

N° d'ordre

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Taoufiq BENALI

Spécialité : Biotechnologies

Sujet de la thèse :

Etude ethnobotanique et de propriétés biologiques de plantes originaires de la zone de Guercif-Taza pour des fins de valorisation.

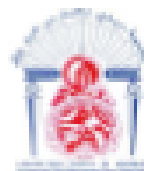
Thèse présentée et soutenue le 21 Octobre 2017 devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
Pr BOUKA Hassan	PES	Faculté Polydisciplinaire - Taza	Président
Pr IBRAHIMI Azeddine	PES	Faculté de Médecine de Rabat	Rapporteur
Pr MAZOUZ Hamid	PES	Faculté des Sciences de Meknès	Rapporteur
Pr LOUAHLIA Saïd	PES	Faculté Polydisciplinaire - Taza	Rapporteur
Pr EL MAHDI Ouafaa	PES	Faculté Polydisciplinaire - Taza	Examineur
Pr ENNABILI Abdelham	PES	Ecole Supérieure de Technologie - Fes	Examineur
Pr HAMMANI Khalil	PES	Faculté Polydisciplinaire - Taza	Directeur de thèse

Laboratoire d'accueil : Ressources Naturelles et Environnement (LRNE)

Etablissement : Faculté Polydisciplinaire de Taza





Résumé de la thèse

Les travaux présentés dans cette thèse entrent dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles à base de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle au Maroc. Nous avons réalisé dans une première étape une enquête ethnopharmacologique, entre Décembre 2012 et Mai 2013, dans 11 stations différentes de la Province de Guelmif (Nord-Est du Maroc). Le nom des plantes, leurs modes de préparation et d'administration ainsi que leurs parties utilisées ont été inventoriés pour différents usages locaux en médecine traditionnelle. Notre enquête a permis d'identifier une centaine de plantes utilisées, correspondant à 49 familles botaniques. *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum*, *Artemisia herba-alba*, *Thymus* sp., *Mentha pulegium*, *Nigella sativa*, *Lavandula* sp., *Vismia daucoides*, *Aristolochia longa* et *Cenchrus spicatus* sont les taxa les plus utilisés par la population locale. Les résultats de cette étude ont montré que la feuille constitue la partie la plus utilisée, et généralement, les remèdes sont préparés sous forme de décoction. Sur l'ensemble des maladies traitées, le diabète et les maux digestifs sont les plus fréquents.

Nous avons déterminé, dans un premier temps, la composition chimique des huiles essentielles extraites des six plantes étudiées par CPG-MS, ainsi que le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux. L'analyse chimique des huiles essentielles a révélé que les composés majoritaires identifiés sont : le Camphor pour *Achillea odorata* sp. *pectinata*, le 2-Undecanone pour *Ruta montana*, le 1,4-Methano-1H-Indene, octahydro-1 pour *Cistus ladanifer* sp. *ladanifer*, le β -Pinène et le Germacrène D pour *Teucrium polium* sp. *polium*, le Piperitone oxide pour *Mentha suaveolens* et le Geraniol pour *Micromeria graeca*. Par ailleurs, la teneur en composés phénoliques varie entre 19,45 et 112,04 mg EAG/g d'extrait alors que la teneur en flavonoïdes varie entre 0,32 mg et 190,18 mg ER/g d'extrait pour les différents extraits.

Par la suite, nous nous sommes focalisés sur la valorisation de six plantes de la région de Taza: *Achillea odorata* sp. *pectinata* (Asteraceae), *Ruta montana* (Rutaceae), *Cistus ladanifer* sp. *ladanifer* (Cistaceae), ainsi que *Teucrium polium* sp. *polium*, *Mentha suaveolens* et *Micromeria graeca*, trois espèces de la famille des Lamiaceae. Pour ce faire, nous avons étudié, dans un premier temps, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de ces plantes par la méthode de diffusion par disque et la méthode de microplaque. Nos résultats ont montré que toutes les huiles essentielles sont douées d'un effet antimicrobien le plus important, suivies par celui des extraits méthanoliques et éthanoliques tandis que les extraits aqueux sont les moins actifs vis-à-vis des souches testées et dont les diamètres d'inhibition variant entre 7 mm et une inhibition totale avec des CMI qui varient entre 0,19 et 12,5mg/ml. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à rechercher l'activité antioxydante des huiles essentielles ainsi que celle des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes en utilisant le test de piégeage du radical DPPH et le test déterminant le pouvoir réducteur par la méthode de FRAP. Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux présentent une activité antioxydante plus prononcée que les huiles essentielles. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH varie entre 12,54 et 97,6%, et le pouvoir réducteur varie entre 0,1 et 60mg EAA/ g d'extrait.

A la lumière de ces résultats, deux tests ont été réalisés dans le but d'une contribution à leurs applications dans l'amélioration de la qualité des produits alimentaires ainsi que la protection contre les phytopathogènes. En effet, l'addition des concentrations (CMI, 4CMI) de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* aux deux modèles de systèmes d'alimentation, le jus du chou d'une part et la soupe d'orge, d'autre part, inoculés avec les souches *Bacillus subtilis* DSM 6633 et *Proteus mirabilis*, a réduit la croissance pour les deux microbes, ces résultats nous permettent de proposer l'usage de l'huile essentielle de cette plante à la place de certains conservateurs de synthèse dans le domaine de l'industrie agro-alimentaire. Par ailleurs, les résultats du traitement des semences et des plantules de la variété Campbell 33 de la tomate avec des concentrations (CMI, 4CMI) de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* et de *Mentha suaveolens* ainsi qu'avec les extraits méthanoliques et éthanoliques des plantes *Cistus ladanifer* et *Achillea odorata* ont montré que ces extraits ont un pouvoir protecteur remarquable sur la culture des semences de la tomate et le contrôle du chancre de celle-ci, causé par *Clavibacter michiganensis* sp. *michiganensis* 1616-3.

Mots clés : Médecine traditionnelle au Maroc, enquête ethnopharmacologique, Huile essentielle, extrait de plante, activité antimicrobienne, activité antioxydante, composition chimique, agro-alimentaire, phytopathogène.

Dédicaces

A mes très chers parents

A ma femme Chaïma et mon fils Ayman

A mes frères : Mouhamed et Samir

A mes sœurs : Ibtissame et Sihame

A la mémoire de ma grande mère

A toute ma famille

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur **Hassan BOUKA**, Doyen de la Faculté Polydisciplinaire de Taza et Directeur du Laboratoire des Ressources Naturelles et Environnement (LRNE), pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour ses conseils toujours très avisés, ainsi que pour avoir accepté la présidence du jury de cette thèse.

Je me fais un agréable devoir de remercier vivement mon encadrant, le Professeur **Khalil HAMMANI**, qui m'a fait bénéficier de son encadrement scientifique, sa bienveillance, son encouragement et plus particulièrement pour l'estime qu'il m'a toujours accordé. Votre rigueur et votre disponibilité tout au long de ces années de recherche, vos critiques judicieux, votre professionnalisme, votre soutien moral, vos qualités humaines et votre enthousiasme de chercheur ont contribué à la réalisation de ce Travail. Aucun mot ne pourrait exprimer mes remerciements et ma vive gratitude.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Monsieur le Professeur **Azzedine IBRAHIMI**, Directeur du laboratoire de biotechnologie (Faculté de Médecine et de Pharmacie-Université Mohammed V-Rabat) pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'apporter son jugement sur ce travail. Merci pour vos qualités humaines et vos conseils avisés qui étaient une source de motivation et d'encouragement permanents pour moi.

Que le Professeur **Hamid MAZOUZ** reçoit mes sincères remerciements pour avoir accepté de rapporter et de juger ce travail de thèse. Merci à vous d'avoir consacré du temps à la lecture de ce travail ainsi que d'y avoir apporté des remarques et des commentaires lors de ma soutenance.

J'adresse mes sincères remerciements et ma respectueuse gratitude au Professeur **Saïd LOUAHLIA**, pour avoir bien voulu participer à ce jury et d'être le rapporteur de ce travail, je le remercie aussi de m'avoir fait profiter de son expérience et de sa rigueur scientifique.

Mes vifs remerciements vont également au Professeur **Abdeslam ENNABILI**, d'avoir accepté d'examiner ce travail, et aussi pour sa contribution à la l'identification des plantes médicinales étudiées.

J'adresse mes sincères remerciements au Professeur **Ouafae ELMAHDI** qui a accepté de participer à ce jury en tant qu'examinatrice de ces travaux de recherche. Merci pour votre soutien scientifique et moral.

Ce travail ne serait pas complété sans l'aide précieuse de Professeur **El Hassan ACHBANI**, Directeur Laboratoire de Recherche et de Protection des Plantes URPP-

INRA-Meknès. Merci pour votre contribution à la détermination de la composition chimique des huiles essentielles de nos plantes. Je vous suis éternellement reconnaissant.

Il est important de signaler que la partie de la collecte et d'identification des plantes aromatiques et médicinales que nous avons testées est réalisée en collaboration avec le Docteur **Abdlemajid KHABBACH**. Qu'il accepte mes remerciements en témoignage de ma reconnaissance.

Mes vives reconnaissances au Professeurs : **Jamal ABRINI**, Laboratoire de Biologie et Santé de la Faculté des Sciences de Tétouan, **Hind ASSILA**, Laboratoire d'Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, pour leur collaboration à la réalisation de cette thèse.

J'adresse mes sincères remerciements à M^{lle} **Khaoula HABBADI** pour son aide à l'identification de la composition chimique de nos huiles essentielles et l'interprétation des résultats du CPG-MS.

Merci à toute l'équipe du Laboratoire des Ressources Naturelles et Environnement grâce à qui j'ai pu profiter d'un climat de travail agréable aussi bien sur le plan humain que sur le plan scientifique. Le caractère pluridisciplinaire des chercheurs de ce laboratoire m'a beaucoup enrichi sur le plan scientifique. Je cite plus particulièrement, Professeurs : **Yahia RHARRABI** et **Abdenbi ELKARKOURI**, ainsi que les doctorants : **Mouhamed, Hassan, Abdelali, Driss, Zineb et Nouha**.

Mes remerciements vont aussi aux professeurs du département de Biologie-Chimie-Géologie pour leurs soutiens tout au long de cette thèse, Prs **Fatima LAMCHOURI**, **Taoufiq HAMID**, **Mohamed Yassine AMAROUCH** et **EL MONTASSIR DAHMANE**.

Mes remerciements vont aussi à tous mes professeurs du Lycée Omar Elkhayam et spécialement à M^{me} le Professeur **Zorghani TAOUSSI**, à tous le personnel du Ministère de la Santé à la Délégation de Guercif et à tous le personnel du CHP-Taza.

Je voudrai également remercier ceux avec qui j'ai partagé mon temps, mes rêves et mon chemin de l'école : **Abdellah, Imad, Saïd, Youssef, Tarik** (Professeur Assistant au CNRST-Rabat), **Jamal, Anouar-Mouhamed Abdelghafour**.

Résumé

Les travaux présentés dans cette thèse entrent dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles à base de plantes utilisées dans la médecine traditionnelle au Maroc. Nous avons réalisé dans une première étape une enquête ethnopharmacologique, entre Décembre 2012 et Mai 2013, dans 11 stations différentes de la Province de Guercif (Nord-Est du Maroc). Le nom des plantes, leurs modes de préparation et d'administration ainsi que leurs parties utilisées ont été inventoriés pour différents usages locaux en médecine traditionnelle. Notre enquête a permis d'identifier une centaine de plantes utilisées, correspondant à 49 familles botaniques. *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum*, *Artemisia herba-alba*, *Thymus* sp., *Mentha pulegium*, *Nigella sativa*, *Lavandula* sp., *Visnaga daucoïdes*, *Aristolochia longa* et *Cenchrus spicatus* sont les taxa les plus utilisés par la population locale. Les résultats de cette étude ont montré que la feuille constitue la partie la plus utilisée, et généralement, les remèdes sont préparés sous forme de décoction. Sur l'ensemble des maladies traitées, le diabète et les maux digestifs sont les plus fréquents.

Nous avons déterminé, dans un premier temps, la composition chimique des huiles essentielles extraites des six plantes étudiées par CPG-MS, ainsi que le dosage des composés phénoliques et flavonoïdes dans les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux. L'analyse chimique des huiles essentielles a révélé que les composés majoritaires identifiés sont : le Camphor pour *Achillea odorata* ssp. *pectinata*, le 2-Undecanone pour *Ruta montana*, le 1,4-Methano-1H-Indene, octahydro-1 pour *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*, le β -Pinène et le Germacrène D pour *Teucrium polium* ssp. *polium*, le Piperitenone oxide pour *Mentha suaveolens* et le Geranial pour *Micromeria graeca*. Par ailleurs, la teneur en composés phénoliques varie entre 19,45 et 112,04 mg EAG/g d'extrait alors que la teneur en flavonoïdes varie entre 0,32 mg et 190,18 mg ER/g d'extrait pour les différents extraits.

Par la suite, nous nous sommes focalisés sur la valorisation de six plantes de la région de Taza: *Achillea odorata* ssp. *pectinata* (Asteraceae), *Ruta montana* . (Rutaceae), *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* (Cistaceae), ainsi que *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens* et *Micromeria graeca*., trois espèces de la famille des Lamiaceae. Pour ce faire, nous avons étudié, dans un premier temps, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de ces plantes par la méthode de diffusion par disque et la méthode de microplaque. Nos résultats ont montré que toutes les huiles essentielles sont douées d'un effet antimicrobien le plus important, suivies par celui des extraits méthanoliques et éthanoliques tandis que les extraits aqueux sont les moins actifs vis-à-vis des souches testées et dont les diamètres d'inhibition variant entre 7 mm et une inhibition totale avec des CMI qui varient entre 0,19 et 12,5mg/ml. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à rechercher l'activité antioxydante des huiles essentielles ainsi que celle des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes en utilisant le test de piégeage du radical DPPH et le test déterminant le pouvoir réducteur par la méthode de FRAP. Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux présentent une activité antioxydante plus prononcée que les huiles essentielles. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH varie entre 12,54 et 97,6%, et le pouvoir réducteur varie entre 0,1 et 60mg EAA/ g d'extrait.

A la lumière de ces résultats, deux tests ont été réalisés dans le but d'une contribution à leurs applications dans l'amélioration de la qualité des produits alimentaires ainsi que la protection contre les phytopathogènes. En effet, l'addition des concentrations (CMI, 4CMI) de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* ssp. *pectinata* aux deux modèles de systèmes d'alimentation, le jus des choux d'une part et, la soupe d'orge, d'autres part, inoculés avec les souches *Bacillus subtilis* DSM 6633 et *Proteus mirabilis*, a réduit la croissance pour les deux microbes, ces résultats nous permettent de proposer l'usage de l'huile essentielle de cette plante à la place de certains conservateurs de synthèse dans le domaine de l'industrie agro-alimentaire. Par ailleurs, les résultats du traitement des semences et des plantules de la variété Campbell 33 de la tomate avec des concentrations (CMI, 4CMI) de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* et de *Mentha suaveolens* ainsi qu'avec les extraits méthanoliques et éthanoliques des plantes *Cistus ladanifer* et *Achillea odorata* ont montré que ces extraits ont un pouvoir protecteur remarquable sur la culture des semences de la tomate et le contrôle du chancre de celle-ci, causé par *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis* 1616-3.

Mots clés : Médecine traditionnelle au Maroc, enquête ethnopharmacologique, Huile essentielle, extrait de plante, activité antimicrobienne, activité antioxydante, composition chimique, agro-alimentaire, phytopathogène.

Abstract

The work presented in this thesis falls within the framework of the valorization of the natural resources based on plants used in the traditional medicine in Morocco. In a first step, we carried out an ethnopharmacological survey, between December 2012 and May 2013, in 11 different stations in the Province of Guercif (North-East of Morocco). The names of the plants, their modes of preparation and administration and their parts used have been inventoried for various local uses in traditional medicine. Our survey made it possible to identify about a hundred plants used, corresponding to 49 botanical families. *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum*, *Artemisia herba-alba*, *Thymus* sp., *Mentha pulegium*, *Nigella sativa*, *Lavandulassp.*, *Visnaga daucoïdes*, *Aristolochia longa* and *Cenchrus spicatus* are the taxa most used by the local population. The results of this study showed that the leaf is the most commonly used part, and generally the remedies are prepared as a decoction. Diabetes and digestive ailments are the most frequent of all the diseases treated.

We determined the chemical composition of the essential oils extracted from the six plants studied by CPG-MS, as well as the determination of phenolic compounds and flavonoids in methanolic, ethanolic and aqueous extracts. Chemical analysis of essential oils revealed that the major compounds identified were: Camphor for *Achillea odorata* subsp. *pectinata*, 2-Undecanone for *Ruta montana*, β -Pinene and Germacrene D for *Teucrium polium* subsp. *polium*, 1,4-Methano-1H-Indene, octahydro-1 for *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer*, Piperitenone oxide for *Mentha suaveolens* and Geranial for *Micromeria graeca*. In addition, the phenolic content varies between 19.45 and 112.04 mg EAG/g of extract whereas the flavonoid content varies between 0.32 and 190.18 mg ER/g of extract for the various plant extracts.

Subsequently, we focused on the upgrading of six plants from the Taza region: *Achillea odorata* subsp. *pectinata* (Asteraceae), *Ruta montana* (Rutaceae), (Lamiaceae), *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* (Cistaceae) and *Teucrium polium* subsp. *polium*, *Mentha suaveolens*, and *Micromeria graeca*, three species of the Lamiaceae family. In order to do this, we first studied the antimicrobial activity of essential oils and methanolic, ethanolic and aqueous extracts of these plants by the disk diffusion and the microplate methods. Our results showed that all the essential oils are endowed with a most important antimicrobial effect, followed by that of the methanolic and ethanolic extracts while the aqueous extracts are the least active with respect to the strains tested and whose diameters of the inhibition were varying between 7 mm and total inhibition with MIC which vary between 0.19 and 12.5 mg / ml. Furthermore, we investigated the antioxidant activity of essential oils as well as of the methanolic, ethanolic and aqueous extracts from plants using the DPPH radical scavenging test and the FRAP reducing power-determining test. The results obtained showed that the methanolic, ethanolic and aqueous extracts had a more pronounced antioxidant activity than the essential oils. The percentage inhibition of the DPPH radical varies between 12.54 and 97.6, and the reducing power varies between 0.1 and 60 mg EAA / g extract.

In the light of these results, two tests were carried out with the aim of contributing to their applications in improving the quality of food products as well as the protection against phytopathogens. Indeed, the addition of the concentrations (CMI, 4CMI) of the essential oil of the plant *Achillea odorata* to the two models of feeding systems, cabbage juice and barley soup, which are previously inoculated with the *Bacillus subtilis* DSM 6633 and *Proteus mirabilis* strains, reduced growth for both microbes. These results allow us to propose the use of the essential oil of this plant in place of certain synthetic preservatives used in the field of agro-food industry. In addition, the results of the treatment of tomato's (Campbell 33 variety) seeds and seedlings with *Cistus ladanifer* and *Mentha suaveolens* essential oil concentrations (CMI, 4CMI) as well as methanolic and ethanolic extracts of the plants *Cistus ladanifer* and *Achillea odorata* have shown that these extracts have a remarkable protective effect on tomato seed culture and control of the latter caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis* 1616-3.

Key words: Traditional medicine in Morocco, ethnopharmacological survey, Essential oil, plant extract, antimicrobial activity, antioxidant activity, chemical composition, agro-food, phytopathogen.

ملخص

العمل المقدم في هذه الأطروحة يدخل في إطار تثمين الموارد الطبيعية الخاصة بالنباتات المستخدمة في الطب التقليدي في المغرب. بعد القيام، في خطوة أولى، بمسح إثنوفارماكولوجي بين ديسمبر 2012 ومايو 2013 في 11 محطة مختلفة من محافظة غرسييف (شمال شرق المغرب) حيث تم التعرف على أسماء النباتات، وجرى طرائق تحضيرها وكيفية استعمالها وكذلك أجزائها المستخدمة في العرف المحلي من أجل التطبيب التقليدي. في تحقيقنا هذا تم تحديد مائة نوع من النباتات المستخدمة، تنتمي لـ 48 عائلة نباتية. إكليل الجبل المخزنية، ماجوران المكنزة، شيج هربا-ألبا، الغدة الصعترية س.، النعناع الأوروبي، حبة البركة، ضرم النبابية، *Visnaga daucoides*، زراوند طويل و *Cenchrus spicatus* هي الأكثر الأصناف استخداما من قبل السكان المحليين. وأظهرت نتائج هذه الدراسة أن الأوراق هي الجزء الأكثر استخداما، وعموما، يتم إعدادها بوسائل الانتصاف في شكل مغلي. من بين الأمراض المعالجة بالطب التقليدي في المنطقة التي تم فيها البحث، يعتبر مرض السكري وكذلك الجهاز الهضمي من الأمراض الأكثر تطبيا.

تم تحديد التركيب الكيميائي للزيوت العطرية المستخرجة من النباتات الستة وذلك باستعمال تقنية كروماتوجرافيا الغاز المقترنة بالطيفي الكتلي (GC-MS)، وكذلك تحديد المركبات الفينولية والفلافونويد لمقتطفات الميثانول، الإيثانول، والماء. وكشف التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية أن المركبات الأغلبية التي تم تحديدها هي: الكافور لـ (*Achillea odorata ssp. pectinata*)، 2-أنديكانون لـ (*Ruta montana*)، 4، 1-ميتانو-1-هاندنين (*Cistus ladanifer ssp. ladanifer*)، بيطابينين وجيرماكين لـ (*Teucrium polium ssp. polium*)، بيبيريتينول أو كسيد لـ (*Mentha suaveolens*) و جيرانيال لـ (*Micromeria graeca*). وعلاوة على ذلك، فإن مضمون المركبات الفينولية يتراوح بين 19.45 و 112.04 ملغ EAG / غرام من المستخلص، في حين يختلف محتوى الفلافونويد بين 0.32 و 144.45 ملغ ER / غرام من المستخلص لمختلف النباتات.

وفي وقت لاحق تم التركيز على تثمين ستة نباتات، تم انتقاؤها من منطقة تازة والتي تنتمي إلى أربع عائلات نباتية وهي:

وذلك، *Achillea odorata. ssp. pectinata* (Asteraceae)، *Ruta montana* . (Rutaceae)، *Cistus ladanifer ssp. ladanifer* (Cistaceae)، *Teucrium polium ssp. polium*، *Mentha suaveolens* و *Micromeria graeca*. (Lamiaceae).

وللقيام بذلك، درسنا، في البداية، الأنشطة المضادة للميكروبات للزيوت العطرية ومستخلصات الميثانول، الإيثانول، والماء من هذه النباتات بطريقة النشر بالقرص وأخرى باستعمال الصفيحة. وأظهرت النتائج المحصل عليها أن جميع الزيوت الأساسية تمتاز بمفعول مضاد للميكروبات هو الأكثر أهمية، تليها بعد ذلك مقتطفات الميثانول والإيثانول في حين أن المستخلص المائي هو الأقل نشاطا ضد السلالات الميكروبية التي تم اختبارها والتي أعطت أقطار تثبيط بين 7 ملم وتثبيط تام مع أن قيمة الحد الأدنى من تركيز المثبطة (MIC) تتراوح بين 0.19 و 12.5 ملغ / مل. بعد ذلك تم الاهتمام بالسعي للحصول على النشاط المضاد للأوكسدة للزيوت الأساسية وكذلك لمستخلصات الميثانول، الإيثانول والمائي للنباتات الستة باستخدام محاصرة اختبار جذري DPPH وكذا اختبار تحديد الحد من الطاقة من خلال طريقة FRAP. وأظهرت النتائج أن مستخلصات الميثانول، الإيثانول والمائي لها نشاط مضاد للأوكسدة أكثر وضوحا من الزيوت الأساسية حيث أن نسبة تثبيط راديكالية DPPH تختلف بين 12.54% و 97.6%، فيما تختلف قوة الحد من الطاقة من خلال طريقة FRAP بين 0.1 و 60 ملغ EAA / غرام من المستخلص.

وفي ضوء هذه النتائج، أجريت تجربتين من أجل المساهمة في تطبيقاتها لتحسين جودة الأغذية وكذلك حماية الزراعات ضد مسببات الأمراض النباتية. حيث تبين أن إضافة تركيز MIC و 4CMI من الزيوت العطرية المستخرجة من *Achillea odorata* إلى كل من النموذجين لأنظمة الغذاء، عصير الملفوف من جهة وحساء الشعير من ناحية أخرى، الملقحين من سلالاتي الميكروبات (*Bacillus subtilis* DSM6633 و *Proteus mirabilis*) أدى إلى انخفاض النمو لكل من الميكروبين، مما سمح لنا هذه النتائج لاقتراح استخدام الزيت العطري المستخرج من هذا النبات كبديل لبعض المواد الحافظة الاصطناعية في مجال الصناعات الغذائية. وعلاوة على ذلك، فإن نتائج معاملة بذور أو فساتل الطماطم من نوع كامبل 33 بتركيزات (MIC، 4CMI) من الزيوت العطرية المستخرجة من *Cistus ladanifer* و *Mentha suaveolens* وكذلك لمقتطفات الميثانول والإيثانول لنبتتي *Cistus ladanifer* و *Achillea* قد أظهرت أن هذه المستخلصات لها تأثير وقائي ملحوظ على زراعة بذور الطماطم ضد *Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis* (1616-3).

كلمات البحث: الطب التقليدي في المغرب، المسح الإثنوفارماكولوجي، زيوت عطرية، مستخلصات نباتية، مضادات الميكروبات، النشاط المضاد للأوكسدة، تركيبة كيميائية، المواد الغذائية، ممرض نباتي.

Liste des abréviations

µl : microlitre
AAR : activité antiradicalaire
Abs : absorbance
BHT : L'hydroxytoluènebutylé
BS : *Bacillus subtilis* DSM 6633
CA : *Candida albicans* ATCC 10231
CMB : Concentrations Minimales Bactéricides
CMF : Concentrations Minimales Fongicides
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
Cmm : *Clavibacter michiganense* subsp. *Michiganense* 1616-3
CPG-MS : chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse
DL₅₀ : dose létale qui cause la mort de la moitié de la population
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DPPH : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl
EC : *Escherichia coli* K12
ERO : espèces réactives de l'oxygène
EtOH_A : Extrait éthanolique d'*Achillea odorata*
EtOH_C : Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer*
Gram- : gram négatif
Gram+ : gram positif
HE : huile essentielle
HE_A : huile essentielle d'*Achillea odorata*
HE_C : huile essentielle *Cistus ladanifer*
HE_{MG} : huile essentielle *Micromeria graeca*
HE_{MS} : huile essentielle de *Mentha suaveolens*
HE_R : huile essentielle de *Ruta montana*
HE_T : huile essentielle de *Teucrium polium*
IC₅₀ : Concentration de la substance active qui correspond à une inhibition de 50% de la cible
IM : Estimation de l'incidence de la maladie du chancre de la tomate
LI : *Listeria innocua* CECT 4030
LPG : Levure-Peptone-Glucose Bouillant
LPGA : Milieu d'extrait de Levure-Peptone-Glucose-agar
M' : masse de l'huile essentielle ou de l'extrait obtenue en gramme;
M : masse de la partie utilisée en gramme et qui vaut 100 g.
MEB : microscope électronique à balayage
MethOH_A : extrait méthanolique d'*Achillea odorata*
MethOH_C : Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*
Mg EAA/g : milligramme équivalence d'acide ascorbique par gramme
mgER/g : milligramme équivalence de Rutine par gramme
MHA : Mueller-Hinton Agar
MHA : Muller-Hinton Agar
MHB : Muller-Hinton bouillant
MHB : Muller-Hinton bouillant
ml : millilitre
mm : millimètre
MTT : 3-(4,5- diméthylthiazol)-2-yl-2,5-diphenyltétrazolium bromide)
PM : *Proteus mirabilis*
PS : *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118
PSS 2636-40 : *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* 2636-40
R : rendement en huile essentielle ou en extrait de chaque plante étudiée;
SA : *Staphylococcus aureus* CECT 976
UFC : Unité Formant Colonie
ZI : zone d'inhibition

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Les structures caractéristiques des tannins hydrolysables	7
Figure 2 : Les structures les plus fréquentes des tannins condensés	7
Figure 3 : Structure générale du noyau des flavonoïdes	8
Figure 4 : Structure chimique de certaines classes des flavonoïdes	8
Figure 5: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	11
Figure 6 : Photo de <i>Ruta montana</i> prise dans la région de Taza	13
Figure 7 : Photo des fruits de <i>Ruta montana</i> prise dans la région de Taza	13
Figure 8 : Photo d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> prise dans la région de Taza	16
Figure 9 : Photo d'une fleur d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> prise dans la région de Taza	16
Figure 10 : Photo de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i> prise dans la région de Taza	18
Figure 11 : Photo de la fleur <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i> prise dans la région de Taza	18
Figure 12 : Photo de <i>Mentha suaveolens</i> prise dans la région de Taza	21
Figure 13: Photo de la fleur <i>Mentha suaveolens</i> prise dans la région de Taza	21
Figure 14 : Photo de <i>Micromeria graeca</i> dans la région de Taza	25
Figure 15: Photo de la fleur de <i>Micromeria graeca</i> dans la région de Taza	25
Figure 16 : Photo de la fleur de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i> prise dans la région de Taza	26
Figure 17: Localisation des stations de prospection, Province de Guercif	31
Figure 18 : Illustration de la technique de diffusion en disque	40
Figure 19 : Illustration de la méthode de la détermination de la concentration minimale inhibitrice	42
Figure 20: Illustration de la méthode de la détermination de la Concentration Minimale Bactéricide et de la Concentration Minimale Fongicide	43
Figure 21. Répartition des fréquences des enquêtés selon les tranches d'âge	50
Figure 22. Fréquence (%) des plantes utilisées en médecine traditionnelle, Province de Guercif	58
Figure 23. Fréquence (%) des parties de la plante utilisées en médecine traditionnelle, Province de Guercif	59
Figure 24. Fréquence (%) des modes de préparation des recettes utilisées par la population locale, Province de Guercif	62
Figure 25 Micrographies MEB de trichome des tiges non traitées de <i>Ruta montana</i> :	66
Figure 26 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de <i>Ruta montana</i>	66
Figure 27: Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de <i>Mentha suaveolens</i>	67
Figure 28: Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	67
Figure 29 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	68
Figure 30 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de <i>Micromeria graeca</i>	68
Figure 31 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de <i>Micromeria graeca</i>	69
Figure 32 : Micrographies MEB de trichome des tiges non traitées de <i>Micromeria graeca</i>	69
Figure 33 : Micrographies MEB de trichome des feuilles <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	70
Figure 34 : Micrographies MEB de trichome des tiges <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	70
Figure 35 : Micrographies MEB de trichome des feuilles d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	71

Figure 36 : Micrographies MEB de trichome des tiges d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	71
Figure 37 : Micrographies MEB de trichome des fleurs d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	72
Figure 38 : La cinétique de rendement en huile essentielle par hydrodistillation des six plantes étudiées	73
Figure 39 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Ruta Montana</i>	76
Figure 40 : Profil chromatographique de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	81
Figure 41 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	85
Figure 42: Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Mentha suaveolens</i>	90
Figure 43: Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Micromeria graeca</i>	94
Figure 44: Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	99
Figure 45: Effet antibactérien des huiles essentielles d' <i>Achillea odorata</i> L ssp. <i>pectinata</i> ; <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i> et <i>Ruta montana</i> contre la souche <i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633	106
Figure 46 : Effet antibactérien des huiles essentielles de d' <i>Achillea odorata</i> L ssp. <i>pectinata</i> et <i>Ruta montana</i> contre la souche <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>Savastanoi</i> (2636-40)	106
Figure 47: Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i> et <i>Ruta Montana</i> contre la souche <i>Proteus mirabilis</i>	106
Figure 48: Effet antibactérien de l'huile essentielle (M) <i>Mentha suaveolens</i> contre la souche <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp <i>michiganensis</i> 1616-3	106
Figure 49: Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Micromeria graeca</i> contre la souche <i>Staphylococcus aureus</i> CECT 976	107
Figure 50: Effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Cistus ladanifer</i> contre la souche <i>Staphylococcus aureus</i> CECT 976	107
Figure 51 : Activité de piégeage du radical DPPH des extraits des plantes	127
Figure 52: Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de <i>Micromeria graeca</i>	132
Figure 53: Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits <i>Mentha suaveolens</i>	132
Figure 54 : Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	133
Figure 55 : Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de <i>Cistus ladanifer</i>	133
Figure 56: Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de <i>Teucrium polium</i>	134
Figure 57 : Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de <i>Ruta montana</i>	134
Figure 58 : Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> contre la souche <i>Proteus mirabilis</i> dans le modèle alimentaire de bioconservation « jus de chou »	138
Figure 59 : Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> contre la souche <i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633 dans le modèle alimentaire de bioconservation « jus de chou »	138
Figure 60: Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> contre la souche <i>Proteus mirabilis</i> dans le modèle alimentaire de bioconservation « soupe d'orge »	139
Figure 61 : Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> contre la souche <i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633 dans le modèle alimentaire de bioconservation « soupe d'orge »	140
Figure 62 : Effet de la concentration CMI des extraits des plantes sur la population de la souche <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 1616-3 à la surface des semences de tomates inoculées	142
Figure 63 : Effet de la concentration 4CMI des extraits des plantes sur la population de la	142

souche <i>Clavibater michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 1616-3 à la surface des semences de tomates inoculées	
Figure 64 : Effet de la concentration CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences non inoculées	143
Figure 65: Effet de la concentration 4CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences non inoculées	144
Figure 66: Effet de la concentration CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences inoculées par la souche <i>Clavibater michiganensis</i> ssp. <i>Michiganensis</i> 1616-3	145
Figure 67: Effet de la concentration 4CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences inoculées par la souche <i>Clavibater michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 1616-3	145
Figure 68 : effet de l'extrait méthanolique de <i>Cistus ladanifer</i> (4CMI) sur l'incidence du chancre de la tomate	146
Figure 69 : Aspects morphologiques de l'effet de l'extrait méthanolique de <i>Cistus ladanifer</i> subsp. <i>ladanifer</i> (4CMI) sur l'incidence du chancre de la tomate	147

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Les microorganismes utilisés et leurs origines	38
Tableau II : Liste synoptique d'utilisations traditionnelles des espèces de plantes inventoriées dans la Province de Guercif	52
Tableau III : Importance des maladies traitées traditionnellement dans la zone d'étude	60
Tableau IV: La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Ruta montana</i>	75
Tableau V : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de la plante <i>Ruta montana</i>	77
Tableau VI: La composition chimique de l'huile essentielle de la sous-espèce d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	80
Tableau VII: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	82
Tableau VIII : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	84
Tableau IX: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	86
Tableau X: Composition chimique du <i>Mentha suaveolens</i>	89
Tableau XI: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de <i>Mentha suaveolens</i>	89
Tableau XII: La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Micromeria graeca</i>	93
Tableau XIII: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de <i>Micromeria graeca</i>	95
Tableau XIV: La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>Ladanifer</i>	98
Tableau XV: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	99
Tableau XVI: Activité antimicrobienne des extraits de <i>Ruta montana</i>	102
Tableau XVII: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de <i>Ruta montana</i> (mg/ml)	103
Tableau XVIII : Activité antimicrobienne des extraits d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	108
Tableau XIX: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> (mg/ml)	109
Tableau XX: Activité antimicrobienne des extraits de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	113
Tableau XXI : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i> (mg/ml)	114
Tableau XXII: Activité antimicrobienne des extraits de <i>Mentha suaveolens</i>	116
Tableau XXIII : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de <i>Mentha suaveolens</i> (mg/ml)	117
Tableau XXIV : Activité antimicrobienne des extraits de <i>Micromeria graeca</i>	120
Tableau XXV : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de <i>Micromeria graeca</i> (mg/ml)	121
Tableau XXVI : Activité antimicrobienne des extraits de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	123
Tableau XXVII: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i> (mg/ml)	124

SOMMAIRE

DEDICACES	i
REMERCIEMENTS	ii
RESUME	iv
ABSTRACT	v
ملخص	vi
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	xi
INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I.1. Les plantes médicinales	5
I.1.1. Introduction	5
I.1.2. Les plantes source des phytomolécules	5
I.1.2.1. Les alcaloïdes	5
I.1.2.2. Les terpènes	6
I.1.2.3. Les composés phénoliques	6
1.1.2.3.1. Les tanins	6
1.1.2.3.2. Les flavonoïdes	8
I.2. Aperçu sur les plantes aromatiques et médicinales au Maroc	9
I.2.1. Activité antimicrobienne des extraits des plantes médicinales	9
I.2.1.1. Résistance aux antibiotiques	9
I.2.1.2. Activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales originaires du Maroc	10
I.2.2. Activité antioxydante des extraits des plantes médicinales	11
I.2.2.1. Généralités sur le stress oxydant	11
I.2.2.2. L'activité antioxydante des extraits de plantes médicinales originaires du Maroc	12
I.3. Monographie des plantes étudiées	12
I.3.1. Les plantes d'étude	12
I.3.2. Aspects botaniques (systématique et caractères morphologiques), chimiques et pharmacologiques des plantes	12
I.3.2.1. La plante <i>Ruta montana</i>	12
I.3.2.2. La plante <i>Achillea odorata</i> . ssp. <i>pectinata</i>	15
I.3.2.3. La plante <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	17
I.3.2.4. La plante <i>Mentha suaveolens</i>	20
I.3.2.5. La plante <i>Micromeria graeca</i>	24
I.3.2.6. La plante <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	26
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	29
II.1. Prospection ethnopharmacologique des plantes médicinales de la Province de Guercif (Nord-Est du Maroc)	30
II.1.1. Zone d'étude	30
II.1.2. Méthodologie	31
II.1.3. Matériel végétale	32
II.1.3.1. Critères de sélection des plantes	32
II.1.3.2. Collecte de la matière végétale	32
II.1.4. Identification des plantes étudiées et préparation des extraits à tester	34
II.1.4.1. Etude de la micromorphologie des parties aériennes des plantes par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	34
II.1.4.2. Extraction des huiles essentielles	34
II.1.4.3. Extraction par macération	34
II.1.4.4. Détermination du rendement d'extraction	35
II.2. Contribution à l'étude phytochimique des extraits des plantes	35
II.2.1. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	35
II.2.2. Identification des composés majoritaires	36
II.2.3. Détermination quantitative des métabolites secondaires	36

II.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux	36
II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes	36
II.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées	36
II.3.1. Les microorganismes testés	36
II.3.1.1. Milieux de cultures et conditions d'incubation	37
II.3.1.2. Préparation des inoculums	37
II.3.1.3. Les antibiotiques et les antifongiques utilisés (contrôle positif)	38
II.3.1.4. La solubilisation des produits à tester	38
II.3.2. Méthodes microbiologiques	38
II.3.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion par disque	38
II.3.2.2. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de microplaque (MTT-assay)	41
II.3.2.3. La détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) et des concentrations minimales fongicides (CMF)	43
II.4. Activité antioxydante	43
II.4.1. Activité de piégeage du radical DPPH	43
II.4.2. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)	44
II.5. Tests de bioconservation	45
II.5.1. Etude de la toxicité aiguë de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	44
II.5.2. Modèles de bioconservation alimentaires utilisés	45
II.5.2.1. Modèle des choux (Cabbage food model system)	45
II.5.2.2. Modèle de l'orge (Barley food model system)	46
II.5.2.3. Analyse microbiologique	46
II.6. La lutte contre l'agent pathogène de la tomate : <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 1616-3	46
II.6.1. Les extraits testés	46
II.6.2. Désinfection des graines de tomate	46
II.6.3. Inoculation des semences de la tomate	46
II.6.4. Effet du traitement des semences par les extraits sur la population de l'agent pathogène	47
II.6.5. Effet des traitements par les extraits sur la germination des semences inoculées par Cmm	47
II.6.6. Etude du pouvoir protecteur de l'extrait méthanolique du <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>Ladanifer</i> contre le chancre de la tomate	47
II.6.7. Analyse statistique	48
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION	49
Chapitre 1. Prospection ethnopharmacologique des plantes médicinales de la Province de Guercif (Nord-Est du Maroc)	50
I.1. Interviewés	50
I.1.1. Age	50
I.1.2. Sexe	51
I.2. Flore médicinale	51
I.2.1. Diversité	51
I.2.2. Utilisation en médecine traditionnelle	58
I.2.3. Parties utilisées	58
I.3. Remèdes	59
I.3.1. Indication thérapeutique	59
I.3.2. Mode de préparation	61
I.4 Conclusion	62
Chapitre 2. Contribution à l'étude phytochimique des extraits des plantes étudiées	63
I.1. Introduction	63
I.2. Micromorphologie des parties des plantes utilisées	63
I.3. Rendement et composition chimique des huiles essentielles	72
I.3.1. Cinétique de l'extraction des huiles essentielles	72
I.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Ruta Montana</i>	73
I.3.3. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux du <i>Ruta montana</i>	74
I.3.4. La composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	78
I.3.5. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	79
I.3.6. La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	82

I.3.7. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>polium</i>	83
I.3.8. La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Mentha suaveolens</i>	87
I.3.9. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de <i>Mentha suaveolens</i>	88
I.3.10. La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Micromeria graeca</i>	91
I.3.11. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de <i>Micromeria graeca</i>	92
I.3.12. La composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	95
I.3.13. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	96
I.4. Conclusion	100
Chapitre 3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées	101
I.1. Introduction	101
I.2. Activité antimicrobienne de <i>Ruta montana</i>	101
I.3. Activité antimicrobienne d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	107
I.4. Activité antimicrobienne de <i>Teucrium polium</i> ssp. <i>Polium</i>	111
I.5. Activité antimicrobienne de <i>Mentha suaveolens</i>	115
I.6. Activité antimicrobienne de <i>Micromeria graeca</i>	118
I.7. Activité antimicrobienne de <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i>	122
I.8. Conclusion	125
Chapitre 4. Activité antioxydante des extraits des plantes étudiées	126
I.1. Introduction	126
I.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	126
I.3. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)	130
I.4. Conclusion	135
Chapitre 5. Contribution à l'application de l'huile essentielle d'<i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i> dans la bioconservation de des produits alimentaires	136
I.1. Introduction	136
I.2. La toxicité aigüe de l'huile essentielle d' <i>Achillea odorata</i> ssp. <i>pectinata</i>	135
I.3. Effet de l'huile essentielle sur les souches et <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633 dans la bioconservation : modèle alimentaire « jus des choux »	137
I.4. Effet de l'huile essentielle sur les souches et <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633 dans la bioconservation : modèle alimentaire « la soupe d'orge »	139
I.5. Conclusion	140
Chapitre 6. Contribution à la lutte contre l'agent pathogène de la tomate (<i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>Michiganensis</i>1616-3)	141
I.1. Introduction	141
I.2. Effet des extraits des plantes sur la population de la souche <i>Cmm</i> à la surface des semences	141
I.3. Effet des extraits des plantes sur le pourcentage de la germination des semences	143
I.4. Effet des extraits des plantes sur le pourcentage de la germination des semences inoculées par <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 1616-3	144
I.5. Etude du pouvoir protecteur de l'extrait méthanolique du <i>Cistus ladanifer</i> ssp. <i>ladanifer</i> contre le chancre de la tomate	146
I.6. Conclusion	147
DISCUSSION GENERALE	148
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	154
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	157
REFERENCES WEBBOGRAPHIQUES	175
ANNEXES	177

INTRODUCTION GENERALE

La protection des cultures agricoles et la conservation des qualités organoleptiques et sanitaires des produits alimentaires représentent un enjeu majeur pour les industries agricoles et agro-alimentaires (Catherine *et al.*, 2012 ; Kotan *et al.*, 2013) . Le contrôle des problèmes phytosanitaires et alimentaires d'origine microbienne impliquent principalement la maîtrise de la croissance des microorganismes phytopathogènes et pathogènes.

