrent que l'activité antimicrobienne des HE testées est très liée à la composition chimique et notamment à leurs composés majoritaires, tels que, l' $\alpha$ -thujone, la  $\beta$ -thujone et la chrysanthénone. En effet, tous ces composés cétoniques possèdent un très large spectre d'activité antimicrobien et ils sont naturellement présents dans les HE de la plupart des espèces d'*A. herba alba* de l'oriental marocain (Ourid et *al.*, 2016a). Cependant, il est admis que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles se classe dans l'ordre décroissant, suivant la nature de leurs composés majoritaires : phénol > alcool > aldéhyde > cétone > oxyde > hydrocarbure > esters (Franchomme, 1981).

Cependant, ces composés ne sont pas les seuls responsables de l'intégralité de l'activité observée, la totalité de la composition chimique doit être prise en compte. Ce qui suggère qu'un effet synergique entre plusieurs constituants des huiles essentielles testées peut aussi être en compte dans cette activité.

#### **6- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla en fonction de la date de récolte**

Les résultats du tableau 36 montrent que les huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et décembre sont toutes pourvues de pouvoir antimicrobien. En effet, les HE des échantillons récoltés en juin et décembre ne présentent pas une différence en termes d'effet antibactérien. Les bactéries *B. subtilis* et *S. aureus* ont été inhibées à la concentration de 1/100 v/v et de 1/250 v/v respectivement, alors que, les souches *E. coli* et *M. lotus* ont été inhibées à la concentration de 1/500 v/v. cependant, toutes les bactéries étudiées ont été inhibées à la concentration de 1/500 v/v de l'HE des échantillons récoltés dans le mois de septembre. Par contre, celles issus des échantillons du mois de mars n'ont inhibé que les bactéries Gram+ à forte concentration de 1/100 v/v et les bactéries à gram- ont été inhibées à faible concentration de 1/2000 v/v. Cette action inhibitrice des bactéries pathogènes, comme *E. coli* par des HE nous a permis de souligner que celles-ci, peuvent être utilisées comme un agent antibactérien puissant pour lutter contre certaines maladies très graves de type diarrhéiques.

Quant aux moisissures testées, elles ont été tous inhibées à la concentration de 1/500 v/v de l'huile essentielle issus des échantillons du mois de juin. Les huiles essentielles de mois de septembre et décembre présentent la même activité inhibitrice sur *P. expansum* et *P. digitatum* qui ont été inhibés à la concentration de 1/100 v/v et à la concentration de 1/250 v/v sur *A. niger*.

De même, la concentration de 1/2000 v/v de l'huile essentielle des échantillons récoltés durant les mois de mars et septembre, a été suffisante pour arrêter la croissance de tous les champignons de pourriture de bois étudiés. Tandis que, les quatre souches fongiques (*G. trabeum*, *P.placenta*, *C. puteana* et *C. versicolor*) ont montré une grande sensibilité à l'huile essentielle des échantillons de la collecte de mois de décembre, celles-ci, ont été inhibés à partir de la même concentration minimale de 1/3000 v/v, et ont manifesté une résistance jusqu'à la concentration de 1/2000 v/v de l'huile essentielle des échantillons récoltés pendant le moi de juin.

**Tableau 36:** Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des échantillons d'Oued Asla selon la date de récolte

Concentrations v/v	1/100				1/250				1/500				1/1000				1/2000				1/3000				1/5000				T			
	Echantillons	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S	D	M	J	S		D		
<b>Bactéries</b>																																
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M.luteus</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Moisissures</b>																																
<i>A.niger</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.expansum</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.digitatum</i>	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Champignons de pourritures du bois</b>																																
<i>C.versicolor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.puteana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.placenta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>G.trabeum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

M : Mars ; J : Juin ; S : Septembre ; D : Décembre

(-) : Inhibition ; (+) : Croissance ; T : Témoin

### a- Activité antimicrobienne comparée des huiles essentielles des échantillons issus de la provenance d'Oued Asla

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* sont présentés dans le tableau 37.

**Tableau 37:** Concentration minimales inhibitrices des HE des échantillons d'Oued Asla

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000
<i>B.subtilis</i>	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250
<i>M.luteus</i>	1/100<CMI<1/250	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000
<i>S.aureus</i>	1/100<CMI<1/250	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	1/500<CMI<1/1000	1/500<CMI<1/1000	1/250<CMI<1/500	1/250<CMI<1/500
<i>P.expansum</i>	1/250<CMI<1/500	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250
<i>P.digitatum</i>	1/100<CMI<1/250	1/500<CMI<1/1000	1/100<CMI<1/250	1/100<CMI<1/250
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000
<i>C.puteana</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000
<i>P.placenta</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000
<i>G.trabeum</i>	1/2000<CMI<1/3000	1/1000<CMI<1/2000	1/2000<CMI<1/3000	1/3000<CMI<1/5000

Notre tableau compilé révèle que les huiles essentielles ont exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries et des champignons. Les concentrations minimales inhibitrices varient légèrement d'une huile à l'autre, ainsi l'huile essentielle des échantillons de la récolte de mois de septembre a montré une forte activité antibactérienne avec une CMI entre 1/500 et 1/1000, mais elle a une faible activité contre les moisissures par rapport à l'huile essentielle des échantillons récoltés pendant les mois de mars et de juin. Nous avons noté aussi que, les huiles essentielles ont une forte activité contre les champignons de pourriture de bois, avec des CMI allant jusqu'à 1/3000 v/v pour l'HE de mois de décembre

Pour mieux apprécier les activités antimicrobiennes des huiles essentielles de la provenance d'Oued Asla, et pour avoir les comparer entre elles, nous avons traduit les valeurs de CMI (Tableau 37) pour chaque huile essentielle en activité moyenne inhibitrice (Tableau 38) selon le système de notation proposé par Benjilali et ses collaborateurs.

**Tableau 38:** Résultats des degrés d'efficacité antimicrobienne des HE des échantillons d'Oued Asla

Echantillons	Mars	Juin	Septembre	Décembre
<b>Bactéries</b>				
<i>E.coli</i>	4	3	3	3
<i>B.subtilis</i>	1	1	3	1
<i>M.luteus</i>	1	3	3	3
<i>S.aureus</i>	1	2	3	2
<b>Activité moyenne</b>	<b>1,75</b>	<b>2,25</b>	<b>3</b>	<b>2,25</b>
<b>Moisissures</b>				
<i>A.niger</i>	3	3	2	2
<i>P.expansum</i>	2	3	1	1
<i>P.digitatum</i>	1	3	1	1
<b>Activité moyenne</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1,33</b>	<b>1,33</b>
<b>Champignons de pourritures du bois</b>				
<i>C.versicolor</i>	4	4	4	4
<i>C.puteana</i>	4	4	4	4
<i>P.placenta</i>	4	4	4	4
<i>G.trabeum</i>	4	4	4	4
<b>Activité moyenne</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

Généralement, toutes les HE testées ont manifesté un pouvoir antimicrobien sur la totalité des microorganismes étudiés. Quoique cet effet varie sur une échelle de sensibilité variable et dépendante de la date de récolte. En effet, l'huile essentielle de mois de septembre semble plus active contre les bactéries (degré d'efficacité 4) par rapport aux autres huiles essentielles. Cependant, l'huile essentielle de mois de juin présente une activité inhibitrice contre tous les moisissures (degré d'efficacité 3). Tandis que, les quatre huiles essentielles ont exercées une forte activité inhibitrice contre les champignons de pourriture du bois (degré d'efficacité 4).

L'activité antimicrobienne observée est due essentiellement à la composition chimique, riche en monoterpènes oxygénés tels que  $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthénone, alcool d'artémisia, camphre, ces composés ont été cités par de nombreux auteurs comme étant des molécules à grand pouvoir antimicrobien (Zouari et al., 2014 ; Lakehal et al., 2016). Il semble important de rappeler que le pouvoir antimicrobien des HE ne résulte pas nécessairement de l'action d'un constituant chimique seule, mais de l'action d'un ensemble de composés qui interagissent entre eux. Donc, des phénomènes de synergie et

d'antagonisme entre les différents constituants peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les constituants majoritaires (Bouaoun et al., 2007).

En outre, la méthode d'évaluation antibactérienne, le type des microorganismes ciblés, la dose utilisée, le type et la structure des composants actifs sont considérés comme des facteurs pouvant influencer l'activité antibactérienne des huiles essentielles (Malecky, 2007).

Le mécanisme d'action des huiles essentielles à l'égard des bactéries n'est pas complètement élucidé, mais nous pouvons avancer qu'il provoque une rupture de la membrane par des composés lipophiles (Cowan, 1999). L'activité antimicrobienne de ces HE est difficile à corréler à l'un de ses composés, en raison de leur complexité et de leur variabilité. Il a souvent été rapporté que les bactéries Gram+ sont plus sensibles à l'huile essentielle que les bactéries Gram-. La résistance des bactéries Gram- à l'huile essentielle peut être attribuée à la présence d'une membrane hydrophile externe qui bloque la pénétration des huiles essentielles hydrophobes dans la membrane de la cellule cible. Cela n'est pas toujours vrai, car les résultats, obtenus dans notre travail ont montré que les bactéries Gram- sont plus sensibles que les bactéries Gram+ aux HE d'*Artemisia herba alba*. La sensibilité des bactéries aux HE testées peut être dépendante de nombreux facteurs dont la nature de l'HE, comme ceci a été souligné par certains auteurs (Deans et Ritchie, 1987), de la région de récolte des échantillons ainsi que de la date de récolte.

## Conclusion

Par notre étude, nous avons pu montrer que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles varie en fonction de la provenance de collecte et la date de récolte. Cependant, les bioessais ont montré que les huiles essentielles d'*A. herba alba* ont une bonne action inhibitrice contre les bactéries et les champignons choisis étant donné que leurs composés majoritaires, comme la chrysanthénone, l' $\alpha$  et  $\beta$ -thujone et le camphre, présentent plusieurs activités antimicrobiennes intéressantes.

En comparaison, l'huile essentielle d'*A. herba alba* de la provenance d'Oued Alkharoub paraît plus active contre les quatre souches bactériennes par rapport à celles des autres provenances. Par contre, l'huile essentielle de la provenance de la Reserve Aswiwinia présente une activité inhibitrice très importante sur les trois moisissures. Cependant, toutes

les huiles essentielles des échantillons issus de six provenances ont une forte activité inhibitrice sur les quatre champignons de pourriture du bois (*Gloeophyllum trabeum*, *Poria placenta*, *Coniophora puteana* et *Coriolus versicolor*).

La bioactivité des huiles essentielles d'*A. herba alba* dépend non seulement de l'origine de la plante, mais aussi de la date de récolte. De ce fait, les huiles essentielles des échantillons récoltés pendant les mois de juin et de septembre dans la provenance d'Oued Agba et celle des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de la Reserve Aswiwinia ont une meilleur activité inhibitrice sur les quatre bactéries étudiées. Tandis que, les huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars et de juin dans la provenance d'Oued Ait Makhoulouf, ainsi que, les huiles essentielles des échantillons récoltés pendant le mois de juin dans les provenances de Hassi Al Abyad, Reserve Aswiwinia, Oued Alkharoub et Oued Asla ont une activité très importante contre les moisissures étudiés. De même, les huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre dans les six provenances, ont une forte activité antifongique contre les quatre champignons de pourriture du bois. L'activité antimicrobienne observée est due essentiellement à la composition chimique, riche en monoterpènes oxygénés tels que  $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthénone, alcool d'artémisia, camphre.

De plus, les activités biologiques d'une huile essentielle ne sont pas dues seulement aux composés majoritaires mais à l'ensemble des composés contenus dans cette huile essentielle. C'est pour cela qu'il faut mener une étude détaillée sur les activités biologiques de ces huiles essentielles pour montrer leur importance et la possibilité de leur exploitation dans certains domaines : pharmaceutique, cosmétique, insecticide, alimentaire, etc. cette étude peut être considérée comme une première source d'information sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle d'*A. herba alba*.

***CONCLUSION GENERALE***  
***&***  
***PERSEPECTIVES***

Dans le but de contribuer à la valorisation des plantes aromatiques et médicinales et leurs dérivés, nous avons contribué à la détermination de la composition chimique et à l'évaluation des activités biologiques de 22 huiles essentielles extraites des parties aériennes des échantillons d'*A. herba alba* récoltées pendant les mois de mars, juin, septembre et de décembre dans six provenances différentes dans l'Oriental du Maroc.

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des paramètres étudiés tels que le rendement en huile essentielle, la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles varie en fonction de l'origine et de la date de récolte de la plante.

Dans un premier temps nous avons étudié, l'effet de la provenance et l'influence de la date de récolte sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles des échantillons d'*A. herba alba*. Selon la provenance, le meilleur rendement en HE, est celui de la provenance d'Oued Asla (2,03%). Selon la date de récolte, ce sont les échantillons récoltés au cours de moi de juin (période de floraison) qui ont fournis les rendements les plus importants en huile essentielle par rapport aux autres date de récolte.

Les analyses chimiques ont permis d'identifier la richesse de ces huiles essentielles en monoterpènes oxygénés, notamment, l' $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthénone et le camphre, qui sont les principaux constituants des huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre, dans les six provenances étudiées. Cependant, nous avons noté une variabilité des autres constituants majoritaires comme l'alcool d'artémisia, nordavanone, trans-ethyl-chrysanthemumate, cis-hydrate de sabinène et B-davanone. Les variations chimiques observées pourraient être due à l'existence des différents chémotypes pour cette espèce. Pour notre étude, nous avons distingué trois chémotypes (selon la provenance) ce qui montre que la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. herba alba* est très variable selon le lieu et la date de récolte.

Dans un deuxième temps, nous avons entrepris l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*A. herba alba*, et évaluée la variabilité de cette activité selon la provenance et selon de la date de récolte. Il ressort que les HE d'*A. herba alba* de la provenance d'Oued Alkharoub paraît plus active contre les quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus*) par rapport à celles des autres provenances. Par contre, l'huile essentielle de la provenance de la Reserve Aswiwinia présente une activité inhibitrice très importante sur les trois moisissures (*Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*). Cependant, toutes les

huiles essentielles des échantillons issus de six provenance ont une forte activité inhibitrice sur les quatre champignons de pourriture du bois (*Gloeophyllum trabeum*, *Poria placenta*, *Coniophora puteana* et *Coriolus versicolor*).

En outre, nous avons noté que, les huiles essentielles des échantillons récoltés pendant les mois de juin et de septembre dans la provenance d'Oued Agba et celle des échantillons récoltés au cours de mois de juin dans la provenance de la Reserve Aswiwinia ont une meilleur activité inhibitrice sur les quatre bactéries étudiées. Tandis que, les huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars et de juin dans la provenance d'Oued Ait Makhoulouf, ainsi que, les huiles essentielles des échantillons récoltés pendant le mois de juin dans les provenances de Hassi Al Abyad, Reserve Aswiwinia, Oued Alkharoub et Oued Asla ont une activité très importante contre les moisissures étudiés. De même, les huiles essentielles des échantillons récoltés durant les mois de mars, juin, septembre et de décembre dans les six provenances, ont une forte activité antifongique contre les quatre champignons de pourriture du bois.