Dans le cas des maladies infectieuses provoquées par les bactéries phytopathogènes, la stratégie de lutte repose sur les traitements phytosanitaires en utilisant les pesticides et les antibiotiques. Cependant, l'usage des produits chimiques, peu biodégradables, dans le traitement phytosanitaire est associé aux effets dangereux pour l'environnement et les êtres vivants. Le risque de développement de la résistance aux antibiotiques a poussé l'Union Européen à interdire l'usage de ces produits (Isman, 2000 ; Balestra *et al.*, 2009). De même, les prix onéreux des produits chimiques limitent l'utilisation de ces produits (Brent et Hollomon, 1998 ; Roy et Dureja, 1998).

En ce qui concerne la sécurité alimentaire, la conservation des produits alimentaires est assurée par des composés synthétiques appelés « additifs alimentaires » ; au cours de ces dernières années, l'utilisation de ces produits est mise en question pour leurs effets néfastes (Friedman *et al.*, 2002 ; Burt, 2004 ; Chanthaphon *et al.*, 2008).

Par conséquent, les recherches se sont intensifiées dans le but de trouver de nouvelles substances antimicrobiennes. La plupart de ces recherches s'intéressent à la satisfaction d'un consommateur qui demande tout ce qui est naturel (Catherine *et al.*, 2012) ; d'où la nécessité de trouver des substances antimicrobiennes naturelles.

Dans ce cadre, plusieurs recherches ont montré le pouvoir antimicrobien des produits naturels. En effet, l'étude menée par Kotan *et al.*, (2010) a proposé l'usage des composés carvacrol et thymol, les extraits organiques (en utilisant l'hexane, le chloroforme et l'acetone) de *Satureja spicigera* ainsi que ses huiles essentielles et celles du *Thymus fallax* comme des agents antibactériens contre les phytopathogènes. De même Talibi *et al.*, (2011) ont montré l'activité antibactérienne *in vitro* et *in vivo* des extraits aqueux de plantes médicinales et aromatiques appartenant à 15 familles botaniques contre la souche *Clavibacter michiganensis* ssp.*michiganensis*.

L'investigation de l'activité antibactérienne de la plante *Psidium guajava* a montré que les extraits méthanoliques des feuilles de cette plante ont une activité inhibitrice significative contre deux phytopathogènes *Xanthomonas* sp. et *Pectobacterium* sp. (Sarah *et al.* 2012).

De même Kotan *et al.*, (2013) ont montré l'efficacité des extraits de la plante *Satureja hortensis* contre les souches phytopathogènes ; cette étude a montré aussi que l'extrait mixte de l'Hexane-Méthanol est un désinfectant de semences inoculées artificiellement par les bactéries.

Pour améliorer les conditions de la bioconservation des produits alimentaires, Mytle *et al.*, (2006) ont montré que l'huile essentielle de la plante *Syzygium aromaticum* est douée d'une activité antimicrobienne ; ces auteurs ont proposé l'usage de cette huile comme additif alimentaire dans la bioconservation des Poulets de Frankfort.

Une étude de l'activité antibactérienne des extraits de la plante *Myrtus communis* a montré que, parmi les extraits testés, l'extrait méthanolique est doué d'une forte activité antibactérienne contre des souches contaminantes des produits alimentaires (Amensour *et al.*, 2010). Da Silveira *et al.*, (2014) ont proposé l'usage de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* comme un additif alimentaire pour améliorer la conservation des saucisse du Tuscan.

Par sa position biogéographique, le Maroc présente de très grandes diversités écologique et floristique. Sur plus de 4500 taxa de plantes vasculaires, natifs ou naturalisés, 800 à 951 taxa sont endémiques (Bellakhdar, 1997 ; Benrahmoune Idrissi et Dubruille, 2003; Fougrach *et al.*, 2007). Il est parmi les pays méditerranéens ayant connu un usage remarquable des plantes médicinales. En effet, Bellakhdar (1997) a rapporté que la pharmacopée marocaine tient son origine d'un savoir-faire transmis par différents groupes ethniques qui se sont installés au pays, après leur émigration de plusieurs régions, y compris les Arabes du Moyen-Orient, les Andalous et les Juifs d'Europe. Cette richesse floristique et ethnopharmacologique offre une importante opportunité de recherche des phytomolécules antimicrobiennes.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail qui est une contribution à l'étude ethnobotanique et de l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits des plantes.

Les objectifs de notre travail sont :

- 1- La prospection ethnopharmacologique des plantes médicinales de la Province de Guercif (Nord-est du Maroc).

- 2- L'étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles, et d'extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes sélectionnées suite aux résultats de la prospection ethnopharmacologique.
- 3- La détermination de la composition chimique des huiles essentielles, et la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes d'extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes étudiées.
- 4- L'application des extraits doués d'une activité antimicrobienne dans l'amélioration de la qualité de deux modèles alimentaires « jus des choux » et « soupe d'orge » et la protection contre l'agent causal du chancre bactérien de la tomate.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les plantes médicinales

I.1.1. Introduction

Toutes les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances, pouvant être utilisées pour leurs effets thérapeutiques ou qui sont des précurseurs impliquées à la synthèse de drogues utiles, sont dites « plantes médicinales » (Sofowora, 2010).

La phytothérapie ou médecine traditionnelle est utilisée depuis longtemps par différentes cultures et civilisations, en Egypte, Moyen-Orient, Inde et Chine (Ybert et De Laage de Meux, 2001). Cette ancienne relation de l'Homme avec la nature, ayant promu les plantes médicinales, a joué un rôle très important dans la découverte des médicaments (Akerele, 1990 ; Patwardhan, 2005). La plupart des médicaments sont d'origine végétale ; beaucoup d'autres sont des analogues synthétisés sur la base de composés végétaux (Patwardhan, 2005 ; Verma et Singh, 2008).

D'après l'OMS, les trois quarts de la population mondiale utilisent les plantes médicinales comme source de remède (Gilani et Atta-ur-Rahman, 2005). En outre, dans les pays en voie de développement qui souffrent d'un retard de la modernisation du système médical, le recours à l'usage des remèdes à base des plantes est très répandu (Heywood, 1992).

I.1.2. Les phytomolécules d'origine végétale

Les plantes synthétisent un ensemble de molécules appelées « métabolites secondaires », ces structures jouent un rôle très important dans l'interaction des plantes avec leur environnement, puisqu'elles possèdent des propriétés biologiques très remarquables telles que leurs pouvoirs antibactériens, antifongiques et antiviraux (Hartmann., 2007 ; Mazid *et al.*, 2011). Ces phytoactifs sont classés selon leurs caractéristiques chimiques, l'origine de la plante ou l'origine biosynthétique du composé. Il existe trois classes principales de métabolites secondaires douées des activités antimicrobiennes et antioxydantes : les alcaloïdes, les terpènes, et les composés phénoliques, comme décrit par les travaux de Croteau *et al.*, (2000).

I.1.2.1. Les alcaloïdes

Ce sont des composés basiques hétérocycliques avec un atome d'azote comme hétéroatome ; ils constituent un des groupes de métabolites secondaires le plus produit par les plantes. Selon Wansi *et al.*, (2013) plus de 20 000 alcaloïdes sont isolés à partir des sources

naturelles avec différentes structures, qui sont souvent doués des activités biologiques. On retrouve en effet des molécules comme la quinine, des drogues (cocaïne), des anticancéreux (la vincristine et le taxol), des molécules utilisées comme poisons (strychnine) et des stimulants (caféine).

I.1.2.2. Les terpènes

Ce sont des produits avec un squelette hydrocarboné (composé organique) issus du métabolisme de la plante. Ils sont produits par différentes voies métaboliques à savoir la glycolyse, le cycle de Krebs et la voie du shikimate ainsi que la voie du méthylérythritol phosphate (Soualeh et Soulimani, 2016). Ces métabolites secondaires sont issus du même précurseur qui est l'isoprène ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CH}_2$). Ils se caractérisent par des molécules insaturées, cycliques et acycliques (Charlwood et Banthorpe, 1991). Les terpènes comprennent des phytohormones (acide abscissique et gibbérellines), des pigments, des stérols et une grande partie des composants des huiles essentielles (Hopkins, 2003). Ces dernières sont les plus étudiées pour leurs effets biologiques. Les terpènes sont doués de plusieurs activités biologiques dont l'activité antimicrobienne.

I.1.2.3. Les composés phénoliques

1.1.2.3.1. Les tanins

Ce sont des composés phénoliques de structures variées, utilisés depuis longtemps pour leurs propriétés de rendre la peau imputrescible (Shahat et Marzouk, 2013). En 1962, Bate-Smith et Swain ont défini les tanins comme des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, ces molécules ont la capacité de se précipiter avec les alcaloïdes, la gélatine ainsi qu'avec d'autres structures protéiques (Haslam, 1989).

D'après Griffiths (1991), les tanins sont subdivisés en deux grandes classes : les tannins condensés et les tanins hydrosolubles (Figures 1 et 2). Les tanins condensés sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle ; ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes.

Les activités biologiques des tanins ont été largement étudiées. Certaines plantes à tanins présenteraient des effets antitumoraux (Yoshizawa *et al.*, 1987 ; Ashiwada *et al.*, 1992) antibactériens (Amarowicz *et al.*, 2008) et antiviraux (Buzzini *et al.*, 2008). Kunyanga *et al.* (2011) ont rapporté des activités antioxydantes et antidiabétiques des tanins.

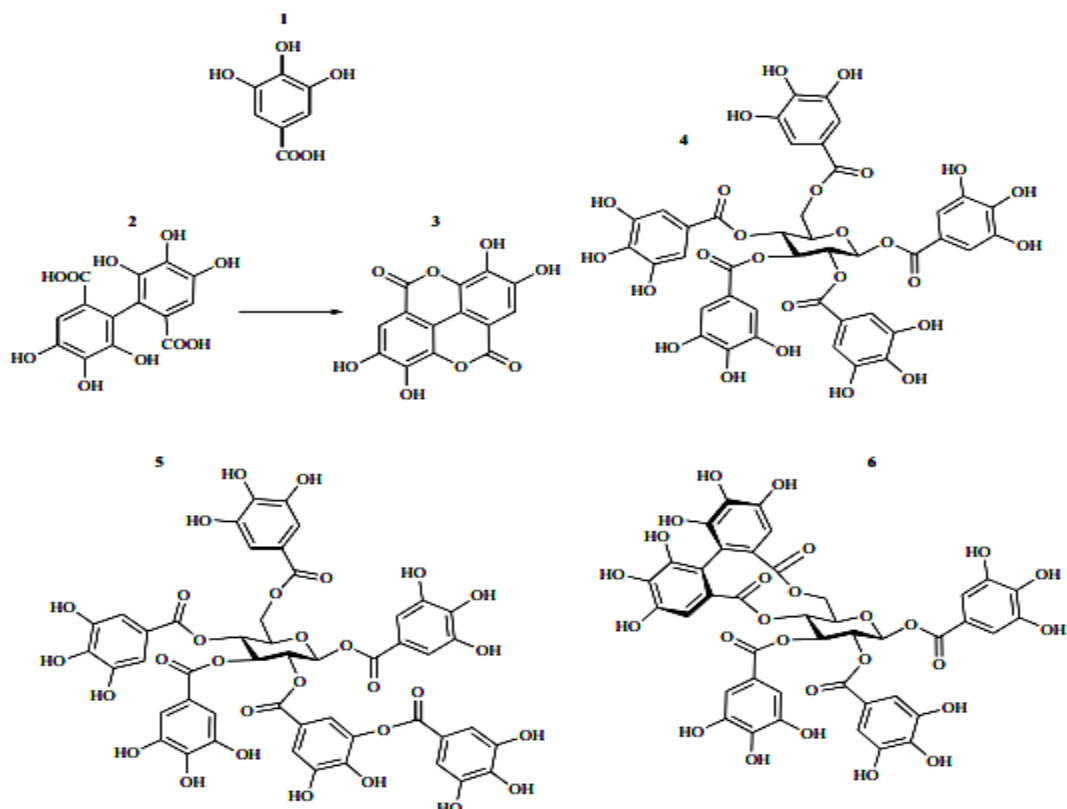


Figure 1: les structures caractéristiques des tannins hydrolysables : (1) acide gallique ; (2) ; acide hexahydroxydiphénique ; (3) acide ellagique ; (4) pentagalloylglucose ; (5) 2-O-digalloyl-1,3,4,6-tetra-O-galoyl-D-glucopyranose ; (6) tellimagradine II (Koleckar *et al.*, 2008)

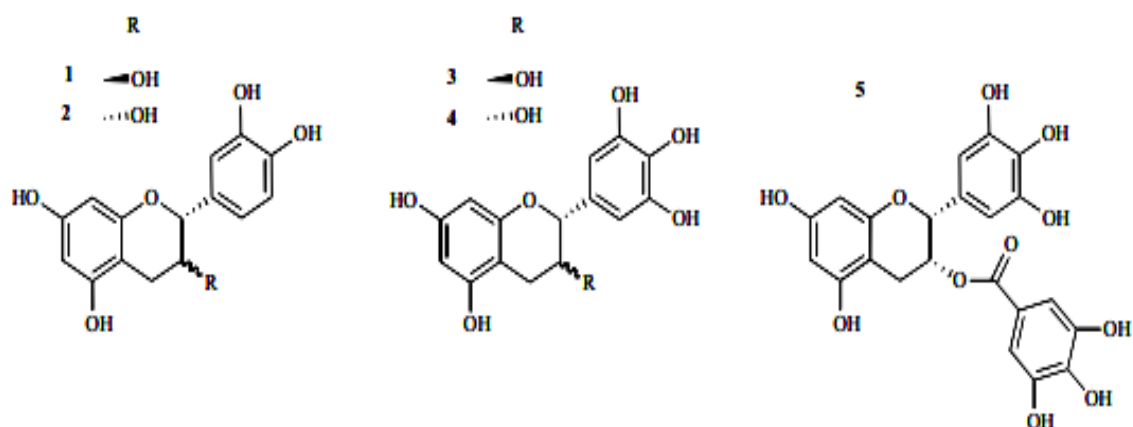


Figure 2 : les structures les plus fréquentes des tannins condensées : (1) (+)-catechine; (2) (-)-epicatechine; (3) (+)-gallocatechine; (4) (-)- epigallocatechine; (5) (-)-epigallocatechin gallate (Koleckar *et al.*, 2008)

1.1.2.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires végétaux, formés par Les acides aminés aromatiques : phénylalanine, la tyrosine et malonate. Structuralement les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone (Santos Buelga et Scalbert, 2000) dont deux cycles aromatiques « A » et « B » (Figure 3) sont liés par une chaîne en C₃ (Pietta, 2000 ; Heim *et al.*, 2002).

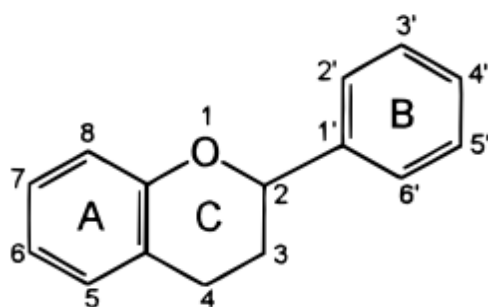


Figure 3 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Pietta, 2000)

De point de vue pharmacologique, les flavonoïdes sont connus pour leurs effets antifongiques, antibactériens et antioxydants (Dixon et Pasinetti, 2010), chimio-préventifs et anticancéreux (Konan *et al.*, 2012 ; Cijo *et al.*, 2016). Selon le degré d'oxydation et la nature des radicaux portés sur le cycle C, on distingue les classes des flavonoïdes suivantes : les flavones, les flavanones, les isoflavones, les flavonols, les flavanonols, flavan-3-ol et anthocyanidines (Figure 4).

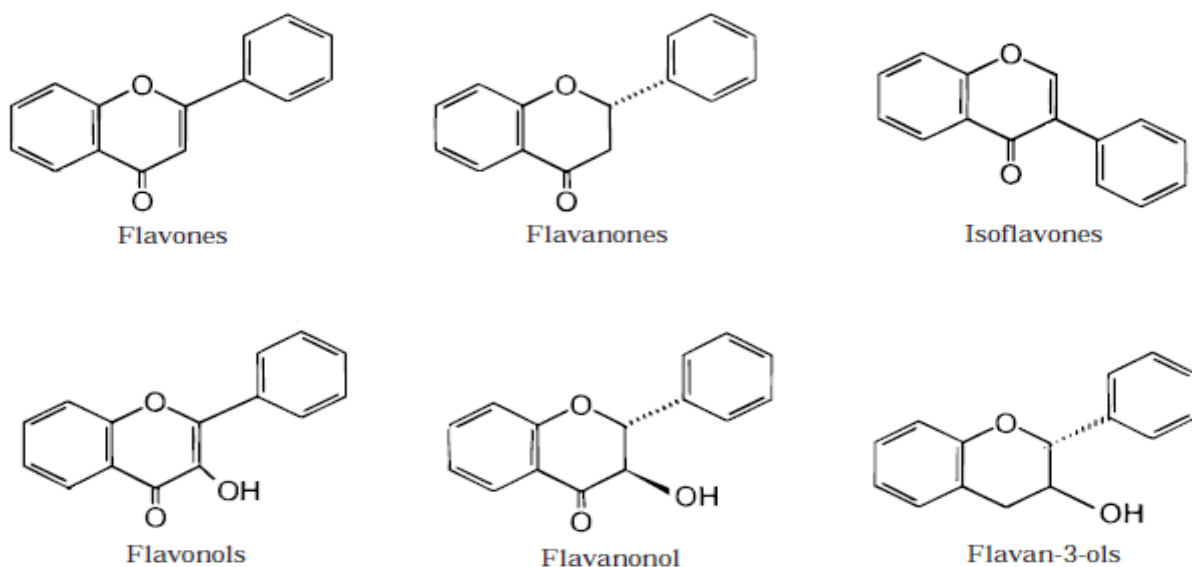


Figure 4 : Structure chimique de certaines classes des flavonoïdes (Pietta *et al.*, 2000)

I.2. Aperçu sur les plantes aromatiques et médicinales au Maroc

Le Maroc présente une très grande diversité écologique et floristique du fait de sa position biogéographique. Sur plus de 4500 taxa de plantes vasculaires, natifs ou naturalisés, 800 à 951 taxa sont endémiques (Bellakhdar, 1997 ; Benrahmoune Idrissi et Dubruille, 2003; Fougrach *et al.*, 2007). C'est l'un des pays méditerranéens qui représente une pharmacopée remarquable. Selon Bellakhdar (1997), cette pharmacopée s'est enrichie de multiples apports culturels transmis par différents groupes ethniques, qui se sont installés au pays, après leur émigration de plusieurs régions, y compris les Arabes du Moyen-Orient, les Andalous et les Juifs d'Europe.

Ces dernières années, beaucoup de recherches ont été réalisées sur le savoir-faire de la médecine traditionnelle marocaine. D'une part, plusieurs travaux sont menés dans plusieurs régions du Maroc afin d'inventorier et d'identifier les différentes plantes utilisées comme remèdes par les populations des zones étudiées. En effet, les recherches rapportées par Bellakhdar (1978, 1982, 1991 et 1997), Kahouadji (1986 et 1995), Ziyyat *et al.* (1997), Ennabili *et al.* (2000), Tabuti. (2006), Acherkouk *et al.* (2011), Acherkouk (2013), Fakchich et Elachouri (2014) ont documenté le recours des populations interviewées à la médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies tel que les troubles du système endocrinien, les troubles du système digestif, des troubles dermatologiques ...etc.

Les plantes médicinales présentent un intérêt socio-économique important au niveau national. En effet, une étude menée par Ennabili *et al.*, (2006) a montré que le revenu des espèces commercialisées varie de 500 MAD/ha/an chez *Origanum compactum* à 10500 MAD/ha/an concernant *Cannabis sativa*. Alors que le prix de certaines PAM commercialisées dans la région de Rissani varie de 8 MAD/kg pour *Artemisia herba-alba* à $225 \pm 35,4$ MAD/kg pour *Carthamus tinctorius*, contre 1 et $6,5 \pm 0,70$ MAD / kg pour *Daucus sativa* et *Vicia faba*, respectivement (El Mansouri *et al.*, 2011). Selon khabbach *et al.*, (2012) *Prunus dulcis* et *Olea europaea*, offrent plus de revenus, moyennant respectivement $1,825 \pm 2,142$ et $3,788 \pm 2,602$ MAD/fellah/an.

I.2.1. Activité antimicrobienne des extraits des plantes médicinales

I.2.1.1. Résistance aux antibiotiques

La découverte des agents antimicrobiens au 20^{ème} siècle a marqué une étape capitale de la lutte contre les maladies infectieuses, ces médicaments ont permis de sauver des vies humaines et animales qui étaient, à une époque, menacées (Kumar *et al.*, 2005). Cependant,

l'apparition des effets indésirables de ces médicaments et la progression rapide du phénomène de la résistance des microorganismes ont rendu peu à peu ces agents inefficaces et les maladies que l'on croyait avoir combattues ré-émergent (Abdennebi, 2000 ; Levy et Marshall, 2004).

Aujourd'hui la résistance aux antimicrobiens, qui est définie comme l'aptitude des microbes à résister aux traitements antimicrobiens, est l'une des préoccupations sérieuses de la santé publique.

I.2.1.2. Activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales originaires du Maroc

Les phytoactifs produits par les plantes ont un potentiel antimicrobien important pour la lutte contre les maladies infectieuses. Plusieurs chercheurs marocains ont contribué à l'étude du pouvoir antimicrobien des extraits des plantes médicinales marocaines. En effet, les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* ont montré que la concentration de 1/500 (v/v) de cette huile inhibe la croissance des souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus niger* (Farah *et al.*, 2001). Les recherches menées par El Arch *et al.*, (2002) sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*, ont montré que la concentration de 1/1000 (v/v) en huile essentielle de cette plante inhibe la croissance de toutes les bactéries et les champignons.

De même Bouhdid *et al.*, (2008) ont rapporté que l'huile essentielle de la plante *Origanum compactum* génère des diamètres de zones d'inhibition qui varient entre 10 et 32mm. Dans une autre étude portant sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et *Thymus ciliatus* du Maroc, Amarti *et al.*, (2010) ont montré que l'huile essentielle du *Thymus ciliatus* est douée d'une forte activité antibactérienne et antifongique dont une faible dose de 1/3000 (v/v) de cette huile inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* et des champignons *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* et *Penicillium digitatum*. Les études réalisées par Talibi *et al.*, (2011) ont montré la sensibilité de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp.*michiganensis*, agent causal du chancre bactérien de la tomate, aux extraits aqueux de plusieurs plantes marocaines. Les diamètres des zones d'inhibition les plus importants sont générées par *Lavandula coronopifolia* (ZI=48,8mm), suivis par *Rubus ulmifolius* (ZI=40,5mm) et *Rosa canina* (ZI=40,4).

Dans le même contexte les études menées par Bouichi *et al.*, (2015) ont montré que les huiles essentielles de *Thymus ciliatus*, *Origanum compactum*, *Romasmartinus officinalis* et *Artemisia vulgaris* sont efficaces *in vitro* contre la souche *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (PSS 2064-10), agent causal de la tuberculose de l'olivier. Les huiles essentielles de ces plantes inhibent la croissance de cette bactérie avec des pourcentages qui varie entre 20,25% et 56,25%.

I.2.2. Activité antioxydante des extraits des plantes médicinales

I.2.2.1. Généralités sur le stress oxydant

L'oxygène est un élément essentiel pour la vie, cet élément est indispensable au fonctionnement normal de toutes les cellules aérobies de l'organisme (Pincemail *et al.*, 2002 ; Haleng *et al.*, 2007). La production de l'oxygène par des voies métaboliques non contrôlées participe à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) tels que les radicaux libres superoxide $O_2^{\bullet-}$, hydroxyl $HO^{\bullet}$, alkoxy $RO^{\bullet}$ et peroxy $RO_2^{\bullet}$, ces radicaux sont impliqués dans le stress oxydant (Foyer *et al.*, 1994).

Un déséquilibre, résultant d'une production accrue des espèces oxygénées de l'oxygène (EOA) et d'une altération à la baisse des défenses antioxydantes, peut causer l'endommagement de molécules comme les lipides, l'ADN, et les protéines (figure 5) (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

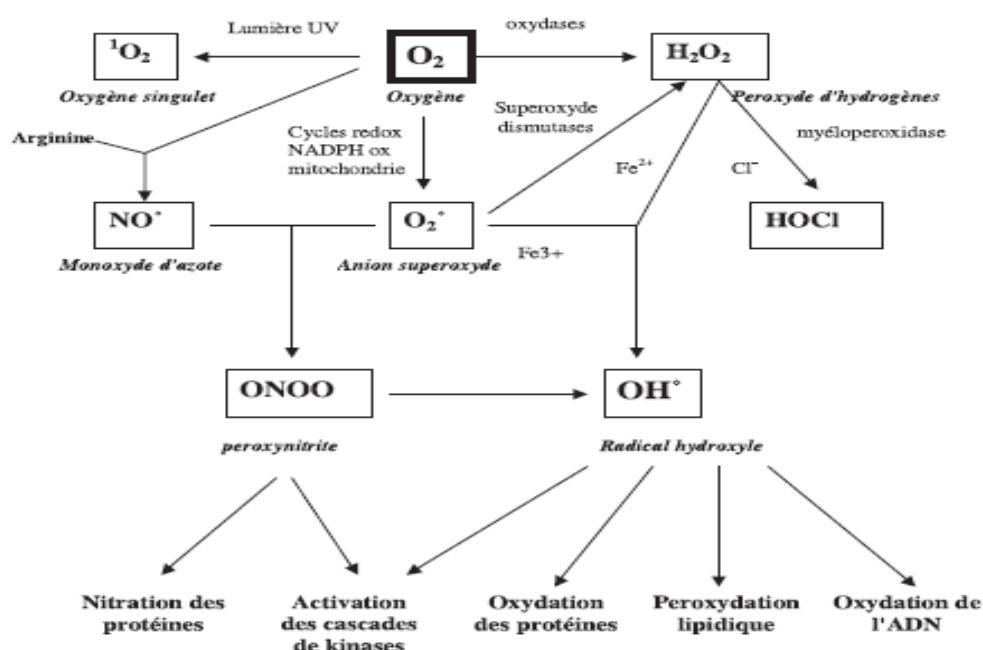


Figure 5: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier 2003)

I.2.2.2. L'activité antioxydante des extraits de plantes médicinales originaires du Maroc

Depuis quelques années, le « stress oxydant » a envahi le monde des sciences biologiques et médicales. Par conséquent, les recherches se sont intensifiées dans le cadre de dépasser cette situation. La biodiversité de la flore marocaine a poussé plusieurs chercheurs marocains à mener des études sur le potentiel antioxydant des extraits de plantes utilisées dans la pharmacopée marocaine. En effet, les résultats de l'étude menée par Amensour *et al.* (2010) sur le pouvoir antioxydant des extraits de *Myrtus communis* ont montré que les concentrations de 500µg/ml de l'extrait méthanolique et 1000µg/ml des extraits éthanolique et aqueux de cette plante inhibe à 100% le radical ABTS. De même Marmouzi *et al.* (2016) ont montré que les extraits d'acétate d'éthyl de *Chenopodium quinoa* inhibent plus de 90% du radical DPPH. Une autre étude menée par Dahmane (2013) a montré que les concentrations 1,82mg/ml, 1,04mg/ml et 0,82 mg/ml et 0,36mg/ml des huiles essentielles des plantes d'*Artemisia herba alba*, d'*Artemisia. Arborescens*, *Rosmarinus tournefortii* et *Syzygium aromaticum* ont inhibé le DPPH à 50%.

I.3. Monographie des plantes étudiées

I.3.1. Les plantes d'étude

Les six espèces étudiées appartiennent aux familles suivantes :

- 1- *Asteraceae* (*Achillea odorata* L ssp. *pectinata*).
- 2- *Rutaceae* (*Ruta montana* L.).
- 3- *Lamiaceae* (*Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens* et *Micromeria graeca*)
- 4- *Cistaceae* (*Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*).

Les espèces *Ruta montana* L., *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Cistus ladanifer* ssp. *Ladanifer* sont notées dans le catalogue des plantes vasculaires du Nord du Maroc (Valdés *et al.*, 2002), et dans la flore relevée du Pré-Rif de Taza (Khabbach, 2012).

I.3.2. Aspects botaniques, chimiques et pharmacologiques des plantes

I.3.2.1. la plante *Ruta montana* .

a. Aspect botanique et systématique

La place du taxon *Ruta montana* (synonyme : *Ruta graveolens* var. *montana*) (TB, 2017a), dont la classification est la suivante :

- Cladus : Plantae
- Cladus : *Spermatophyta*.
- Division : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledoneae*.
- S/Classe :Dialypétales.
- Ordre : Rutales
- Famille : *Rutaceae*.
- Genre : *Ruta*.
- Espèce : *Ruta montana* L.



Figure 6 : Photo de *Ruta montana* prise dans la région de Taza



Figure 7: Photo des fruits de *Ruta montana* prise dans la région de Taza

La plante *Ruta montana* (figures 6 et 7) appartient à la famille des *Rutaceae*, qui est une grande famille d'arbres, d'arbustes et de quelques plantes herbacées, de distribution presque cosmopolite mais surtout présente dans les régions chaudes du globe. C'est la famille des agrumes, elle est de grande importance. *Citrus* est le genre le plus cultivé, citons le citron (*citrus limon*), l'orange (*C. sinensis*) et la mandarine (*C. reticulata*) ; en plus de nombreuses espèces qui sont également cultivées pour leurs huiles essentielles (huile de bergamote utilisée en parfumerie, huile de néroli utilisée dans l'eau de cologne) et d'autres qui sont utilisées comme arbustes d'ornement. Il se trouve également dans cette famille la rue (*Ruta graveolens*), plante extrêmement toxique, qui fut longtemps utilisée en thérapeutique. Les *Rutaceae* se caractérisent par des feuilles alternes et sans stipules, par la présence de glandes

à huile essentielle, et des fleurs qui présentent 4 ou 5 sépales, 4 ou 5 pétales, 8 à 10 étamines, 4 ou 5 carpelles soudés et des fruits en baie (HF, 2017).

L'espèce *Ruta graveolens* var. *montana* a été identifiée au Maroc dans le Circum méditerranéen (Ouest Rif ,Centre Rif Targuist, Zerhoun, PréRif, Tazzeka, Aknoul Kert, Gareb ; Valdés *et al.*, 2002). En effet, c'est une plante des lieux arides de la région méditerranéenne, en Afrique septentrionale, dans l'aire qui comprend la Mauritanie, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, l'Egypte, les îles canaries et madère et dans le continent Européen, en Espagne et en Portugal, l'Italie septentrionale, la Grèce, la Turquie, la Provence, le Languedoc, Roussillon, ainsi que l'Asie Mineure et le Caucase. C'est une plante de 20 à 40 cm, glauque, glabre, glanduleuse dans le haut, dont les feuilles sont oblongues dans leur pourtour, finement découpées en segments linéaires-obtus, le terminal un peu plus large, les fleurs de couleur jaune, petites, bradées et sépales lancéolés en alêne, longuement acuminés, les pétales spatules, entiers, ondulés, non ciliés, les grappes fructifères denses (Inflorescence est sous forme racème de racèmes), droite, à pédicelles plus courts que la capsule (fruit) qui est petite, subglobuleuse, déprimée, à 4 lobes arrondis. C'est une Hémicryptophyte hermaphrodite (< 1m) érigé (formation végétale hémicryptophytaie), qui fleurit de Mai à Septembre (BDPFA, 2012 ; TB, 2017a ; DL/RJB/CSIC, 2017).

b. Emplois et utilisations en médecine traditionnelle

Ruta montana est utilisée traditionnellement dans le traitement de certains problèmes psychiques (Ennabili *et al.*, 2000), dans le traitement du diabète (Tahraoui *et al.*, 2007) ainsi que dans le traitement des abcès (Boukhira *et al.*, 2013),

c. Aspect chimique

L'importance du genre *Ruta* dans la médecine traditionnelle a poussé certains auteurs à caractériser et à isoler quelques métabolites secondaires à partir des espèces de ce genre. En effet, les recherches menées par Touati *et al.*, (2000) ont permis d'isoler à partir de l'espèce *Ruta montana* les alcaloïdes suivants : 2-(nonan-8-one)-(1H)-4-quinolone ; 2-(nonan-8-one)-4-methoxy-quinoline ; 2-(nonan-8-one)-N-méthyl-4-quinolone. D'autres études ont permis d'isoler à partir des racines de *Ruta graveolens* les composés acridones à savoir : l'époxyde rutacridone, gravacridondiol et rutacridone. Par ailleurs, l'analyse chimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. a montré la présence des composés majoritaires suivants : 2-undecanone (77.18%), 2-decanone (8.96%) et le 2- dodecanone (2.37%) (Mejri *et al.*, 2010).

I.3.2.2. la plante *Achillea odorata*. ssp. *pectinata*

a. Aspect botanique et systématique

La place de cette plante dans la systématique (TB, 2011a) est la suivante :

- Cladus : Plantae
- Cladus : *Spermatophyta*.
- Division : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledoneae*.
- S/Classe : *Asteridae*.
- Ordre : *Asterales*.
- Famille : *Asteraceae*.
- Genre : *Achillea*.
- Espèce : *Achillea odorata*.
- S/ Espèce: *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata*.

Il s'agit donc d'une plante de la famille des *Asteraceae*, qui est l'un des taxons les plus importants du règne végétal, il compte approximativement 900 genres avec plus de 13 000 espèces, il est représenté principalement dans les régions tempérées et froide du globe, ces espèces sont principalement et ordinairement des herbes vivaces ou non, mais pouvant être aussi des arbustes ou sous-arbrisseaux, rarement des plants aquatiques ou des plantes grimpantes ou encore des épiphytes. Les feuilles sont alternes moins souvent opposées ou radiales, rarement verticillées, toujours exstipulées, bractées, simples ou parfois composées. Les fleurs ont la caractéristique commune d'être réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes aux autres, elles sont épigynes, hermaphrodites, plus rarement unisexuées, les espèces étant alors monoïques ou dioïques. Les *Asteraceae* sont réparties en fonction de leurs fleurs en deux types : l'un ayant des fleurs à corolles ligulées et l'autre à corolles tubulées (BO, 2017 ; Boutaoui, 2012 ; Hamimed , 2009).



Figure 8 : Photo d'*Achillea odorata* L.ssp. *pectinata* prise dans la région de Taza



Figure 9: Photo d'une fleur d'*Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* prise dans la région de Taza

La plante *Achillea odorata* (figures 8 et 9) est une plante des bords des chemins de la région méditerranéenne, vivace à souche courte, noueuse, stolonifère ; elle présente des tiges de 12 à 30 cm, dressées ou ascendantes, pubescentes et des feuilles d'un vert grisâtre, pubescentes, à contour oblong, dont les inférieures et celles des rosettes sont pétiolées, bipennatiséquées, alors que les caulinaires sont sessiles, petites, atteignant rarement 2 à 12 cm de longueur, pennatiséquées, et à segments entiers ou incisés, ceux-ci au nombre de 8-12 de chaque côté, presque égaux, rapprochés, linéaires, à lobes mucronulés. L'involucre est ovoïde, poilu, à folioles offrant une marge brunâtre, des capitules petites, en corymbe subglobuleux, compact ; elle fleurit de Juin à Juillet, les fleurs sont d'un blanc sale ou un peu jaunâtre, à ligules courtes (TB, 2011a). Le taxon *Achillea odorata* L ssp *pectinata* est noté dans la flore identifiée dans le Pré-Rif de Taza (khabbach, 2012).

b. Emplois et utilisations en médecine traditionnelle

Peu d'étude ont rapporté l'usage traditionnel de la plante *Achillea odorata*. selon Khabbach *et al.* (2012), le décocté de cette plante est utilisé dans la région de Taza (Nord du Maroc) en médecine traditionnelle dans le traitement du rhume et comme insecticide. En Algérie *Achillea odorata* est utilisée dans le traitement du rhumatisme, dans le traitement des blessures, dans la régulation de la pression artérielle et dans le traitement ainsi que guérir les problèmes gastriques (Boutennoun *et al.*, 2014).

c- Aspect chimique

La caractérisation des plantes du genre *Achillea* a permis d'isoler plusieurs composés organiques. En effet, les études menées sur la plante *Achillea millefolium* L. par Innocenti et al., (2007) n'ont permis d'isoler pour la première fois à partir de genre *Achillea* que les composés dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 9-O- β -D-glucopyranoside – glycosyl-neolignan et six dérivés du flavone, apigénin, apigénin-7-O- β -D-glucopyranoside, luteolin, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside, luteolin-4'-O- β -D-glucopyranoside, rutin, et deux dérivés d'acide caféique, l'acide 3,5-dicaffeoylquinic et l'acide chlorogénic. L'étude des huiles essentielles du genre *Achillea* a fait l'objet de nombreuses études dont plusieurs compositions chimiques ont été décrites selon l'espèce ou l'origine de la récolte. En effet, l'analyse de la composition chimique des feuilles et des fleurs de l'espèce *A. millefolium* L., récoltée en Portugal a montré la présence des composés majoritaires suivants : 1,8-Cineole (25-29%), trans-sabinène hydrate (10-15%) et sabinène (3.1-5,4%) (Figueiredo *et al.*, 1992). Alors que l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de cette même espèce originaire du Kazakhstan a montré qu'elle contient le Camphor (16.0%), 1,8-cineole (8.7%), borneol (6.2%), β - eudesmol (6.1%), α -terpineol (5.9%), and α -bisabolol (5.5%) comme composés majoritaires (Suleimenov *et al.*, 2001).

L'analyse chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de la plante *A. tenuifolia* Lam. originaire d'Iran a montré la présence des composés majoritaires suivants : Camphor (18.0%), 1,8 Cineole, (+) limonène (9.0%) et Spathulenol (7.0%) (Rustaiyan *et al.*, 1999).

I.3.2.3. la plante *Teucrium polium* ssp. *polium*

a. Aspect botanique et systématique

La plante *Teucrium polium* ssp. *Polium* (figures 10 et 11) dont les Synonymes sont *Teucrium polium* ssp. *album* (Mill.) Breistr et *Polium album* Mill (TB, 2011b), occupe la place suivante dans la classification :

- Cladus : *Spermatophyta*.
- Division : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledoneae*.
- Ordre : Lamiales
- Famille : *Lamiaceae*
- Genre : *Teucrium*.
- Espèce : *Teucrium polium*.

- Sous-Espèce : *Teucrium polium* ssp. *Polium*.



Figure 10 : Photo de *Teucrium polium* prise dans la région de Taza



Figure 11 : Photo de la fleur *Teucrium polium* prise dans la région de Taza

C'est une plante de la famille des *Lamiaceae* qui est une famille très diversifiée avec 224 genres et environ 4000 espèces, elle est aussi bien répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde ; la plus grande diversité est rencontrée selon cet ordre : le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine (Kabouche, 2005). En effet, les grandes *Lamiaceae* (anciennement *Labiatae*) se trouvent dans le monde entier, avec une grande diversité en Californie, au Mexique et en Méditerranée, ces plantes vivent dans une grande variété d'habitats, bien qu'adaptées à la sécheresse, c'est l'une des rares familles (habituellement) reconnues sur la base de traits végétatifs (NPC, 2014) ; au Maroc, elle a été identifiée à l'ouest du Rif, à Aknoul, à Imzorène, au Gareb et à Benisnassen. (Valdés *et al.*, 2002),

Les *Lamiaceae* sont des plantes généralement herbacées diversement velues (de glabres à laineuses), qui s'identifient selon Hervé Sauquet par les caractéristiques suivantes : tiges quadrangulaires (tige carrée), feuilles souvent lancéolées, dentées, opposées-décussées, et fleurs à symétrie bilatérale, à deux lèvres, regroupées en glomérules, zygomorphes à corolle gamopétale bilabée (5 pétales soudés, formant un tube à la base et deux lèvres au sommet), 4 étamines, ovaire divisé en quatre au fond du calice (2 carpelles soudés, secondairement divisés) (TB, 2016).

Le genre *Teucrium* comprend des agrégats, formés par le regroupement de plusieurs espèces souvent confondues, étant habituellement très proches l'une et l'autre. Ainsi, *Teucrium*

polium est considérée être l'une des 20 espèces appartenant à l'agrégat appelé *Teucrium polium* Aggr (UICN-Med, 2017) ; ce genre *Teucrium*, encore dénommé les germandrées, regroupe environ 260 espèces de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux (Naghibi *et al.*, 2005). L'espèce *Teucrium polium* est une plante vivace très polymorphe (TB, 2011b ; UICN-Med, 2017), de 10 à 35 cm de haut, qui présente les caractéristiques morphologiques suivantes :

- Tiges ligneuses, ascendantes, blanches-tomenteuses
- Feuilles blanches, sessiles, linéaires-lancéolées ou oblongues, en coin et entières à la base, crénelées dans le haut, enroulées aux bords, tomenteuse des deux côtés, avec des moulages à dents rondes roulées vers le bas ; les supérieures écartées.
- Fleurs dans les capitules latéraux qui ont une corolle blanche ou jaune, rarement purpurines, en têtes blanches, assez grandes, globuleuses ou ovoïdes, agglomérées ou en panicule, serrées, brièvement tomenteuses (inflorescence globulaire), et un calice en forme de cloche avec 5 triangulaires ou acuminés subéquats ; brièvement tomenteux, à dents courtes, non carénées, subaiguës, la supérieure obtuse - corolle à lobes supérieurs pubescents.
- Fruits de couleur brun clair à noisettes brunes avec une surface en treillis.