Les performances antifongiques mises en évidence, montrent que les huiles essentielles d'*A. herba alba* peuvent jouer un rôle important dans la bioconservation du bois, et ouvrent des perspectives d'application intéressantes dans ce domaine.

En effet, la différenciation de l'activité antimicrobienne observée est fortement liée à la variation de la composition chimique de l'huile essentielle selon la provenance et aussi selon la date de récolte. Ainsi que, la forte activité antifongique et antibactérienne des huiles essentielles peut être expliquée d'une part, à leurs profils chimiques riches en monoterpènes oxygénés tels que, l' $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, chrysanthénone et le camphre, et d'une part, par la synergie entre tous les constituants volatils y compris ceux qui sont minoritaires.

En fin, l'ensemble de ces résultats nous encourage à envisager les actions suivantes :

- Etendre l'étude sur d'autres provenances pour déterminer les différents chémotypes existants dans l'oriental du Maroc et pourquoi pas dans les autres régions.
- Poursuivre l'étude phytochimique de ces espèces afin d'isoler les principaux métabolites contenus dans les huiles essentielle étudiées.
- S'intéresser à d'autres souches bactériennes et autres souches antifongiques, puisque la résistance aux antibiotiques et aux fongicides ne cesse de s'élargir.
- Mettre au point des techniques de multiplications et de culture de *A. herba alba* et étudier la possibilité de la mise en culture des chémotypes performants.

– Identifier la relation entre le patrimoine génétique et les chémotypes de cette espèce, par l'optimisation des techniques de la biologie moléculaire (techniques d'extraction de l'ADN, RAPD, analyses phylogénétique).

***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

- Aafi A., 1995. Contribution à l'étude phytoécologique et à la cartographie des groupements végétaux du Parc National de Talassemrane. Mém. de 3<sup>ème</sup> cycle, ENFI, Salé. 1995. 162 p.
- Aafi A., 2004. Contribution des écosystèmes forestiers à la Sécurité alimentaire. Journée mondiale pour l'alimentation, IAV Hassan II, MAPMA et FAO).
- Adams R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas chromatography/Mass Spectrometry, 4th edition, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
- Ahmed A.A., Abou-El-Ela M., Jakupovic, J., El-Din A.A.Seif., Sabri N., 1990. Irregular monoterpene alcohols from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry*. **29** (11): 3661–3
- Akrout A., 1999. Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des Régions Arides 62 : 289-292.
- Alfatuni A. 2005. The yield and essential oil content of mint *Mentha ssp.* in Northern Ostrobothnia. Academic Dissertation to be presented with the assent of the Faculty of science for public discussion. Faculty of Science, University of Oulu, Oulu, Finland: Oulu University Press, 52p.
- Allegrini J., Simeon De Buochberg M., Maillois H. 1972. Emulsions d'huiles essentielles. Travaux de la société de pharmacie de Montpellier, 33, 73-85.
- Al-Saleh I.A., Billedo G., El-Doush I.I., 2006. Levels of selenium, DL- $\alpha$ -tocopherol, DL- $\gamma$ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 167-175.
- Al-Shuneigat J., Al- Sarayreh S., Al-Qudah M., Al-Saraireh Y. and Al-Qtaitat A., and Al-Tarawneh I., 2014. GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from Wild *Artemisia herba-alba* Grown in South Jordan. *British Journal of Medicine & Medical Research* 5(3): 297-302, Article no. BJMMR.2015.032 ISSN: 2231-0614.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., 1995. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris.
- Assad Y.O.H., Torto B., HassanaH, A., Njagi P.G.N. Bashir, N.H.H., Mahamat, H. 1997. Seasonal variation in the essential oil composition of *Commiphora quadricincta* and its effect on the maturation of immature adults of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Phytochemistry*44, 833-841
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., 2008. Review MI-Biological effects of essential oils-A review Food and Chemical Toxicology; Vol. 46; pp 446-475.
- Baldwin I.T., 2006. "Volatile Signaling in Plant-Plant Interactions: "Talking Trees" in the Genomics Era." *Science*, 311, 812-815.
- Banci L., 1997. Structural properties of peroxidases. *J. Biotechnol.*, 53, 253-263.

- Barlier L., 2014. Etat des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'Angers (de 2000 à 2013), Thèse d'exercice. Université d'Angers. UFR des sciences pharmaceutiques et ingénierie de la santé. 87 p.
- Baudoux D., 2000. L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. 1<sup>o</sup>éd. Biarritz : Atlantica, 2000. 223 p.
- Baudoux D., Blanchard J.M., Malotau A.F., 2006. Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française : Soins palliatifs. 1e éd. Luxembourg : Inspir, 2006. 318p.
- Baudoux D., Breda M., Zhiri A., 2012. Aromathérapie scientifique : Huiles essentielles chémotypées. 1eéd. Belgique : J.O.M, 2012. 88 p.
- Belaiche P., 1979. Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. Ed. Maloine S.A. Paris.
- Belhattab R., Loubna A., Barroso J.G., Pedro L.G., Figueiredo A.C., 2014. Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*7: 243-251.
- Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Aberchane M.A., Echchelh Chaouch A., 2012. Effect of phenological stages on yield, chemical composition and bioactivity of *Artemisia mesatlantica* essential oil of Morocco. *Natural Products and Indian Journal*. NPAIJ, 8(5), 2012 [198-207]
- Benini C., 2007. Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p.
- Benjilali B. et Richard H., 1980. Etude de quelques peuplements d'Armoise blanche du Maroc *Artemisia herba-alba*. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 69-74.
- Benjilali B., Sarris J., Richard H., 1982. Nouveaux chémotypes d'*Artemisia herba-alba*. *Sci. Aliment.* 2, 515-527
- Benjilali B., Tantaoui-ElAraki A., Ismaili-Alaoui M., Ayadi A., 1986. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes Med. Phytother.*, 20, 155-167.
- Benjilali B., Zrira S., 2005. Plantes aromatiques et médicinales atouts du secteur et exigences pour une valorisation durable. Actes éditions Institut agronomique et vétérinaire Hassan-II Rabat Maroc.
- Benjumea D., Abdala S., Hernandez-Luis F., Pérez-Paz P. and Martin-Herrera D. 2005. Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic canary species. *J. Ethnopharmacol.*, 100, 205-209.

- Beraoud L., Bessière J.M., Tantaoui-Elaraki A., 1991. Chemical composition of the essential oils of selected plant materials used in Moroccan cuisine. *Al-Birunya Rev. Mar. Pharm.*, 7, 49-69.
- Bernard T. and Coll. 1988. Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie. *Information chimie*, 289.
- Bessedik A., 2016. Molecular composition and antidiabetic effect of *Artemisia herba alba*. *International Journal of Biology, Biotechnology and Food Science (IASSET: IJBBFS)* ISSN (P): Applied; ISSN (E): Applied Vol. 1, Issue 1.
- Bessière J.M., 2008. Formation des composés organiques volatils naturels: filiation structurales Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE). Montpellier.
- Beylier-Maurel M.R., 1976. Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.*, 58, 283-286.
- Bilgrami K.S., Sinha K.K., Sinha A.K., 1992. Inhibition of aflatoxin production and growth of *aspergillus flavus* by eugenol, onion and garlic extracts. *Indian J. Med. Res.*, 96, 171-175.
- Bohlmann J. and Keeling C.I., 2008. Terpenoid biomaterials. *Plant J.* 54, 656-669.
- Bouaoun D., Hilan C., Garabeth F., Sfeir R., 2007. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie*. Volume 5, Issue 3, p129–134
- Bouzidi N, Mederbal K, Raho GB (2016) Antioxidant Activity of Essential Oil of *Artemisia herba alba*. *J Appl Environ Biol Sci* 6: 59-65.
- Bruneton J., 1993. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Tec. Et Doc. Lavoisier, Paris, pp 915.
- Bruneton J., 1999. "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, monoterpènes et sesquiterpènes; Tec & Doc, 3<sup>ème</sup> édition, pp 484-497. Lavoisier. Paris.
- Bruneton J., 2009. Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales. 4e éd. Paris : Tec & Doc, 2009. 1269 p
- Bruneton J., 2009. Pharmacognosie phytochimie et plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> édition. Paris: Tec & Doc;
- Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 94, 223-253.
- Cane D.E., 1999. *Comprehensive Natural Products Chemistry: Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids*. Elsevier, Amsterdam, Netherland. pp 155-200.

- Carson C.F., Mee B.J, and Riley T.V., 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 46:1914-1920.
- Chaieb C., Ferchichi A., Ferjani E., 2004. Caractérisation de la variabilité du comportement phytologique de certaines populations d'*Artemisia herba-alba* du sud tunisien. In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM. P. 211-216 (Cahiers Options Méditerranéennes ; n. 62).
- Charai M., Mosaddak M. and Faid M., 1996. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Two Aromatic Plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. *Journal of Essential Oil Research*, 8, 657-664.
- Chericoni S., Flamini G., Campeol E., Pier Luigi C., Morelli I., 2004. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(4), 423-429.
- Circella G., Franz C., Novak J., Resch H., 1995. Influence of day length and leaf insertion on the composition of marjoram oil. *Flavour Fragrance J.* 10,371-374.
- Clevenger J. F., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 17 : 341-346.
- Coassini-LoKar L., Nimis P.L., Geatti M., 1987. Chemistry and chorology of the genus *Parmotrema* Massal. (Lichenes, Parmeliaceae) in Italy.– *Webbia: Journal of Plant Taxonomy and Geography*, 41(1): 125–142.
- Constantin E., 1996 : Spectrométrie de masse. Lavoisier Tec & Doc, Paris, pp 1-14.
- Cowan M.M., 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, no. 4, p. 564-582.
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafon J.E., Warmington J. R., and Wyllie S.G. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 88: 170-175.
- Croteau, R., Ketchum, R.E.B., Long, R.M., Kaspera, R. and Wildung, M.R. 2006. Taxol biosynthesis and molecular genetics. *Phytochem. Rev.* 5, 75–97.
- Damnjanovic B.M., 2000. M. Sc. Thesis, Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, (in Serbian).
- Darias V., Bravo L., Barquín E., Martín-Herrera D. and Fraile C. 1986. Contribution to the ethnopharmacological study of the Canary Island, *J. Ethnopharmacol.* 15, 169-193.

- Davidson P.M., 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doly M.P., Beuchat L.R., and Montville T.J., (eds.) Food Microbiology. P 520-556. ASM, Washinton.
- Deans S.G., and Ritchie G., 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. International Journal of Food Microbiology 5: 165-180.
- Dorman, H.J.D. and Deans S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbio., 88: 308-316.
- Drugeon H., Legallou F., Caillon J., 1991. Méthodes d'étude de l'activité bactéricide, p113-126. Bactéricidie. Aspects théoriques et thérapeutiques. Edité par: Courvalin P., Drugeon H., Flandrois J.P et Goldstein F., Editions Maloines, Paris.
- Dudareva N., Krzyzanowska, J., Oleszek W., Pistelli L., 2006. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. Critical Rev. Plant Sci., 25 (5), 417-440.
- Duke A.J. 1998. Phytochemical Database. USDA-ARS-NGRL (Ed), Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland.
- Edward P.Claus., Varro E.T., Lynn R. B. 1987. Pharmacognosy, sixth edition. LEA et Febiger (ed) :184-187.
- El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F. & Aberchane M. 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 12, 4, 345-351.
- El-Massry K.F., El-Ghorab A.H., and Farouk A., 2002. Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. Food Chem., 79, 331-336.
- Ennajar M., Romdhane M., Abderraba M., 2007. Influence de la période de récolte sur la teneur et la composition chimique de l'huile essentielle du Genévrier de phénicie (*Juniperus phonicea* L). Revue des régions arides INSS 0330-7956. (2), PP.647-651.
- Evenari M., Schulze Ed., Lange Ol, Kappen L., Buschbom U., 1980. Long-term effects of drought on wild land cultivated plants in the Negev desert I Maximal rates of net photosynthesis. Ecologia (Berl.) 45 (1): 11-18.
- Faraji F., 2005. Etude de la durabilité d'un composite multicouche en mélange de placages de durabilités variables. Thèse, spécialité Sciences forestières et du bois, Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Montpellier, France
- Floret C., and Pontannier R., 1982. L'aridité en Tunisie présaharienne. Climat, sol, végétation et aménagement. Travaux et documents de l'ORSTOM, 150: 1-544.

Fouché J.G., Maruquet A., Hambuckers A., 2000. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman. Université de Liège Sart-Tilman B77.

Franchomme P., 1981. L'aromatologie à visée anti-infectieuse. *Phytomédecine.*, 1, 25-47.

Franchomme P., Jollois P., Penoel D., 2001. L'aromathérapie exactement. Ed Jollois.

Franchomme P., Jollois P., Penoel D., 2007. L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1<sup>er</sup> éd. Paris : Roger Jollois. 490 p.

Garnero J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France, pp. 2-20.

Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Ismaili M.R., Houti H., El Monfalout K.H., Benchakroun K.H., Aberchane M., Harki I. Boukir A., Chaouch A., Charrouf Z., 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie* 8: 295-301.

Gharabi Z., Sand R.L., 2008. *Artemisia herba-alba* A Guide to Medicinal Plants in North Africa: 49-49.

Goudjil M.B., Ladjel S., Bencheikh S.E., Zghmi S. and Hamada D., 2015. Chemical Compounds Profile, Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential Oil Extracted from the *Artemisia herba-alba* of Southern Algeria. *International Journal of Biological Chemistry* 9 (2): 70-78.

Guardia T., Juarez A.O., Guerreiro E., Guzmán J.A. and Pelzer L. 2003. Anti-inflammatory activity and effect on gastric acid secretion of dehydroleucodin isolated from *Artemisia douglasiana*. *J. Ethnopharmacol.*, 88, 195-198.

Gueldener R.C., Wilson D.M., and Heidt A., 1985. Volatile compounds inhibiting *Aspergillus flavus*. *J. Agric. Food*, 33, 413-419.

Hammoumi M. et Pourrat Y., 1982. Les paturages à armoise blanche, utilisation actuelle et potentialités, *Revue de la production pastorale et sociétés*, 10, 19-33.

Handwerger S., Tomases A., 1985. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Rev. Infect. Dis.*, 7, 368-386.

HCEFLCD-Maroc. 2013/204. <http://agripeche.com/2713-maroc-les-plantes-aromatiques-et-medicinales-rapportent-gros.html>

Heinrich W., and Siegmund W.B. 1983. Ökologie der Erde. Band I. Ökologische Grundlagen in globaler Sicht. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 238p.