Cette plante émet une agréable odeur aromatique, elle fleurit d'avril à juin (UICN-Med, 2017), elle se développe habituellement dans les régions appartenant aux bioclimats semi-arides et arides ; elle préfère le soleil et un sol léger et bien drainé, elle pousse sur les coteaux, les sables et dans les endroits arides (UICN-Med, 2017). *Teucrium polium* est une espèce très variable ; de nombreuses sous espèces ont été décrites dont certaines sont parfois érigées au rang d'espèce (Naghibi *et al.*, 2005).

La sous-espèce *Teucrium polium* ssp. *polium* , est une plante de la région méditerranéenne des lieux sablonneux ou rocaillieux, c'est une chaméphyte hermaphrodite (< 1m) frutescente qui forme des chaméphytaie, et qui présente un cyme capituliforme (fleurs blanches), des akènes, dont la floraison se fait de Mai à Septembre (TB, 2011b).

b. Emplois et utilisations en médecine traditionnelle

L'espèce *Teucrium polium* est utilisée dans la région orientale du Maroc comme un antidiabétique (Bnouham *et al.*, 2002). La population locale de Séfrou (Moyen Atlas-Maroc) l'utilise dans le traitement des brûlures, des abcès et des blessures (Boukhira *et al.*, 2013).

c- Aspect chimique

Un des traits les plus caractéristiques de la famille des *lamiaceae* réside dans le fait que plusieurs genres renferment des terpènes qui sont responsables de l'odeur aromatique de ces plantes ; qui sont utilisés dans la médecine traditionnelle et comme condiment dans les plats de cuisine (Kabouche ,2005).

De point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'intenses investigations dans le but d'isoler différents types de composés. Parmi les genres qui sont concernés, nous citons: *Ajuga*, *Rhabdosia*, *Teucrium*, *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Leonurus*, *Ballota*, *Coleus*, *Thymus*, *Phlomis* ; ces études ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les stérols, flavonoïdes, iridoides, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes³⁻⁷ (Kabouche, 2005).

La plante *Teucrium polium* contient plusieurs diterpénoïdes, possédant le squelette de Clérodane ou du 19-norcléro-dane, tels que: picropoline, 6-acétyl-picropoline, Isopicropoline, teucrine P1, teucrine P2, montanine- B, la 19-acétyl-gnaphaline, la téupoline I, la téupoline II, Diosphéneol ; les diterpènes de noyau furanique qui provoquent une cytolyse aiguë hépatite (UICN-Med, 2017).

Pour ce qui est de la composition chimique de l'huile de *Teucrium polium*, les résultats ont montré une grande variation dans la composition chimique des huiles essentielles extraites de cette plante. En effet, en Iran, la composition chimique de cette espèce est caractérisée par la présence des composés majoritaires suivants : α -pinène (12,52 %), β -pinène (7,09 %), 1,8-cinéol (3,60 %), linalol (10,63 %), carvacrol (5,23 %), δ -cadinène (3,66 %) et D-germacrène (5,03 %) (Moghtader *et al.*, 2009).

I.3.2.4. la plante *Mentha suaveolens*

a. Aspect botanique et systématique

Mentha suaveolens Ehrh (figures 12 et 13) (synonyme *M. rotundifolia* var *melillensis* Sennen, Diagn, Nauv 113 (1936)) est une espèce de *Lamiaceae*, c'est une plante hémicryptophyte, hermaphrodite (<1m), méditerranéen-atlantique, stolonifère, qui forme des hémicryptophytaies, elle est caractérisée par une inflorescence sous forme glomérules spiciformes, des fleurs de couleur blanche, rose et des akènes (TB, 2017b) ; sa place dans la classification est :

- Cladus : Plantae
- Cladus : *Spermatophyta*.
- Division : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledoneae*.
- S/Classe : Lamiidees.
- Ordre : Lamiales.
- Famille : *Lamiaceae*.
- Genre : *Mentha*.
- Espèce : *Mentha suaveolens*

Selon des analyses phylogénétiques morphologiques, le nombre de chromosomes et les principaux constituants de l'huile essentielle, le genre *Mentha* (menthe) est parmi les genres les plus importants de la famille des *Lamiaceae*, il est très diversifié (Božović *et al.*, 2015) et représenté par environ 19 espèces et 13 hybrides naturels, qui sont principalement des plantes vivaces, qui poussent spontanément dans les endroits humides et les régions tempérées d'Europe, d'Asie, d'Afrique, d'Australie et d'Amérique du Nord. Par ailleurs, les menthes sont en croissance rapide, envahissantes et tolèrent généralement un large éventail des agro-climatiques (Kumar *et al.*, 2011, Božović *et al.*, 2015).



Figure 12: Photo de *Mentha suaveolens* prise dans la région de Taza



Figure 13: Photo de la fleur *Mentha suaveolens* prise dans la région de Taza

Les menthes sont également connues pour certaines caractéristiques (NPC, 2014) :

- Fleurs souvent en pointes fourmillées, irrégulières à deux lèvres avec (parfois) 5 sépales et 5 pétales (plusieurs autres familles ont des fleurs à deux lèvres).

- 2 ou 4 étamines (nombre similaire dans plusieurs autres familles).
- Un ovaire supérieur segmenté en 4 lobes (la seule autre famille avec cette caractéristique est *Boraginaceae*).
- Une seule graine.
- Des tiges carrées sur la nouvelle croissance (pas l'ancienne) mais, plusieurs autres familles ont également cette caractéristique (y compris *Rubiaceae*)
- Elles ont des feuilles parfumées opposées, un trait commun avec d'autres familles.

L'identification de *Mentha* est difficile (NPC, 2014 ; Božović *et al.*, 2015), car outre une grande plasticité phénotypique ; la plupart des espèces sont capables de s'hybrider les unes avec les autres.

Selon Šarić-Kundalić *et al.* (2009) et Božović *et al.* (2015), la littérature actuelle suggère la classification du genre *Mentha* en trois lignes de base, nommées : *capitatae*, *spicatae* et *verticillatae* :

- Les *capitatae* comprennent toutes les espèces avec des inflorescences compactes, le type espèce est *M. aquatica*.
- Les *spicatae* ont un pic, comme le montrent *M. spicata*, *M. longifolia* et *Mentha suaveolens*.
- Les *verticillatae* sont représentées par *M. arvensis*, avec une inflorescence verticalement divisée en verticilles.

Selon la *Flora Europaea* et la *Flora d'Italia* par Božović et ses collaborateurs (2015), *Mentha suaveolens* est une herbe herbacée et vivace avec une odeur douce qui pousse jusqu'à 100 cm de hauteur , avec une tige érigée, quadrangulaire, et à peine voilée à densément blanc-tomentose, elle est monopodialement ramifiée, avec des entre-noeuds courts ; le feuillage est vert clair avec face, ridée, sessile ou très courte, pétiolées ovales-oblongues à suborbiculaires, de 3 à 4,5 cm de long et de 2 à 4 cm de large, obtus, cuspidés ou rarement aigus, les feuilles sont les plus larges près de la base, serré, avec 10 à 20 dents, poilues au-dessus, habituellement gris ou blanc-tomentose à lanate ; une rame prostrée (suceur rampant) poussant de l'aisselle des feuilles à la base de la tige fleurissante se propage au-dessous du niveau du sol puis donne la racine et tourne vers le haut pour donner un nouveau coup ; de nombreux verticillasters, habituellement encombrés, forment un pic terminal de 4 à 9 cm de long, composé d'un certain nombre de fleurs blanches ou rosées(Božović *et al.*, 2015)

Cette espèce est originaire de l'Europe du Sud et de l'Ouest, s'étendant vers le Nord aux Pays-Bas, cultivée en pot-herbe et naturalisée dans le Nord et le centre de l'Europe ; trouvée généralement le long des ruisseaux, des tourbières et des endroits humides (Božović *et al.*, 2015). Selon ces auteurs, huit espèces sont signalées dans la flore italienne : *M. requienii*, *M. pulegium*, *M. arvensis* (et hybrides), *M. aquatica* (et hybrides) et le groupe *M. spicata* qui comprend *M. spicata*, *M. longifolia*, *M. microphylla* et *Mentha suaveolens*.

Mentha suaveolens est également notée au Sud-ouest de l'Asie (Turquie), au Nord de l'Afrique et au Macaronésie (sauf Cap Vert) (Valdés *et al.*, 2002). Au Maroc elle a été identifiée à Tanger, l'Ouest du Rif, Loukkos, Targuist, Zerhoun, Aknoul, Imzorène, Kert, Gareb, Mamora et Pré-Rif (Valdés *et al.*, 2002).

b. Emplois et utilisations en médecine traditionnelle

La poudre ou l'infusé de *Mentha suaveolens* est utilisée dans le traitement des bronchites, elle est utilisée aussi comme antispasmodique, analgésique et antidiarréique (Bellakhdar, 1996 ; 1997). L'étude menée par El Mansouri *et al.* (2011) a montré que la population locale de l'Oasis de Rissani utilise *Mentha suaveolens* dans le traitement du cancer de sein et contre le frisson.

Les espèces *Mentha* sont connues, depuis l'antiquité pour leurs propriétés médicinales et aromathérapeutiques ; les anciens égyptiens, romains et grecs utilisaient la menthe poivrée comme aromatisant et comme médicament, tandis que les huiles essentielles de menthe ont été employées comme parfums, arômes, déodorants et produits pharmaceutiques ; au moyen âge, on utilisait des feuilles de menthe en poudre pour blanchir les dents (Kumar *et al.*, 2011 ; Božović *et al.*, 2015).

Les feuilles, fleurs et tiges de *Mentha* spp. Sont fréquemment utilisés dans les tisanes ou comme additifs dans les mélanges d'épices commerciaux pour de nombreux aliments pour offrir l'arôme et la saveur ; en outre, les menthes ont été utilisés comme remède populaire pour le traitement des nausées, des bronchites, des flatulences, de l'anorexie, des ulcérations colite et les plaintes de foie, en raison de leur effets anti-inflammatoire, carminative, antiémétique, diaphorétique, antispasmodique, analgésique, stimulant, emmenagogue et anticatarrhal (Božović *et al.*, 2015).

Différents espèces des menthes sont également utilisées pour le traitement rhumatisme, la dysenterie, la dyspepsie, les allergies cutanées, les frissons, la jaunisse, les

infections, constipation, spasmes, calculs de la vessie, pierres biliaires, diarrhée, maux de dents, maux d'estomac, dyspnée, gastrodynie, et comme stimulant, diaphorétique, diurétique, reconstituant, tonique de l'estomac, anti-infectieux, sédatif, insectifuge, antimycobactérien, antifongique, antiallergique, virucide, radioprotecteur, cyclooxygénase, inhibiteur, anti-inflammatoires et hémostatiques (Naghbi *et al.*, 2005 ; Ahmad, 2012 ; Božović *et al.*, 2015).

c. Aspet chimique

Les menthes sont également classées sur la base du composé monoterpène dominant dans l'huile essentielle résultant de trois voies métaboliques différentes, ainsi, la production de linalol et d'acétate de linalyle est typique pour la voie linalol ; menthol, menthone et menthofuran sont des constituants du menthol (Božović *et al.*, 2015).

I.3.2.5. La plante *Micromeria graeca*

a. Aspect botanique et systématique

Micromeria graeca (figures 14 et 15), est une *Lamiaceae*, dont la place dans la classification (TB, 2017c), est :

- Cladus : Plantae
- Cladus : *Spermatophyta*.
- Division : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledoneae*.
- S/Classe : Lamiidees.
- Ordre : Lamiales.
- Famille : *Lamiaceae*.
- Genre : *Micromeria*.
- Espèce : *Micromeria graeca*.



Figure 14 : Photo de *Micromeria graeca* dans la région de Taza



Figure 15: Photo de la fleur de *Micromeria graeca* dans la région de Taza

Le genre *Micromeria*, distribué depuis la région macaronésienne-méditerranéenne jusqu'à l'Afrique de sud (Bräuchler *et al.*, 2005, 2008; Chater and Guinea, 1972), il a été décrit par Bentham en 1829 (Valverde, 1991 ; Radulović et Blagojević, 2012) ; il appartient au *Lamiaceae*, tribu *Mentheae*, subtribu *Menthinae* et est considéré comme faisant partie du «Complexe *Satureja*». En tenant compte de la diversité morphologique apparente, de nombreux taxonomistes ont divisé ce complexe en plusieurs genres, principalement *Satureja* L., *Clinopodium* L., *Calamintha* Mill., *Acinos* Mill et *Micromeria* Benth (Bräuchler, 2008) ; d'autres les groupent en un seul genre *Satureja*, en incluant leurs espèces dans ce groupe (Valverde, 1991, Bräuchler, 2008). Ces différents points de vue sur les limites génériques de la "*Satureja* Complexe" a entraîné une confusion taxonomique importante (Bräuchler, 2008).

Des études récentes sur la phylogénie et le statut générique de *Satureja* utilisant des analyses cladistiques des données moléculaires ont beaucoup contribué à une meilleure compréhension du groupe (Bräuchler, 2008). C'est un genre largement diffusé : en Europe, et en particulier dans la Méditerranée et la Macaronésie, en Afrique du Nord et en Afrique subsaharienne, l'Asie tempérée et l'Amérique (40 espèces de *Satureja* en Amérique du Sud et 21 en Amérique du Nord, toutes appartenant aux genres *Micromeria* et *Gardoquia*) (Valverde, 1991).

b. Emplois et utilisations en médecine traditionnelle

Novais *et al.* (2004) ont rapporté que la plante *Micromeria graeca* est utilisée dans la médecine traditionnelle Portugaise contre les douleurs de la vessie, contre la grippe et comme antipyrétique.

c. Aspet chimique

Plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'étude des compositions chimiques des huiles essentielles des plantes appartenant au genre *Micromeria*. Selon Durua *et al.* (2004) l'huile essentielle extraite par hydodistillation et par entraînement à la vapeur, de *Micromeria cilicica* est caractérisée par la présence des composés majoritaires suivants : pulegone (66,55% et 64,10%), *cis-p*-menthone (21,71% et 25,31%), *trans-p*-menthone (9,59% et 5,59%), nerol (0,35% et 2,49%) et 3-octanol (0,81% et 0,25%).

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Micromeria dalmatica* a montré l'abondance des composés suivants piperitenone (41.46%), pulegone (19.02%), piperitenone oxide (14.49%), D-limonene (6.23%) et *p*-menthone (5.06%) (Bukvicki *et al.*, 2015).

I.3.2.6. La plante *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*

a. Aspect botanique et systématique

Cistus ladanifer ssp. *ladanifer* (figure 16) est une espèce de la famille des *Cistaceae* (TB, 2017d) qui occupe la place suivante dans la classification :

- Cladus : Plantae
- Cladus : *Spermatophyta*.
- Division : *Angiospermae*.
- Classe : *Dicotyledoneae*.
- S/Classe : *Malvidae*
- Ordre : *Malvales*
- Famille : *Cistaceae*.
- Genre : *Cistus*.
- Espèce : *Cistus ladanifer*.



Figure 16: Photo de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* prise dans la région de Taza

Les *Cistaceae* sont des plantes herbacées, arbustes ou subarbustes, dont les feuilles sont simples, alternes, opposées ou verticillées, parfois agglomérées ou sous forme de faisceaux ; les inflorescences principalement en cyme, les fleurs sont solitaires actinomorphes

hermaphrodites avec 5 (ou 3) sépales et 5 (ou 3) pétales et plusieurs étamines, à de nombreux, généralement ; ovaire tricarpellé, triloculaire à uniloculaire, avec peu d'ovules placés sur placentas pariétaux; capsule déhiscente par 3 valves, la déhiscence est apicale.

Cette famille compte cinq ou six genres avec environ 200 espèces de large distribution dans le monde, mais surtout dans l'hémisphère nord et en particulier dans la région Méditerranéenne (Graciela, 1992 ; Graciela et Rezedowski, 1994).

Les Cistes sont des arbrisseaux qui appartiennent presque tous au centre de l'Europe et aux différents pays qui avoisinent le bassin Méditerranéen ; sur vingt-cinq espèces connues maintenant, onze croissent naturellement dans les départements méridionaux de la France ; un plus grand nombre en Espagne, au Portugal, et la plupart de ces plantes se retrouvent dans le Levant et dans le nord de l'Afrique ; une seule espèce a été trouvée jusqu'à présent au cap de Bonne-Espérance (DL/RJB/CSIC, 2017).

Le genre *Cistus* est caractérisé généralement (plusieurs espèces) par une écorce et des feuilles exsudent une matière visqueuse, gomme-résineuse, rousse-brunâtre, d'une odeur aromatique, connue sous le nom de Ladanum, et employée en médecine comme tonique et astringente (DL/RJB/CSIC, 2017). Dans les îles de l'Archipel, et principalement dans celle de Candie, c'est sur le Ciste de Crète (*Cistus creticus*, Lin.) que les Grecs recueillent le ladanum ; et ils emploient, pour faire cette récolte, un instrument assez semblable à un râteau, mais qui , au lieu de dents, est garni de plusieurs lanières de cuir, pendant les grandes chaleurs, et par un temps calme, ils font passer à plusieurs reprises ces lanières sur les Cistes (DL/RJB/CSIC, 2017).

Cistus ladanifer est une Chaméphyte hermaphrodite (> ou = à 1m) frutescents, méditerranéen occidental, qui forme des magnochaméphytaies dans la région méditerranéenne (Bois et côteaux secs) ; il s'agit d'un arbrisseau dépassant souvent 1 mètre, très odorant, verdâtre, à rameaux glutineux, avec des feuilles sessiles, lancéolées, vertes et glabres en dessus, tomenteuses-blanchâtres en dessous, des fleurs de 6 à 8 cm de longueur, blanches ou tachées de pourpre au-dessus de l'onglet (Macule rose), pédonculées, solitaires, à 3 sépales, presque égaux, suborbiculaires, glabres, tuberculeux, plus longs que le pédoncule glabre et à pétales 3-4 fois plus longs que le calice, le style très court , une capsule subglobuleuse, tomenteuse, à 10 loges , des graines presque lisses, l'inflorescence est un cyme unipare hélicoïde ; la floraison se produit de Mai à Juin (TB, 2017d).

b. Emplois et utilisations en médecine traditionnelle

La plante *Cistus ladanifer* est employée contre l'acidité gastrique (Bellakhder, 1997). Cette plante est utilisée dans la médecine traditionnelle Portugaise dans le traitement des bronchites et comme antiseptique (Novais *et al.*, 2004).

c. Aspects chimiques

La plante *Cistus ladanifer* est une espèce méditerranéenne typique, largement répartie sur l'Ouest de l'Espagne, dont les feuilles et les tiges sécrètent un exsudat abondant de métabolites secondaires ; l'exsudat de *C. ladanifer* se compose fondamentalement de composés d'origine phénolique et terpénique, les phénoliques et les terpénoïdes sont impliqués dans de nombreux processus végétaux, en biotiques et abiotiques environnementaux ; la synthèse de ces composés devrait être considérée comme un mécanisme de défense de la plante contre le stress ; ainsi des études antérieures ont montré que les composés phénoliques synthétisés par *C. ladanifer*, en particulier six flavonoïdes d'aglycone, représentent entre 0,6% et 3,4% (selon la saison) du poids sec de la feuille ; leur synthèse est nettement saisonnière : ils représentent la majorité des produits synthétisés en été, alors que leur présence est minime en hiver (Alías *et al.*, 2012). D'autre part, les terpènes majoritaires de l'exsudat de *C. ladanifer* sont trois diterpènes (acide D1: 6-acétoxy-7-oxo-8-labden-15-oïque, D2: 7-oxo-8-l'acide labden-15-oïque ; D3 : acide oxocatifique) (Alías *et al.*, 2012).

En outre, il a été démontré que la présence de ces composés pourrait être impliquée dans l'activité allélopathique de cette espèce ; bien que les changements dans les concentrations de terpènes et les taux d'émission ont un grand intérêt écologique, les facteurs qui contrôlent les concentrations de terpènes sont moins connus (Alías *et al.*, 2012).

PARTIE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Prospection ethnopharmacologique des plantes médicinales de la Province de Guercif (Nord-est du Maroc)

II.1.1. Zone d'étude

Située au NE du pays, en partie dans le Rif du côté nord, et en partie dans l'Atlas du côté sud, la Province de Guercif a été récemment créée, suite à un démembrement de la Province de Taza de l'ex-région Taza-Al Hoceima-Taounate (BO, 2009 ; HCP, 2013). Actuellement, elle dépend de la Région de l'Oriental, et composée de 10 Communes, dont la seule Commune urbaine de Guercif. D'une superficie de 7310 km², cette Province est délimitée au Nord par les Provinces de Nador et Driouach, à l'Ouest par la Province de Taza, à l'Est par la Province de Taourirt, et au Sud par la Province de Boulemane (INDH, 2016)

La région orientale est influencée par deux sortes de climat, un climat méditerranéen au Nord, avec une pluviométrie annuelle moyenne excédant 400 mm, et un climat continental au Sud, où les précipitations ne dépassent pas 100 mm (HCP, 2012).

La province de Guercif comporte trois principales zones géographiques : la chaîne du Rif et les collines du Pré-rif au Nord, la chaîne du moyen Atlas au Sud, et la plaine de Guercif au Centre. La plaine de Guercif, zone de transition entre la moyenne Moulouya et la basse Moulouya, est composée de quatre sous-plaines: Jel à l'ouest, Tafrata à l'Est, Sangal au Nord et Mahrouf au Sud (Ahamrouni, 1996 ; INDH, 2016).

Selon le Recensement général de la Population et de l'Habitat (2014), la population de la Province de Guercif est de 216 717 habitants, regroupant deux ethnies : arabe et amazigh (HCP, 2013 ; APDN, 2016). Malgré que la population de Guercif soit pauvre, avec un taux de vulnérabilité à la pauvreté de 21% (2007) selon les données du Haut Commissariat au Plan, la Province dispose des potentialités importantes, à savoir le secteur du textile et habillement, la mécanique-métallurgie, et l'industrie agroalimentaire (HCP, 2012 ; Saad Alami, 2015).

En matière d'agriculture, l'activité agro-pastorale constitue la principale ressource économique pour la population rurale. Les productions fourragère et arboricole viennent en premier lieu, et sont suivies par les céréales, les légumineuses et les produits maraîchers. Il y a lieu de citer aussi l'élevage du bétail. L'oléiculture connaît un grand développement grâce à l'augmentation de la superficie cultivée, et constitue, par suite, la ressource fondamentale des agriculteurs (Saad Alami, 2015 ; INDH, 2016).

II.1.2. Méthodologie

Cette prospection ethnopharmacologique des plantes aromatiques et médicinales a été effectuée durant la période “Décembre 2012 à Mai 2013” dans 11 stations de la Province de Guercif (Figure 17).

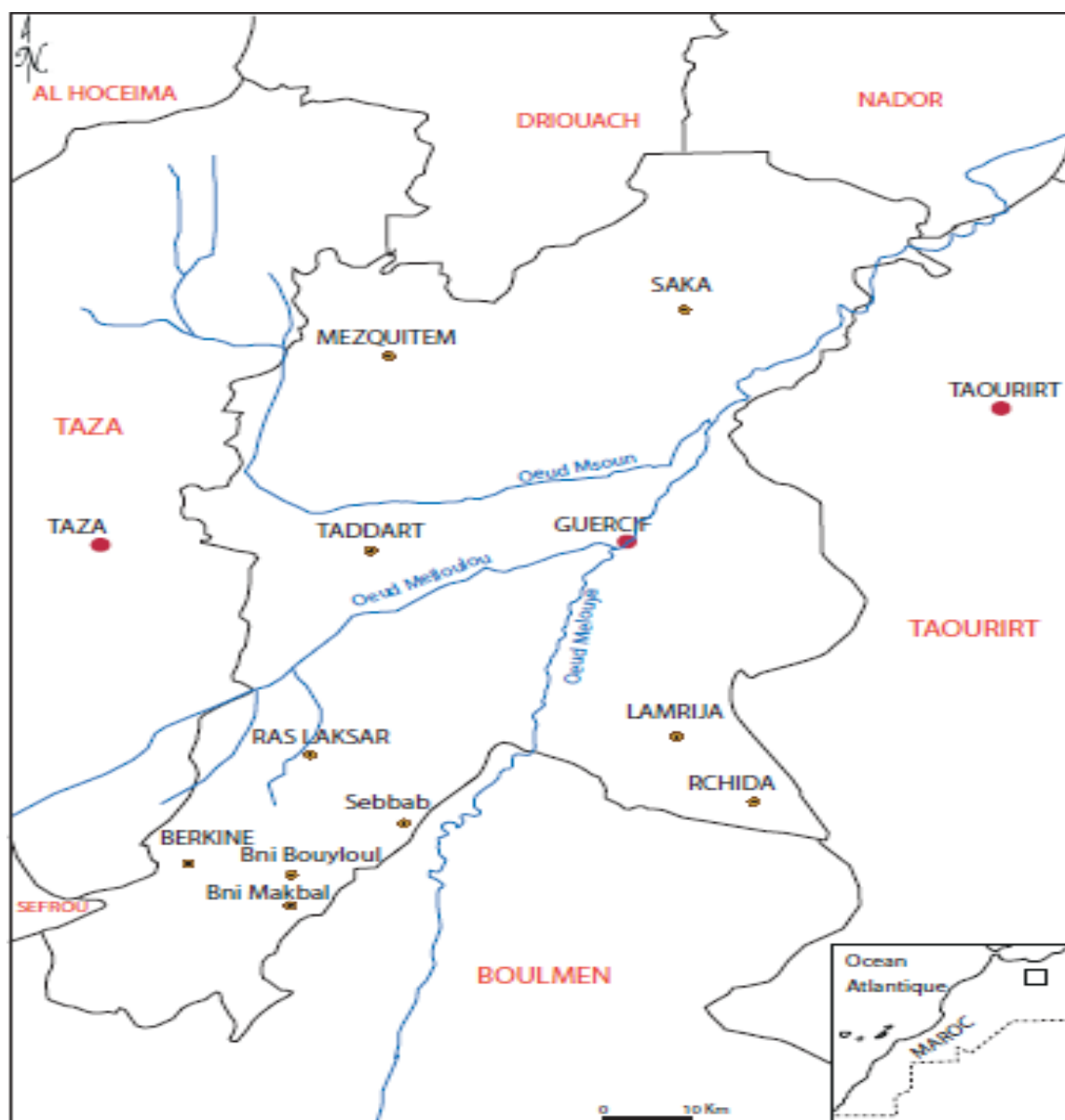


Figure 17. Localisation des stations de prospection (S), Province de Guercif (Source modifiée : APDN, 2016). **Légende :** Berkine (S₁), Ras Laksar (S₂), Rchida (S₃), Lamrija (S₄), Guercif Centre (S₅), Taddart (S₆), Mezguitem (S₇), Saka (S₈), Bni makbal (S₉), Sebbab (S₁₀), Bni bouyloul (S₁₁).

Pour la collecte des données sur le terrain, nous avons utilisé une fiche questionnaire adaptée (voir annexe 1), en particulier selon Khabbach et ses collaborateurs (2012) qui ont travaillé sur la Province de Taza, limitrophe à notre zone d'étude. Pour chaque station prospectée, un certain nombre de paramètres ont été retenus pour les interviewés (sexe et âge), les plantes utilisées (noms locaux et noms botaniques), les parties utilisées (feuille, racine, fleur...), les indications thérapeutiques correspondantes, les symptômes traités, et les modes de préparation des remèdes (décoction, infusion, macération...).

Dans le but d'avoir un inventaire floristique le plus complet possible des plantes médicinales de la Province de Guercif, nous avons mené un échantillonnage stratifié (Kahouadji, 1986), en se basant sur des descripteurs culturels et ethniques (Arabe et Amazigh) de la zone d'étude, et des descripteurs du milieu (climat, sol et végétation) pour situer les différentes stations d'enquêtes. Les plantes recensées et collectées, au niveau de la zone d'étude, ont été identifiées et herborisées (Laboratoire des Ressources naturelles et Environnement, Faculté Polydisciplinaire, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Taza) en utilisant des clés de détermination et les bases de données disponibles, (Quézel & Santa, 1962-1963 ; Valdés *et al.*, 2002 ; African Plant Database, 2016 ; Tela-botanica, 2016).

L'information ethnobotanique rassemblée a été inscrite sur 299 fiches de données brutes puis transférée dans une base de données, traitée et analysée.

II.1.3. Matériel végétal

II.1.3.1. Critères de sélection des plantes

Notre enquête ethnopharmacologique nous a permis de recueillir des informations importantes auprès des populations sur l'usage des différents modes des préparations traditionnelles et des parties de plantes utilisées. En plus, une recherche bibliographique approfondie a permis de sélectionner les espèces qui ont été peu ou pas étudiées auparavant. Ceci nous a conduit à sélectionner les plantes suivantes *Ruta montana*, *Achillea odorata* ssp. *pectinata*, *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*; tout en signalant que la plante *Micromeria graeca*, a été récoltée et collectée de façon indépendante des résultats de la prospection ethnopharmacologiques.

II.1.3.2. Collecte de la matière végétale

La récolte du matériel végétal des plantes sélectionnées, a été faite dans différentes stations de la Province de Taza, conformément aux normes scientifiques, qui visent la

conservation des ressources naturelles, souhaitant surtout assurer la régénération naturelle de ces plantes. Nous avons pris en considération fidèlement quelques principes de choix des sites de collecte et de l'identification botanique des plantes. Des directives de bonnes pratiques de collecte des plantes médicinales, relatives au matériel de collecte, aux conditions de collecte, au traitement post-collecte (triage, séchage) et normes de séchage, ont été développées par l'OMS en 2003 et par l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et le Fonds international de développement agricole (FIDA) en 2010 dans ce domaine ; (Lkhoumsi *et al.*, 2014) ; ainsi nous avons procédé à :

- Bien identifier la zone de collecte et éviter les zones à risque, notamment de ne pas collecter les plantes aromatiques et médicinales sur les versants exposés à l'érosion ; et ne revenir sur le même site qu'une seule fois par an ; en présence d'un spécialiste expérimenté, le Docteur Abdelmajid KHABBACH, pour reconnaître sur place la plante à collecter, et éviter le mélange des espèces, et en se renseignant sur quelques travaux antérieurs disponibles et qui présentent des monographies des espèces sélectionnées (Khabbach, 2013 ; Khabbach *et al.*, 2011, 2012 et 2014).
- Utiliser du matériel approprié et propre pour couper les plantes (sécateur), surtout ne jamais utiliser des sapes ou des pioches pour ce type de collecte, tout en évitant de blesser ou d'endommager les plantes.
- Se précautionner de ne jamais cueillir toutes les plantes d'une parcelle donnée. En effet, il faut tenir à ne pas collecter plus de 20% à 30% des individus sur l'étendue exploitée (parcelle) pour assurer la régénération de l'espèce.
- Respecter le stade optimal de collecte, dans notre cas récolte en début floraison car la matière collectée est destinée à la distillation (Huile Essentielle ou autres composés).
- Prendre en considération les taux de collecte recommandés en récoltant de faibles quantités de biomasse, tout en évitant l'arrachement de la plante entière, observant les conditions propices de collecte, et en ne collectant que les individus adultes.
- Ne pas collecter les espèces menacées et en danger.
- Rassembler séparément chaque espèce dans un récipient distinct.
- Procéder à un premier tri et nettoyage de la matière première (en éliminant toutes les espèces végétales autres que l'espèce recherchée, les pierres, les agrégats de sol, les plantes contaminées de la matière végétale récoltée, etc...), et à poser la matière à

sécher sur un support propre pas directement sur le sol pour éviter toute contamination, et ainsi altération de la qualité physico-chimique de la phytomasse collectée.

- Sécher la matière collectée à l'ombre, en effet un séchage rapide présente un risque de perte des huiles essentielles (Lkhoumsi *et al.*, 2014), néanmoins un séchage trop long pourrait développer des altérations microbiologiques (développement de bactéries et moisissures) au niveau de la matière à sécher.

II.1.4. Identification des plantes étudiées et préparation des extraits à tester

La grande partie des plantes spontanées de la flore recensée, dans cette étude, a été identifiée en se basant sur les flores disponibles, ou *in situ*, par le Dr Abdelmajid KHABBACH. Certaines espèces ont été déterminées et authentifiées par le botaniste, le Professeur Abdeslam ENNABILI après avoir eu recours à des investigations microscopiques.

II.1.4.1. Etude de la micromorphologie des parties aériennes des plantes par Microscope électronique à balayage (MEB)

Nous avons réalisé des observations par MEB des parties des plantes utilisées dans l'extraction des huiles essentielles dans le but de localiser et d'identifier avec grande précision les organes producteurs de ces produits volatiles. En effet après séchage des plantes, l'observation des parties aériennes a été réalisée à l'aide d'une microscopie électronique à balayage (MEB), Marque : FEI Company, Modèle : Quanta 200 équipé d'une sonde EDAX pour micro-analyse.

II.1.4.2. Extraction des huiles essentielles

Après séchage, l'extraction des huiles essentielles à partir des parties aériennes des plantes est réalisée par hydrodistillation en utilisant l'appareil de Clevenger. Afin d'étudier la cinétique des rendements en huile essentielle, les rendements sont calculés pendant 0h, 1h, 2h, 3h, 4h et 6h. Après leur récupération, les huiles essentielles ont été conservées à 4°C.

II.1.4.3. Extraction par macération

Une quantité de 100g de chaque plante a été macérée pendant une durée de 72h dans 1000ml d'eau distillée, de méthanol ou d'éthanol. Après filtration, les extraits méthanoliques et éthanoliques ont été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif tandis que les extraits aqueux ont été lyophilisés. Tous les extraits sont conservés par la suite à 4°C.

II.1.4.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huiles essentielles ou en extraits (R), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle ou extrait obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est calculé en utilisant la formule suivante :

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

R : rendement en huile essentielle ou en extrait de chaque plante étudiée;

M' : masse de l'huile essentielle ou de l'extrait obtenu en gramme;

M : masse de la partie utilisée en gramme et qui vaut 100 g.

II.2. Contribution à l'étude phytochimique des extraits des plantes

II.2.1. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par la Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse (CPG-MS) est une technique d'analyse qui permet de séparer les constituants d'un mélange dont la spectrométrie de masse associée permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien de les identifier.

La composition chimique des huiles essentielles des plantes *Ruta Montana*, *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq, *Tecurium Polium*, *Mentha Suaveolens*, *Micromeria graeca* et *Cistus Ladanifer* a été analysé à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett Packard modèle HP6890 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) équipé d'une colonne capillaire DB-5MS (30m x 0,25 mm id, épaisseur de film 0,25 µm, Agilent Technologies, USA) et couplé à un détecteur de masse sélective HP Modèle 5973. La température était initialement maintenue à 50 ° C, puis augmentée de 7 °C / min à 300°C. La température de l'injecteur était de 290°C. L'hélium purifié a été utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 1 ml / min, et le rapport de division était de 60: 1. Les spectres de masse ont été obtenus en mode EI à une énergie d'ionisation de 60 eV et la gamme de masse était de 35 à 400 m/z. Un échantillon de 10 µL de chaque huile essentielle dilué dans 990 µl d'hexane pur dont 1 µl a été injecté pour l'analyse. L'appareil a été géré par un système informatique de type "HP ChemStation Software" G1701BA version B.01.00 et les données ont été réécrites avec le même logiciel.

II.2.2. Identification des composés majoritaires

L'identification des composés a été effectuée par comparaison de leurs indices de Kovats (calculés par rapport aux temps de rétention d'une série d'alcane linéaires (C9-C31)) et leurs spectres de masse rapportés dans la littérature (Adams, 2005) et par correspondance informatique avec des bases de données de référence standard (NIST98, Wiley275 et CNRS).

II.2.3. Détermination quantitative des métabolites secondaires

II.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif de Folin-Ciocalteu selon Lister and Wilson (2001). Brièvement, un volume de 0,5 ml de l'échantillon est mélangé avec 2,5ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois dans le méthanol). Puis un volume de 4ml du carbonate de sodium (7,5% w/v) est ajouté. Le mélange est incubé par la suite dans un bain-marie pendant 30min à 45°C. L'absorbance est mesurée à 765nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé en utilisant la méthode colorimétrique décrite par Dewanto *et al.* (2002). En effet, 1ml de l'échantillon ou de *Rutine* est ajouté à 6,4ml d'eau distillée. Un volume de 0,3ml de NaNO₂ (5 %) est additionné, après 5 min, un volume de 0,3ml d'AlCl₃ (10 %) est ajouté. Le mélange a été laissé au repos pendant 6 min. Ensuite, 2ml de la soude (1M) a été ajouté. La solution a été bien mélangée et laissée au repos pendant 30 min. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde égale à 510 nm. Les résultats sont exprimés en *Rutine* équivalence par gramme d'extrait de plante (mg RE/g d'extrait de plante).

II.3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées

II.3.1. Les microorganismes testés

Les huiles essentielles, les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux, sont testés sur six souches bactériennes pathogènes pour l'Homme (Gram+, Gram-), ainsi que deux autres souches phytopathogènes et une levure. Ces microorganismes, préalablement conservées dans 20% de glycérol, sont revivifiées dans les milieux de culture décrits ci-dessous. Les différents microorganismes utilisés et leurs origines sont présentés dans le tableau I.

II.3.1.1. Milieux de cultures et conditions d'incubation

Les souches *Staphylococcus aureus* CECT 976 (SA), *Bacillus subtilis* DSM 6633 (BS), *Listeria innocua* CECT 4030 (LI), *Escherichia coli* K12 (EC), *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118 (PA) et *Proteus mirabilis* (PM), sont cultivées sur milieu solide Mueller-Hinton Agar (MHA) et sur milieu liquide Mueller-Hinton bouillant (MHB), les souches *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 (Cmm); *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* 2636-40 (PSS) et la levure *Candida albicans* ATCC 10231 (CA) sont cultivées sur le milieu solide LPGA et sur milieu liquide LPG (annexe 2).

Les souches sont incubées pendant les durées et aux températures suivantes :

- 24h à 37°C pour les souches SA, BS, LI, EC, PA, PM.
- 48h à 37°C pour la levure CA.
- 48h à 25°C pour la souche PSS.
- 72h à 25°C pour la souche Cmm.

II.3.1.2. Préparation des inoculums

Une à trois colonies de chaque microorganisme sont introduites dans un volume de 5ml d'eau physiologique (0,9%NaCl) stérile, les concentrations sont ajustées par spectrophotomètre à 10^6 UFC/ml pour les bactéries pathogènes pour l'Homme ; 10^8 UFC/ml pour la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 ; 10^5 spores/ml pour *Candida albicans* ATCC 10231 et 10^7 UFC/ml pour la souche *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* (PSS2636-40).

Tableau I: Les microorganismes utilisés et leurs origines

Les microorganismes		Origine
Les souches pathogènes pour l'Homme	<u>Gram (+) :</u> <i>Staphylococcus aureus</i> CECT 976 <i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633 <i>Listeria innocua</i> CECT 4030 <u>Gram (-) :</u> <i>Escherichia coli</i> K12 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CECT 118 <i>Proteus mirabilis</i>	Laboratoire de Biologie et Santé de la Faculté des sciences de Tétouan.
Les souches phytopathogènes	<i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> 1616-3 ; <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> (PSS2636-40)	Laboratoire de Phytobactériologie et Biocontrôle, INRA de Meknès
La Levure	<i>Candidat albicans</i> ATCC 10231	Laboratoire d'Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques de Settat

II.3.1.3. Les antibiotiques et les antifongiques utilisés (contrôle positif)

Pour les souches bactériennes, les disques d'antibiotiques *Gentamicine* 15µg et la *Vancomycine* 30µg (testées sur les souches pathogènes pour l'Homme) sont utilisés comme contrôle positifs pour les essais de diffusion par disque, la *Streptomycine* 25µg (testée sur les phytopathogènes), l'*Amphotericin* 10µg et le *Ketoconazole* 15µg (testés sur la levure).

II.3.1.4. La solubilisation des produits à tester

Les huiles essentielles, les extraits méthanoliques et éthanoliques sont solubilisés dans 10% DMSO alors que l'extrait aqueux est solubilisé dans l'eau distillée. L'activité antimicrobienne du DMSO a été préalablement testée à 10%, à ce pourcentage il est sans effet sur la croissance des souches microbiennes testées.

II.3.2. Méthodes microbiologiques

II.2.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion par disque

Cette technique, reconnue comme fiable et reproductible, permet d'évaluer qualitativement l'activité antimicrobienne des extraits de plantes (Huiles essentielles et

extraits dans différents solvants). Nous avons appliqué cette méthode décrite par Kelen et Tepe (2008), avec quelques modifications (figure 18). Brièvement, cette méthode consiste à déposer des disques stériles sur un tapis microbien ensemencé sur le milieu adéquat de chaque souche, ces disques sont chargés avec un volume de 12,5µl de l'huile essentielle pure et de 20µl d'une concentration des extraits organiques à tester de l'ordre de 60mg/ml.

Après avoir laissé la diffusion des produits à tester dans les milieux gélosés pour une durée de 2 heures à température ambiante du laboratoire, les boîtes de pétri sont incubées dans les conditions décrites ci-dessus. Après l'incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo autour du disque, dont le diamètre de la zone d'inhibition, exprimé en mm, est mesuré (y compris le diamètre de disque de 6mm, figure 18).

Des répétitions de trois boîtes de Pétri par produits testés a été réalisée.