- Hillal Z., 2010. contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magi en Biologie et Biochimie Appliquée et Biotechnologies. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, 78p.
- Houari M, Ferchichi A 2009. Essential oil composition of *Artemisia herba alba* from southern Tunisia. *Molecules* 14: 1585-1594.
- Imelouane B., El Bachiri A., Ankit M., Khedid K., Wathelet J P., Amhamdi H., 2010. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba alba* Asso grown in Morocco. *Banat's Journal of Biotechnology*, I (2).
- Janssen A.M., Chin N.L.J., Scheffer J.J.C and Baerheim-Svendsen A., 1986. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharmaceutics Weekblad Scientific*, 8, pp 289-292.
- Jaouadi I., Tansu Koparal A., Bosrancioğlu R.B., Taj Yakoubi M., El Gazzah M., 2014. The anti-angiogenic activity of *Artemisia herba-alba*'s essential oil and its relation with the harvest period. *Australian Journal of Crop Science*. AJCS 8(10):1395-1401. ISSN:1835-2707.
- Joannès F., 2001. Dictionnaire de la Civilisation mésopotamienne, Paris, Robert Laffont.
- Joulian D., 1994. Modern methodologies applied to the analysis of oil and other complex natural mixture: use and abuse, *Parfumer & Flavorist*, 19, 5-7
- Jung U.J., Baek N.I., Chung H.G., Bang M.H., Yoo J.S., Jeong T.S., Lee K.T., Kang Y.J., Lee M.K., Kim H.J., Yeo J.Y. and Choi M.S. 2007. The anti-diabetic effects of ethanol extract from two variants of *Artemisia princeps* Pampanini. *Mice Food and Chemical Toxicology*, 45, 10, 2022-2029.
- Kadri A., Ben Chobba I., Zarai Z., Békir A., Gharsllah N., Damak M and Gdoura R., 2011. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(15), pp. 2923-2929.
- Kamatou Guy P.P., Vermaak I., Viljoen Alvaro M., Lawrence M. Brian 2013. Menthol: A simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry* sous presse.
- Kar A., Jan S.R., 1971. Investigation on the antibacterial activity of some Indian indigenous aromatic plants. *The flavour industry*, 2, 111-113.
- Kellner W., Kober W., 1954. Möglichkeiten der verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion. *Arzeimitteforsch*, 4, 319-325.
- Kigathi R.N., Unsicker S.B., Reichelt M., Kesselmeier J., Gershenzon J., Weisser WW. 2009. Emission of volatile organic compounds after herbivory from *Trifolium pratense* (L.)

under laboratory and field conditions. *J Chem Ecol.* 2009 Nov; 35(11):1335-48. doi: 10.1007/s10886-009-9716-3.

Kim K.S., Lee S., Lee Y.S., Jung S.H., Park Y., Shin K.H., and Kim B.K., 2003. Antioxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *J. Ethnopharmacol.* 85, 69-72.

King A.D., Bayne H.G., Jurd L., Case C., 1972. Antimicrobial properties of natural phenols and related compounds: Obtusastylene and Dihydroobtusastylene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1, 263-267.

Kivank M., and Akgul A., 1988. Effect of some essential oil components on the growth of food borne bacteria and synergism with some food ingredients. *Flavour Fragrance J.*, 3, 95-98.

Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H., and Weis N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1:119.

Kordali S., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A. and Yildirim A., 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *Artemisia dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *J. Agric. Food. Chem.* 53: 9452-8.

Kováts E., 1965. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, Chap. 7, 229-247.

Koyama T. and Ogura K., 1999. Isopentenyl diphosphate isomerase and prenyltransferases. In: Cane D.E. ed. *Comprehensive Natural Product Chemistry: Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids*. Vol. 2. Pergamon Press, Oxford. pp. 69-96.

Kurt B.G., Torssell. 1983. *Natural Products Chemistry*. John Wiley and Sons Limited. 401.

Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18: pp. 435-448.

Lakehal S., Benmemoune S., Bensouana S.n., Benrebiha F.Z., Chaoui c., 2016. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba alba* Asso Grow in Algeria. *Medicinal chemistry (Los Angeles)*. ISSN: 2161-0444 *Med chem.* Volume 6(6): 435-439.

Lamiri A., Bélanger A., Berrada M., Zrira S., Benjilali B. 1997. Plantes aromatiques et médicinales et leurs huiles essentielles. Polymorphisme chimique de l'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) du Maroc. Actes du congrès international organisé par IAV Hassan II, Rabat, Maroc, Actes (ed): 69-80.

Larpent J.P., 2004: *Listeria* 3<sup>ème</sup> édition. Collection monographie de microbiologie. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, France. 248p.

- Lawrence B.M., 1985. A review of the world production of essential oils, *Perf, Flav* 10:1-16.
- Le Floch E., 1989. Biologie et écologie des principaux taxons dans "Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne : I. Eléments de botanique et de phyto-écologie". p193.
- Longevialle P., 1981. Spectrométrie de masse des substances organiques. Masson, Paris, pp 3-14 et 83-98.
- Madhyastha M.S., Bhat R.V., 1984. *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production on black and white pepper and the inhibitory action of their chemical constituents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 376-379.
- Malecky M., 2007. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat : Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, *AgroParisTech* (France).
- Marzoukia H., Elaissib A., Khaldic A., Bouzidd S., Falconerie D., Marongiu B., Pirasa A. and Porcedda S., 2009. Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *The Open Natural Products Journal*, Vol. 2; pp. 86-91.
- Mateuh., 1998. Suivi de l'évolution de la forêt de la Mamora par télédétection durant la période 1991-2001. Projet Mor-205-, 59 p.
- McArthur E.D., 1979. Sagebrush Ecosystem Symposium, US University, Logan, 14-22.
- Mester T., and Tien M., 2000. Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 46, 51-59.
- Mighri H., Akrouit A., El-jeni H., Zaidi S., Tomi F., Casanova J. and Neffati M. 2010. Composition and intraspecific chemical variability of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in a Tunisian arid zone. *Chem. & Biodiv*, 7, 11, 2709-2717.
- Mighri H., Akrouit A., Neffati M., Tomi F., Casanova J., 2008. The Essential Oil From *Artemisia herba-alba* Asso Cultivated in Arid Land (South Tunisia). *Journal of Essential Oil Research*/453. Vol. 21.
- Mohammad S., Abu-Darwishand Abu-Dieyeh Z.H.M., 2009: Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 11, N° 1, pp.59-63.
- Morris J.A., Khettry A., Seitz E.W., 1978. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J. Amer. Oil. Chem.*, 56, 595-603.
- Mueller UG., Gerardo N., 2002. Fungus-farminginsects: Multiple origins and diverse evolutionary histories. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:15247-49.

- Nabli M.A., 1989. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I, Rev Elev Med Vet Pays Trop.; 27 (2): 203-6.
- Ngkegni Limbili A.C., 2012. Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des lipides de réserves et des huiles essentielles des fruits et graines saisonniers de la sous-région Afrique Centrale. Doctorat de l'Université de Toulouse.60p.
- Ntezurubanza L., 2000. Les huiles essentielles du Rwanda. LASEVE-UQAC, Chicoutimi, Québec
- Ogura K. and Koyama T., 1998. Enzymatic aspects of isoprenoid chain elongation. Chem. Rev. 98, 1263-1276.
- Olle M., and Bender I., 2010. The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. Agronomy Research 8 (3), pp. 687-696.
- Olliaro P.L, Haynes R.K, Meunier B., Yuthavong y., 2001. Possible modes of action of the artemisinin-type compounds. Trends Parasitol, 17:122-6
- Ourcival J.M., 1992. Réponse de deux chamephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations. Thèse Doc. USTL, Montpellier, p 167.
- Ourid B., Satrani B., Ghanmi M., El Ghadraoui L., Fatmi M. Belouiri M., Kerdouh B., Bakkali Yakhlaf S.D., 2016a. Provenance effect on the yield, chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia herba alba* in the Eastern of Morocco. *Natural Products an India Journal*. Volume 12 Issue 2. ISSN: 0974 – 7508.
- Ourid B., Satrani B., Ghanmi M., El Ghadraoui L., Fatmi M. Belouiri M., El Harchli L., Kerdouh B., Bakkali Yakhlaf S.D., 2016b. Effect of harvest date on yield, chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* essential oil. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, Volume 7, Issue 2, February-2016
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. 2007, "Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, *Salmonella Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*". Food Control, 18, 414-420.
- Oussla M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2006. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of *Pseudomonas putida* strain isolated from meat- Meat Science ; Vol .73 ; pp 236-244.
- Özcan M.M. and Chalchat J.-C., 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in turkey. Bulg. J. Plant Physiol., 30 (3-4), pp.68-73
- Ozenda P., 1985. Flor du Sahara. France, 441.p.
- Panarom. Aromathérapie Scientifique [en ligne]. [Consulté en septembre 2015]. Disponible à l'adresse : <<http://www.pranarom.com/aromatherapie-scientifique>>

- Pelkonen O., Abass K., Wiesner J., 2013. Thujone and tujone-containing herbal medicinal and botanical product: Toxicological assessment. *Regulatory Toxicology and pharmacology* 65, 100-107.
- Pellerin P., 2000. Techniques d'extraction des huiles essentielles. Actes de la journée de réflexion sur les plantes aromatiques et médicinales. *Ann. Rech. For., Maroc*, 74-103.
- Pignolet O., 2008. Optimisation de la durabilité de bois d'œuvre à l'aide de d'anhydrides alkényles succinique d'origine végétale. Thèse doctorale Université de Toulouse, p15
- Pingot, A. (1998). Les huiles essentielles. Paris, : Ed. Tec. & Doc, pp. 230-236.
- Porter N., 2001. Essential oils and their production. *Crop and Food Research.*, 39.
- Pourrat Y., and Hubac C. 1974. Comparaison des mécanismes de la résistance à la sécheresse chez deux plantes désertiques. *Artemisia herba-alba* Asso. Et *Carex pachystylis* (J. Gay) Asch Graobn. *Physiol. Veg.*, 12: 135.
- Quézel P. and Santa S. 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol. 1-2. CNRS, Paris.
- Ramos-Valdivia A.C., van der Heijden R., 1997. Isopentenyl diphosphate isomerase: a core enzyme in isoprenoid biosynthesis. A review of its biochemistry and function. *Nat. Prod. Rep.* 14, 591-603.
- Raymond S., 1961. Contribution à l'étude de la désinfection chimique des atmosphères. Thèse de doctorat de l'université de RENNES, France.
- Remmal A., Tantaoui-Elaraki A., Bouchikhi T., 1993. Improved methode for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J.Essent. Oil. Res.* 1993a, 5: 179-184.
- Ribnicky DM., Poulev A., Watford M., Cefalu W T., Raskin I., 2005. Antihyperglycemic Activity of Tarralin, an Ethanolic Extract of *Artemisia Dracuncululus L.* *Phytomedicine* 13 (8), 550-557.
- Richard H., 1992. Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. 339.
- Richard H., et Multon J.L., 1992: Les arômes alimentaires. Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 439.
- Robert G., 2000: Les Sens du Parfum. Osman Eroylls Multimedia, Paris. 224.
- Roux D., 2011. Conseil en aromathérapie. 2eéd. Pays-Bas : Pro-Officina. 187 p.

- Salido S., Luis R., Valenzuela., Joaquin A., Manuel N., Aldolfo S., Eusebio C., 2004. Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology* 32 265–277.
- Satrani B., Farah A., Fechtal M., 2001. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Saturja calamintha* et *Saturja alpina* du Maroc. *Ann Fals Exp Chin* 94 (956): 241-50.
- Setzer W.N., Vogler B., Schmidt J.M., Leahy J.G. and Rives R. 2004. Antimicrobial activity of *Artemisia douglasiana* leaf essential oil. *Fitoterapia*, 75, 192-200.
- Sikkema J., De Bont J.A.M. and Poolman B., 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews* 59: 201-222
- Skoula M., Abbas J.E., Johnson C.B., 2000. Genetic variation of volatiles and rosmarinic acid in population of *Salvia fruticosa* mill growing in Crete. *Biochem.syst. ecol.* 28, 551-561.
- Smallfield B., 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crops and Food Research*. Number 45, pp 4.
- Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Meireles M.A.A., Moura L.S. and Marchese J.A., 2006a. Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare* var. *dulcis* in the season of the year. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, Vol.8, pp.86-90.
- Svoboda K.P., Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr Scotland, UK, UK., KA65HW.*
- Takahashi S. and Koyama T., 2006. Structure and function of cisprenyl chain elongating enzymes. *Chem. Rev.* 6, 194-205.
- Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H. and Errifi A., 1993. Inhibition of the fungal asexual reproduction stages by three Moroccan essential oils, *J. Essen. Oil Res.*, 5(5), 535-545.
- Tantaoui-Elaraki. A., Lattoui N., Benjilali B., Errifi A., 1992. Antimicrobial activity of four chemically different essential oils. *Rivista Italiana.E.P.P.O.S.*, 6, 13-22.
- Thomson J.D, Chalchat J.C, Michet A, Linhart Y.B, Ehlers B, 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J.Chem. Ecol.*, 29(4), 859-880.
- Tilaoui M., AAit Moussa H., Jaafari A., Aboufatima R., Chait A., Ziad A., 2011. Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal

- herb *Artemisia herba alba*. Revista Brasileira de Farmacognosia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21(4): 781-785.
- Unsicker, S.B., Kunert G., Gershenzon, J., Protective perfumes 2009. The role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12(4), 479-485.
- Valnet J., 1978. L'aromatogramme : nouveaux résultats et essais d'interprétation sur 268 cas cliniques. *Plant. Med. Phytothérapie*, 12, 43-52.
- Van Den Dool H., Kratz P.D., 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography, *J. Chromatog.*, 11, 463-471.
- Vasconcelos Silva M.G., Craveiro A.A., Abreu Matos F.J., Machado M.I.L., Alencar J.W., 1999. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum*. *Fitoterapia* 70, 32-34
- Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-lopez J. and Perez-Alvarez J.A., 2008. Antibacterial activity of different essential oils obtained from spices widely used in Mediterranean diet. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 43, 526-531.
- Wendakoon C.N., and Sakaguchi M., 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of enterobacter aerogenes by active components in spices. *Journal of Food Protection* 58: 280-283.
- Yin Y., Gong F.Y., Wua X.X., Yuna S., Lia Y.H., Chena T. and Xu Q. 2008. Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *J. Ethnopharmacol.*, 120, 1, 1-6.
- Zahiri A. et Baudoux D., 2005. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies: aromathérapie scientifique. Luxembourg: Edition Inspir Development.
- Zaim A., El Ghadraoui L., Farah A., 2012. Effets des huiles essentielles *Artemisia herba-alba* sur la survie des criquets adultes d'*Euchorthippus albolineatus* (Lucas, 1849). Bulletin de l'institut scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, n° 34 (2), p. 127-133.
- Zani, F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Belloti A. and Mazza P., 1991. Studies on the Genotoxic Properties of essential oils with *Bacillus subtilis* rec-Assay and *Salmonella*/Microsome. Reversion assay. *Planta Medica* 57:237-241.
- Zouari S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef A., Ayadi M.A. and Neffati M., 2010. Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(10), pp. 871-880.