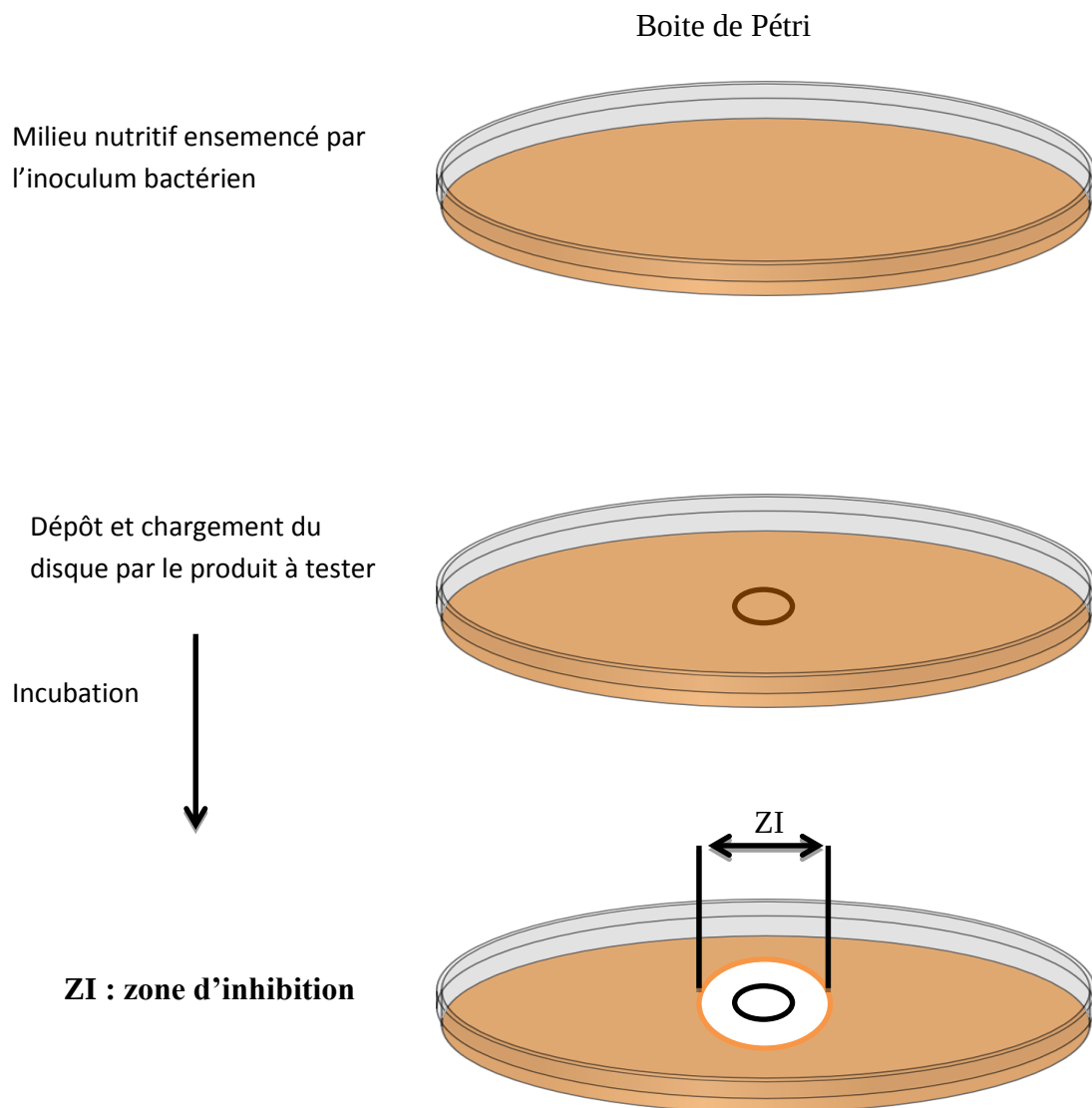


Figure 18 : Illustration de la technique de diffusion en disque

II.3.2.2. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de microplaque (MTT-assay)

C'est la méthode quantitative qui permet de tester l'efficacité des huiles essentielles et des extraits de plantes en déterminant la CMI correspondante. Cette dernière est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance des microorganismes.

La détermination des CMI des huiles essentielles et des extraits a été réalisée seulement pour les extraits jugés très actifs et dont la zone d'inhibition est supérieure ou égale à 15mm (Ponce *et al.*, 2003). Cette technique a été réalisée selon le protocole de Gulluce *et al.* (2007), avec quelques modifications (figure 19). Brièvement, le milieu de culture préconisé pour cette technique est MHB pour les bactéries pathogènes à l'Homme et LPG pour les bactéries phytopathogènes et la levure. Un inoculum est préparé à partir d'une culture jeune (18h) de chaque souche microbienne en boîte de pétri sur milieu MHA ou LPGA. La concentration microbienne de cet inoculum est ajustée comme décrite ci-dessus. Un volume de 100µl de MHB et LPG est distribué dans chaque puits de la microplaque à l'exception du puits n°1 dans lequel nous déposons un volume de 200µL contenant une concentration en produit à tester de 25mg/ml dans DMSO 10%. Ensuite, une dilution successive de demi en demi est réalisée en passant 100µl du premier puits au deuxième puis au troisième, du troisième au quatrième et ainsi de suite jusqu'au puits n°9. Les concentrations finales de la gamme ainsi générée sont comprises entre 25 et 0,097 mg/ml. Les 100µl du dernier puits (N°9) sont éliminés. Les puits n°11 et n°12 servent comme contrôle de la croissance et de l'effet de DMSO 10%. Enfin, Un volume de 10µl de la suspension microbienne est ajouté à chaque puits à l'exception du puits n°10 qui est considéré comme puits contrôle de la stérilité (Figure 18). Les plaques ont été scellées et placées dans une étuve pour des durées et aux températures déjà indiquées ci-dessus. Après l'incubation un volume de 25µL d'un indicateur de croissance ou de viabilité des microorganismes est ajouté dans chaque puits, il s'agit du Tétrazolium [MTT: 3-(4,5- diméthylthiazol)-2-yl-2,5-diphenyltétrazolium bromide (Sigma)] préparé à une concentration de 0,5 mg/ml dans de l'eau distillée stérile. La microplaque est réincubée et les puits où une croissance a eu lieu présentent une couleur bleue violette.

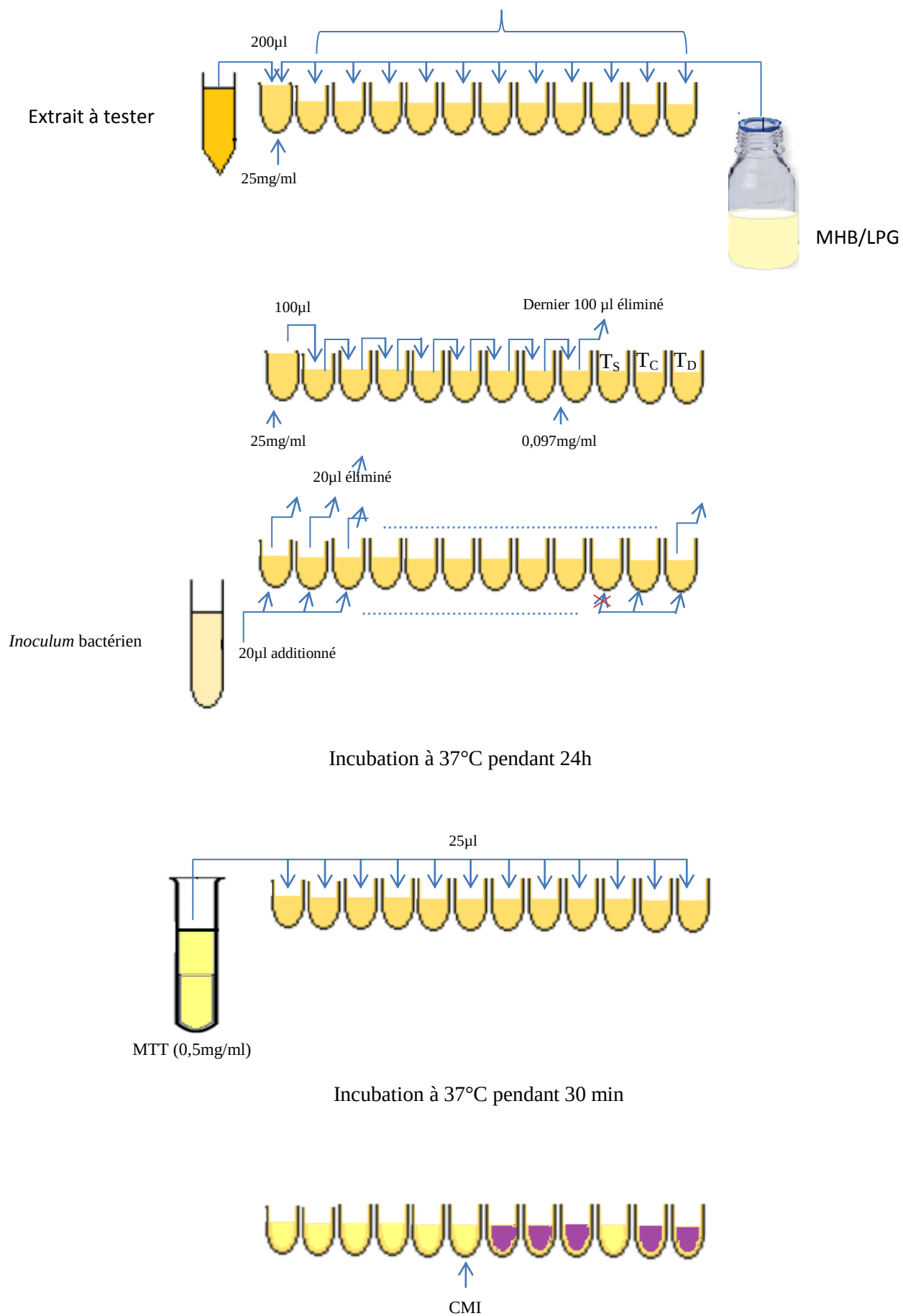


Figure 19 : Illustration de la méthode de la détermination de la concentration minimale inhibitrice

II.3.2.3. La détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) et des concentrations minimales fongicides (CMF)

Les CMB et CMF sont déterminées en étalant 20 μ l, prélevés à partir des puits n'ayant montré aucune croissance microbienne visible, sur milieu de culture MHA ou LPGA (voir figure 20).

Après l'incubation des boîtes, la CMB et la CMF correspondent à la plus faible concentration en produit testé capable de tuer plus de 99,9 % de l'*inoculum* microbien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle déduit l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une huile essentielle ou de l'extrait par les différents solvants.

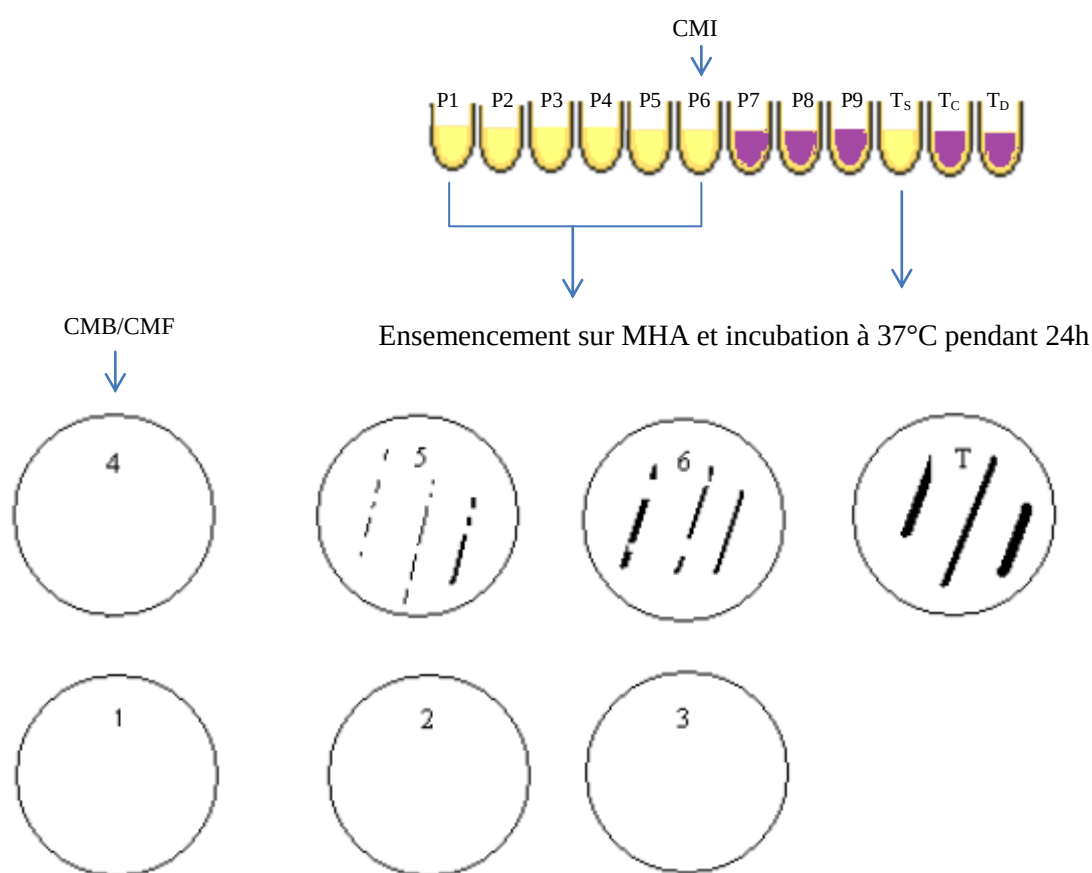


Figure 20: Illustration de la méthode de la détermination de la Concentration Minimale Bactéricide et de la Concentration Minimale Fongicides

II.4. Activité antioxydante

II.4.1. Activité de piégeage du radical DPPH

Le DPPH* (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable à température ordinaire, il est de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés antioxydants, tel que les polyphénols, le radical DPPH* est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les

absorbances mesurées à 517 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS, servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH*, qui est proportionnel au pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon (Bo Huang *et al.*, 2011).

Le protocole adopté dans notre travail est celui de Bo Huang (2011) avec quelques modifications. Une solution de DPPH* à 0,2mM est préparée dans le méthanol. Un volume de 2.5ml du produit testé à différentes concentrations (2.5µg/ml et 100µg/ml) est mélangé avec 0,5ml de solution DPPH*, après agitation, à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 517nm.

L'acide ascorbique, le Trolox et le L'hydroxytoluène butylé (BHT) sont utilisés comme contrôles positifs.

Le calcul de l'activité antioxydante se fait selon la formule :

$$\text{AAR \%} = [(\text{Abs Control négatif} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs Control négatif}] \times 100$$

Où : - AAR : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%)

- Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon

- Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif

II.4.2. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'un produit est lié à son effet antioxydant. L'activité réductrice des extraits des plantes médicinales est déterminée selon la méthode d'Oyaizu (1986), basée sur le pouvoir réducteur du Fe^{3+} en Fe^{2+} . Un ml de l'échantillon à tester est mélangé avec 2,5ml de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 2,5ml de ferricyanure de potassium. Le mélange est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, 2.5mL de l'acide trichloracétique (10%) est ajouté afin de stopper la réaction. Par la suite, la solution est centrifugée pendant 10min à 3000Trs/min. 2,5 ml du surnageant est mélangé avec 2.5ml de l'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique 0,1%. L'absorbance est mesurée à 700nm. L'acide ascorbique est utilisé comme référence pour tracer la courbe d'étalonnage avec une gamme de concentration entre 50µg/ml et 450µg/ml.

Le pouvoir réducteur est exprimé en milligrammeéquivalence d'acide ascorbique (mg AAE/g HE ou Extrait).

II.5. Tests de bioconservation

II.5.1. Etude de la toxicité aiguë de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*

Nous avons choisi de réaliser une étude de la toxicité aiguë de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*, cette étude se révèle nécessaire pour déterminer le niveau de la toxicité de cette huile essentielle. La méthode de la toxicité choisie est celle de la classe de toxicité aiguë décrite dans la ligne Directrice code 423. Il s'agit d'une méthode qui consiste à une utilisation des animaux d'un seul sexe, un suivi de la mortalité et/ou de l'état moribond des animaux. En plus d'une utilisation minimale d'animaux, cette méthode permet de classer les substances selon leur ordre de toxicité.

L'expérience est effectuée sur des souris (n=6) ayant un poids corporel entre 20 et 30 g, ces souris sont mises à jeun 24h avant l'administration par voie orale de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* à l'aide d'une sonde gastrique à la dose maximale de 2 g/kg (OCDE), à raison de 0,5ml par 20g de poids corporel de souris. Les souris traitées sont gardées en observation pendant 14 jours.

Une fiche individuelle étant établie pour chaque animal afin d'observer et de noter toute modification au niveau de poids, le taux de mortalité et toutes modifications physiques et comportementales.

II.5.2. Modèles de bioconservation alimentaires utilisés

Nous avons choisi de tester l'effet protecteur de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* ssp. *pectinata*, qui a montré un pouvoir antimicrobien remarquable, sur deux modèles alimentaires, ces deux modèles sont préparés selon Catherine *et al.*, (2012).

II.5.2.1. Modèle des choux (Cabbage food model system)

Le chou acheté du supermarché local de Taza, a été découpé en morceaux fins est mixé avec l'eau distillée (1:2, w/v). Le pH du jus a été ajusté à 7,2 puis un volume de 50ml est introduit dans des flacons de 250ml qui seront stérilisés par la suite. Après refroidissement, l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* ssp. *pectinata* est ajoutée avec deux concentrations (CMI, 4CMI), ainsi le jus sera inoculé séparément avec une concentration égale à 10^6 UFC/ml des deux souches *Bacillus subtilis* DSM 6633 et *Proteus mirabilis*. Les flacons sont incubés pendant 28 jours à une température de 37°C.

II.5.2.2. Model de l'orge (Barley food model system)

La soupe de l'orge a été préparée en mixant la poudre de l'orge avec l'eau distillée (10%, w/v), le pH est ajusté à 5,6. La soupe est distribuée avec un volume de 50ml dans des flacons de 250 ml, après la stérilisation et le refroidissement de la soupe deux concentrations de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* sont ajoutées (CMI, 4CMI) à la soupe d'orge, puis celle-ci a été inoculée par une concentration de 10^6 UFC/ml des deux souches *Bacillus subtilis* DSM 6633 et *Proteus mirabilis*. Les flacons sont incubés pendant 28 jours à une température de 37°C.

II.5.2.3. Analyse microbiologique

Les souches *Bacillus subtilis* DSM 6633 et de *Proteus mirabilis* sont dénombrées sur milieu Plate count Agar, après 1 jours, 3 jours, 5 jours, 7 jours, 14 jours, 21 jours et 28 jours d'incubation à 37°C. Les résultats sont exprimés en log UFC/ml.

II.6. La lutte contre l'agent pathogène de la tomate : *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*

II.6.1. Les extraits testés

Nos résultats de l'activité antibactérienne des extraits des six plantes contre la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, nous ont permis de sélectionner les extraits qui ont montré la plus importante activité antimicrobienne *in vitro*. En effet, les extraits choisis sont huiles essentielles de *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* et de *Mentha suaveolens*, ainsi que les extraits méthanoliques et éthanolique des plantes *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* et *Achillea odorata* ssp. *pectinata*. Tous les extraits sont testés à des concentrations correspondantes à CMI et à 4CMI.

II.6.2. Désinfection des graines de tomate

Les semences de tomate de la variété Campbell 33 ont été désinfectées par trempage pendant 3 min dans une solution d'hypochlorite de sodium 3% pendant 3min. Les semences, ainsi désinfectées, sont lavées quatre fois avec de l'eau distillée stérile. Elles sont ensuite séchées à température ambiante sous une hotte à flux laminaire pendant 12 h.

II.6.3. Inoculation des semences de la tomate

Les semences de tomate de la variété Campbell 33, désinfectées préalablement, ont été inoculées par la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* comme décrit par Kotan *et al.* (2014), avec quelques modifications. En effet, les semences sont mélangées avec

la suspension bactérienne, ajustée à 10^8 UFC/ml, additionnée de 2% de sucre (en raison d'un gramme de semences par 10 ml du mélange). Le mélange est mis sous agitation 80tr/min pendant 2h à 25°C. Les semences sont ensuite séchées sous une hotte à flux laminaire pendant une nuit.

II.6.4. Effet du traitement des semences par les extraits sur la population de l'agent pathogène

Les semences inoculées ont été trempées dans les extraits choisis (CMI et 4CMI) à raison de 20 graines par extrait et le mélange est laissé sous agitation pendant une heure. Après séchage, des échantillons de 6 semences par traitement sont pris au hasard pour le dénombrement de l'agent pathogène. Par la suite les semences ont été mises dans le tampon phosphaté salin (PBS) sous agitation pendant 20 min. Le dénombrement, par dilution, du nombre de la population de la souche *Cmm* a été réalisé sur le milieu LPGa après 72h à 25°C. Trois répétitions sont réalisées pour chaque extrait. Un témoin est réalisé de la même manière avec des semences inoculées et non traitées par les extraits des plantes. Les résultats du dénombrement sont exprimés en log UFC par graine.

II.6.5. Effet des traitements par les extraits sur la germination des semences inoculées par *Cmm*

Un échantillon de 6 semences correspondant à chaque traitement a été déposé dans des boîtes de pétri contenant un papier filtre stérile. Un volume de 10ml d'eau distillée stérile est ajouté à chaque boîte de pétri, les boîtes sont fermées à l'aide d'un parafilm pour éviter l'évaporation de l'eau. Puis elles sont incubées dans l'étuve pendant deux semaines à une température de 25°C.

Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions avec des semences inoculées et non traitées. De même des tests négatifs sont réalisés pour vérifier la présence ou l'absence d'un éventuel effet négatif des extraits de plantes et de DMSO-10% sur le pouvoir germinatif des semences de tomate. Trois répétitions sont réalisées pour chaque traitement. Le pourcentage de germination est déterminé en calculant le nombre des semences qui ont germé pour chaque traitement.

II.6.6. Etude du pouvoir protecteur de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* contre le chancre de la tomate

Nous avons utilisé dans ce test des plantules d'un mois, issues de la germination des semences de la tomate de la variété Campbell 33. Les plantules sont mises en culture dans des bassines contenant un mélange stérile du sol/tourbe (2/1), 15 plantules de même taille sont

choisies pour ce test. Nous avons constitué 3 lots: un lot négatif, un lot témoin positif et un lot de test de la concentration de 4CMI de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer*. L'expérience est répétée trois fois avec cinq plantules par lot.

Témoin positif : témoin inoculé par la suspension bactérienne du *Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis* (10^8 UFC/ml) sans traitement.

Témoin négatif : témoin sain, n'a subi aucun traitement ni infection.

Lot test : traité séparément deux fois (avant 2 et 4 jours d'inoculation) par la concentration 4CMI d'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer*, les plantules sont inoculées par trempage des racines dans une suspension bactérienne du *Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis* (10^8 UFC/ml) pendant 20min, puis elles sont remises dans leurs bassines.

L'évaluation des symptômes est réalisée chaque semaine pendant un mois. L'estimation de l'incidence de la maladie (IM) ainsi que de la réduction de cette incidence (RI) par les traitements est faite en calculant le pourcentage des plantes avec symptômes dans chaque expérience en adoptant les formules suivantes:

$$\text{IM (\%)} = (\text{nombre de plantes avec symptôme} / \text{nombre total des plantes}) \times 100$$

$$\text{RI (\%)} = [(\text{IM témoin} - \text{IM traitement}) / \text{IM témoin}] \times 100$$

II.5.7. Analyse statistique

Toutes les données ont été analysées par one-way ANOVA en utilisant le GraphPadprism version 6. Les moyennes sont comparées par le test Tukey $P < 0,05$. Les données des activités antimicrobiennes, des activités antioxydantes, et des dosages des phénols et des flavonoïdes sont des moyennes de trois répétitions $\pm$ SD.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre 1. Prospection ethnopharmacologique des plantes médicinales de la Province de Guercif (Nord-Est du Maroc)

I.1. Interviewés

I.1.1. Age

L'analyse des données recueillies lors de la prospection ethnopharmacologique montre qu'à l'échelle de la Province de Guercif, la fréquence d'utilisation des plantes médicinales par les interviewés âgés de [41-50 ans] est de 25,75% (15,05% chez les femmes et 10,7% chez hommes) (Figure 21). Cette classe d'âges est suivie par celle [31-40] avec une fréquence d'utilisation de 24,41% (12,04% chez les femmes et 12,37% chez hommes) ; viennent ensuite les tranches d'âges [>60] et [51-60], respectivement, avec des fréquences d'utilisation 22,73% et 22,4%. Enfin, la faible fréquence d'usage des plantes médicinales est observées chez les interviewés plus jeunes (<30 ans).

Les personnes les plus âgées ont alors plus de connaissances relatives aux plantes médicinales et à leurs utilisations, en comparaison avec la classe d'âges jeunes. Ce qui présente un danger pour la conservation du savoir-faire local, comme il a été rapporté par des travaux antérieurs (Ennabili *et al.*, 2000 ; Mehdioui et Kahouadji, 2007).

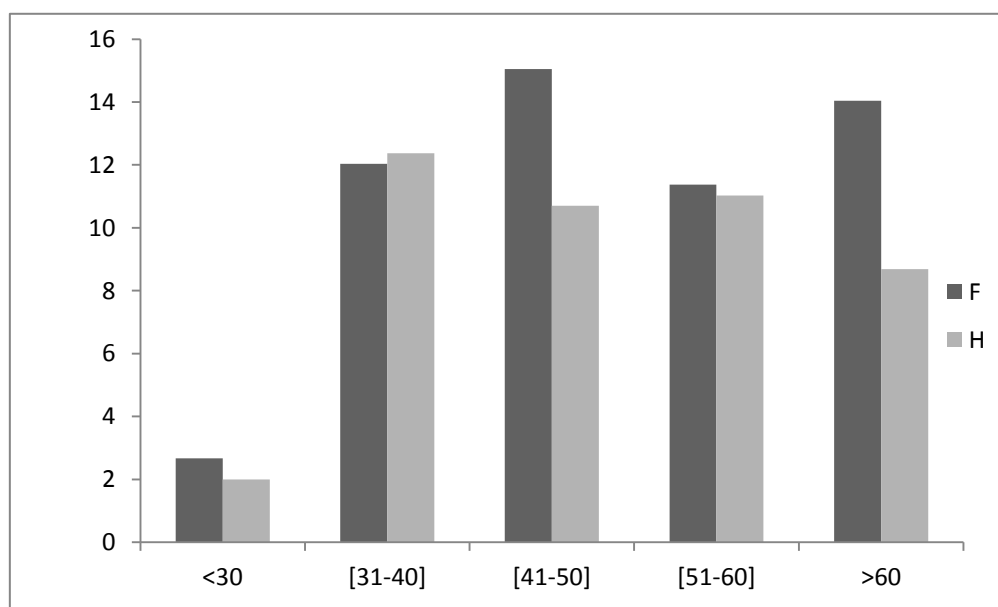


Figure 21. Répartition des fréquences des enquêtés selon les tranches d'âge. F, femmes ; H, hommes.

I.1.2. Sexe

Dans la Province de Guercif, aussi bien les hommes que les femmes sont concernés par la médecine traditionnelle; cependant, les femmes s'y intéressent plus (55 % contre 45 %), comme il a été montré par des études antérieures (Ziyyat *et al.*, 1997 ; Jouad *et al.*, 2001 ; El Mansouri *et al.*, 2011 ; Khabbach *et al.*, 2012). Cela pourrait être due à ce que les femmes se chargent du séchage, du stockage et de la préparation des recettes pour les soins des membres de la famille (Jouad *et al.*, 2001).

I.2. Flore médicinale

I.2.1. Diversité

Le tableau II montre que la population de la Province de Guercif recourt à une centaine d'espèces, appartenant à 49 familles botaniques, pour ses remèdes quotidiennes. Les familles les plus représentées sont les *Lamiaceae* (32,8%), les *Asteraceae* (10,1%), les *Apiaceae* (5,33%), les *Poaceae* (4,6%), les *Fabaceae* (3,73%), les *Myrtaceae* (3,5%), les *Chenopodiaceae* (3,15%). Les autres familles restantes ne comptent qu'une ou deux espèces chacune (Tableau II). En effet, des études à l'échelle nationale ont montré que la flore utilisée en médecine traditionnelle est dominée en général par les *Lamiaceae* et les *Asteraceae* (Ennabili *et al.*, 2000 et 2006; Hsein *et al.*, 2007; Mehdioui & Kahoudji, 2007; El Mansouri *et al.*, 2011 ; Khabbach *et al.*, 2012). Entre autres, des études réalisées à la péninsule ibérique ont montré aussi que ces deux familles botaniques sont parmi celles les plus exploitées (Novais *et al.*, 2004 ; Parada *et al.*, 2009). La flore médicinale utilisée par la population locale comprend la flore spontanée (56%), la flore cultivée (15%), alors que 29% est constituée de la biomasse de plantes importée et commercialisée dans la zone d'étude ; nous rencontrons par ailleurs cette même distribution dans des zones voisines (Khabbach *et al.*, 2012 ; El-Hilaly *et al.*, 2003).

Tableau II. Liste synoptique d'utilisations traditionnelles des espèces de plantes inventoriées dans la Province de Guercif.

Noms vernaculaires	Taxon	Usage traditionnel	Partie utilisée	Mode de préparation	Type/ Origine	Fréquence (%)
Lamiaceae						32,8
Azir, Yazir	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Pr/Di ; Cos ; Di	PA	M ; H.E (Cos)	SP	6,4
Zaâtar/sahtar	<i>Origanum spp.</i>	Gri ; Di ; CA ; D/IN	Fe	I ; D (miel cas CA)	SP	5,47
Zaîtra	<i>Thymus spp.</i>	Di ; Pr/Di	Fe	D	SP	3,23
Fliou	<i>Mentha pulegium L.</i>	Gri ; Fié.	PA	I ; D	SP	2,97
Lhalhal/ lkhzama	<i>Lavandula spp.</i>	Diu ; Do/Ré	Fe	I ; D	IM/CO	2,57
Mchichtro	<i>Mentha suaveolens Ehrh.</i>	Fié ; Gri; G/IN	PA	I ; D	SP	2,17
Chendgora	<i>Ajuga iva (L.) Schreb</i>	CA	PE	D	SP	1,65
Mardadouch	<i>Origanum majorana L.</i>	Gri ; Fié ; HTA ; All	Fe	D ; I	IM/CO	1,65
Salmia	<i>Salvia Officinalis L.</i>	Di ; D/IN	PA	I	SP/CU	1,32
Marriwa	<i>Marrubium vulgare L.</i>	Di ; CA; IN/D.	PA	D ; I	SP	1,25
Sahtar	<i>Origanum spp.</i>	Pr/Di ; D/IN	Fe	I ; H.E	SP	1,25
Manta	<i>Calamintha sylvatica Bromf.</i>	Gri; Fié	PA	I	SP	1,18
Jaâda	<i>Teucrium polium L.</i>	Ble	Ra	P	SP	1
Naânaâ	<i>Mentha spicata L.</i>	Mas	Fe	H.E	CU	0,39
Lahbak	<i>Ocimum basilicum L.</i>	Ant/M	PE	Cu/po	CU	0,26
Asteraceae						10,1
Chih	<i>Artemisia herba-alba Asso.</i>	Di ; Fié ; Gri	PA	I	SP	3,63
Bagraman	<i>Dittrichia viscosa (L.) Greuter</i>	Fié ; Di ; Cicc ; Pr/Di	Fe	D	SP	2,17
Babounje	<i>Chamaemelum fuscatum (Brot.) Vasc.</i>	So/Ch ; Diu ; D/IN	FL	D	SP	1,71
Chiba	<i>Artemisia absinthium L.</i>	Di	Fe	D ; I	CU	1
Tenghila	<i>Centaurea calcitrapa L.</i>	Pr/Di ; An	EP	P	SP	0,46
Lâasfour	<i>Carlina lanata L.</i>	So/Ch ; Pr/Di	FL ; EP	I ; P (EP)	SP	0,39
Chwiha	<i>Achillea odorata L.</i>	RH ; D/IN	Fe ; PA	D ; I	SP	0,33
Lhek	<i>Cynara cardunculus L.</i>	Dia	FL	D	SP	0,19

Addad	<i>Atractylis gummifera L.</i>	Fa/Acc ; acné	Ra	D à Fa/do	SP	0,19
Apiaceae						5,33
Bouchnikha	<i>Visnaga daucoides Gaertn.</i>	CA ; Di ; Diu ; IN/D	Fr	D	SP	2,31
Nafaâ,basbas/ chmar	<i>Anethum foeniculum L.</i>	Di ; Am/Vi; D/IN	Fr	D	SP	1,12
Habat Hlawat	<i>Pimpinella anisum L.</i>	All ; In/Fé,	Gr,	I / D	IM/CO	0,72
Lkamoune	<i>Cuminum cyminum L.</i>	G/IN ; Di	Fe	D	IM/CO	0,59
Nounkha	<i>Ammoides pusilla (Brot.) Breistr.</i>	Diu ; IN/D	PA	I	SP	0,49
Lkraffus	<i>Apium graveolens ssp. dulce (Mill.) Schübl. & G. Martens</i>	Ca/Ré ; Diu	Gr	I ; D	CU	0,13
Poaceae						4,6
Illane	<i>Cenchrus spicatus (L.) Cav.</i>	Fra ; Pr/Di	Gr	I ; D ; P	IM/CO	2,24
Njem	<i>Cynodon dactylon L.</i>	Di	Ra	D	SP	0,66
Bachna	<i>Phalaris canariensis L.</i>	D/IN	Gr	D ; Al	IM/CO	0,59
Zouan	<i>Phalaris paradoxa L.</i>	Asthme	Gr	P	IM/CO	0,46
Dra	<i>Zea mays L.</i>	Diu ; D/IN	soies (INF/fe)	D	CU	0,39
El khortale	<i>Avena sativa L.</i>	Di ; HTA ; Cho	Gr	I ; P	CU	0,26
Fabaceae						3,73
Lhalba	<i>Trigonella foenum-graecum L.</i>	Di ; CA ; Pe/AP	Gr	M	IM/CO	2,04
Slaighwa, lkharoube	<i>Ceratonia siliqua L.</i>	An ; D/ES	Fr	P (miel)	SP	1,05
Arq sous	<i>Glycyrrhiza glabra L.</i>	All ; D/IN	Ra	P ; I ; D	IM/CO	0,33
Assoja	<i>Glycine max (L.) Merr.</i>	Mus	Gr	D ; P	IM/CO	0,19
Kerssana	<i>Vicia ervilia (L.) willd.</i>	Di	Gr	M	CU	0,06
Termas	<i>Lupinus albus L.</i>	Di	Gr	M	IM/CO	0,06
Myrtaceae						3,5
Raihan	<i>Myrtus communis L.</i>	Di ; Diu ; Ga/In	Fe	I ; D	IM/CO	1,78
Qoronfoul	<i>Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M.Perry</i>	HTA ; Di ; IN/D	Gr	P ; I	IM/CO	1
Kalitous	<i>Eucalyptus spp.</i>	Mig ; Di	Fe	In (Mig) ; D (Di)	SP	0,72

Chenopodiaceae						3,15
Mkhinza	<i>Chenopodium ambrosioides L.</i>	Di ; Fié.	FL	I	SP	1,51
Remt	<i>Hammada scoparia (Pomel) Iljin</i>	INT ; Di ; CA	PA	I	SP	1,51
Chejra li maydiha rih	<i>Fredolia aretioides Coss. & Dur.</i>	Ant ; Di ; Diu	PA	I	IM/CO	1,13
Thymelaeaceae						2,97
Lazaze	<i>Daphne gnidium L.</i>	INT	Fe	D ; I	SP	1,65
Lmatnane	<i>Thymelaea hirsuta (L.) Endl.</i>	Di ; INT	Fe	I ; P	SP	1,32
Ranunculaceae						2,96
Sanouj/lhaba sawda	<i>Nigella sativa L.</i>	Di ; CA ; toux ; All	Gr	M ; P	IM/CO	2,77
Oudan Lhalouf	<i>Ranunculus bullatus L.</i>	Gri ; TR/RM	Ra	D	IM	0,19
Aristolochiaceae						2,31
Hantal/ berztem	<i>Aristolochia fontanesii Boiss. & Reut.</i>	CA	Ra	P (miel)	SP	2,31
Zygophyllaceae						2,23
Harmal	<i>Peganum harmala L.</i>	CA ; Di	Gr	P ; I	SP	1,84
Aggaya	<i>Tetraena alba (L. f.) Beier & Thulin</i>	INT ; Di	TI	I	IM/CO	0,39
Apocynaceae						2,04
Defla	<i>Nerium oleander L.</i>	Di ; CA	Fe	I ; D ; M	SP	2,04
Oleaceae						1,85
Zitoune	<i>Olea europaea L. ssp. europaea</i>	Di ; HTA ; hypo Cho	Fe	I	CU	1
Zebouj,zitoun lbari	<i>Olea europaea L. ssp. europaea var. silvestris (Mill.) Lehr</i>	Di	Fe	D	SP	0,85
Linaceae						1,45
Lktan	<i>Linum usitatissimum L.</i>	Di ; Cho ; All.	Gr	I ; P (miel)	IM/CO	1,45
Brassicaceae						1,38
Hab Rchad	<i>Lepidium sativum L.</i>	Di ; toux ; D/IN ; Di ; Pn	Gr	D	IM/CO	0,25
Laft Lmahfour	<i>Brassica rapa L.</i>	Fié	Gr	D	CU	0,13

Caryophyllaceae						1,37
Taghicht	<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke	DG/Pb	RT	P	SPT	0,85
Serghina / tasrghint	<i>Corrigiola telephiifolia</i> Pourr.	CA	Ra	I ; D	SP	0,52
Urticaceae						1,32
Harriga lharcha	<i>Urtica dioica</i> L.	Di ; RH ; HTA	Fe	I ; P	SP	0,66
Harriga Malssa	<i>Urtica urens</i> L.	Di ; RH ; HTA	Fe	I	SP	0,66
Zingiberaceae						1,25
Zanjabil,	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	HTA ; Di ; Pr/Di	Ra	P	IM/CO	1,25
Burseraceae						1,19
Loubane dacare	<i>Boswellia sacra</i> Flueck.	Di	Gr	I	IM/CO	1
Salabane	<i>Boswellia</i> spp.	Di	Gr	D	SP ; IM/CO	0,19
Cistaceae						1,18
Touzalt	<i>Cistus ladanifer</i> L.	Lo/Lib	Lv ; Sd	I	SPT	1,18
Alliaceae						1,18
Touma	<i>Allium sativum</i> L.	HTA; Di ; Gri ; Ant	PU	D ; H.E	CU ; IM/CO	0,72
Lbassla	<i>Allium cepa</i> L.	Ga/In	PU	D	CU	0,46
Euphorbiaceae						1
Daghmous	<i>Euphorbia resinife</i> O.Berg	CA ; Di ; Kyste	PA	P	SP	1
Rutaceae						1
Fidjl,Aouremi	<i>Ruta montana</i> (L.) L.	Di ; HTA ; RH	PA ; Gr	D ; I ; P (Gr)	SP	1
Punicaceae						0,92
Roman	<i>Punica granatum</i> L.	CA ; D/ES	EC de Fr	D	CU	0,92
Rosaceae						0,79
Louz	<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A.Webb.	PR/SP	Fr	Al	CU	0,79
Anacardiaceae						0,79
Dro/Tro	<i>Pistacia lentiscus</i> L.	CA	TI ; Fe	D	SP	0,79
Illecebraceae						0,73
Harras	<i>Herniaria hirsuta</i> L.	Diu ; Do/Ré	Fe	D	SP	0,73

lhajar/lkhyata						
Cupressaceae						0,72
Lârâar	<i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl) Mast.	Di ; CA; Mig, ; Int/Sw	Lv	D ; I ; In	SPT	0,72
Cactaceae						0,72
Lhandia	<i>Opuntia maxima</i> Miller	Kyste ; RH	Fr ; Fe	Al ; H.E	SP	0,72
Papaveraceae						0,59
Bellaâmane	<i>Papaver rhoeas</i> L.	RH ; D/IN	Cap/Lk	I	SP	0,59
Polygonaceae						0,59
Homaida	<i>Rumex palustris</i> Sm.	Di	Fe	D	SP	0,59
Asparagaceae						0,52
Sekum	<i>Asparagus</i> spp.	Di	RT	I	SPT	0,52
Capparaceae						0,52
Lkbar	<i>Capparis spinosa</i> L.	Di ; RH ; D/ES	Fr	D ; P	SP	0,52
Plantaginaceae						0,33
Messaça	<i>Plantago major</i> L.	Inf/Cu ; Cic	Fe	Ap/Ex/Di	SP	0,33
Rubiaceae						0,33
El foua	<i>Rubia tinctorum</i> L.	An	Ra	D	SP	0,33
Areaceae						0,33
Tamer	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Dia	Fr	Jus (lait)	IM/CO	0,33
Aloaceae						0,33
Sibr	<i>Aloe ferox</i> Mill.	Di	Gr	P	IM/CO	0,33
Cucurbitaceae						0,33
Handal, Hdejja	<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Di ; CA	Fr	I ; P (miel)	SP	0,33
Agavaceae						0,19
Sabra (sabare)	<i>Agave sisalana</i> Perrine	teigne	Fe	Ex/Li	SP	0,19
Moraceae						0,19
Lkarmous ; chriha	<i>Ficus carica</i> L.	D/ES	Fr	Al	CU	0,19
Rhamnaceae						0,19
Sadra	<i>Ziziphus lotus</i> (L.) Lam.	Di ; D/IN	Ra	M	SP	0,19
Solanaceae						0,19
Khodanjel (Bodanjel)	<i>Solanum melongena</i> L.	Gri ; G/IN	Ra	I	IM/CO	0,19
Globulariaceae						0,19

Ain Larnab	<i>Globularia alypum L.</i>	Di	Fe	D	SP	0,19
Hyacinthaceae						0,13
Gargaât tib (dib)	<i>Drimia maritima (L.) Stearn</i>	Calmant ; Gri	Fr	P	SP	0,13
Juglandaceae						0,13
Lgargaâ	<i>Juglans regia L.</i>	PR/SP	Fr	Al	IM/CO	0,13
Fagaceae						0,06
Lbalout	<i>Quercus ilex L.</i>	Di	EC de Fr	D	SP	0,06
Gentianaceae						0,06
Gassat Lhaya	<i>Centaureum erythraea Rafn</i>	Di	PA	I	IM/CO	0,06
Cannabaceae						0,06
El kife	<i>Cannabis sativa L.</i>	CA ; So/Ch	Gr	I	IM/CO	0,06
Ericaceae						0,06
Sasnou	<i>Arbutus unedo L.</i>	Di ; Diu	Fe	D	IM/CO	0,066

Légende : Al, alimentation ; All, allergie ; Am/Vi, amélioration de la vision ; An, anémie ; Ant, antidote ; Ant/M, anti-moustiques ; Ap/Ex/Di, application externe direct. Bai/Li, baisse de libido ; Ble, blessures ; CA, cancer ; Ca/Ré, calculs rénaux (lithiase rénale) ; Cap/lk, capsule (Lkbala) ; Cho, Pcholestérol ; Cic, cicatrisante ; Cos, cosmétique ; Cu/Po, culture en pot ; CU, Cultivée ; D, décoction ; D/ES, douleurs stomacales ; D/IN, douleurs intestinales ; Di, diabète ; Dia, diarrhée ; Diu, diurétique ; Do/Ré, douleurs rénales ; EC, écorce ; EP, épines ; Ex/Li, extraction du liquide ; Fa/Acc, facilite l'accouchement ; Fa/Do, faible dose ; Fe, feuilles ; Fié, fièvre ; FL, fleurs ; Fr, fruits ; Fra, fracture ; G/IN, gonflement intestinal (syndrome de l'intestin irritable) ; Ga/In, gastro-intestinal ; Gr, graines ; Gri, grippe ; H.E, Huiles essentielles ; HTA, hypertension artérielle ; I, infusion ; ; IM/CO, importée et commercialisée ; In, inhalation ; IN/D, infection dentaire ; In/Fé, infertilité féminine ; INF/fe, inflorescences femelles ; Inf/Cu, infection cutanée ; INT, intoxication

(toukal) ; M, macération ; Mas, massage ; Mig, migraine ; Mus, musculation ; P, poudre ; PA, partie aérienne ; PE, plante entière ; Pe/AP, Perte de l'appétit ; Pn, pneumonie ; Pr/Di, problèmes digestifs ; PR/SP, production de sperme ; PU, pulpe ; Ra, racines ; RH, rhumatisme ; So/Ch, soins pour cheveux ; SP, Spontanée ; TI, tiges ; TR/RM, troubles du cycle menstruel.