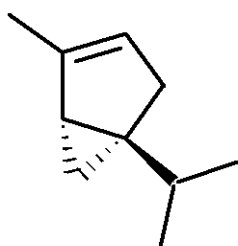
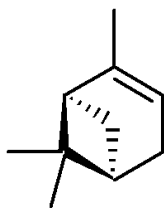
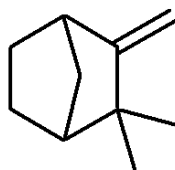
# ***ANNEXES***

**Annexe 1: Milieux de culture****1- Milieu TSA (Trypsic Soya Agar):**

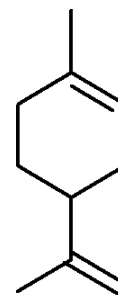
TSB : .....1,5 g  
 Agar : .....7,5 g  
 Eau distillé: .....500ml

**2- Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar) :**

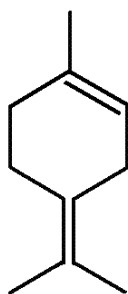
PDA : .....5 g  
 Agar : .....7,5 g  
 Eau distillé: .....500ml

**Annexe 2 : Structure de quelques constituants identifiés dans les huiles essentielles d'*A. herba alba* du Maroc****Hydrocarbures monoterpéniques** $\alpha$ -thujène $\alpha$  -pinène

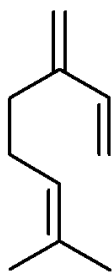
Camphène



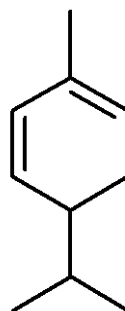
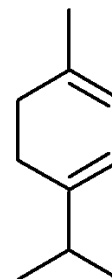
Limonène



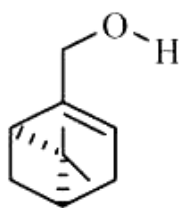
Terpinolène



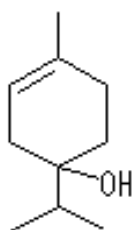
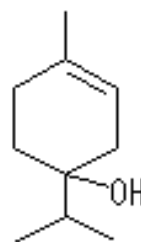
Myrcène

 $\alpha$ -phellandrène $\alpha$ -terpinène

## Alcools monoterpéniques

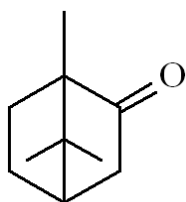


Myrténol

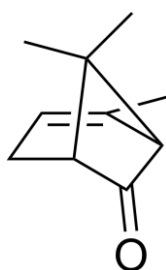
 $\alpha$ -terpinéol

4-terpinéol

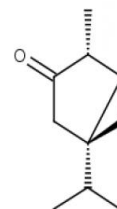
## Cétones monoterpéniques



Camphre

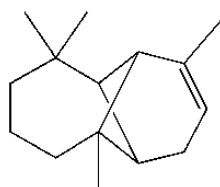
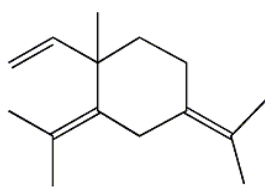
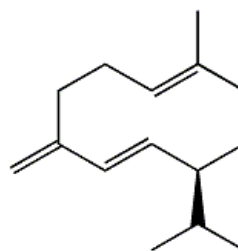


Chrysanthénone

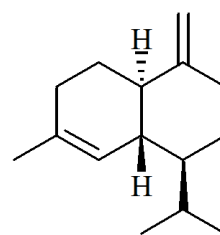


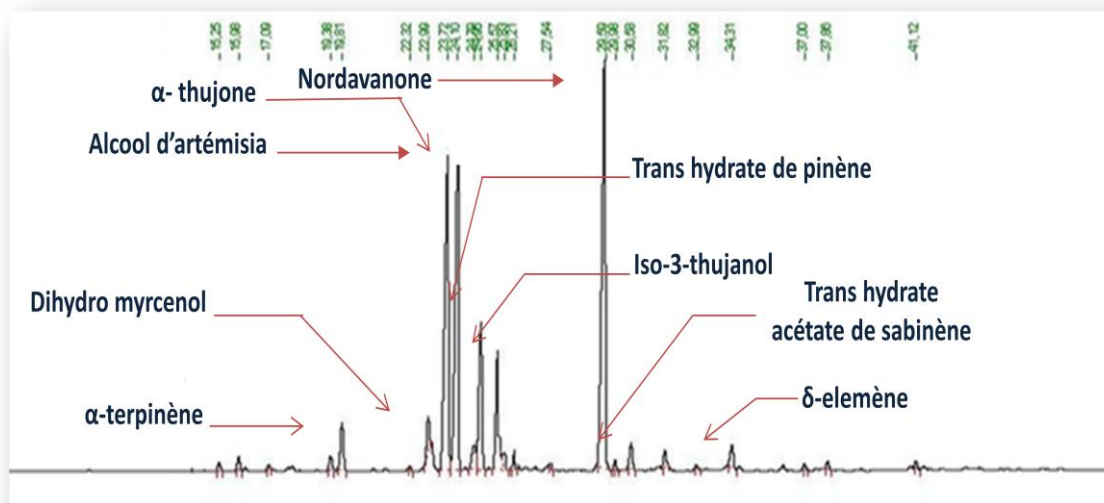
A-thujone

## Hydrocarbures sesquiterpéniques

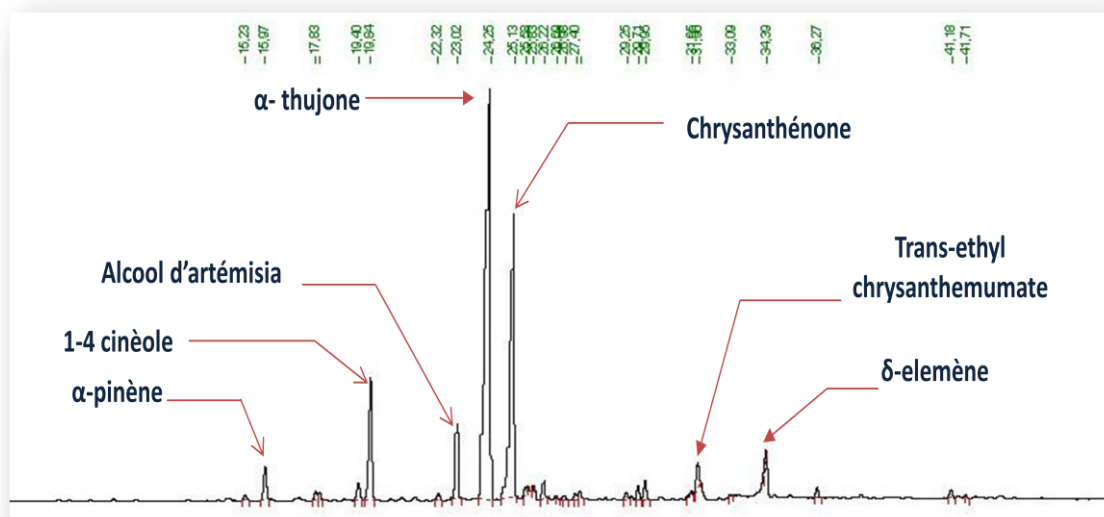
 $\alpha$ -longipinène $\gamma$ -élémente