I.2.2.Utilisation en médecine traditionnelle

L'analyse des résultats montre que *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum*, *Artemisia herba-alba*, *Thymus* sp., *Mentha pulegium*, *Nigela sativa*, *Lavandula stoechas*, *Visnaga daucoides* et *Aristolochia longa* sont les espèces les plus utilisées en médecine traditionnelle dans la Province de Guercif (Figure 22). Cela pourrait être dû à leur abondance dans l'environnement immédiat de la population locale. Khabbach *et al.* (2012), ayant travaillé sur la Province de Taza, zone limitrophe de la zone d'étude, ont montré aussi que *Origanum compactum*, *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba-alba* sont les plantes les plus utilisées dans la médecine traditionnelle.

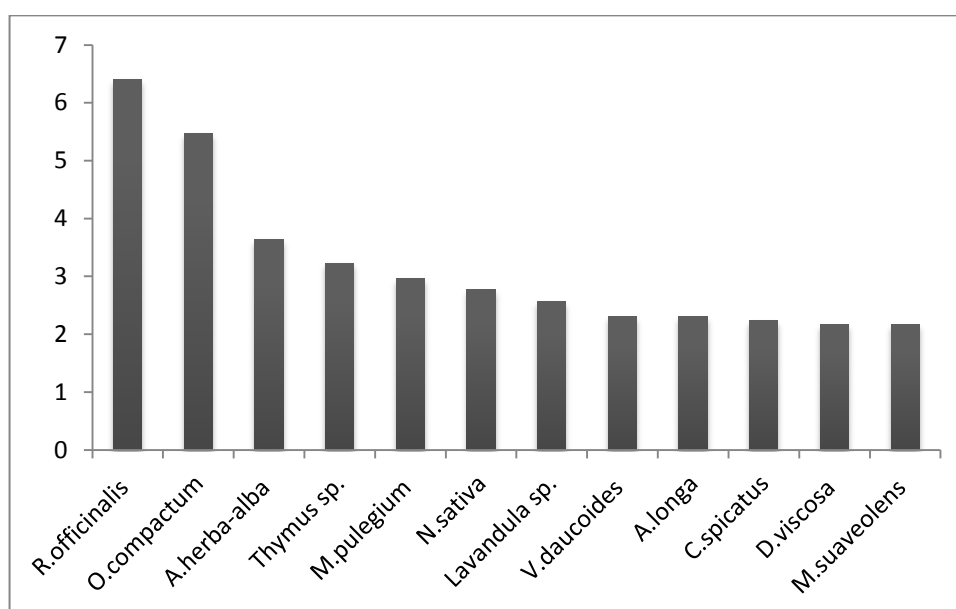


Figure 22. Fréquence (%) des plantes utilisées en médecine traditionnelle, Province de Guercif.

I.2.3.Parties utilisées

Dans notre zone d'étude, les feuilles sont les parties les plus utilisées, avec un pourcentage de 28%. Elles sont suivies par les graines (22%), les fruits (15%), les parties aériennes (13%) et les racines (12%). Alors que les autres parties (fleurs, pulpe, tige, plante entière et épines) ne dépassent pas 4% chacune (Figure 23).

D'autres études ont démontré que les feuilles sont parmi les parties des plantes les plus exploitées à ce propos, à savoir la partie aérienne, les feuilles et les fruits (Ennabili *et al.*, 2000 et 2006 ; Mehdioui et Kahouadji, 2007 ; El Mansouri *et al.*, 2011 ; Khabbach *et al.*, 2012). Cette fréquence d'utilisation des parties de la plante dépend en général de la disponibilité de la plante (abondance et facilité de cueillette). Toutefois, des comparaisons à

ce propos sont à prendre avec précaution, vu la diversité et la précision des parties retenues par chaque auteur : partie souterraine (rhizome, racine, bulbe...), partie aérienne (branche, tige feuillée, sommité florale...), feuille (bourgeons, feuilles triées...), fleur (inflorescence, fleur, sommité florale...) fruit (infrutescence, fruit, graine..), tige, bois, etc.

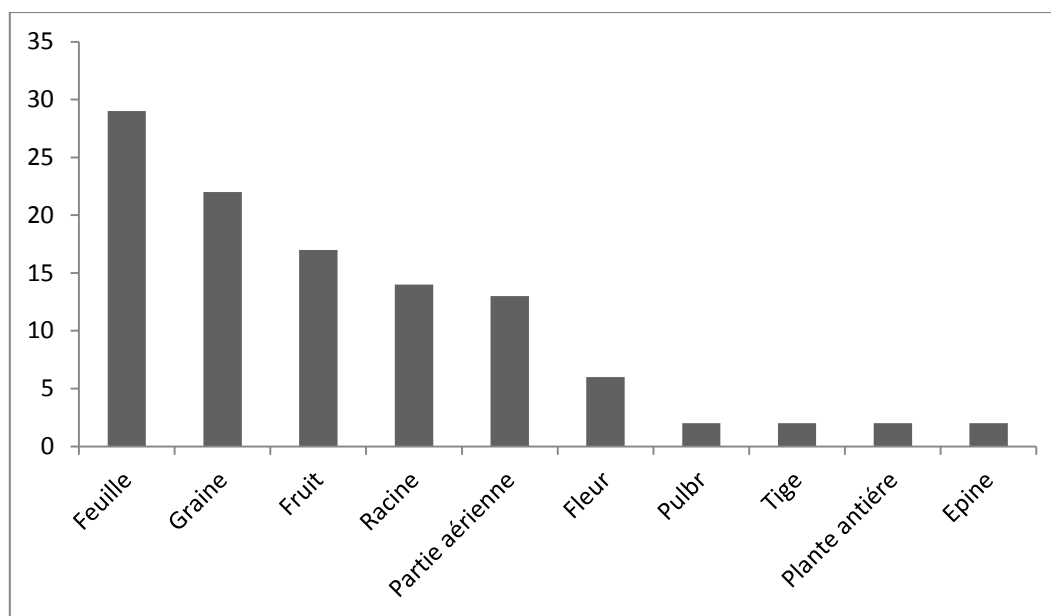


Figure 23. Fréquence (%) des parties de la plante utilisées en médecine traditionnelle, Province de Guercif.

I.3. Remèdes

I.3.1. Indication thérapeutique

Cette étude nous a permis de répertorier un certain nombre de maladies chroniques traitées par la population locale de Guercif à l'aide des plantes médicinales (Tableau III). Les résultats obtenus montrent que la plupart des plantes interviennent dans le traitement :

- ✓ Des maladies du système endocrinien, avec un pourcentage de 35%,
- ✓ des maladies digestives (17%),
- ✓ des maladies du système immunitaire (13%)
- ✓ Système urino-génital (10%)
- ✓ Maladies du système circulatoire (9%),

Tableau III : Importance des maladies traitées traditionnellement dans la zone d'étude.

Classification des systèmes	Maladies	Fréquence %
Système endocrinien	Diabète	35
	Cancer	
	Kyste	
	Perte de l'appétit	
Système digestif	Douleur intestinal	17
	Gonflement intestinal	
	Gastro-intestinal	
	Intoxication "Toukal"	
	Problèmes digestifs	
	Douleur stomacale	
Système immunitaire	Grippe	13
	Diarrhée	
	Fièvre	
	Antidote	
	Asthme	
	Toux	
Système urino-génital	Baisse de libido	10
	Calculs rénal	
	Douleur rénal	
	Diurétique	
	Production des spermatozoïdes	
	Facilite l'accouchement	
	Infertilité féminine	
	Trouble du cycle menstruel	
Système circulatoire	Anémie	9
	Hypertension artérielle	
	Cholestérol	
Système dermatologique	Blessure	8
	Cicatrisante	

	Cosmétique	
	Infection cutané	
	Allergie	
	Soins des cheveux	
	Acné	
	Teigne	
Système articulaire et squelettique	Rhumatisme	5
	Fracture	
	Musculation	
	Message	
Système nerveux	Migraine	1
	Calment	
Système Oto-rhino-laryngale	Infection dentaire	1
Système ophtalmologique	Amélioration de la vision	0,5
Autres	Antimoustique	0,5

Certaines espèces sont utilisées dans le traitement traditionnel de plusieurs maladies, à savoir *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum* et *Artemisia herba-alba*, notamment dans le traitement d'infections métaboliques, digestives et respiratoires.

Des études antérieures ont rapporté l'usage des plantes médicinales d'origine marocaine par les populations locales dans le traitement de diverses maladies (Bellakhdar, 1978 et 1997 ; Bellakhdar *et al.*, 1982 et 1991 ; Ennabili *et al.*, 2000 et 2006 ; El Mansouri *et al.*, 2011 ; Khabbach *et al.*, 2012).

I.3.2. Mode de préparation

Les résultats ont montré que la décoction constitue le mode de préparation le plus fréquent (34%), suivi en particulier par l'infusion (31%) et la poudre (17%) (Figure 24). D'autres auteurs ont majoritairement rapporté la décoction en tant que mode de préparation avec des fréquences variables : 29% dans le Rif occidental (Bachar *et al.* 2016), 47% dans Province d'Essaouira (Mehdioui et Kahouadji, 2007) et 65,6% dans la Province de Taza (Khabbach *et al.*, 2012). La prédominance de ce mode de préparation est justifiée, entre autres, par la "désinfection" de la plante et le "réchauffement" du corps du malade (Bachar *et al.*, 2016).

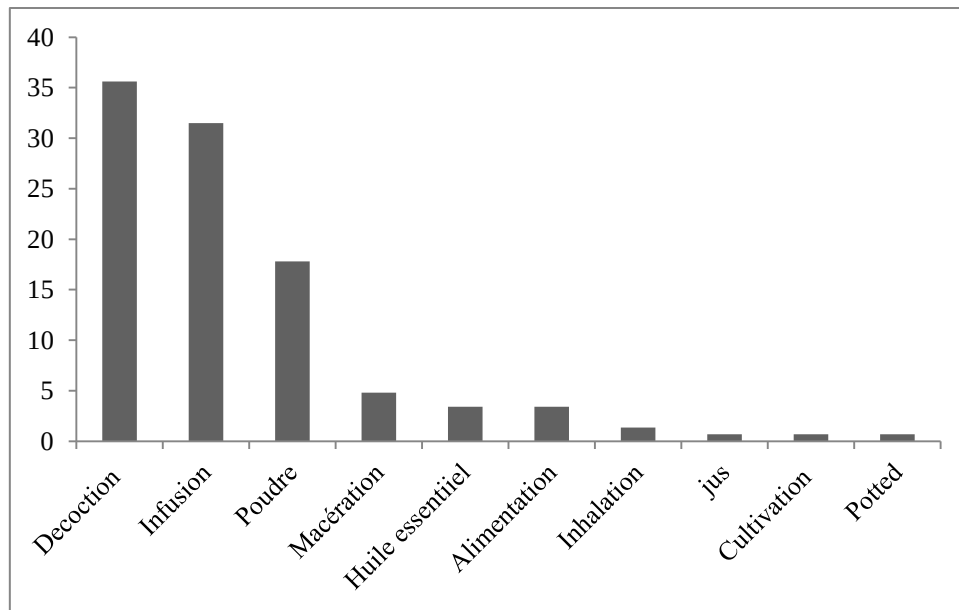


Figure 24. Fréquence (%) des modes de préparation des recettes utilisées par la population locale, Province de Guercif.

I.4.Conclusion

Le présent travail nous a permis d'inventorier une centaine d'espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle dans la Province de Guercif. La fréquence d'utilisation des plantes médicinales est très liée au profil des interviewés ; les plus jeunes méconnaissent en général ce savoir-faire. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal partagé, avec une légère différence au profit des premières en termes d'utilisation des plantes médicinales.

Les plantes médicinales les plus utilisées dans la région étudiée sont *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum*, *Artemisia herba-alba*, *Thymus ssp.*, *Mentha pulegium*, *Nigela sativa*, *Lavandula ssp.*, *Visnaga daucoïdes* et *Aristolochia longa*. En médecine traditionnelle, les feuilles représentent majoritairement les parties de la plante utilisées.

De plus, les plantes médicinales sont très utilisées pour traiter principalement les maladies métaboliques et les infections digestives. La décoction est la forme galénique la plus pratiquée par la population locale.

Cette étude nous a permis d'apprécier et de connaître les pratiques de médecine traditionnelle à base de plantes, transmises par la population de la Province de Guercif, et constituera une base de sélection de certaines plantes pour valider expérimentalement leurs utilisations comme remède.

Chapitre 2. Contribution à l'étude phytochimique des extraits des plantes étudiées

I.1. Introduction

L'objectif de ce chapitre est d'étudier la cinétique de l'extraction des huiles essentielles, de déterminer la composition chimique des huiles essentielles ainsi que la détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes *Ruta Montana*, *Achillea odorata* ssp. *pectinata*, *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Micromeria graeca* et *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation puis identifiées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/MS). La détermination des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes a été réalisée, respectivement, par les méthodes utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et le réactif de trichlorure d'aluminium. Par ailleurs, l'ultrastructure des parties végétales des six plantes utilisées dans ce travail, a été examinée par microscopie électronique à balayage (MEB) en vue d'expliquer les rendements en huiles essentielles pour ces plantes mais aussi pour confirmer la détermination de l'identité botanique des plantes étudiées, comme c'est le cas de l'espèce *Micromeria graeca*.

I.2. Micromorphologie des parties des plantes utilisées

Les caractères micromorphologiques, les types et la distribution des trichomes des parties végétales (feuille, tige, fleur) ont été examinés, chez les espèces étudiées : *Ruta montana*, *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (Lamk) Briq, *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Micromeria graeca*, et *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*.

Chez la famille des Lamiaceae à laquelle appartiennent trois espèces étudiées, les poils glanduleux sont morphologiquement en général capités ou peltés (El Beyrouthy *et al.*, 2008 ; Guitton, 2010) ; Ces trichomes sécréteurs sont typiquement composés de quelques cellules épidermiques basales qui par division donnent de une à plusieurs cellule(s) de pied de taille variable surmontées d'une à plusieurs cellules de tête sécrétrices (Yann Guitton, 2010) ; ainsi, les poils peltés sont eux-mêmes constitués d'une cellule basale, d'un petit stipe et d'une tête large comprenant plusieurs cellules sécrétrices arrangées en une seule couche et les poils capités sont eux constitués d'une cellule basale, d'un stipe uni ou pluricellulaire et une tête comprenant une ou deux cellules (El Beyrouthy *et al.*, 2008, Yann Guitton, 2010).

Les poils peltés sont considérés depuis longtemps comme poils glanduleux, puisque l'huile essentielle est renfermée dans le poil et n'est libérée que si les parois externes sont brisées (El Beyrouthy *et al.*, 2008). En effet les plantes sans poils peltés ne sont pas aromatiques, pour plusieurs espèces, mais dans d'autres cas, comme chez le genre *Rosmarinus*, d'autres poils sont responsables de la sécrétion (El Beyrouthy *et al.*, 2008.), tels que des poils capités qui s'ajoutent ici aux poils peltés.

En outre, la composition chimique de l'huile essentielle des deux types de poils a donné des résultats quantitativement et qualitativement différents (El Beyrouthy *et al.*, 2008).

Alors que, les poils non glanduleux ou tecteurs sont très différents en ce qui concerne leur morphologie, anatomie ou microstructure ; ils peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires, ramifiés ou non ramifiés ; les poils pluricellulaires non ramifiés peuvent aussi être unisériés, bisériés ou plurisériés ; ces poils diffèrent aussi selon leur longueur, leur taille et la forme des cellules, ils peuvent aussi être symétriques ou asymétriques ; leur largeur est parfois identique ou uniforme ou bien très différente dans chaque partie du poil ; la tête du poil varie aussi : elle est parfois épineuse, se termine comme un couteau, ressemble à une bougie, etc... Ces poils peuvent aussi être verruqueux ou non verruqueux, à paroi lisse ou raide. Les poils ramifiés pluricellulaires peuvent avoir des ramifications simples ou elles-mêmes ramifiées, égales, opposées, etc... (El Beyrouthy *et al.*, 2008).

Les poils glanduleux ou sécréteurs sont distribués sur les différents organes reproductifs ou végétatifs des plantes aromatiques et particulièrement chez les Lamiaceae, ce sont des organes primaires de sécrétions et leurs structures varient selon les espèces (El Beyrouthy *et al.*, 2008)

Les trichomes glandulaires qui constituent un autre type de structure de sécrétion et/ou d'accumulation des composés terpéniques volatils ont particulièrement été étudiés chez certaines familles botaniques telles que les Solanacées et les Lamiacées (Yann Guitton, 2010).

La typologie du trichome est basée sur une combinaison caractéristique des poils des échantillons d'un taxon. Elle est complexe puisque plusieurs critères doivent être examinés : morphologie, origine, taille, lieu, capacité de sécrétion, mode de sécrétion, fonction, etc ; elle distingue avant tout les poils glanduleux, ou poils sécréteurs, et les poils non glanduleux, ou poils tecteurs (expansion de cellules épidermiques assurant la protection et diminuant la transpiration de la plante, El Beyrouthy *et al.*, 2008).

Le trichome concerne toutes les parties d'une plante : végétatives (feuilles, tiges, racines) et reproductives (sépalés, pétales, étamines, graines et fruits). Les poils et surtout les glanduleux sont des organes très importants chez les *Lamiaceae* et particulièrement chez les *Teucrium* (El Beyrouthy *et al.*, 2008).

La littérature concernant la description du trichome est assez abondante et porte non seulement sur la morphologie, mais aussi l'ultrastructure, la différenciation et le mode de sécrétion (El Beyrouthy *et al.*, 2008).

L'anatomie des poils est très importante pour différencier les espèces et la description du trichome est très pertinente pour l'identification d'une espèce, en effet, en plus de l'examen macroscopique, nous avons eu recours à l'examen microscopique en collaboration avec l'équipe de recherche (Pr A. Ennabili et Dr A. Khabbach) pour déterminer la nomenclature exacte d'un spécimen du genre *Micoméria*, ainsi nous avons utilisé des photos MEB pour confirmer qu'il s'agit de *Micromeria graeca*.

Des études récentes (El Beyrouthy *et al.*, 2008 ; Kremer *et al.*, 2012, 2013 et 2014 ; Paolini *et al.*, 2009 ; Taleb-Toudert, 2015), ont mis en lumière les traits micromorphologiques des structures sécrétrices des huiles essentielles de certaines espèces végétales.

Les figures (25-37) laissent voir les glandes sécrétrices (trichomes sécréteurs), les poils (trichomes tecteurs) et la distribution des trichomes chez ces différentes espèces. Ces trichomes glandulaires sont le site de la biosynthèse (Sécrétion et accumulation) de l'huile essentielle (Kremer *et al.*, 2014).

En général, les investigations micromorphologiques ont montré que deux types de trichomes (non glandulaire et glandulaire) ont été observés chez ces espèces étudiées. Les trichomes non glandulaires (NG) dont la longueur varie nettement selon l'espèce et la partie étudiée. Les trichomes glandulaires que nous avons pu distinguer sont les poils peltés (glandes peltées) dans les différentes parties végétales de ces différents taxons.

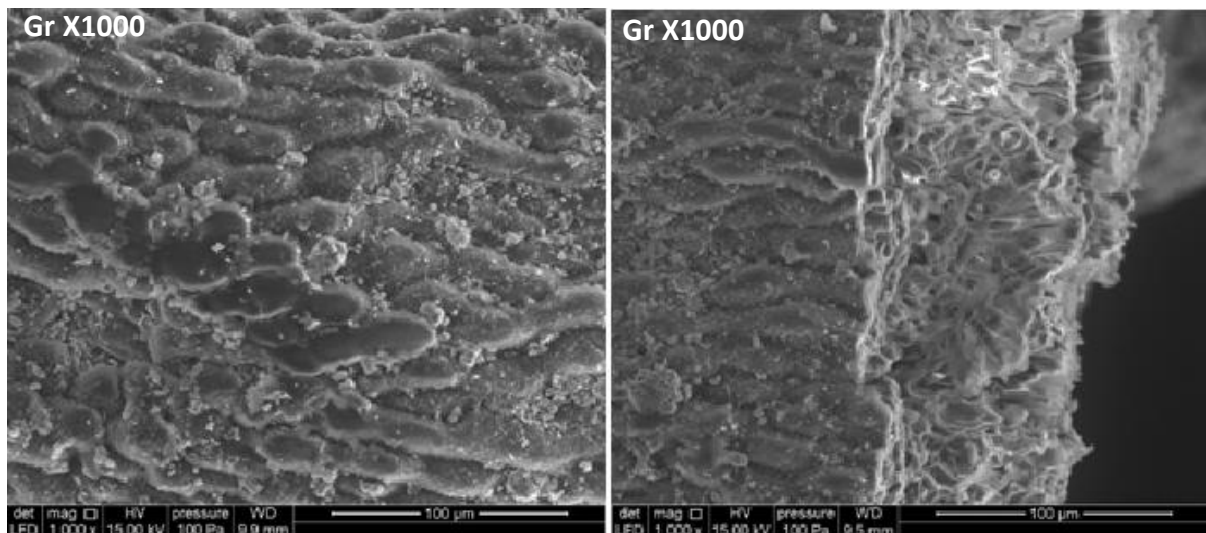


Figure 25 : Micrographies MEB de trichome des tiges non traitées de *Ruta montana*

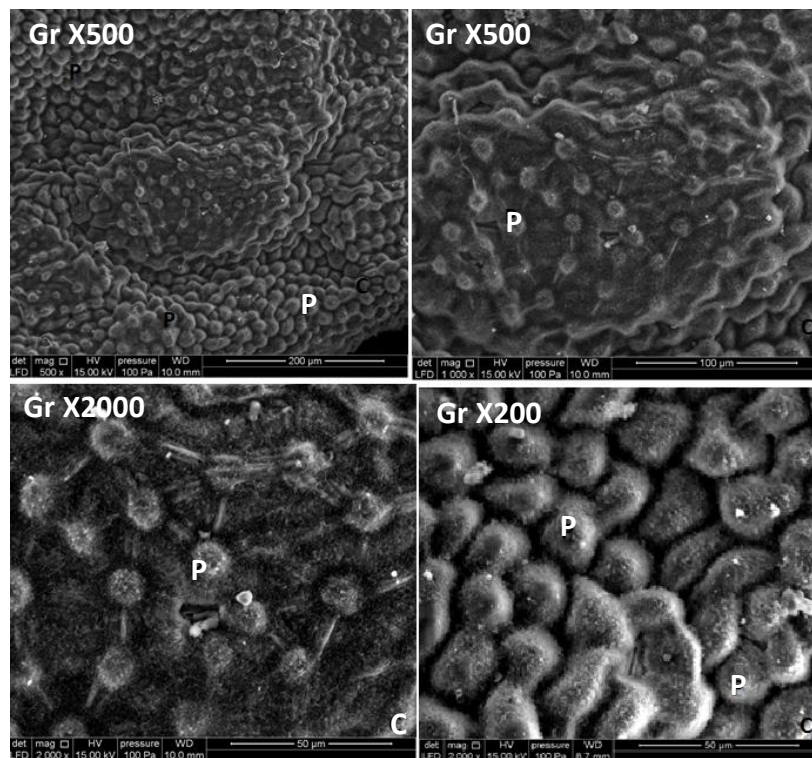


Figure 26 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de *Ruta montana*. (P, Glande peltée ; NG, non glandulaire ; C, Distribution des trichomes sur la feuille).

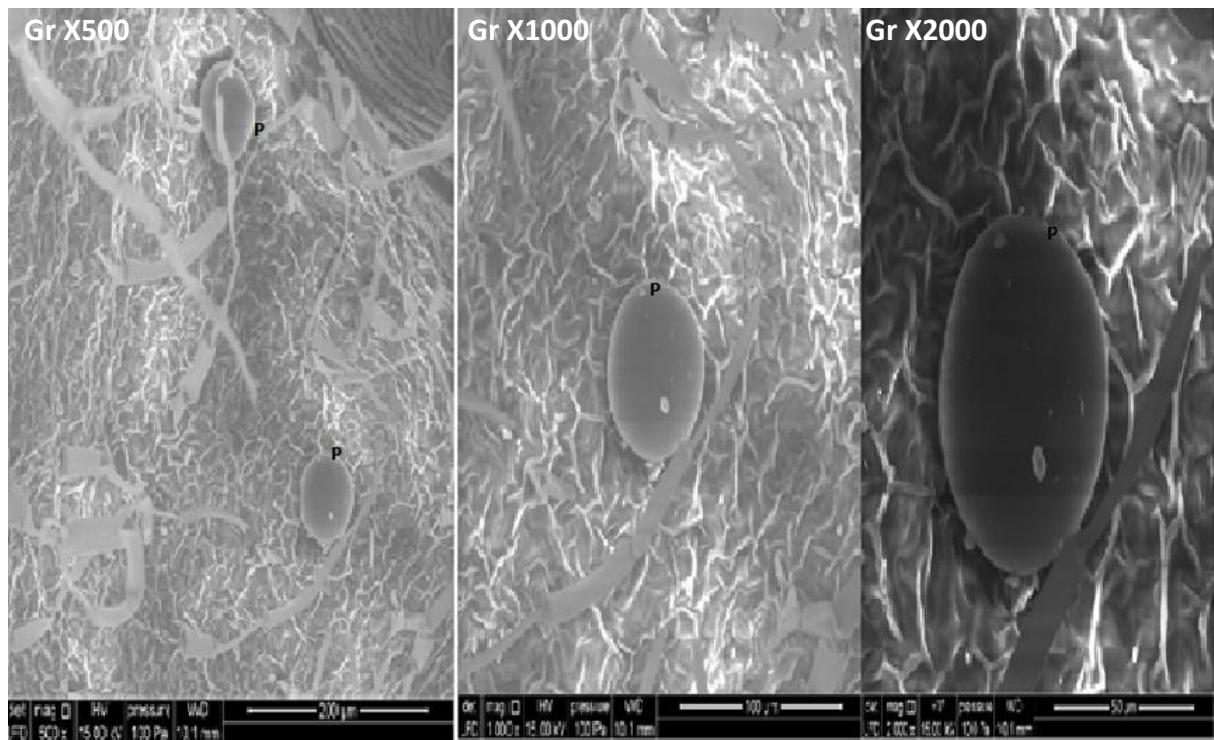


Figure 27 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de *Mentha suaveolens*. (P, Glande peltée).

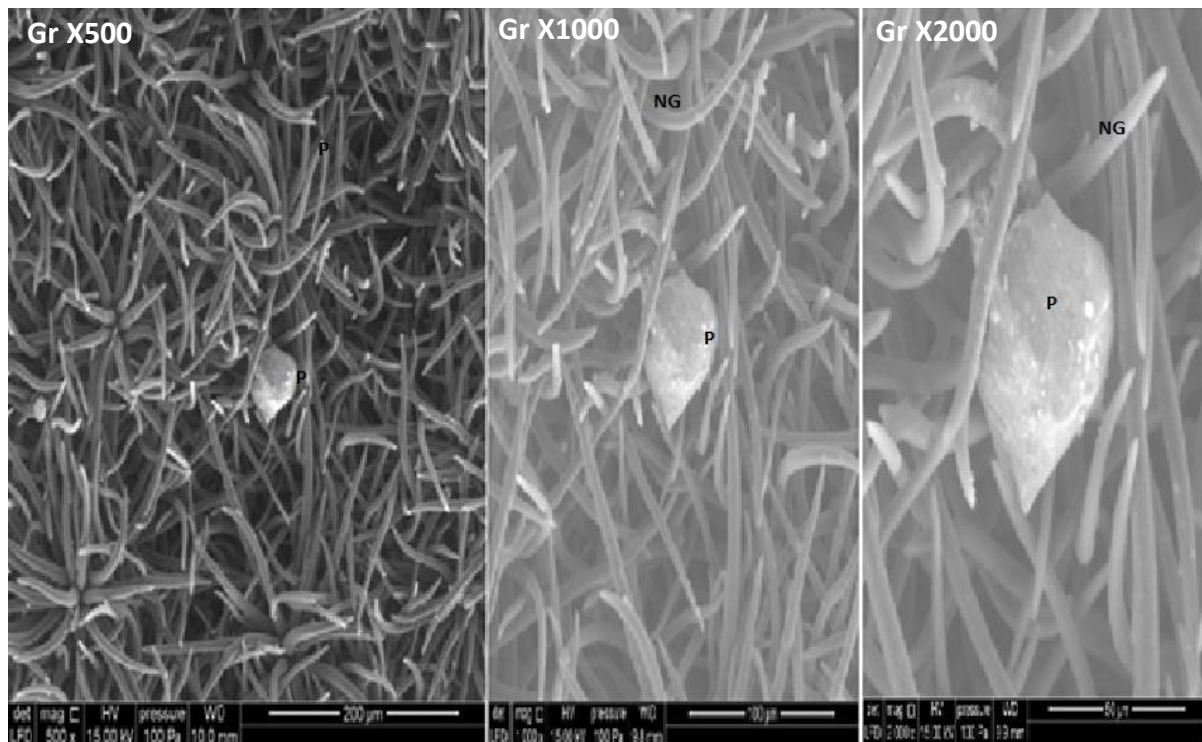


Figure 28 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de *Cistus ladanifer ssp. ladanifer* (P , Glande peltée ; NG, non glandulaire).

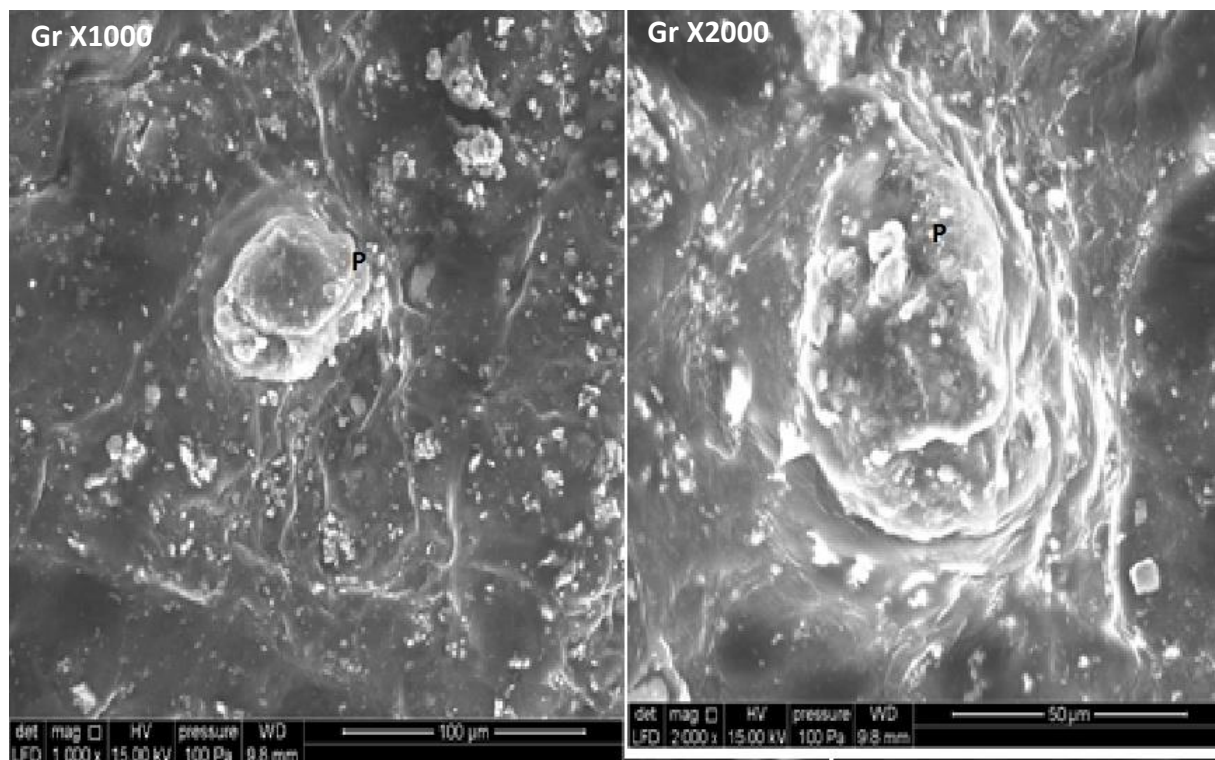


Figure 29 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* (P, Glande peltée)

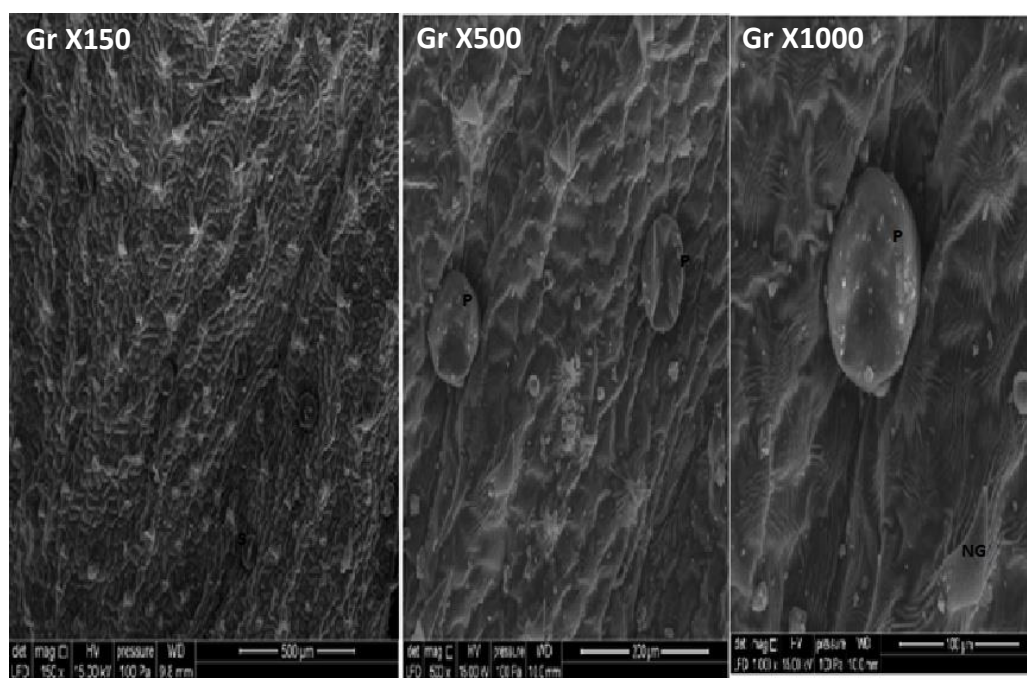


Figure 30 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de *Mircomeria graeca*. (S, stomatographie ; P, Glande peltée)

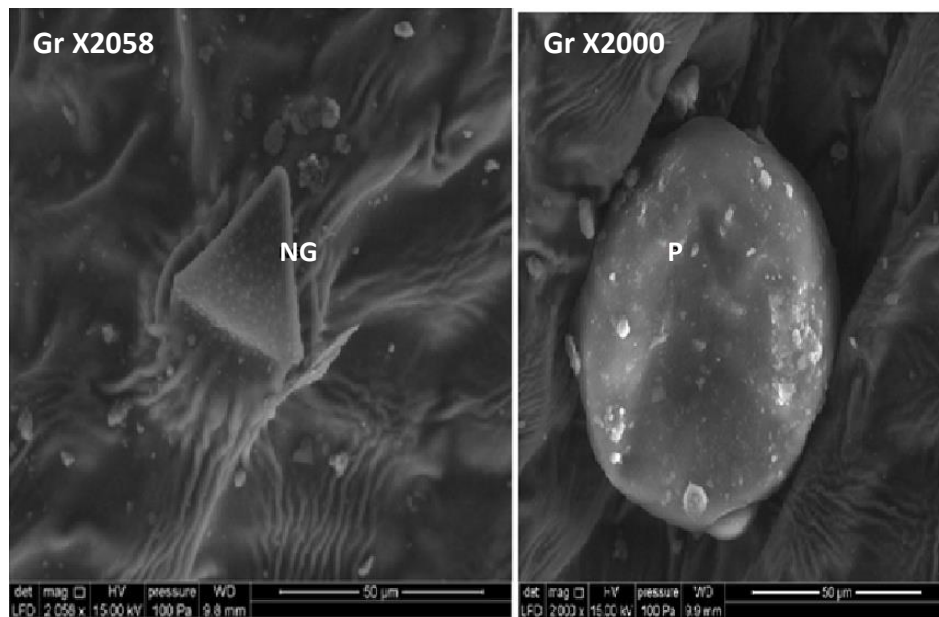


Figure 31 : Micrographies MEB de trichome des feuilles non traitées de *Mircomeria graeca*. (P, Glande peltée ; NG, non glandulaire)

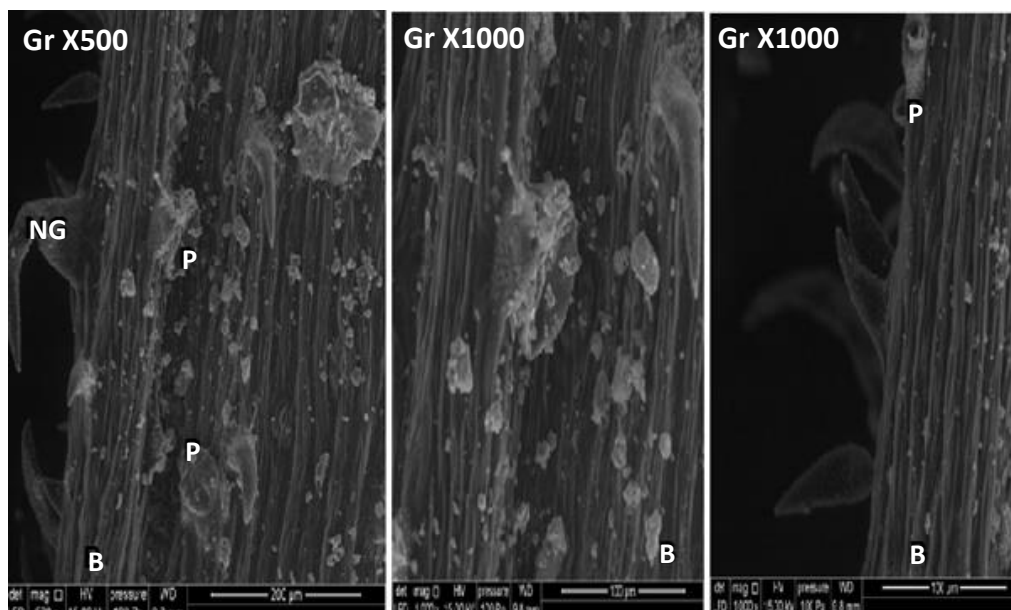


Figure 32 : Micrographies MEB de trichome des tiges non traitées de *Mircomeria graeca*. (A, B, Distribution des trichomes sur la tige ; P, Glande peltée ; NG, non glandulaire).

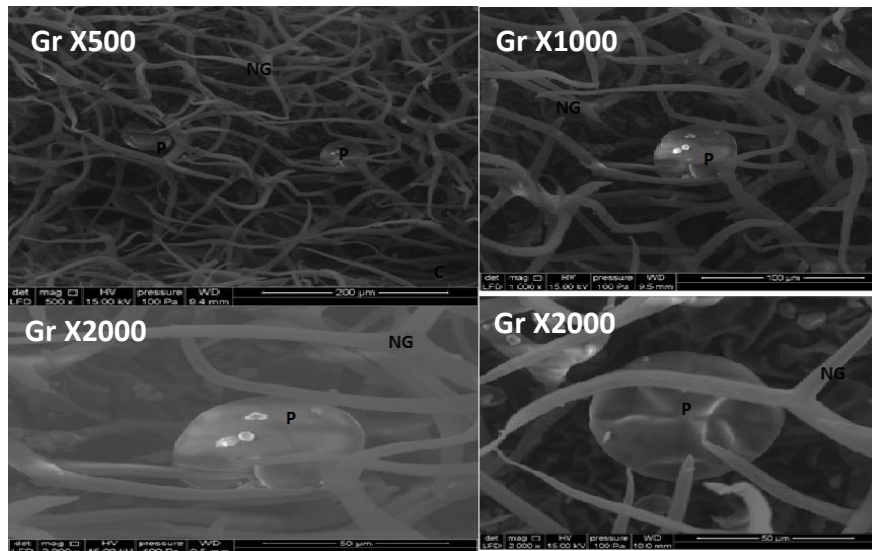


Figure 33 : Micrographies MEB de trichome des feuilles *Teucrium polium ssp. polium* (P , Glande peltée ; NG, non glandulaire ; C, Distribution des trichomes sur la feuille).

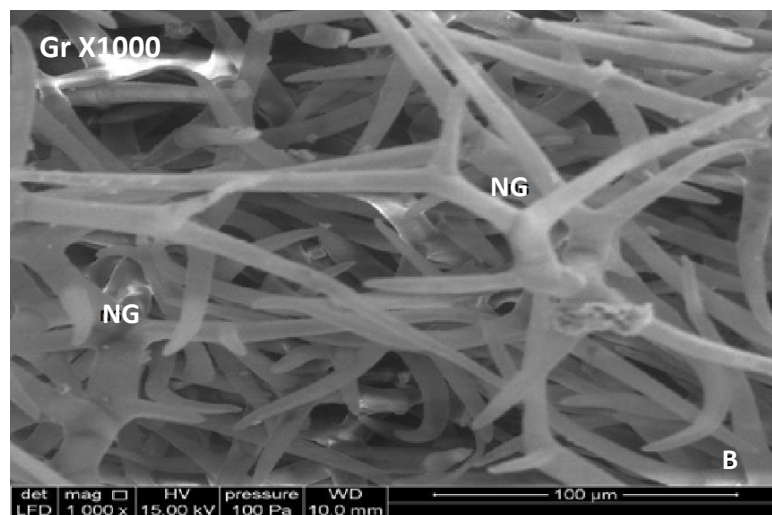


Figure 34 : Micrographies MEB de trichome des tiges *Teucrium polium ssp. polium* (B, Distribution des trichomes tecteurs sur la tige ; NG, non glandulaire).

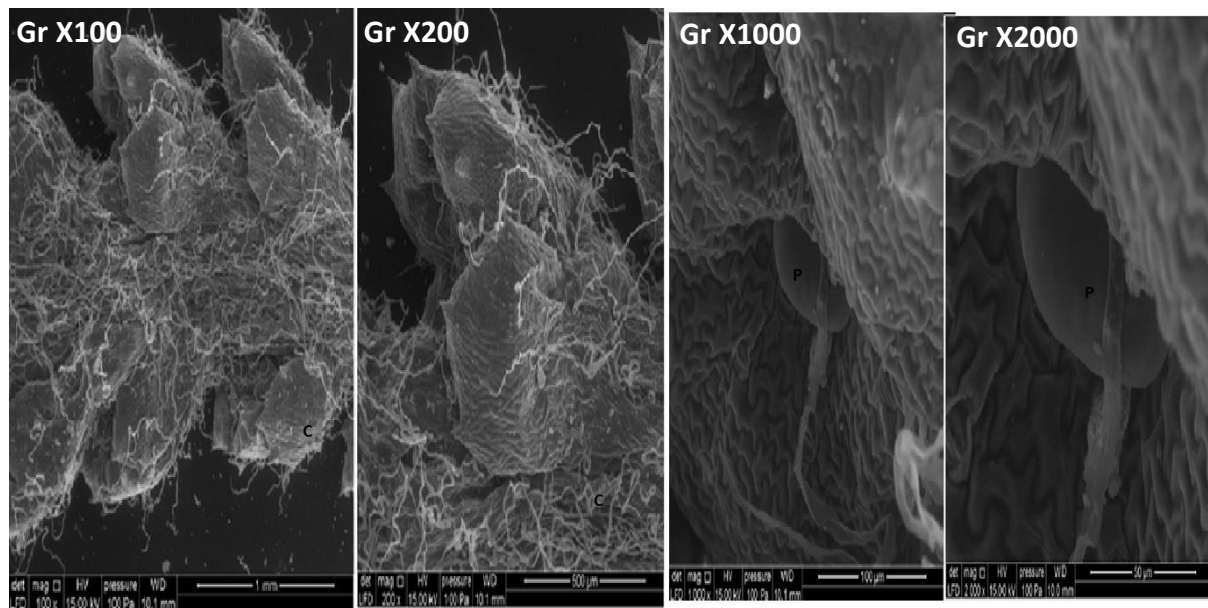


Figure 35 : Micrographies MEB de trichome des feuilles d' *Achillea odorata* ssp. *pectinata* . (P, Glande peltée ; C, Distribution des trichomes sur la feuille).

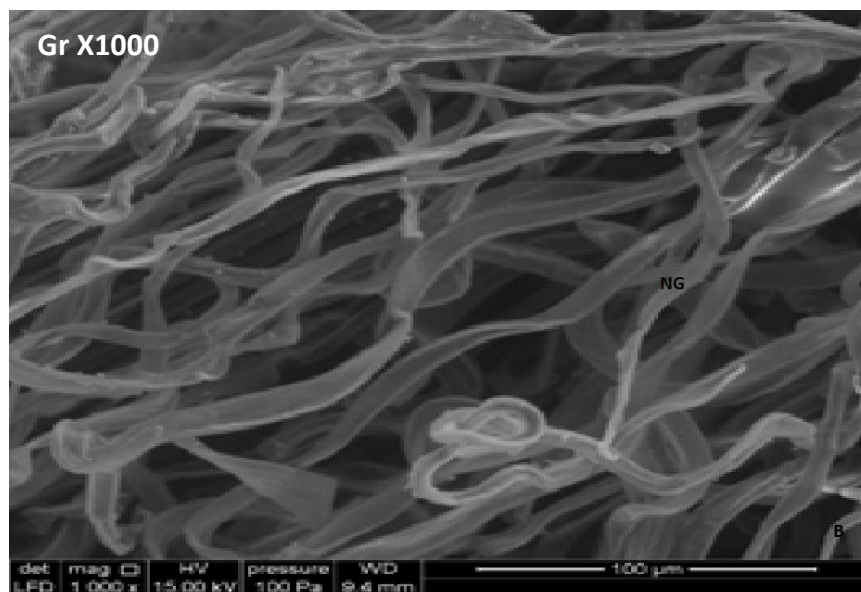


Figure 36 : Micrographies MEB de trichome des tiges d' *Achillea odorata* ssp. *pectinata*. (B, Distribution des trichomes tecteurs sur la tige ; NG, non glandulaire).

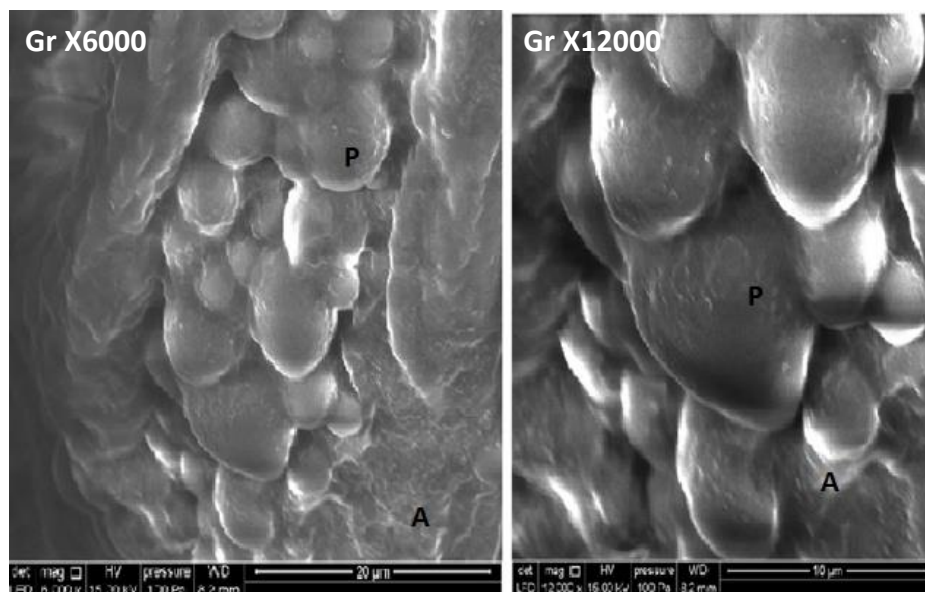


Figure 37 : Micrographies MEB de trichome des fleurs d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* (B, Distribution des trichomes sur la corole /calice ; P , Glande peltée)

I.3. Rendement et composition chimique des huiles essentielles

I.3.1. Cinétique de l'extraction des huiles essentielles

Lors de cette étude, un suivi de la cinétique a été réalisé sur l'extraction des huiles essentielles des plantes étudiées, par hydrodistillation. Trois essais ont été effectués pour chacune des plantes.

Les courbes de rendement en huiles essentielles obtenues, présentées dans la figure 38, sont constituées de trois étapes. En effet, Une première correspond au chauffage de la matière végétale puisqu'aucune extraction d'huile essentielle n'est observée. La seconde étape est caractérisée par une augmentation de la température dont le point d'ébullition de l'eau se traduit par l'extraction d'huile plus ou moins importante selon la plante. Une dernière étape correspond à l'extraction du rendement maximum possible à être atteint à la fin de l'hydrodistillation, cette dernière étape est observée après 4 heures d'extraction. Par conséquence, nous avons fixé la durée de l'hydrodistillation à 4 h.

La plante *Achillea odorata* L.ssp. *pectinata* (lamk) Briq a fourni un taux en huile essentielle de $1,04 \pm 0,01\%$, suivie par *Mentha suaveolens*, *Ruta montana* et *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*, *Mircomeria graeca* et *Teucrium polium* ssp. *polium* qui ont fourni un taux de $0,66 \pm 0,02\%$, $0,37 \pm 0,03\%$, $0,26 \pm 0,02\%$, $0,24 \pm 0,02\%$ et $0,18 \pm 0,02\%$, respectivement.

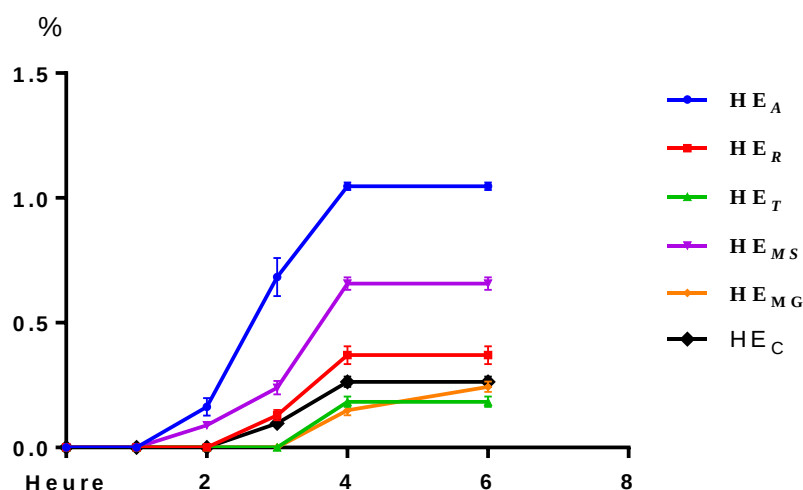


Figure 38 : La cinétique de rendement en huile essentielle par hydrodistillation des six plantes étudiées.

HE_A : huile essentielle d' *Achillea odorata* L ssp. *pectinata*; HE_R : huile essentielle de *Ruta montana* ; HE_T : huile essentielle de *Teucrium polium* ssp. *polium* ; HE_{MS} : huile essentielle de *Mentha suaveolens* ; HE_{MG} : huile essentielle de *Micromeria graeca* et HE_C : huile essentielle de *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer*

I.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta Montana*

L'analyse par GC-MS de l'huile essentielle du *Ruta montana* a permis d'identifier 27 composés qui représentent environ 99,98% (Tableau IV et figure 39) , cette huile est composée principalement du 2-undecanone (63,97%), Camphor (3,82%), cyclopropanecarboxylic acid, undec (3,66%), caryophyllene oxide (3,38%), 3-Heptene, 7-phenyl- (3,38%), 2-undecanol (3,25%), 1,3-benzodioxole, 5-(2,2-dimethyl) (3,09%), tetramethyl succinimide (3%), Tridecanone-2 (1,2%), Bornyl acetate (1,16%), dodecanone-2 (1,14%), β trans-caryophyllene (1,1%).

Les autres composés tel que 10,10-dimethyl 2,6- dimethylenebicy (0,78%), isodene (0,73%); 1,3-cyclopentadine, 1,2,3,4,5-pen (0,7%), Borneol (0,66%), 2-pentene, 4-methyl- (0,65%), 2-nonen-4-one (0,59), Decanone-2 (0,46%), Trimethyl-tetrahydronaphtalene (0,45%), isomaturin (0,44%), Geranial (0,42%), gamma-Gurjunene (0,42%), cyclohexan-1-ol (0,41%), trimethyl-6,10,14-pentadecanone-2 (0,41%), Globulol (0,4%), %, Para cymene (0,31%) sont identifiés comme des composés mineurs.

Nos résultats sont similaires avec d'autres études qui ont montré que 2-undecanone est le composé majoritaire de l'espèce *Ruta montana* avec des pourcentages différents. En effet

Kambouche *et al.*, (2008) ont identifié la présence du 2-undecanone avec un pourcentage de 32,8%. De même Belkassam *et al.* (2011) et Boutoumi *et al.* (2009) ont trouvé que ce produit est présent, respectivement, avec 60,19% et 67-67,4%.

Cette première étude de la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Ruta montana* du Maroc a montré que cette plante est caractérisée par la présence du Camphor 3.82%, 7-phenyl,3 heptene 3.38%, 2- undecanol 3.25%. Ces composés sont absents dans la composition chimique de la même espèce récoltée en Algérie. Kambouche *et al.*, 2008 ont montré que Nonan-2-one 29.54%, 2-Nonanol acétate 18.2% constituent en plus du 2-undecanone 32.18% des composé majoritaire alors qu'ils sont absents de la composition chimique du *Ruta montana* de notre étude.

Ces variations qualitatives et quantitatives rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles entre *Ruta montana* marocaine et algérienne, pourrait être dues à certains facteurs tel que l'environnement, la saison de la récolte et les facteurs écologique (Amar *et al.*, 2012 ; Bennaoum *et al.*, 2017).

I.3.3.Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux du *Ruta montana*

La détermination des teneurs en polyphénols a été réalisée par la méthode du Folin-Ciocalteu, les résultats sont exprimés en milligramme équivalence d'acide gallique par g d'extrait de plante (mg EAG/g d'extrait). Les résultats, présentés dans le tableau V, montrent que l'extrait méthanolique de *Ruta montana* est le plus riche en polyphénols ($88,47 \pm 8,99$ mg EAG/g d'extrait), suivie par l'extrait éthanolique ($58,46 \pm 4,68$ mg EAG/g d'extrait) puis l'extrait aqueux ($19,45 \pm 2,14$ mg EAG/g d'extrait).

La détermination de la teneur en flavonoïdes a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium, les résultats sont exprimés en milligramme équivalence de Rutine par gramme d'extrait de plante (mgER/g d'extrait). Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique est l'extrait le plus riche en flavonoïdes ($8,29 \pm 0,97$ mg ER/ g d'extrait), alors que les extraits méthanoliques et aqueux ont une faibles teneures en flavonoïdes $1,86 \pm 0,17$ mg ER/g d'extrait et $0,32 \pm 0,02$ mgR/g d'extrait, respectivement.

Tableau IV : La composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta Montana*

Numéro	Composés	RT ^x	IK ^y	%
1	Para cymene	11,89	1022	0,31
2	Camphor	16,51	1146	3,82
3	Borneol	17,42	1170	0,66
4	3- cyclohexen-1-ol	17,74	1179	0,41
5	Decanone-2	18,14	1190	0,46
6	Geranial	20,84	1266	0,42
7	Bornyl acetate	21,43	1283	1,16
8	2-undecanone	21,81	1294	63,97
9	2-undecanol	22,09	1302	3,25
10	Trimethyl-tetrahydronaphtalene	24,8	1383	0,45
11	dodecacone-2	25,11	1392	1,14
12	trans-caryophyllene (beta)	25,95	1419	1,1
13	cyclopropanecarboxylic acid, undec	26,26	1428	3,66
14	1,3-cyclopentadine, 1,2,3,4,5-pen	27,77	1476	0,7
15	Tridecanone-2	28,3	1493	1,2
16	tetramethyl succinimide	29,36	1529	3
17	caryophyllene oxide	30,92	1581	3,38
18	gamma Gurjunene	31,28	1593	0,42
19	(-)-isolekene	31,7	1607	0,73
20	2-pentene, 4-methyl	31,88	1614	0,65
21	10,10-dimethyl 2,6- dimethylenebicy	32,49	1635	0,78
22	Globulol	33	1653	0,4
23	3-Heptene,7-phenyl	33,41	1668	3,38
24	2-nonen-4-one	35,95	1761	0,59
25	1,3-benzodioxole,5-(2,2-dimethyl	37,43	1816	3,09
26	trimethyl-6,10,14-pentadecanone-2	38,01	1839	0,41
27	Isomaturin	45,74	2262	0,44
Total				99,98

^xtemps de rétention^yindice de Kovats

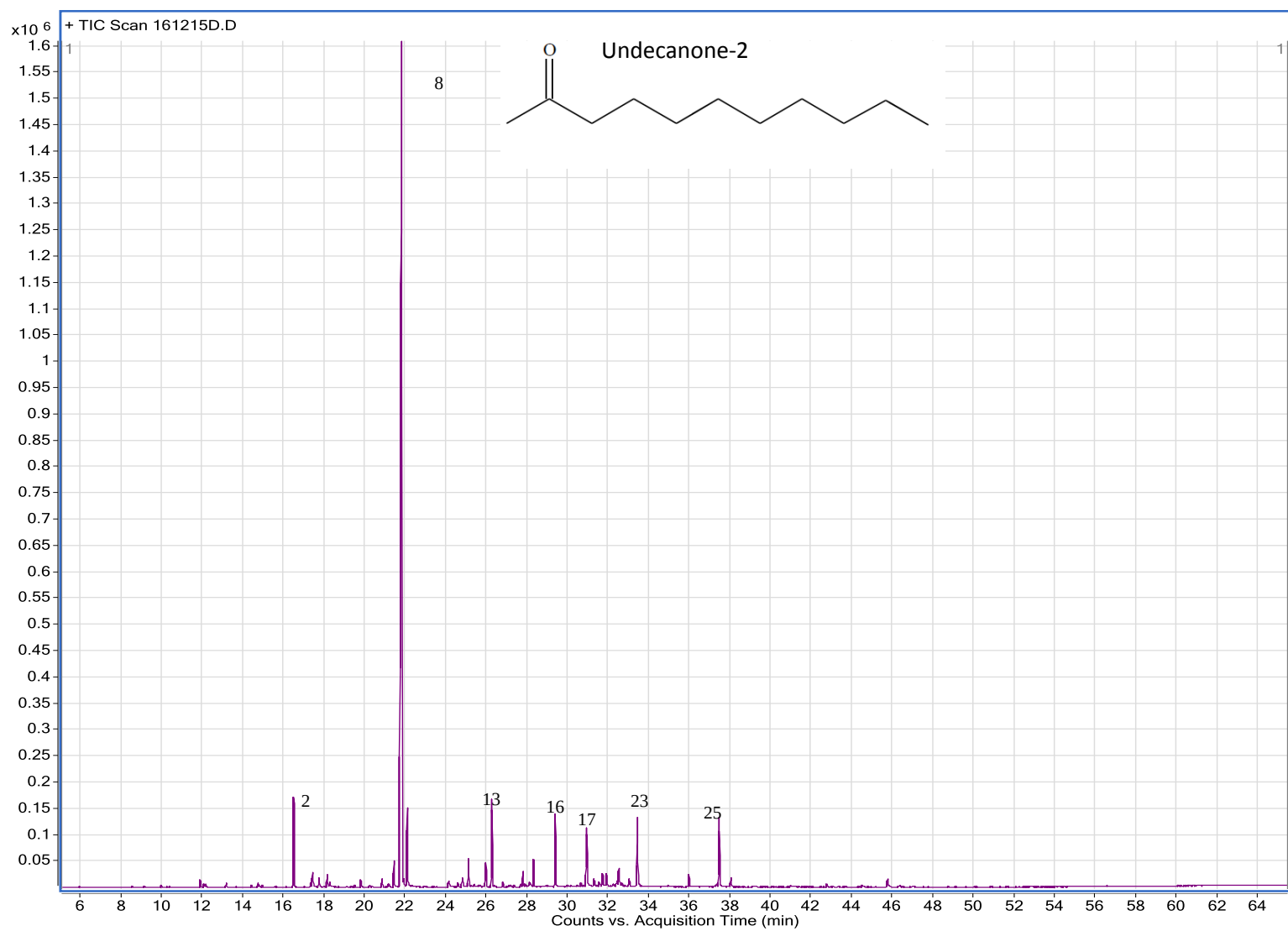


Figure 39 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Ruta Montana* (les numéros des pics peuvent s'identifier dans le **tableau IV**)

Nos résultats ne sont pas similaires avec ceux rapportées par El Guiche *et al.* (2015), qui ont montré que la plante *Ruta montana* contient une faible teneur en polyphénols égale à 7,09 µg GAE/mg DM, par contre elle est plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 44,67 µgRE/ mg DM. De même Djeridane et al., (2006) ont montré que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de cette plante sont très faibles $3,13 \pm 0,30$ mg GAE/g dw et $1,62 \pm 0,40$ mg RE/g poids sec, respectivement.

En comparaison avec d'autres espèces du genre *Ruta*, nos résultats sont en accord avec l'étude menée par Kacem *et al.* (2015) sur *Ruta chalepensis* a montré que les extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux sont riches en composés phénoliques dont les teneurs sont respectivement 178 ; 152 ; et 120 mg GAEs/g d'extrait. Aussi ces auteurs ont montré que l'extrait éthanolique est plus riche en flavonoïdes (23,88 mg CE/g d'extrait) alors que les teneurs en flavonoïdes des extraits méthanoliques et aqueux sont moins importantes 8,23 et 4,01 mg CE/g d'extrait.

Tableau V: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de la plante *Ruta montana*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Rendement (w/w)	15%	11%	9%
Teneur totale en Polyphénols [mgEAG/g d'extrait]	58,46±4,68 ^b	82,61±2,43 ^a	19,45±2,14 ^c
Teneur totale en Flavonoïdes [mgER/g d'extrait]	8,29±0,97 ^a	1,86±0,17 ^b	0,32±0,02 ^c

Chaque valeur est une moyenne de trois mesures $\pm$ écart type

La différence des lettres (a-c) affectée sur la même ligne indique une différence significative ($P < 0,05$)

I.3.4. La composition chimique de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* a identifié 22 composés avec un pourcentage de 99,99%, dont elle contient principalement (Tableau VI et figure 40): Camphor 45,01%, Bornyl Acetate (15,07%), Borneol (11,33%), Beta Eudesmol (4,74%), Camphene (3,58%), Cineole (Eucalyptol) (2,96%), Terpinolene (2,3%), cyclopentene,3-ethylidene1-1methyl (2,05%), Nerol (1,69%), Alpha pinène (1,61%), Geranyl bromide (1,56%), Terpeneol-4 (1,44%), Limonene (1,42%), 2(1H) -pyridinone (1,07%) en plus d'autres composés qui sont présents mais avec des teneurs relativement faibles tel que Cis-Jasmone (0,82%), 2-(2-methylpropyl) – Phenol (0,72%), cyclohexene,1,5,5-trimethyl-1- met (0,59%), Beta Farnesene (E) (0,49%), Eugenol (0,47%), Beta Pinene (0,45%), Bicyclo[2.2.1] heptan-3-one (0,35%) et le Benzenepropanoic acid, tridecyl es (0,27%).

L'analyse de la composition de la sous-espèce *Achillea odorata* ssp. *pectinata* du Maroc n'a été pas étudiée auparavant. En Algérie, une analyse de la variété *Achillea odorata* L. ssp. *Pectinata* (Lamk) var. *microphylla* (Willd.) Willk. a montré qu'à la période de floraison, le composé majoritaire est le camphor avec un pourcentage de 22,9 à 26,3%, suivie par le 1,8-cineole (15,7 à 17,8%) puis le α -pinène (11,3 à 12,5%) (Bekhechi *et al.*, 2011).

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Bekhechi *et al.*, 2011. En effet, le composé majoritaire est le camphor dont la sous-espèce marocaine est en l'occurrence plus riche par ce composé avec un pourcentage de 45,01% contre 26,3%. Par ailleurs, les composés : Bornyl Acetate (15,07%), Borneol (11,33%), β -Eudesmol (4,74%) sont présents dans l'huile essentielle de la sous-espèce marocaine alors qu'ils sont absents dans la composition de l'huile essentielle de l'espèce algérienne. On note également que cette dernière est plus riche en 1,8-cineole (15,7 à 17,8%) et α -pinène (11,3 à 12,5%) en comparaison avec leur teneur dans l'huile essentielle de notre sous-espèce.

En comparaison avec *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* , plante du genre *Achillea*, les résultats ont montré que l'huile essentielle d'*Achillea millefolium* ssp. *millefolium* est caractérisée par la présence des composés majoritaires Eucalyptol (24,6%), camphor (16,7%), alpha Terpeneol (10,2%). L'huile essentielle de *Achillea clavennae* L. est composée de camphor (29,5%), myrcene (5,5%), 1,8-cineole (5,3%), β -caryophyllene (5,1%) et linalool (4,9%) (Candan *et al.*, 2003). L'analyse de la composition chimique de deux espèces du genre *Achillea* a montré qu'*Achillea clavennae* est composé du camphor (41,9%) et 1,8-cineole

(22,5%), alors que l'huile d'*Achillea holosericea* est caractérisée par le borneol (30,2%) et camphor (14,8%) (Beziç *et al.*, 2003).

On note que d'un point de vue qualitatif, les composés les plus répandus dans les huiles essentielles des plantes du genre *Achillea* sont l'eucalyptol, le camphor et le borneol alors que qualitativement ils sont différents.

La différence dans la composition chimique des huiles essentielles d'*Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq pourrait s'expliquer par des facteurs climatiques et géographiques.

I.3.5. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*

Les résultats de dosage des polyphénols d'*Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq (Tableau VII) montrent que l'extrait méthanolique est le plus riche en polyphénols ($84,94 \pm 2,33$ mg EAG/g d'extrait) par rapport à l'extrait aqueux ($80,17 \pm 4,57$ mg EAG/g d'extrait) et l'extrait éthanolique ($68,91 \pm 4,57$ mg EAG/g d'extrait).

En ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait méthanolique est le plus riche par ces composés ($89,69 \pm 1,68$ mg ER/g d'extrait) suivie par l'extrait aqueux ($76,66 \pm 11,42$ mg ER/g d'extrait), alors que l'extrait éthanolique est le plus faible en teneur des flavonoïdes ($6,72 \pm 1,21$ mg ER/g d'extrait).

Nos résultats concernant la richesse de l'espèce *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq en polyphénols et en flavonoïdes confirment ceux rapportés par Boutennoun *et al.* (2014), ces auteurs ont rapporté que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de l'espèce *Achillea odorata* est de $448,8 \pm 1,04$ mg GAE/g CE et $97,77 \pm 0,91$ mg QE/g CE.

Tableau VI: La composition chimique de l'huile essentielle de la sous-espèce *Achillea odorata* ssp. *pectinata*

Numéro	Composés	RT ^x	IK ^y	%
1	Alpha pinene	8,55	930	1,61
2	Camphene	9,14	947	3,58
3	Beta Pinene	10,14	975	0,45
4	Limonene	12,07	1027	1,42
5	Cineole (Eucalyptol)	12,19	1030	2,96
6	Camphor	16,59	1148	45,01
7	2(1H) pyridinone	16,79	1153	1,07
8	Bicyclo[2.2.1] heptan-3-one	17,06	1161	0,35
9	cyclopentene,3-ethylidene1-1methyl	17,37	1169	2,05
10	Borneol	17,47	1172	11,33
11	Terpineol-4	17,75	1179	1,44
12	Terpinolene	18,29	1194	2,3
13	cyclohexene,1,5,5-trimethyl-1- met	19,49	1226	0,59
14	Geranyl bromide	20,23	1246	1,56
15	Bornyl acetate	21,45	1279	15,07
16	Phenol,2-(2-methylpropyl)	21,76	1287	0,72
17	Eugenol	23,67	1349	0,47
18	Nerol	24,57	1376	1,69
19	Cis-Jasmone	25,03	1390	0,82
20	E-Beta Farnesene	26,97	1451	0,49
21	Benzenepropanoic acid, tridecyl es	31,55	1602	0,27
22	Beta Eudesmol	33,01	1654	4,74
Total				99,99

^xtemps de rétention

^yindice de Kovats

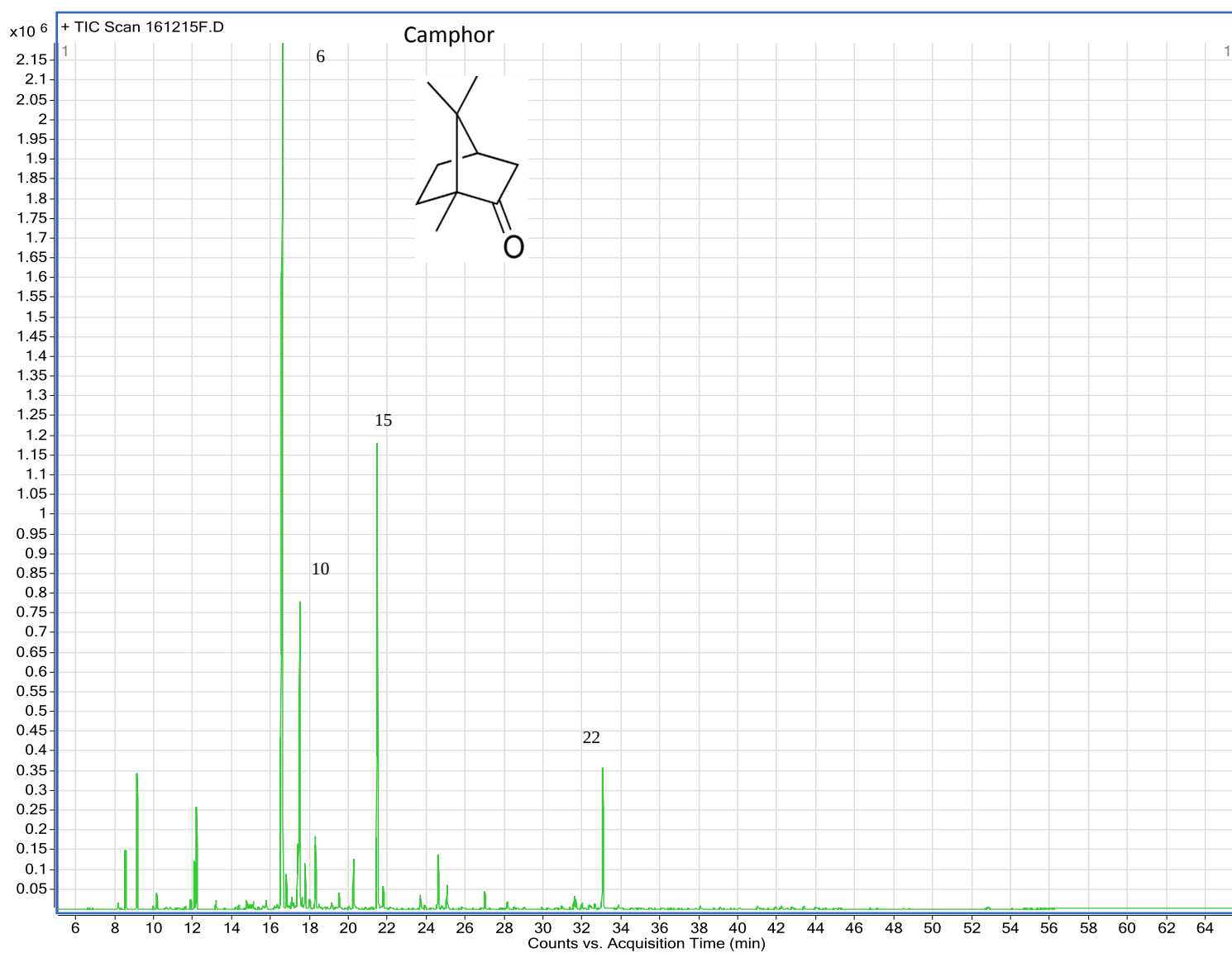


Figure 40 : Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* (les numéros des pics peuvent s'identifier dans le **tableau VI**)

TableauVII: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux *Achillea odorata* ssp. *pectinata*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Rendement	6,50%	7,13%	3,21%
Teneur totale en Polyphénols [mgEAG/g extrait]	68,91 ± 4,57 ^c	84,94 ± 2,33 ^a	80,17 ± 4,57 ^b
Teneur totale en Flavonoïdes [mgER/g extrait]	6,72 ± 1,21 ^c	89,69 ± 1,68 ^a	76,66 ± 11,42 ^b

Chaque valeur est une moyenne de trois mesures ± écart type

La différence des lettres (a-c) affectée sur la même ligne indique une différence significative (p<0,05)

I.3.6. La composition chimique de l'huile essentielle de *Teucrium polium* ssp. *polium*

L'huile essentielle est constitué de 30 composés avec un pourcentage de 98,85% (Tableau VIII et Figure 41), Les composés majoritaires sont le β -pinène (19,82%), Germacrene D (18,33%), α -cadinol (6,83%), α -pinene (6,76%), Limonene (5,71%), Bicyclo[4.4.0] dec-1en,2-isopropyl (5,05%), Delta Cadinene (4,51%), Spathulenol (4,15%), Bicyclogermacrene (3,21%), Myrcene (2,9%), Camphor (2,45%), (E) Farnesene (1,93%), 2-Methyl-1-nonene-3-yne (1,83%), β -Bourbonene (1,45%), bicyclo[7.2.0] undec-4-ene,4,11,11 (1,39%), α -Gurjunene (1,13%), δ -muurolene (1,13%), Borneol (1,1%), gamma-Cadinene (1,04%), Allo aromadendrene (1,02%), (-) Isolatedene (1,02%).

D'autres composés sont également présents, mais à des teneurs moins importantes tel que le α -elemene (0,99%), Trans-Pinocarveol (0,89%), α -Muurolene (0,83%), Italicene (0,76%), E,Z-3-Ethylidenecyclohexane (0,71%), nephtalene, 5-butyl-1,2,3,4-tetra (0,68%), β -Selinene (0,66%), α -copaene (0,59%), Cadina-1,4-diene (0,56%), et Para cymene (0,55%).

Nos résultats sont similaires qualitativement et diffèrent quantitativement avec ceux rapportés par Fertout-Mouri *et al.* (2016), où le D-germacrène (18,92 %), bicyclogermacrène (11,04 %), β -pinène (9,03 %), α -pinène (3,21 %), δ -cadinène (2,67 %) et spathulénol (4,21 %) étaient majoritaires.

D'autres études ne concordent pas avec les notre. En effet, l'analyse chimique de *Teucrium polium* récoltée en Jordanie a montré la présence d'autre composé majoritaire qui

est le 8-cedren-13-ol (24,80%), β -caryophyllene (8,70%), germacrene-D (6,83%), sabinene (5,24%), α -humulene (4,34%), allo-aromadendrene (4,54%) et le δ -cadinene (3,51%) (Aburjai *et al.*, 2006).

Par ailleurs, l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle du *Teucrium polium* récoltée en Turquie a montré que cette plante est caractérisée par le beta-pinene (18,0%), P-caryophyllene (17,8%), α -pinene (12,0%), caryophyllene oxide (10,0%), myrcene (6,8%) et le germacrene-D (5,3%) (Çakir *et al.*, 1998).

La détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de *T. polium* ssp. *valentinum* endémique de l'Espagne a permis d'identifier les composés suivants : α -pinène (15,8%), sabinene (7,2%), β -pinene (11,7%), *trans*-pinocarveol (4,3%), terpinen-4-ol (4,5%) et le β -bisabolene (2,5%) ; (Perez-Alonso *et al.*, 1993).

On note que le β -pinene, α -pinène et germacrene-D sont les composés les plus trouvés dans la composition chimique du l'espèce *Teucrium polium* récoltée dans plusieurs régions de part le monde, alors que les autres composés diffèrent d'une zone à une autre. Ces résultats montrent l'influence de l'origine géographique, du climat et de la nature du sol sur la composition et la qualité de l'huile essentielle du *Teucrium polium* (Djabou *et al.*, 2012 ; Sadeghi *et al.*, 2014). En outre, nos résultats ont montré que la composition chimique de la sous-espèce *Teucrium polium* ssp. *polium* du Maroc est caractérisée par la présence d'une teneur riche en β -pinène (19,82%) et en Germacren-D (18,33%).

I.3.7. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de *Teucrium polium* ssp. *polium*

D'après le tableau IX, on note que l'extrait méthanolique est le plus riche en teneur des polyphénols ($94,21 \pm 0,23$ mg EAG/g d'extrait), suivis par la teneur de l'extrait aqueux ($87,32 \pm 2,61$ mg EAG/g d'extrait) puis l'extrait éthanolique ($75,99 \pm 1,9$ mg EAG/g d'extrait).

Tableau VIII: Composition chimique de l'huile essentielle de *Teucrium polium* ssp. *polium*

Numéro	Composés	RT ^x	RI ^y	%
1	alpha pinene	8,55	930	6,76
2	beta pinene	10,16	975	19,82
3	Myrcene	10,59	987	2,9
4	para cymene	11,89	1022	0,55
5	Limonene	12,08	1027	5,71
6	Trans-Pinocarveol	16,27	1139	0,89
7	Camphor	16,51	1146	2,45
8	Borneol	17,42	1170	1,1
9	2-Methyl-1-nonene-3-yne	18,28	1194	1,83
10	alpha copaene	24,52	1375	0,59
11	Beta Bourbonene	24,78	1382	1,45
12	Allo aromadendrene	27,22	1459	1,02
13	E,Z-3-Ethylidenecyclohexane	27,42	1466	0,71
14	Germacrene D	27,9	1481	18,33
15	Beta Selinene	28,14	1488	0,66
16	Bicyclogermacrene	28,34	1495	3,21
17	Alpha Muurolene	28,41	1497	0,83
18	Alpha Gurjunene	28,63	1504	1,13
19	Gamma Cadinene	28,86	1512	1,04
20	Delta Cadinene	29,02	1517	4,51
21	(E) Farnesene	30,28	1559	1,93
22	Spathulenol	30,76	1575	4,15
23	bicyclo[7.2.0] undec-4-ene,4,11,11	31,33	1595	1,39
24	nephtalene, 5-butyl-1,2,3,4-tetra	31,9	1614	0,68
25	Cadina-1,4-diene	32,64	1626	0,56
26	Bicyclo[4.4.0] dec-1en,2-isopropy	32,64	1641	5,05
27	Isoledene	32,77	1645	1,02
28	Alpha cadinol	33,03	1655	6,83
29	Italicene	33,86	1684	0,76
30	alpha elemene	34,1	1692	0,99
Total				98,85

^xtemps de rétention^yindice de Kovats

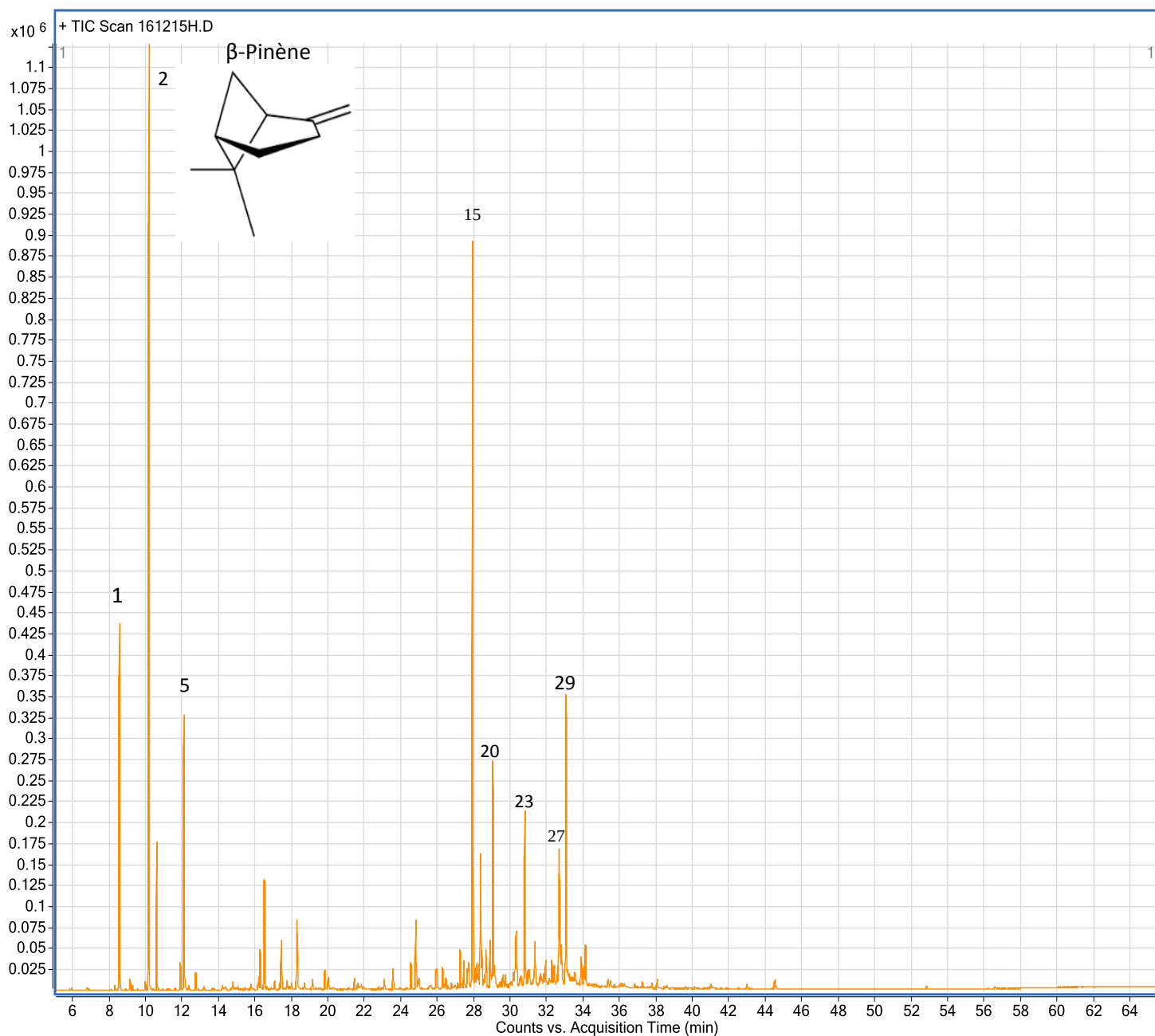


Figure 41 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Teucrium polium* ssp. *polium* (les numéros des pics peuvent s'identifier dans le **tableau VIII**)

Cependant, l'extrait éthanolique est le plus riche par sa teneur en flavonoïdes ($136,59 \pm 3,51$ mg ER/g d'extrait), suivis par la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique ($118,64 \pm 0,78$ mg ER/g d'extrait) et une teneur moindre dans l'extrait aqueux ($110,11 \pm 5,64$ mg ER/g d'extrait).

La forte teneur en polyphénols dans les extraits méthanolique et aqueux de *Teucrium polium* ssp. *polium* est similaire avec celle trouvée par Goullass *et al.* (2012). En effet, ces chercheurs ont montré que les extraits aqueux et méthanolique de cette plante sont les plus riches en polyphénols avec des valeurs égales à 164 mgGAE/g d'extrait et 144mgGAE/g d'extrait, respectivement. Dans une autre étude, Tepe *et al.* (2011) ont montré que l'extrait d'éthanol 75% contient une teneur en polyphénols de $107,8 \pm 1,4$ mgGAE/g d'extrait.

Cependant, Djeridane *et al.* (2006) ont montré que la plante *Teucrium polium* contient des faibles teneurs en polyphénols ($4,92 \pm 0,21$ mgGAE/g poids sec) et en flavonoïdes ($4,63 \pm 0,1$ mgRE)/g poids sec).

La différence dans la teneur en polyphénols des extraits de l'espèce *Teucrium polium* récoltée de plusieurs sites différents pourrait être due selon Stefkov *et al.* (2009) à la saison de récolte.