Germacrène D

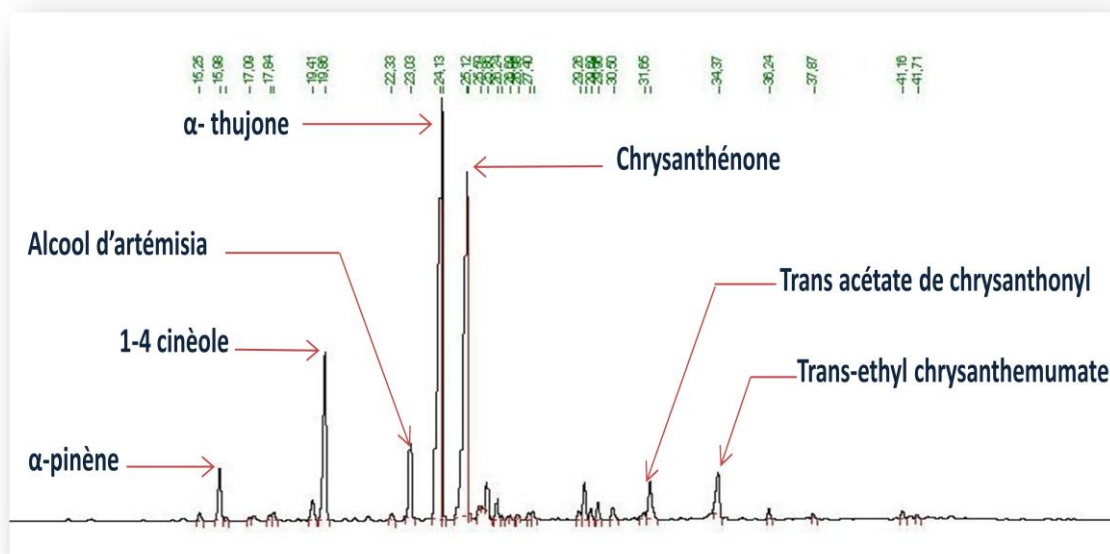
 $\gamma$ -cadinène

**Annexes 4 : Profils Chromatographiques de quelques huiles essentielles d'*A. herba alba***


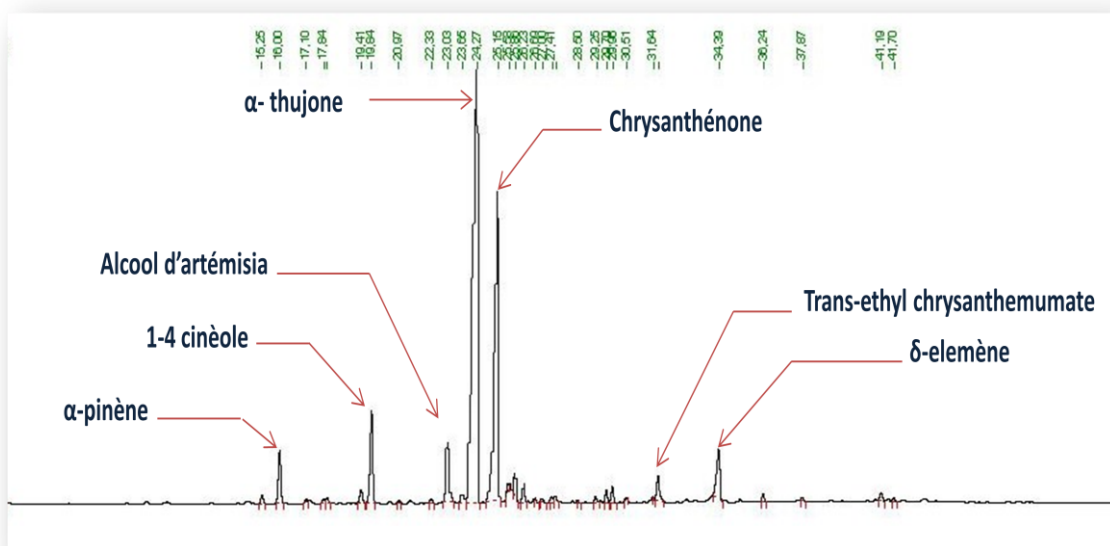
Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* des échantillons issus de la provenance **Oued Ait Makhlouf**



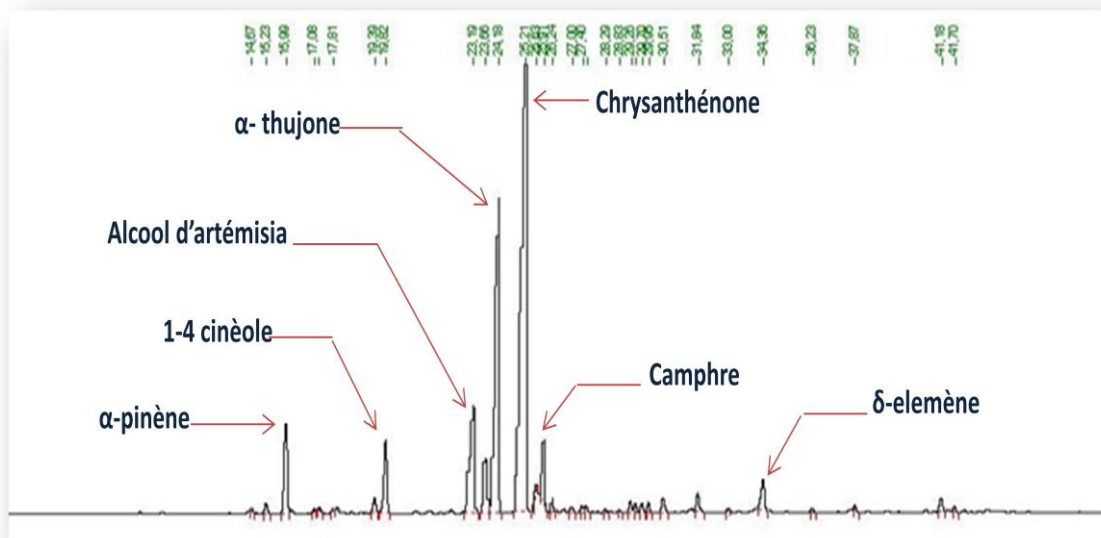
Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* des échantillons issus de la provenance **Reserve Aswiwinia**



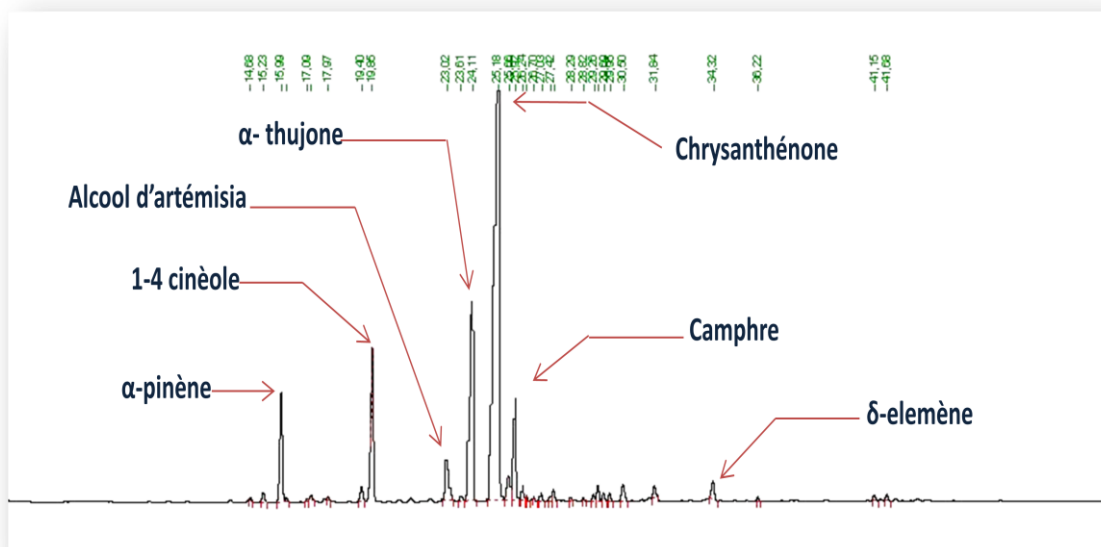
Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* des échantillons issus de la provenance **Hassi Al Abyad**



Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* des échantillons issus de la provenance **Oued Agba**



Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* des échantillons issus de la provenance **Oued Alkharoub**



Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* des échantillons issus de la provenance d'**Oued Asla**