Tableau IX: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Teucrium polium* ssp. *polium*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Rendement	2,31%	3,12%	1,16%
Teneur totale en Polyphénols [mgEAG/g extrait]	$75,89 \pm 1,9^c$	$94,21 \pm 0,23^a$	$87,32 \pm 2,6^b$
Teneur totale en Flavonoïdes [mgER/g extrait]	$136,59 \pm 3,52^a$	$118,64 \pm 0,78^b$	$110,11 \pm 5,64^b$

Chaque valeur est une moyenne de trois mesures $\pm$ écart type

La différence des lettres (a-c) affectée sur la même ligne indique une différence significative ($p < 0,05$)

I.3.8. La composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens*

L'analyse chimique de l'huile essentielle du *Mentha Suaveolens* par GC-MS (Tableau X et figure 42) a permis d'identifier 17 composés volatiles. Ces composés représentent 99,28% dont les constituants principaux sont piperitenone oxide (39,11%), Germacrene-D (13,6%), β - trans-caryophyllene (9,5%), piperitone oxide (8,03%), 1-4- Terpineol (6,11%), δ -terpinene (5,33%), 4-methyl-5-ethylthiazole (4,69%) et le 1-Butanone, 1-bicyclo[4.1.0] hept-7 (3,61%). Les résultats ont montré la présence d'autres composés en faibles pourcentages, il s'agit du Borneol (1,51%), gamma-Gurjunene (1,16%), Epi-bicyclosuiphellandrene (1,12%), E- β Farnesene (1,11%), α -Humulene (1,09%), Cis piperitone oxide (1,08%), β -elemene (0,93%), Copaene (0,89%) et le delta Cadinene (0,41%).

Nos résultats sont similaires avec d'autres études qui ont montré que le composé majoritaire de *Mentha suaveolens* est le piperitenone oxide avec des pourcentages différents (Oumzil *et al.*, 2002; Koliopoulos *et al.*, 2010).

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* récolté dans différentes régions du Maroc a montré une différence qualitative et quantitative dans la composition chimique de cette plante. En effet, Benayad (2013) a montré que *Mentha suaveolens* récolté dans la région de Rabat est caractérisée par le Piperitenone (33.03%), pulegone (17.61%) et piperitone (9.18%) alors que Kasrati *et al.* (2013) ont montré que les huiles essentielles de l'espèce sauvage et celle cultivée sont composées principalement du Menthone (39,4 à 10,8%), pulegone (62,3 à 34,3%) and l'isomenthone (9,3 à 7,8%), respectivement.

Cette différence est confirmée par les résultats de l'analyse de la composition chimique de l'espèce *Mentha suaveolens* originaire de la Corse et qui ont montré que les produits majoritaires sont: le pulegone (44,4%) et le *cis-cis-p*-menthenolide (27,3%) (Sutour *et al.*, 2008)

Notre étude a montré que l'huile essentielle de l'espèce qui a fait l'objectif de notre analyse chimique est caractérisée par la présence de Germacrene-D (13,6%), beta-trans-caryophyllene (9,5%), Terpinen-4-ol acetate (6,11%), δ -terpinene (5,33%), 4-methyl-5-ethylthiazole (4,69%), 1-Butanone, 1-bicyclo[4.1.0] hept-7 (3,61%) qui sont absents de la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante dans la littérature.

Cette variation de la composition chimique de l'huile essentielle pourrait être expliquée par une différence dans les conditions environnementales, l'origine et la saison de récolte, etc... (Hussain *et al.*, 2010).

I.3.9. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de *Mentha suaveolens*

Les résultats présentés dans le tableau XI montrent que parmi les trois extraits de *Mentha suaveolens*, l'extrait méthanolique est le plus riche en polyphénols ($112,04 \pm 2,98$ mg EAG/g d'extrait), puis vient l'extrait éthanolique dont la teneur est de l'ordre de $101,07 \pm 4,34$ mg EAG/g d'extrait, alors que $92,70 \pm 5,82$ mg EAG/g d'extrait sont trouvés dans l'extrait aqueux.

Par ailleurs, la teneur de l'extrait méthanolique en flavonoïdes est de l'ordre de $99,77 \pm 5,4$ mg ER/g d'extrait, suivis par une teneur de $89,02 \pm 4,23$ mg ER/g d'extrait aqueux, par contre la teneur trouvée dans l'extrait éthanolique est $68,66 \pm 2,94$ mg ER/g d'extrait.

Nos résultats ne sont pas similaires avec ceux rapportés par Moldovan *et al.* (2014), en effet ces auteurs ont montré que l'extrait éthanolique 70% de *M. suaveolens* var. *variegata* est faible en polyphénols et en flavonoïdes avec des teneurs, respectivement, de $7,60 \pm 0,10$ g GAE/100 g matériel végétal et $0,40 \pm 0,04$ g RE/100 g matériel végétal.

En comparaison avec les plantes de genre *Mentha*, une étude menée par Barchan *et al.* (2014) a montré que les extraits méthanolique et aqueux des espèces *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita* sont riches en polyphénols avec des teneurs qui varient entre $167,2 \pm 0,41$ et $305,4 \pm 1,32$ µg TAE/mg dont l'extrait aqueux de *Mentha spicata* contient la plus forte teneur en polyphénols.

Tableau X: Composition chimique du *Mentha suaveolens*

Numéro	Composés	RT ^X	IK ^Y	%
1	gamma terpinene	13,63	1068	5,33
2	Borneol	17,43	1171	1,51
3	1-4-Terpineol	17,75	1179	6,11
4	cis piperitone oxide	20,25	1249	1,08
5	piperitone oxide	20,36	1252	8,03
6	Piperitenone oxide	24,06	1361	39,11
7	Beta elemene	24,97	1388	0,93
8	1-Butanone, 1-bicyclo[4.1.0] hept-7	25,17	1394	3,61
9	4-methyl-5-ethylthiazole	25,55	1406	4,69
10	trans-caryophyllene (beta)	25,96	1419	9,5
11	E-Beta Farnesene	26,98	1451	1,11
12	Alpha Humulene	27,08	1455	1,09
13	Epi-bicyclosesuihellandrene	27,28	1461	1,12
14	Germacrene D	27,9	1481	13,6
15	Delta Cadinene	29,01	1508	0,41
16	Gamma Gurjunene	31,28	1546	1,16
17	Copaene	33,01	1654	0,89
Total				99,28

^X temps de rétention

^Y indice de Kovats

Tableau XI: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Mentha suaveolens*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Rendement	1,13%	2,64%	3,26%
Teneur totale en Polyphénols [mgEAG/g extrait]	101,07 ± 4,34 ^a	92,70 ± 5,82 ^a	112,04 ± 2,98 ^a
Teneur totale en Flavonoïdes [mgER/g extrait]	68,66 ± 2,94 ^b	99,77 ± 5,04 ^a	89,02 ± 4,23 ^a

Chaque valeur est une moyenne de trois mesures ± écart type

La différence des lettres (a-c) affectée sur la même ligne indique une différence significative (p<0,05)

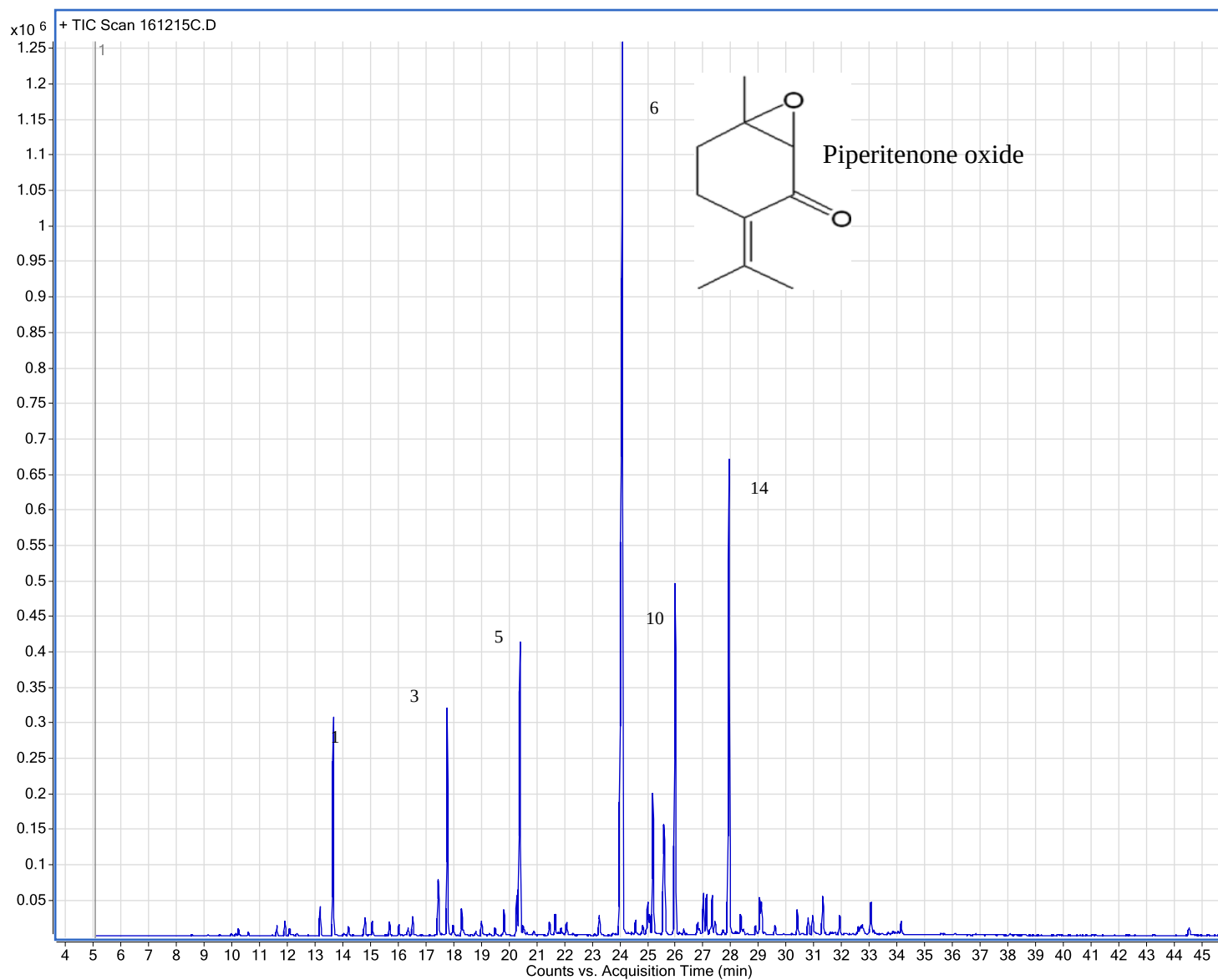


Figure 42: Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* (les numéros des pics peuvent s'identifier dans le tableau X)

I.3.10. La composition chimique de l'huile essentielle de *Micromeria graeca*

L'analyse par GC-MS nous a permis d'identifier 10 composés dans l'huile essentielle de *Micromeria graeca* majoritaires représentant 99,95% (Tableau XII et figure 43). les composés majoritaires de cette huile sont Geranial (36,93 %), Z-Citral (18,25%), 1,8-epoxyl-p-menth-2-ene (13,01%), Nerol (11,96%) et Bicyclo[5.2.0] nonane,2-methylene- (10,14 %) et deux composés inconnu avec un taux de 5,43% et 2,8%, respectivement. Trois d'autres composés inconnu sont présents en faible pourcentage 0,57 ; 0,47 et 0,39%

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par une étude menée sur deux échantillons de l'espèce *Micromeria graeca* (Tzakou et Couladis., 2001). Cette étude a montré que Caryophyllene oxide (17,0%) et *epi*-bisabolol (12,8%) alors que le deuxième échantillon est riche en linalool (18,1%) et chamigrene (12,5%). L'investigation de la composition chimique de l'huile essentielle de *Micromeria graeca*, récoltée à partir de deux sites différents en Croatie, par Vuko *et al.* (2012) a montré que le composé majoritaire des deux échantillons est alpha-bisabolol avec des pourcentage des 13,9% 15,5%.

En comparaison avec les espèces du genre *Micromeria*, une étude menée sur *Micromeria hedgei* Rech. f., récoltée en Iran, a permis d'identifier parmi les composés majoritaires deux composés présents dans nos résultats de l'analyse de la composition chimique de *Micromeria graeca*. En effet, l'huile essentielle de *Micromeria hedgei* Rech. F est riche en geranial (18,04 et 22,68%), neral (13,81 et 15,99%), geraniol (13,15 et 10,74%), nerol (7,69 et 6,02%), E-caryophyllene (6,52–3,80%), carvacrol (6,20 et 5,27%), geranyl acetate (5,79 et 3,06%), caryophyllene oxide (4,73 et 3,88%), thymol (3,13 et 3,63%) and α -humulene (3,27 et 3,27%) (Alizadeh *et al.* 2017). De même, le geranial a été identifié parmi les composés majoritaires de la composition chimique de l'huile essentielle de *Micromeria debilis* Pomel, récoltée en Algérie et dont les composés majoritaires sont β -Pinene (19,3%), geranial (8,7%), linalool (6,5%), Germacrene D (11,4%) et (*E*)- β -caryophyllene (8,0%) (Gherib *et al.*, 2016).

Une étude menée par Tabanca *et al.* (2001) portant l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de la sous-espèce *Micromeria cristata* Ssp. *phrygia* a permis d'identifier les composés majoritaires à savoir le borneol (27 à 39%), camphor (9 à 15%), caryophyllene oxide (4 à 6%) et *trans*-verbenol (4 à 6%). Formissano *et al.* (2007) ont montré que *Micromeria fruticulosa* (Bertol.) Grande est caractérisée par la présence des composés

majoritaires comme le Gamma-terpinene (14,5%), beta- caryophyllene (12,6%), *p*-cymene (8,9%), alpha-pinene (8,2%) et bêta- bisabolene (7,2%).

L'huile essentielle des plantes de genre *Micromeria* est caractérisé par la présence d'autres composés spathulenol (23,7 à 39,5%), piperitone oxide (7,7 à 12,1%) et piperitone (7,3 à 8,9%) dans l'huile essentielle de *Micromeria longipedunculata* Bräuchler (Kremer *et al.*, 2014).

Signalons que les composés, Z-Citral (18,25%), 1,8-epoxyl-p-menth-2-ene (13,01%) et Bicyclo[5.2.0] nonane,2-methylene- (10,14 %) sont identifiés pour la première fois dans la composition chimique d'une plante appartenant au genre *Micromeria*, en l'occurrence l'espèce *Micromeria graeca* que nous avons étudié et récolté dans la région de Taza.

La différence en composition chimique des plantes du genre *Micromeria* pourrait être attribuée aux facteurs environnementaux, la saison de récolte ou la technique d'extraction.

I.3.11. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de *Micromeria graeca*

Le dosage des polyphénols de trois extraits de *Micromeria graeca* (Tableau XIII) a montré que l'extrait méthanolique contient la teneur la plus élevée en polyphénols ($111,36 \pm 4,29$ mg EAG/g d'extrait), suivis par l'extrait aqueux avec une teneur de $92,23 \pm 9,38$ mg EAG/g d'extrait, alors que la faible teneur est trouvée dans l'extrait éthanolique ($42,3 \pm 2,19$ mg EAG/g d'extrait).

L'analyse quantitative des flavonoïdes montre que l'extrait le plus riche par ces composés l'extrait méthanolique ($190,18 \pm 6,81$ mg ER/g d'extrait), suivis par l'extrait aqueux avec une teneur de l'ordre de $117,30 \pm 3,73$ mg ER/g d'extrait. La teneur en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique est la plus faible $12,25 \pm 0,87$ mg ER/g d'extrait.

En comparaison avec d'autre plante du genre *Micromeria*, on note que le taux élevé des polyphénols et en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de *Micromeria graeca* confirme les résultats rapporté par Formisano *et al.* (2014), ces auteurs ont montré que l'extrait méthanolique de la plante *Micromeria myrtifolia* est riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des teneurs, respectivement, de $221,8 \pm 0,05$ mgGAE/l et $13,20 \pm 0,04$ mg en équivalence de Quercetine/L.

De même Vladimir-Knežević *et al.* (2014) ont rapporté de forte teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans trois espèces appartenant au genre *Micromeria*, ces

auteurs ont montré que les teneurs en polyphénols de *Micromeria croatica*, *Micromeria juliana*, et *Micromeria thymifolia* sont $13,06 \pm 0,08\%$, $10,75 \pm 0,58\%$ et $9,69 \pm 0,58\%$, respectivement. Par ailleurs, les teneurs en flavonoïdes de ces plantes sont moins importantes et varient entre $0,01 \pm 0,002$ et $0,09 \pm 0,020\%$.

Tableau XII: La composition chimique de l'huile essentielle de *Micromeria graeca*

Numéro	Composés	RT ^X	IK ^Y	%
1	Inconnu	7,39	-	5,43
2	1,8-epoxyl-p-menth-2-ene	10,6	987	13,01
3	Inconnu	14,76	1108	2,8
4	Inconnu	17,86	1184	0,47
5	Z-Citral	19,8	1252	18,25
6	Geranial	20,84	1266	36,93
7	Inconnu	24,26	13,67	0,39
8	Nerol	24,57	1376	11,96
9	Bicyclo [5.2.0] nonane,2-methylene-	30,91	1581	10,14
10	Inconnu	32,95	1652	0,57
Total				99,95

^X temps de rétention

^Y indice de Kovats

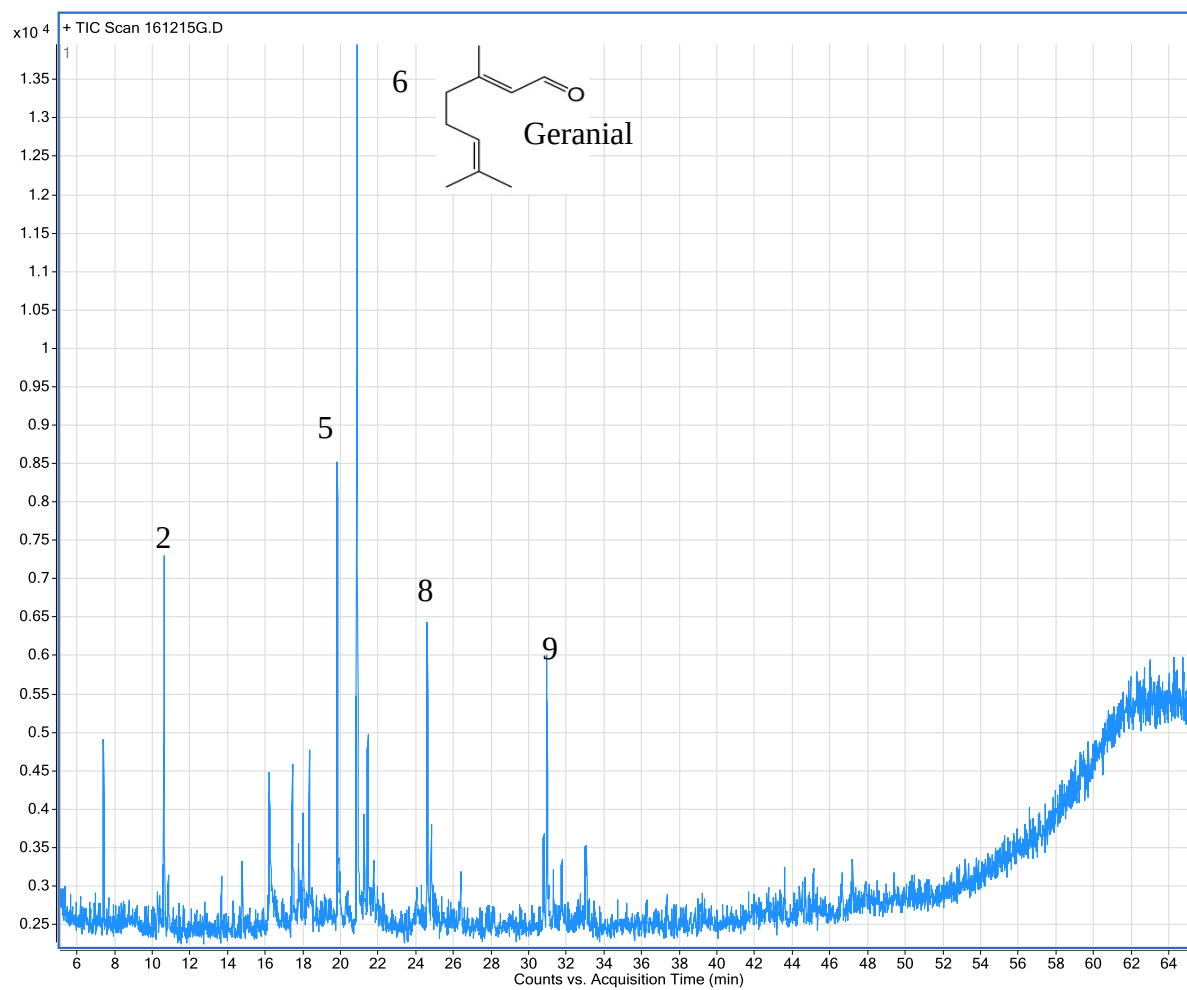


Figure 43: Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Micromeria graeca* (les numéros des pics peuvent s'identifier dans le tableau **XII**)

Tableau XIII: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Micromeria graeca*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Rendement	1,23%	1,63%	2,10%
Teneur totale en Polyphénols [mgEAG/g extrait]	42,3±2,19 ^c	111,36±4,29 ^a	92,23±9,38 ^b
Teneur totale en Flavonoïdes [mgER/g extrait]	12,25±0,87 ^c	190,18±6,81 ^a	117,3±3,73 ^b

Chaque valeur est une moyenne de trois mesures ± écart type

La différence des lettres (a-c) affectée sur la même ligne indique une différence significative (p<0,05)

I.3.12. La composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de la sous espèce *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* a permis d'identifier 28 composés représentant 98,47% du total (Tableau XIV et figure 44). L'identification de ces composés a montré que l'huile essentielle de cette plante est constituée par les composés majoritaires qui sont : 1,4-methano-1H-Indene, octahydro-1 (28,82%), Gamma Gurjunene (14,61%), Cadina-1,4-Diene (5,87%), Borneol (5,35%), Allo Aromadendrene (4,09%), Delta Cadinene (4,05%), Calamenene (3,92%), Aromadendrene (3,25%), Bornyl Acetate (2,71%), Naphthalene,1,2,3,7 (2,46%), Torreyol (2,28%), 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl) azul (2,12%), 2-2-6-trimethyl-cyclohexanone (1,78%), Valerenol (1,75%), Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-oct (1,65%), 2-butanone,4-(4-methoxyphenyl) (1,48%), Epizonaren (1,37%), 1-methyl [2.2] paracyclophan-1-en (1,29%), cyclohexene,5-methyl-3-(1-methyle) (1,17%), 4,5-Dehydro-isolongifolene (1,14%), Anthracene, 9-cyclohexyltetradecah (1,13%), Camphene (1,09%).

D'autres composés sont également présents mais avec des pourcentages mineurs tel que : Gamma terpinene (0,97%), 6,10,11,11-tetramethyl-tricyclo 6 (0,95%), Thymol, (0,95%) Camphor (0,89%), Bicyclo[1.3.0] hexan-3-ol, 4-methyl (0,76%), Alpha Calacorene (0,57%).

Plusieurs études sont menées sur la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Cistus ladanifer*. Nos résultats ont identifiés pour la première fois la présence des composés comme le 1,4-methano-1H-Indene, octahydro-1 (28,82%) et Gamma Gurjunene (14,61%) et Cadina-1,4-Diene (5,87%) dans l'huile essentielle de cette sous espèce.

Cependant, certains composés sont identifiés dans la composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* par d'autres études à différents pourcentage. En effet, le bornyl acetate a été identifié dans l'huile essentielle de cette plante par d'autres chercheurs à un pourcentage de 3,1 à 16,7% (Mariotti *et al.*, 1997 ; Oller-López *et al.*, 2005 ; Greche *et al.*, 2009 et Verdeguer *et al.*, 2012). Le borneol (entre 3,5% et 11,1%) et l'alpha-Cadinene (entre 2,3% et 6,4%) sont présents dans l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* récoltée dans deux sites différents du Maroc : la région orientale et la région de Tanger, au nord du Maroc dont les pourcentage de borneol sont de 3,5% et 11,1%, respectivement, et ceux de l'alpha-Cadinene avec des valeurs de 2,3% et 6,4% (Greche *et al.*, 2009 ; Zidane *et al.*, 2013).

D'après Oller-López *et al.* (2005), le composé allo-aromadendrene est identifié à un pourcentage de 2,1% dans l'huile essentielle de *Cistus ladaniferus* var. *maculatus*, sous espèce récoltée dans la région Chefchaouen-Maroc. Par ailleurs, les mêmes auteurs (Oller-López *et al.*, 2005) ont montré que le composé majoritaire de l'huile essentielle *Cistus ladaniferus* var. *maculatus* est le viridiflorol (7,6%), ce même composé viridiflorol (19.6%) est aussi majoritaire de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* L. var. *albiflorus* (Greche *et al.*, 2009) et de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* originaire du Portugal (entre 13.6 et 17.4%) (Gomes *et al.*, 2005). Selon Guinoiseau (2010) l'espèce *Cistus ladanifer* de la Corse est caractérisée par la présence d'un composé majoritaire, l'alpha-Pinène (52,6%). Ces trois composés sont absents dans la composition chimique de la plante, objet de notre étude.

Cette variation de composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* d'une région à une autre pourrait être expliquée par certains facteurs tels que les facteurs géographiques, climatiques et la période de la récolte (Perry *et al.*, 1999).

I.3.13. Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*

Le tableau XV représente les résultats de dosage des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Cistus ladanifer*, on note que l'extrait aqueux est plus riche en polyphénols ($76,98 \pm 4,6$ mg EAG/g d'extrait) que l'extrait méthanolique ($59,8 \pm 4,99$ mg EAG/g d'extrait) et l'extrait éthanolique ($53,5 \pm 6,28$ mgEAG/g d'extrait).

Les résultats de dosage de flavonoïdes montrent qu'ils sont présents seulement dans l'extrait aqueux ($35,51 \pm 2,04$ mg ER/g d'extrait).

Nos résultats ont montré que les trois extraits de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* sont caractérisés par une forte teneur en polyphénols. Ces résultats sont similaires avec ceux trouvés par l'équipe de Zidane *et al.*, (2013). Ces chercheurs ont rapporté la présence d'une forte teneur en polyphénols dans les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux, des feuilles de *Cistus ladanifer*, avec des valeurs respectivement de $47,96 \pm 0,13$ et $65,76 \pm 0,1$ et $83,31 \pm 0,14$ mg équivalence d'acide Férulique/g de poids sec. Cependant, ces même chercheurs ont rapporté que ces extraits sont riches, contrairement à nos résultats, par les flavonoïdes dont les teneurs sont $51,13 \pm 0,5$; $61,1 \pm 0,53$ et $16,44$ mg/ équivalence de Quercetine/g poids sec.

Une autre étude menée par Andrade *et al.* (2009) a trouvé que l'extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* contient une teneur en polyphénols très élevée par rapport à nos résultats, égale à $255,19 \pm 7,12$ mg GAE/g d'extrait.

Contrairement à nos résultats, Amensour *et al.* (2010) ont rapporté que l'extrait méthanolique et éthanoliques de *Cistus ladanifer* ont une teneur moins importante en polyphénols de $18,43 \pm 2,74$ mgEAG/g d'extrait et $11,87 \pm 0,53$ mgEAG/g d'extrait, ces auteurs ont aussi montré que les extraits méthanolique et éthanolique de cette plante sont riches en flavonoïdes avec des valeurs, respectivement, de $64,33 \pm 0,44$ mg ER/g d'extrait et $61,40 \pm 0,17$ mg ER/g d'extrait, respectivement.

Cette variation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes observés pourrait être expliquée par la saison de récolte, la technique utilisée ou la durée d'extraction.

Tableau XIV: La composition chimique de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*

Numéro	composés	RT ^x	RI ^y	%
1	Camphene	9,13	946	1,09
2	2-2-6-trimethyl-cyclohexanone	12,27	1032	1,78
3	Bicyclo[1.3.0] hexan-3-ol, 4-methyl	16,27	1139	0,76
4	Camphor	16,5	1145	0,89
5	Borneol	17,43	1171	5,35
6	Gamma terpinene	17,74	1179	0,97
7	cyclohexene,5-methyl-3-(1-methyle	18,29	1194	1,17
8	Bornyl Acetate	21,43	1283	2,71
9	Thymol	21,6	1288	0,95
10	Delta Cadinene	29,01	1517	4,05
11	Calamenene	29,11	1520	3,92
12	Alpha Calacorene	29,7	1540	0,57
13	6,10,11,11-tetramethyl-tricyclo[6.	30,57	1569	0,95
14	4,5-Dehydro-isolongifolene	30,76	1575	1,14
15	Valerenol	30,92	1581	1,75
16	2-butanone,4-(4-methoxyphenyl)	31,07	1586	1,48
17	Gamma Gurjunene	31,3	1594	14,61
18	1-methyl [2.2] paracyclophan-1-en	31,44	1598	1,29
19	Allo Aromadendrene	31,59	1604	4,09
20	1,4-methano-1H-Indene, octahydro-1	31,75	1609	28,82
21	Cadina-1,4-Diene	32,24	1626	5,87
22	Epizonaren	32,55	1637	1,37
23	Torreyol	32,68	1642	2,28
24	Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-oct	32,76	1645	1,65
25	Aromadendrene	33,01	1654	3,25
26	Naphthalene,1,2,3,7	33,33	1665	2,46
27	1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)azul	33,49	1671	2,12
28	Anthracene, 9-cyclohexyltetradecah	41,01	2059	1,13
Total				98,47

^x temps de rétention

^y indice de Kovats

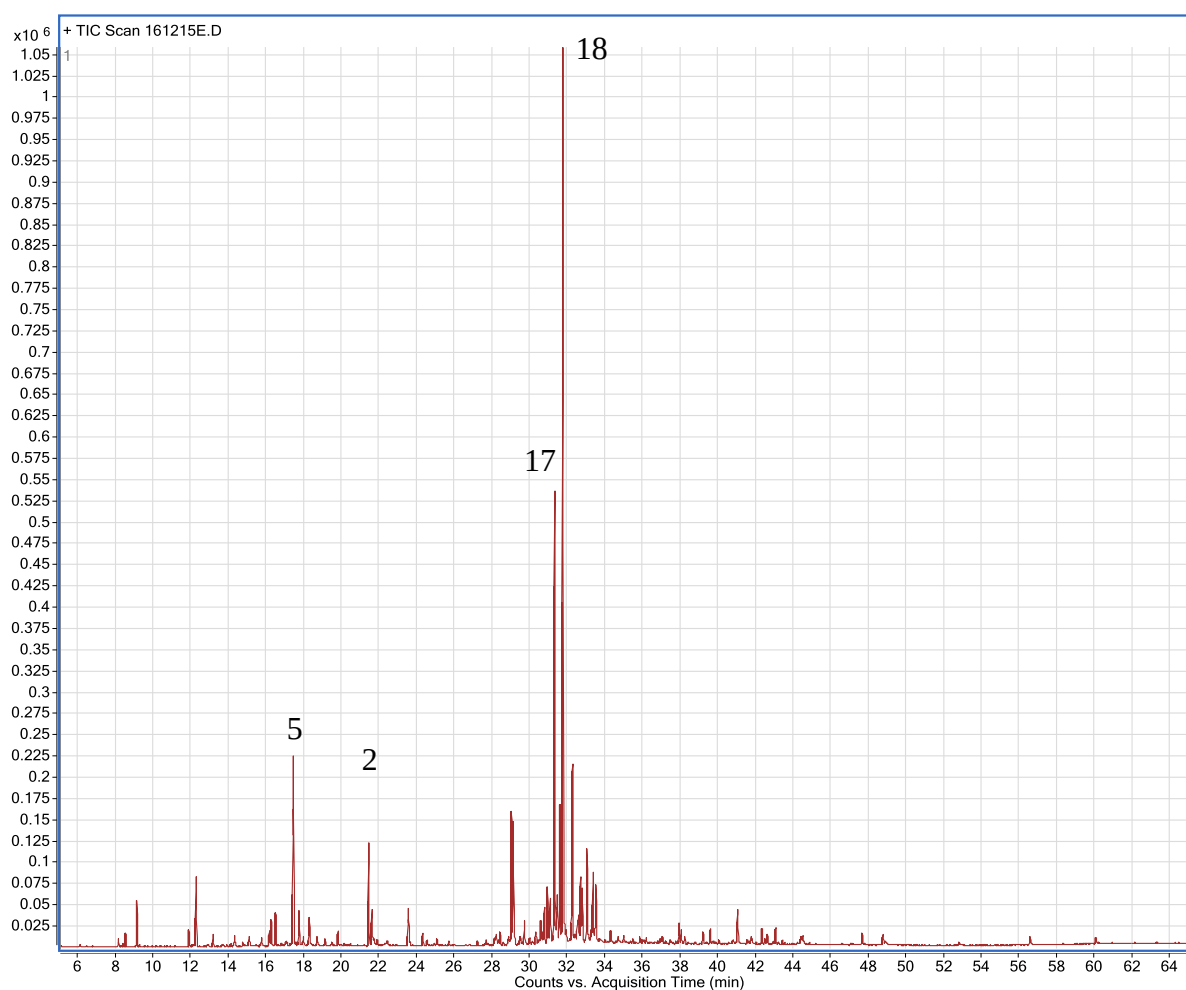


Figure 44: Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* (les numéros des pics peuvent s'identifier dans le **tableau XIV**)

Tableau XV: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*

	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
Rendement	5,70%	6,21%	9,65%
Teneur totale en Polyphénols [mgEAG/g extrait]	53,5±6,28b	59,8±4,99b	76,98±4,66a
Teneur totale en Flavonoïdes [mgER/g extrait]	Nd	Nd	35,51±2,04

I.4. Conclusion

Nous avons consacré ce chapitre d'une part à l'étude de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des plantes *Ruta Montana*, *Achillea odorata L. ssp. pectinata (lamk) Briq*, *Teucrium Polium ssp. polium*, *Mentha Suaveolens*, *Micromeria graeca*, et *Cistus Ladanifer*. Et d'autre part à la détermination de la composition chimique des huiles essentielles des plantes étudiées par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et la teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes étudiées par la méthode de réactif de Folin Ciocalteu et celle de trichlorure d'aluminium, respectivement.

Les résultats de l'étude de la cinétique d'extraction des huiles essentielles ont montré que la durée idéale pour extraire le maximum d'essence à partir des plantes étudiées par hydrodistillation est quatre heures.

Les résultats obtenus grâce à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse montrent que chaque huile essentielle est caractérisée par les produits majoritaires. En effet, l'huile essentielle de la plante *Ruta montana* contient 63,97% du composé undecanone-2. Le comphor constitue 45,01 % de la composition chimique de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata L. ssp. pectinata (lamk) Briq*. Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Teucrium Polium ssp. polium* sont beta pinene (19,82%) et germacrene D (18,33%). Le produit dominant de la composition chimique de l'huile de *Mentha Suaveolens* (39,11%). Le geranial (36,93%) et 1,4-methano-1H-Indene, octahydro-1 (28,82%) sont les produits majoritaires des deux plantes *Micromeria graeca* et *Cistus Ladanifer*, respectivement.

Les teneurs en polyphénols déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu nous a permis de noter que l'extrait méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes étudiées sont une source importante en polyphénols. Toutefois, il est important de signaler que les extraits méthanoliques de *Mentha suaveolens* et de *Micromeria graeca* contiennent la plus forte teneur en polyphénols.

La quantification des flavonoïdes par la méthode de Trichlorure d'aluminium a montré que l'exception des extraits éthanoliques et méthanoliques de *Cistus ladanifer*, ne contient pas de flavonoïde, les extraits contiennent une teneur variable en flavonoïdes selon l'extrait. On note que la forte teneur en flavonoïdes est trouvée dans l'extrait éthanolique de *Teucrium polium ssp. polium*.

Chapitre 3. Activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées

I.1. Introduction

L'objectif de ce chapitre est d'étudier l'activité antimicrobienne des extraits des six plantes médicinales et aromatiques sélectionnées *Ruta Montana*, *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq, *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Micromeria graeca*, et *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* contre des souches pathogènes pour l'Homme et des souches phytopathogènes. L'étude de leur pouvoir antimicrobien a été réalisée par la technique de diffusion par disque pour la détermination des diamètres des zones d'inhibition et par la méthode de microplaque pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

L'activité antimicrobienne des extraits testés se manifeste par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques.

I.2. Activité antimicrobienne de *Ruta montana*.

Les résultats des zones d'inhibition et des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'activité antimicrobienne des quatre extraits de la partie aérienne de *Ruta montana* contre des souches Gram positive et Gram négative et un champignon sont présentés, respectivement, dans les tableaux (XVI et XVII) et les figures (45, 46 et 47). Les résultats ont montré que l'huile essentielle présente l'activité antimicrobienne la plus importante, suivie par l'extrait méthanoliques et l'extrait éthanoliques alors que l'extrait aqueux n'a aucun effet sur les souches testées.

En effet, l'huile essentielle inhibe totalement la croissance de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3, son effet antimicrobien contre les autres souches est traduit par des diamètres d'inhibition qui varient entre $9 \pm 2,64\text{mm}$ et $27,33 \pm 0,57\text{mm}$. Selon Ponce *et al.*, (2003), les souches *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* (PSS2636-40), *Candidat albicans* ATCC 10231, *Bacillus subtilis* DSM 6633, et *Proteus mirabilis* sont extrêmement sensibles à cette huile essentielle avec des zones d'inhibition correspondantes à $27,33 \pm 0,57\text{mm}$, $21,66 \pm 0,57\text{mm}$, $21,33 \pm 1,52\text{mm}$ et $16,66 \pm 1,15\text{mm}$, respectivement. Par contre les souches *Staphylococcus aureus* CECT 976, *Listeria innocua* CECT 4030 et *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118 sont moins sensibles avec, respectivement, des diamètres d'inhibition de $12 \pm 1\text{mm}$, $10,33 \pm 1,52\text{mm}$ et $9 \pm 2,64\text{mm}$.

Tableau XVI : Activité antimicrobienne des extraits de *Ruta montana*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits (mm) ^x								
	Types d'extraits				Antimicrobiens				
	Huile essentielle	Méthanolique	Ethanolique	Aqueux	Gentamicin	Vancomycin	Streptomycin	Amphotericin	Ketoconazole
<i>S.aureus</i> CECT 976	12±1 ^a	10,66±0,57 ^a	- ^y	-	34,33±0,57 ^b	30,66±0,57 ^c	NT ^z	NT	NT
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	21,33±1,52 ^a	17,33±0,57 ^b	-	-	25,66±0,57 ^c	27,66±0,57 ^d	NT	NT	NT
<i>L.innocua</i> CECT 4030	10,33±1,52 ^a	-	-	-	17,66±0,57 ^b	25,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>E.coli</i> K12	-	-	-	-	20,33±0,5 ^a	8±00 ^b	NT	NT	NT
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	9±2,64 ^a	-	-	-	19±1 ^b	-	NT	NT	NT
<i>P.mirabilis</i>	16,66±1,15 ^a	19,33±0,57 ^b	-	-	28,66±0,57 ^c	24,33±0,57 ^d	NT	NT	NT
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	Totale ^a	18,33±0,57 ^b	13,66±0,57 ^c	-	NT	NT	24,66±057 ^d	NT	NT
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	27,33±0,57 ^a	13,33±0,57 ^b	11,33±0,57 ^c	-	NT	NT	26,33±0,57 ^a	NT	NT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	21,66±0,57 ^a	-	-	-	NT	NT	NT	18,66±1,15 ^b	20,66±0,57 ^a

^x Diamètre de la zone d'inhibition (mm) produite autour des disques. Les valeurs indiquées sont la moyenne de trois répétitions ± Ecart type. La différence en lettres (a-c) indique la signification ($P<0.05$) des tests dont chaque ligne est indépendante de l'autre.

^y Pas d'effet

^z non testé

Tableau XVII: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de *Ruta montana* (mg/ml)

Souches bactériennes	Types d'extraits							
	Huile essentielle		Méthanolique		Ethanolique		Aqueux	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S.aureus</i> CECT 976	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	0,39	6,25	12,5	12,5	-	-	-	-
<i>L.innocua</i> CECT 4030	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> K12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	0,78	6,25	12,5	25	-	-	-	-
<i>Cm.michiganense</i> 1616-3	0,39	6,25	12,5	25	-	-	-	-
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	1,56	1,56	-	-	-	-	-	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	6,25	>25	-	-	-	-	-	-

(-) : non déterminé

Pour l'extrait méthanolique, les résultats ont montré que cet extrait exerce un pouvoir antimicrobien qui varie d'une souche à une autre. En effet, cet extrait est actif contre *Proteus mirabilis* ($19,33 \pm 0,57$), *Bacillus subtilis* DSM 6633 ($17,33 \pm 0,57$ mm) et *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 ($18,33 \pm 0,57$ mm), PSS2636-40 ($13,33 \pm 0,57$ mm) et *Staphylococcus aureus* CECT 976 ($10,66 \pm 0,57$ mm), alors que les autres souches ont montré une résistance vis-à-vis de cet extrait.

En conclusion, les résultats ont montré que l'extrait éthanolique exerce un effet antimicrobien moins important que l'huile essentielle et l'extrait méthanolique avec des diamètres d'inhibition qui ne dépassent pas $13,66 \pm 0,57$ mm et $11,33 \pm 0,57$ mm, respectivement, contre *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 et PSS2636-4), alors que l'extrait aqueux n'a montré aucune activité contre les souches testées.

Par ailleurs, les extraits organiques n'ont aucun effet sur la levure *Candida albicans* ATCC 10231.

La souche *Escherichia coli* K12 a montré une résistance vis-à-vis l'huile essentielle et les extraits organiques de *Ruta montana*.

Les valeurs des CMI confirment les résultats des zones d'inhibition pour les microorganismes test. Pour l'huile essentielle les CMI varient entre 0,39mg/ml et 6,25mg/ml. La valeur la plus intéressante de CMI=0,39mg/ml est observée contre les deux souches *Bacillus subtilis* DSM 6633 et *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3, alors que la CMI de l'huile contre *Candida albicans* ATCC 10231 est égale à 6,25mg/ml. Les CMI de l'extrait méthanolique contre *Bacillus subtilis* DSM 6633, *Proteus mirabilis* et *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 sont de 12,5mg/ml.

Par ailleurs, les rapports CMB/CMI indiquent que l'huile essentielle exerce un effet bactéricide contre la souche PSS2636-40 (CMB/CMI=1) et un effet bactériostatique contre les autres souches testées (CMB/CMI>4) par contre l'extrait méthanolique exerce un effet bactéricide contre toutes les souches sensibles à cet extrait.

Nos résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de *Ruta montana* sont en accord avec les résultats d'autres études menées sur les extraits de cette plante. En effet, les études menées par Daoudi *et al.*,(2016) ont montré que l'huile essentielle et le décocté de *Ruta montana* récolté au Maroc sont actifs contre *Staphylococcus aureus* et *Proteus mirabilis* dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre 16,33 et 27,3 mm. Entre outre, ces extraits sont inactifs contre la souche *E. coli*. Aussi l'étude menée par Hammami *et al.* (2015) sur

l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles du *Ruta montana*, récoltée en Tunisie, contre des champignons phytopathogènes a montré que l'huile essentielle et les extraits organiques réduisent la croissance de ces champignons avec des pourcentages qui varient respectivement entre 40,0–80,0 % et 5,0–58,0 %.

Les résultats trouvés par Djari *et al.*, (2013) ne sont pas similaires avec les nôtres. En effet, cette étude a montré que les souches *Escherichia coli* (SH) et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 20 sont sensibles à l'huile essentielle de *Ruta montana*, récoltée en Algérie, avec des diamètres des zones d'inhibition de 19mm et 20mm, respectivement.

En comparaison avec l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits des plantes du genre *Ruta* : *Ruta. chalepensis* var. *bracteosa*, *Ruta graveolens*, *Ruta angustifolia* et *Ruta tuberculata*, récoltés en Algérie, les résultats ont montré que les huiles essentielles de ces plantes ont une activité antifongique plus importante que l'activité antibactérienne. En effet toutes les huiles essentielles sont actives contre les souches fongiques testées tel que *Candida albicans* dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre 15 et 37mm, alors que pour l'activité antibactérienne, seule l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* var. *bracteosa* est active contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi* avec des diamètres d'inhibition de 17 et 15mm, respectivement ; les autres huiles essentielles n'ont pas montré d'activité antimicrobienne importante contre les souches bactériennes testées et dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre 6 et 12mm (Haddouchi *et al.*, 2013).

En outre, selon Orlanda *et al.* (2015), les résultats de l'activité antibactérienne de *Ruta graveolens* L., récolté au Brésil, ont montré que l'huile essentielle de cette espèce est douée d'un pouvoir antibactérien remarquable contre les souches *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*, *Escherichia coli* et *Micrococcus luteus* avec des zones d'inhibition, respectivement, de $25,60 \pm 0,03\text{mm}$, $22,00 \pm 0,06\text{mm}$, $19,00 \pm 0,02\text{mm}$, $17,70 \pm 0,04\text{mm}$ et $17,00 \pm 0,05\text{mm}$.

Ces différences en résultats relatives au pouvoir antimicrobien entre les extraits testés pourraient être expliquées par la différence en composition chimique entre l'huile essentielle et les différents extraits organiques.

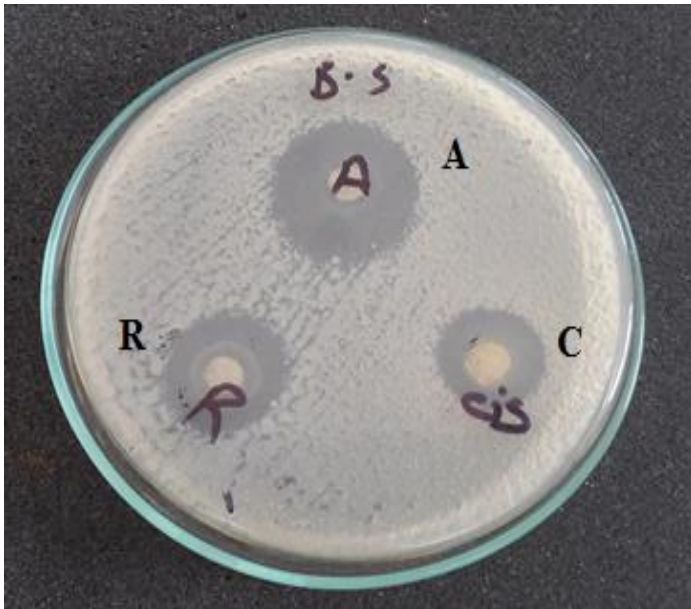


Figure 45: Effet antibactérien des huiles essentielles de *Achillea odorata* (A); *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* (C) et *Ruta montana* (R) contre la souche *Bacillus subtilis* DSM 6633

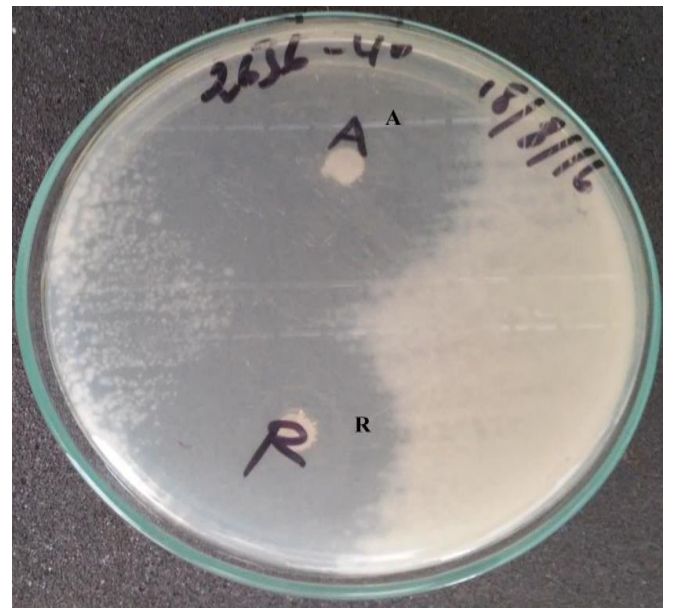


Figure 46 : Effet antibactérien des huiles essentielles de *Achillea odorata* L ssp. *pectina* (A) et *Ruta montana* (R) contre la souche *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* (2636-40)



Figure 47: Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* (C) et *Ruta montana* (R) contre la souche *Proteus mirabilis*

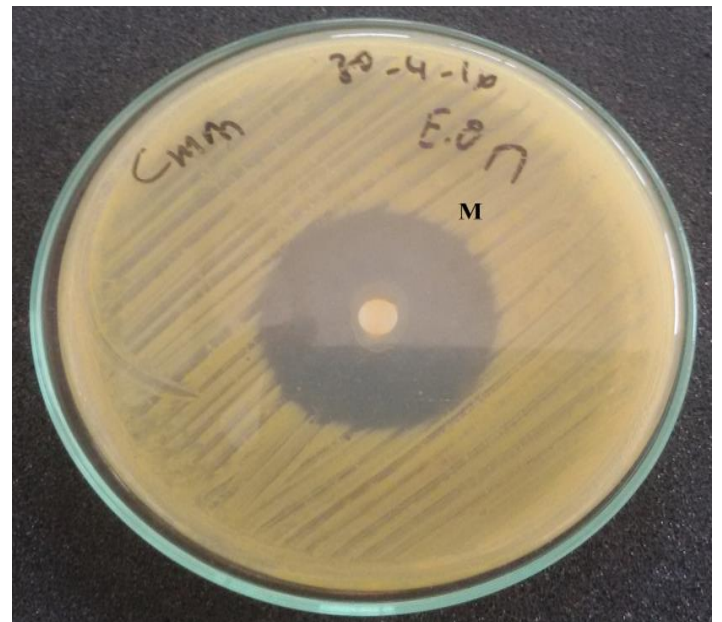


Figure 48: Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* (M) contre la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3

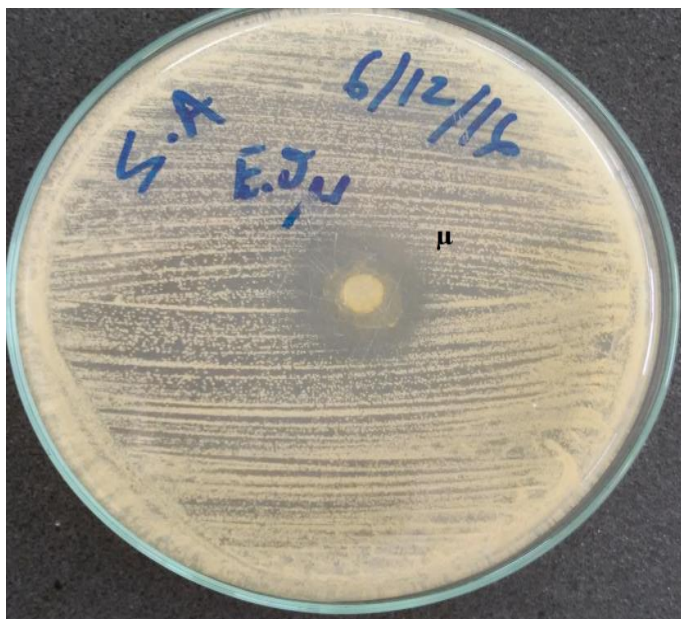


Figure 49: Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Micromeria graeca* contre la souche *Staphylococcus aureus* CECT 976

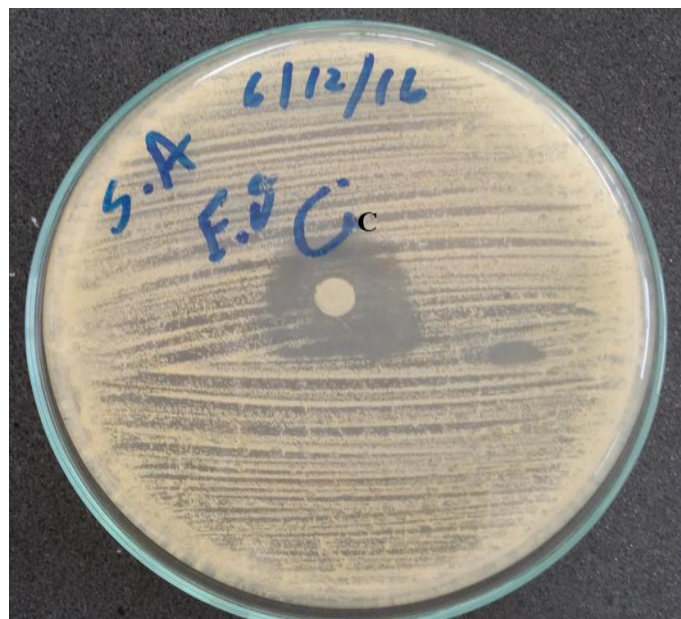


Figure 50: Effet antibactérien de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* contre la souche *Staphylococcus aureus* CECT 976

I.3. Activité antimicrobienne d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*

Les résultats des zones d'inhibition, des CMI et des CMB sont présentés respectivement dans les tableaux (XVIII et XIX) et les figure (45 et 46). Ces derniers montrent que l'huile essentielle d'*Achillea odorata* L ssp. *pectinata*, l'extrait éthanolique ainsi que l'extrait méthanolique ont un pouvoir antimicrobien remarquable avec des zones d'inhibition différentes selon la souche et le produit testé. En effet, tous les microorganismes sont sensibles à l'huile essentielle de la plante. Elle inhibe totalement la croissance de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3. Les souches PSS2636-40 (43mm), *Bacillus subtilis* DSM 6633 (31±1mm), *Proteus mirabilis* (30,33±2,08mm), *Candida albicans* ATCC 10231 (25,33±0,57mm) sont extrêmement sensibles à cette huile essentielle, alors que les autres souches sont moins sensibles avec des zones d'inhibition égales à 12±1,52mm pour les trois souches *Staphylococcus aureus* CECT 976, *Listeria innocua* CECT 4030 et *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118, une faible zone égale à 9,33±1,52mm a été observée contre *Escherichia coli* K12.

Tableau XVIII: Activité antimicrobienne des extraits d'*Achillea odorata* L ssp. *pectinata*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits (mm) ^x								
	Types d'extraits				Antimicrobiens				
	Huile essentielle	Méthanolique	Ethanolique	Aqueux	Gentamicin	Vancomicym	Streptomycin	Amphotericin	Ketoconazole
<i>S.aureus</i> CECT 976	12±1,52 ^a	- ^y	-	-	34,33±0,57 ^b	30,66±0,57 ^c	NT ^z	NT	NT
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	31±1 ^a	7,33±0,57 ^b	22,33±0,57 ^c	-	25,66±0,57 ^d	27,66±0,57 ^e	NT	NT	NT
<i>L.innocua</i> CECT 4030	12±1 ^a	-	-	-	17,66±0,57 ^b	25,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>E.coli</i> K12	9,33±1,52 ^a	-	-	-	20,33±0,5 ^b	8±00 ^a	NT	NT	NT
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	12±1 ^a	-	-	-	19±1 ^b	-	NT	NT	NT
<i>P.mirabilis</i>	30,33±2,08 ^a	15,33±0,57 ^b	22,83±0,57 ^c	-	28,66±0,57 ^a	24,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	Totale ^a	20,66±0,57 ^b	34,66±0,57 ^c	-	NT	NT	24,66±057 ^d	NT	NT
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	43,66±1,52 ^a	20,66±0,57 ^b	29,66±0,57 ^c	-	NT	NT	26,33±0,57 ^d	NT	NT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	25,33±0,57 ^a	12,33±0,57 ^b	11,66±0,57 ^b	-	NT	NT	NT	18,66±1,15 ^c	20,66±0,57 ^d

^x Diamètre de la zone d'inhibition (mm) produite autour des disques. Les valeurs indiquées sont la moyenne de trois répétitions ± Ecart type. La différence en lettres (a-e) indique la signification ($P<0.05$) des tests dont chaque ligne est indépendante de l'autre.

^y Pas d'effet

^z non testé

Tableau XIX: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits d’*Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (mg/ml)

Souches bactériennes	Types d'extraits							
	Huile essentielle		Méthanolique		Ethanolique		Aqueux	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S.aureus</i> CECT 976	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	0,19	3,12	-	-	6,25	12,5	-	-
<i>L.innocua</i> CECT 4030	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> K12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	0.19	0.19	25	25	25	25	-	-
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	0,19	12,5	6,25	12,5	1,56	3,12	-	-
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	1.56	1,56	6,25	6,25	3,12	6,25	-	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	6,25	12,5	-	-	-	-	-	-

(-) : non déterminé

Pour l'extrait éthanolique les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre $11,66 \pm 0,57\text{mm}$ et $34,66 \pm 0,57\text{mm}$. L'effet inhibiteur de la croissance bactérienne le plus important est manifesté sur la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 une zone d'inhibition de $34,66 \pm 0,57\text{mm}$, suivi par PSS2636-40 avec $29,66 \pm 0,57\text{mm}$, *Proteus mirabilis* ($22,83 \pm 0,57\text{mm}$) et *Bacillus subtilis* DSM 6633 ($22,33 \pm 0,57\text{mm}$). En ce qui concerne l'extrait méthanolique, les zones d'inhibition varient entre $7,33 \pm 0,57\text{mm}$ et $20,66 \pm 0,57\text{mm}$. Cet extrait donne une zone d'inhibition de $20,66 \pm 0,57\text{mm}$ contre les deux souches phytopathogènes *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 et PSS2636-40 et une zone d'inhibition de l'ordre de $15,33 \pm 0,57\text{mm}$ contre *Proteus mirabilis*.

Par ailleurs, aucun effet des extraits méthanolique et éthanolique n'est observé vis-à-vis les souches *Staphylococcus aureus* CECT 976, *Listeria innocua* CECT 4030, *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118, et *Escherichia coli* K12. En ce qui concerne l'extrait aqueux, celui-ci n'a montré aucun effet antimicrobien.

Les valeurs de CMI de l'huile essentielle de cette plante varient entre 0,19mg/ml et 6,25mg/ml, la plus intéressante CMI est observée contre *Proteus mirabilis*. Pour les extraits éthanoliques et méthanolique les CMI varient entre 1,56mg/ml et 25mg/ml.

Les rapports CMB/CMI indique que l'huile essentielle d'*Achillea odorata* L ssp. *pectinata* exerce un effet bactéricide contre les souches *Proteus mirabilis*, PSS2636-40 et *Candida albicans* ATCC 10231 (CMB/CMI < 4), et un effet bactériostatique contre *Bacillus subtilis* DSM 6633 et *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3. Les extraits éthanolique et méthanolique exercent un effet bactéricide contre les souches jugées extrêmement sensibles à ces deux extraits.

Les résultats de la faible sensibilité des souches *Staphylococcus aureus* CECT 976, *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118 vis-à-vis de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* L. ssp. *Pectinata* (Lamk) var. *microphylla* (Willd.) Willk., récoltée en Algérie comme décrit par Bekhechi et al. (2011), sauf que cette dernière huile essentielle est active sur *Escherichia coli* (17mm).

En comparaison avec les études menées sur les plantes du genre *Achillea*, les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle testée contre la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 confirme les résultats rapportés par Kotan et al.

(2009) dont le diamètre de la zone d'inhibition induite par l'huile essentielle d'*Achillea millefolium* est de 22mm.

Nos résultats sont aussi similaires avec ceux menées par El-Shazly *et al.* (2003) sur l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits d'*Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. Ces résultats ont montré que l'huile essentielle d'*Achillea fragrantissima* est très active vis-à-vis *Bacillus subtilis* (30mm) et *Candida albicans* (30mm).

Contrairement à nos résultats l'huile essentielle d'*Achillea clavennae* L. qui est active contre les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* avec des diamètres des zones d'inhibition égale à 18mm et 15mm, respectivement. Cependant, elle est moins active contre *Bacillus subtilis* (ZI= 6,5mm) et *Proteus mirabilis* (ZI=12,6mm) (Bezić *et al.*, 2003).

I.4. Activité antimicrobienne de *Teucrium polium* spp. *Polium*

Les résultats présentés dans le tableau XX montrent que l'huile essentielle exerce un effet antimicrobien contre tous les microorganismes testés avec des zones d'inhibition qui varient entre $7,33 \pm 0,57$ mm et 52 ± 1 mm. Les diamètres les plus importants sont manifestés vis-à-vis de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 (ZI=52 $\pm$ 1mm), *Bacillus subtilis* DSM 6633 (ZI=23 $\pm$ 2mm), PSS2636-40 (ZI=22 $\pm$ 1mm) et *Proteus mirabilis* (ZI=21,33 $\pm$ 2,08mm). Les autres souches sont moins sensibles à cette huile essentielle dont le diamètre des zones d'inhibition est inférieure à 12mm.

Les extraits méthanolique et éthanolique ont un effet antimicrobien moins important avec des diamètres d'inhibition variant entre $8,33 \pm 0,57$ mm et $14,33 \pm 0,57$ mm. A l'exception de son faible effet vis-à-vis de *P. mirabilis* (DI=9 $\pm$ 0mm), l'extrait aqueux n'exerce aucun effet sur les autres microorganismes.

Les valeurs de CMI varient entre 0,19mg/ml et 0,78mg/ml (Tableau XXI). Le rapport CMI/CMB indique que l'huile essentielle de cette plante exerce un effet bactéricide vis-à-vis de *Proteus mirabilis* et PSS2636-40 alors qu'elle a un effet bactériostatique contre les deux souches *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 et *Bacillus subtilis* DSM 6633.

L'étude de l'activité antimicrobienne du *Teucrium polium* (récoltée en Algérie) a été rapportée par Kabouch *et al.* (2005). Ces auteurs ont montré d'une part, contrairement à nos résultats, que l'huile essentielle de cette plante est fortement active sur les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (ZI=30mm), *Escherichia coli* ATCC 25922 (ZI=28mm), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (22mm), alors qu'elle est inactive sur la souche

Bacillus subtilis. D'autre part, l'activité antibactérienne exercée par l'huile essentielle contre la souche *Proteus mirabilis* (ZI=22mm) est similaire à ce que nous avons trouvé (ZI=21mm).

Tableau XX: Activité antimicrobienne des extraits de *Teucrium polium* ssp. *polium*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits (mm) ^x								
	Types d'extraits				Antimicrobiens				
	Huile essentielle	Méthanolique	Ethanolique	Aqueux	Gentamicin	Vancomycin	Streptomycin	Amphotericin	Ketoconazole
<i>S.aureus</i> CECT 976	9,66±1,52 ^a	- ^y	-	-	34,33±0,57 ^b	30,66±0,57 ^c	NT ^z	NT	NT
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	23±2 ^a	8,33±0,57 ^b	9±1 ^b	-	25,66±0,57 ^c	27,66±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>L.innocua</i> CECT 4030	11,33±1,52 ^a	-	-	-	17,66±0,57 ^b	25,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>E.coli</i> K12	10,33±1,52 ^a	-	-	-	20,33±0,5 ^b	8±00 ^c	NT	NT	NT
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	9,33±0,57 ^a	-	-	-	19±1 ^b	-	NT	NT	NT
<i>P.mirabilis</i>	21,33±2,08 ^a	12,66±0,57 ^b	12,33±0,57 ^b	9±0 ^c	28,66±0,57 ^d	24,33±0,57 ^e	NT	NT	NT
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	52±1 ^a	14,33±0,57 ^b	13,33±0,57 ^b	-	NT	NT	24,66±0,57 ^c	NT	NT
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	22±1 ^a	8,66±0,57 ^b	8,33±0,57 ^b	-	NT	NT	26,33±0,57 ^c	NT	NT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	7,33±0,57 ^a	-	-	-	NT	NT	NT	18,66±1,15 ^b	20,66±0,57 ^c

^x Diamètre de la zone d'inhibition (mm) produite autour des disques. Les valeurs indiquées sont la moyenne de trois répétitions ± Ecart type. La différence en lettres (a-e) indique la signification ($P<0.05$) des tests dont chaque ligne est indépendante de l'autre.

^y Pas d'effet

^z non testé

Tableau XXI: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de *Teucrium polium* subsp. *polium* (mg/ml)

Souches bactériennes	Types d'extraits							
	Huile essentielle		Méthanolique		Ethanolique		Aqueux	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S.aureus</i> CECT 976	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	0.39	3.12	-	-	-	-	-	-
<i>L.innocua</i> CECT 4030	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> K12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	0,78	1,56	-	-	-	-	-	-
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	0,78	6,25	-	-	-	-	-	-
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	0.19	0,19	-	-	-	-	-	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : non déterminé

Belmekki *et al.* (2013), ont trouvé que l'huile essentielle de *Teucrium polium* est active sur les souches testées dont la zone d'inhibition la plus importante est observée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 (ZI=16mm), suivis par *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (15mm), alors que la souche la moins sensible est *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (ZI=9mm). Cette étude a montré aussi qu'à une dose de 10µl/ml, l'huile essentielle inhibe *Aspergillus flavus* d'un pourcentage de 25,9%.

Une étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Teucrium polium* récoltée de différents sites de la région de Settif (Nord-Est de l'Algérie, a montré que le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles extraites de cette plante n'est pas semblable. En effet, parmi les huiles essentielles testées, celle issue de *Teucrium polium* récoltée du site « Beni Aziz » est la plus active contre *Escherichia coli* ATCC 25922 (ZI=33,5mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (ZI=17mm) et *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 763 (ZI=18,1mm). Aussi l'huile essentielle de *Teucrium polium* du site « Boutaleb » est significativement active contre *Bacillus cereus* ATCC 10876 (ZI=48,7mm) (Lograda *et al.*, 2014).

Une autre étude menée par l'équipe de Darabpour *et al.* (2010) sur les effets antimicrobiens des extraits éthanolique et méthanolique de *Teucrium polium* a donné des résultats similaires à les nôtres. En effet, ils ont montré que les souches *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus* ne sont pas sensibles aux extraits testés.

I.5. Activité antimicrobienne de *Mentha suaveolens*

Le tableau XXII montre que l'activité antimicrobienne exercée par l'huile essentielle extraite à partir de *Mentha suaveolens* est plus importante que celle des extraits organiques. En effet, la souche *Candida albicans* est la plus sensible à l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* avec un diamètre d'inhibition égale à 49,66±0,57mm, suivis par la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 (ZI=43±1mm, voir figure 48), puis *Bacillus subtilis* DSM 6633 (ZI=28±2,64mm), *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* 2636-40 (ZI=24±1mm), *Staphylococcus aureus* CECT 976 (ZI=19,33±1,52mm), *Listeria innocua* CECT 4030 (ZI=18,66±1,52mm) et *Proteus mirabilis* (15,33±1,52mm).

On note également que les extraits méthanolique et éthanolique exercent un pouvoir antibactérien contre *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3, respectivement, (ZI=15,33 ± 0,57mm) et (14 ± 1mm).

Tableau XXII : Activité antimicrobienne des extraits de *Mentha suaveolens*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits (mm) ^x								
	Types d'extraits				Antimicrobiens				
	Huile essentielle	Méthanolique	Ethanolique	Aqueux	Gentamicin	Vancomycin	Streptomycin	Amphotericin	Ketoconazole
<i>S.aureus</i> CECT 976	19,33±1,52 ^a	- ^y	-	-	34,33±0,57 ^b	30,66±0,57 ^c	NT ^z	NT	NT
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	28±2,64 ^a	10±1 ^c	10,33±0,57 ^c	-	25,66±0,57 ^b	27,66±0,57 ^{ab}	NT	NT	NT
<i>L.innocua</i> CECT 4030	18,66±1,52 ^a	-	-	-	17,66±0,57 ^a	25,33±0,57 ^b	NT	NT	NT
<i>E.coli</i> K12	14,33±1,52 ^a	-	-	-	20,33±0,5 ^b	8±00 ^c	NT	NT	NT
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	11,33±1,52 ^a	-	-	-	19±1 ^b	-	NT	NT	NT
<i>P.mirabilis</i>	15,33±1,52 ^a	10,33±0,57 ^b	-	-	28,66±0,57 ^c	24,33±0,57 ^d	NT	NT	NT
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	43±1 ^a	15,33±0,57 ^b	14±1 ^b	-	NT	NT	24,66±0,57 ^c	NT	NT
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	24±1 ^a	-	-	-	NT	NT	26,33±0,57 ^a	NT	NT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	49,66±0,57 ^a	-	-	-	NT	NT	NT	18,66±1,15 ^b	20,66±0,57 ^c

^x Diamètre de la zone d'inhibition (mm) produite autour des disques. Les valeurs indiquées sont la moyenne de trois répétitions ± Ecart type. La différence en lettres (a-c) indique la signification ($P < 0.05$) des tests dont chaque ligne est indépendante de l'autre.

^y Pas d'effet

^z non testé

Tableau XXIII : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de *Mentha suaveolens* (mg/ml)

Souches bactériennes	Types d'extraits							
	Huile essentielle		Méthanolique		Ethanolique		Aqueux	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S.aureus</i> CECT 976	6,25	6,25	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	0.78	12.5	-	-	-	-	-	-
<i>L.innocua</i> CECT 4030	6.25	6.25	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> K12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	0.78	0.78	-	-	-	-	-	-
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	0,78	1,56	12,5	12,5	-	-	-	-
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	0.78	0,78	-	-	-	-	-	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	1,56	12,5	-	-	-	-	-	-

(-) : non déterminé

Les valeurs de CMI de l'Huile essentielle de *Mentha suaveolens* varient entre 0,78mg/ml et 6,25mg/ml. L'extrait méthanolique a une CMI égale à 12,5mg/ml (Tableau XXIII). Le rapport CMB/CMI indique que l'huile essentielle de cette plante exerce un effet bactéricide contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Proteus mirabilis* et PSS263-40, un effet bactériostatique contre *Bacillus subtilis* ainsi qu'un effet fongistatique contre *Candida albicans* ATCC10231. L'extrait méthanolique exerce un pouvoir bactéricide contre *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.

Nos résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de *Mentha suaveolens* confirment ceux trouvés par d'autres études. En effet, Sutour *et al.* (2008) ont montré que les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* sont sensibles à l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis* (Req.) Greuter avec des zones d'inhibition de 18mm et 16mm, respectivement. Aussi une étude menée par El Kashoury *et al.* (2014) ont montré que les extraits organiques de *Mentha suaveolens* ne sont pas très actifs contre les souches pathogènes testées.

Au contraire nos résultats sont différents de ceux rapportés par Petretto *et al.* (2014). En effet, ces chercheurs ont montré que l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis* n'est pas active contre les souches pathogènes pour l'Homme que nous avons testé.

En comparaison avec l'activité antimicrobienne des plantes du genre *Mentha*, plusieurs chercheurs ont montré l'efficacité des huiles essentielles des plantes appartenant au genre *Mentha*. En effet, l'huile essentielle de *Mentha pulegium* d'origine méditerranéenne est douée d'un fort effet antibactérien contre toutes les souches bactériennes testées (Teixeira *et al.* 2012). De même, Ait-Ouazzou *et al.* (2012) ont montré que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a montré les meilleurs effets bactériostatique et bactéricide en comparaison avec les huiles essentielles d'autres plantes aromatiques et médicinales.

I.6. Activité antimicrobienne de *Micromeria graeca*

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne des extraits de *Micromeria graeca* contre les souches pathogènes et phytopathogènes, le tableau XXIV montrent que ces dernières sont sensibles seulement à l'huile essentielle avec des degrés variables. En effet, l'huile essentielle de cette plante inhibe totalement la croissance de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 et à l'exception de la faible sensibilité de la souche *Pseudomonas aeruginosa* CECT 118, les autres souches sont extrêmement sensibles à l'huile essentielle de cette plante, cette activité est manifestée par des diamètres de zone d'inhibition

qui varient entre $9,33 \pm 1,52$ et 49 ± 1 mm. Les diamètres des zones d'inhibition sont, respectivement, 49 ± 1 mm pour *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, $44,33 \pm 0,57$ mm pour la levure *Candida albicans* ATCC10231, $28,33 \pm 1,52$ mm pour *Bacillus subtilis* DSM6633, 22 ± 1 mm pour *Staphylococcus aureus* CECT976 (Figure 49), 20 ± 2 mm pour *Proteus mirabilis*, $19,33 \pm 1,15$ mm pour *Listeria innocua* CECT4030 et $17,66 \pm 1,52$ mm pour *Escherichia coli* K12.

Les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux n'ont montré aucun effet antimicrobienne contre les souches testées.

Les valeurs des CMI (Tableau XXV) varient entre 0,19mg/ml et 12,5mg/ml. Le rapport CMB/CMI indique que l'huile essentielle de *Micromeria graeca* exerce un pouvoir bactéricide vis-à-vis *Staphylococcus aureus* CECT976, *Listeria innocua* CECT4030, *Escherichia coli* K12, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, un pouvoir fongicide contre *Candida albicans* ATCC10231, alors qu'elle a un effet bactériostatique contre *Bacillus subtilis* DSM6633.

En comparant avec des espèces appartenant au genre *Micromeria*, on note que nos résultats sont similaires avec ceux trouvés par Gherib *et al.* (2016). Ces auteurs ont montré que l'huile essentielle de la plante *Micromaria debilis* Pomel est douée d'une forte activité antimicrobienne vis-à-vis de tous les microorganismes étudiés. En effet, cette huile exerce un effet antimicrobien avec des zones d'inhibition correspondantes à 50mm, 39mm, 19mm et 18mm, respectivement, contre les souches *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*.

Par ailleurs, Duru *et al.* (2004) ont rapporté que l'huile essentielle de *Micromeria cilicica*, 20µl/disque, est douée d'une activité antimicrobienne importante contre les souches testées, les zones d'inhibition variant entre 13 et 34mm avec la levure *Candida albicans* qui est la souche la plus sensible avec une zone d'inhibition égale à 34mm.

Contrairement à nos résultats, les souches testées sont sensibles aux extraits organiques de la plante *Micromeria nervosa* avec un diamètre de zone d'inhibition variant entre 6,1mm et 27mm (Ali-Shtayeh *et al.* 1997). Les études portées sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante *Micromeria inodora* ont montré que les souches Gram positive sont plus sensibles à l'huile essentielle de cette plante tandis que ceux des Gram négative et les levures ne sont pas sensibles à ces produits (Benomari *et al.* 2016).

Tableau XXIV: Activité antimicrobienne des extraits de *Micromeria graeca*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits (mm) ^X								
	Types d'extraits				Antimicrobiens				
	Huile essentielle	Méthanolique	Ethanolique	Aqueux	Gentamicin	Vancomycin	Streptomycin	Amphotericin	Ketoconazole
<i>S.aureus</i> CECT 976	22±1 ^a	- ^Y	-	-	34,33±0,57 ^b	30,66±0,57 ^c	NT ^Z	NT	NT
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	28,33±1,52 ^a	-	-	-	25,66±0,57 ^b	27,66±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>L.innocua</i> CECT 4030	19,33±1,15 ^a	-	-	-	17,66±0,57 ^b	25,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>E.coli</i> K12	17,66±1,52 ^b	-	-	-	20,33±0,5 ^a	8±00 ^c	NT	NT	NT
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	9,33±1,52 ^a	-	-	-	19±1 ^b	-	NT	NT	NT
<i>P.mirabilis</i>	20±2 ^a	-	-	-	28,66±0,57 ^b	24,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	Totale ^a	-	-	-	NT	NT	24,66±057 ^b	NT	NT
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	49±1 ^a	-	-	-	NT	NT	26,33±0,57 ^b	NT	NT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	44,33±0,57 ^a	-	-	-	NT	NT	NT	18,66±1,15 ^b	20,66±0,57 ^b

^X Diamètre de la zone d'inhibition (mm) produite autour des disques. Les valeurs indiquées sont la moyenne de trois répétitions ± Ecart type. La différence en lettres (a-c) indique la signification ($P < 0.05$) des tests dont chaque ligne est indépendante de l'autre.

^Y Pas d'effet

^Z non testé

Tableau XXV : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de *Micromeria graeca* (mg/ml)

Souches bactériennes	Types d'extraits							
	Huile essentielle		Méthanolique		Ethanolique		Aqueux	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S.aureus</i> CECT 976	1,56	1,56	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	1,56	>25	-	-	-	-	-	-
<i>L.innocua</i> CECT 4030	12,5	12,5	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> K12	6,25	12,5	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	3,12	3,12	-	-	-	-	-	-
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	0,19	12,5	-	-	-	-	-	-
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	0,78	0,78	-	-	-	-	-	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	3,12	12,5	-	-	-	-	-	-

(-) non déterminé

I.7. Activité antimicrobienne de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits méthanolique, éthanolique et aqueux sont présentés dans le tableau XXVI et figure (45, 47 et 50). On note que, à l'exception des deux souches *Pseudomonas aeruginosa* CECT118 et *Escherichia coli* K12, l'huile essentielle de cette plante est active sur la plupart des souches testées avec des degrés différents. En effet, la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 est la plus sensible à cette huile avec un diamètre d'inhibition $41,33 \pm 0,57$ mm, suivie par *Proteus mirabilis* avec un diamètre de $25,66 \pm 3,05$ mm, puis la souche *Staphylococcus aureus* CECT976 avec $22 \pm 2,64$ mm et la souche *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* avec $19,66 \pm 0,57$ mm et *Bacillus subtilis* DSM6633S avec $15,33 \pm 1,52$ mm. L'effet antimicrobien de cette huile essentielle est moins manifeste contre *Listeria innocua* CECT 4030 (ZI= 12 ± 1 mm) et *Candida albicans* ATCC 10231 (ZI= $10,66 \pm 0,57$ mm).

Les diamètres des zones d'inhibition de l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique varient entre $10,66 \pm 0,57$ mm et 27 ± 00 mm. Cet extrait inhibe d'une manière remarquable la croissance des souches *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, *Staphylococcus aureus* CECT976, *Candida albicans* ATCC10231 avec des diamètres des zones d'inhibition, respectivement, de 27 ± 00 mm, $22,66 \pm 0,57$ mm, $20,33 \pm 0,57$ mm, $19,66 \pm 0,57$ mm, $18,33 \pm 0,57$ mm.

L'extrait éthanolique inhibe au moins la croissance de cinq souches avec des zones d'inhibition qui varient entre $15,33 \pm 0,57$ et $23,33 \pm 1,52$ mm. On note également qu'aucun effet est observé contre les souches *Listeria innocua* CECT4030, *Escherichia coli* K12, *Pseudomonas aeruginosa* CECT118 et *Proteus mirabilis*.

L'extrait aqueux est moins actif que l'huile essentielle et les extraits organiques de cette plante, il exerce un effet antibactérien contre *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3 avec une zone d'inhibition égale à $15,33 \pm 0,57$ mm.

Les valeurs de CMI présentées dans le tableau XXVII varient entre 0,19mg/ml et 25mg/ml. Les rapports CMB/CMI indiquent que l'huile essentielle exerce un effet bactéricide contre toutes les souches jugées très sensibles à l'exception de la souche *Bacillus subtilis* DSM 6633 dont l'effet est bactériostatique.

Tableau XXVI : Activité antimicrobienne des extraits de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition des extraits (mm) ^x								
	Types d'extraits				Antimicrobiens				
	Huile essentielle	Méthanolique	Ethanolique	Aqueux	Gentamicin	Vancomycin	Streptomycin	Amphotericin	Ketoconazole
<i>S.aureus</i> CECT 976	22±2,64 ^a	19,66±0,57 ^b	20,33±0,57 ^b	- ^y	34,33±0,57 ^c	30,66±0,57 ^d	NT ^z	NT	NT
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	15,33±1,52 ^a	10,66±0,57 ^b	15,33±0,57 ^a	-	25,66±0,57 ^c	27,66±0,57 ^d	NT	NT	NT
<i>L.innocua</i> CECT 4030	12±1 ^a	-	-	-	17,66±0,57 ^b	25,33±0,57 ^c	NT	NT	NT
<i>E.coli</i> K12	7,66±0,57 ^a	-	-	-	20,33±0,5 ^b	8±00 ^a	NT	NT	NT
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	19±1	-	NT	NT	NT
<i>P.mirabilis</i>	25,66±3,05 ^a	22,66±0,57 ^b	-	-	28,66±0,57 ^c	24,33±0,57 ^a	NT	NT	NT
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	41,33±0,57 ^a	27±00 ^b	23,33±1,52 ^c	-	NT	NT	24,66±057 ^c	NT	NT
<i>P.Savastanoi</i> (PSS2636-40)	19,66±0,57 ^a	20,33±0,57 ^a	20,66±0,57 ^a	15,33±0,57 ^b	NT	NT	26,33±0,57 ^c	NT	NT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	10,66±0,57 ^a	18,33±0,57 ^b	16,66±0,57 ^c	-	NT	NT	NT	18,66±1,15 ^b	20,66±0,57 ^b

^x Diamètre de la zone d'inhibition (mm) produite autour des disques. Les valeurs indiquées sont la moyenne de trois répétitions ± Ecart type. La différence en lettres (a-c) indique la signification ($P<0.05$) des tests dont chaque ligne est indépendante de l'autre.

^y Pas d'effet

^z non testé

Tableau XXVII : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricide (CMB) des extraits de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* (mg/ml)

Souches bactériennes	Types d'extraits							
	Huile essentielle		Méthanolique		Ethanolique		Aqueux	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S.aureus</i> CECT 976	6,25	6,25	0,78	>25	1,56	25	-	-
<i>B.subtilis</i> DSM 6633	0.78	12.5	-	-	3,12	25	-	-
<i>L.innocua</i> CECT 4030	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i> K12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> CECT 118	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	0.19	0.19	3,12	3,12	-	-	-	-
<i>C.Michiganense</i> 1616-3	0,78	0,78	1,56	3,12	3,12	3,12	-	-
<i>P.Savastanoi</i> PSS2636-40)	0,19	0,19	6,25	6,25	6,25	6,25	3,12	>25
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	-	-	12,5	>25	25	>25	-	-

(-) non déterminé

L'extrait méthanolique exerce un effet bactéricide contre *Proteus mirabilis*, *Clavibacter michiganensis* 1616-3 et *Pseudomonas savastanoi* PSS2636-40, lorsqu'il a un effet bactériostatique contre *Staphylococcus aureus* CECT976 et *Candida albicans* ATCC10231.

L'effet bactéricide de l'extrait éthanolique est observé contre *Clavibacter michiganensis* 1616-3 et *Pseudomonas savastanoi* PSS2636-40, alors que son effet bactériostatique est observé contre *Candida albicans* ATCC 10231, *Staphylococcus aureus* CECT 976 et *Bacillus subtilis* DSM 6633.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* de notre étude sont similaires avec ceux trouvés par Benayed *et al.* (2013). Ces auteurs ont montré que cette huile essentielle est douée d'une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* (ZI=27mm) et *Yersinia enterocolitica* (ZI=25mm). Les extraits méthanolique et aqueux inhibent la croissance de la souche *Staphylococcus epidermis* avec des zones d'inhibition, respectivement, de 23mm et 20mm.

De même l'activité antimicrobienne de l'espèce *Cistus ladanifer* a été rapportée par Guinoiseau *et al.* (2010). Les résultats de cette étude ont montré que les souches testées sont sensibles à l'huile essentielle de cette plante avec des diamètres d'inhibition comprises entre 11 et 28,2mm.

I.8. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'activité antimicrobienne des extraits de six plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle marocaine. Nos résultats ont montré que la plupart des extraits testés sont actifs contre les souches étudiées, cette activité dépend de type d'extrait testé. Nos résultats ont montré aussi que le pouvoir antimicrobien des extraits des plantes ne dépend pas de type des microorganismes.

Parmi les extraits testés, les huiles essentielles sont les plus actives contre la plupart des souches pathogènes et phytopathogènes testées. Ceci pourrait être expliqué par la richesse des huiles essentielles en composés doués de l'activité antimicrobienne.

Ces résultats nous ont permis de sélectionner les extraits actifs des plantes étudiées, d'une part, pour les testés dans la bioconservation de deux modèles alimentaires « soupe d'orge » et « jus des choux ». Et d'autre part dans le contrôle des infections des semences de tomate par l'agent causale du chancre de la tomate.

Chapitre 4. Activité antioxydante des extraits des plantes étudiées

I.1. Introduction

L'objectif de cette partie de thèse est de tester l'activité antioxydante des huiles essentielles, des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes *Ruta Montana*, *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq, *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Micromeria graeca* et *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*, utilisées dans la médecine traditionnelle marocaine. Cette étude a été réalisée par deux techniques : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) et la technique du pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP).

I.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•])

Les profils de l'activité antiradicalaire, évaluée par le test DPPH sont présentés dans la figure 51. Les résultats ont montré une variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des huiles essentielles et des extraits testés (2,5-100µg/ml). Pour des fins comparatives trois antioxydants standards sont utilisés : Trolox, acide Ascorbique et le BHT.

Les résultats révèlent que les produits testés exercent une activité antiradicalaire dose-dépendante.

En ce qui concerne les antioxydants standards, les résultats ont montré que la dose 5µg/ml du Trolox et de l'acide ascorbique provoque significativement ($P < 0,05$) une réduction du radical DPPH d'un pourcentage de $90,52 \pm 1,04\%$ ($IC_{50} = 1,40 \pm 0,04\mu\text{g/ml}$) et $90,04 \pm 1,77\%$ ($IC_{50} = 1,82 \pm 0,02\mu\text{g/ml}$), respectivement. La même dose du BHT provoque seulement une réduction d'un pourcentage égale à $36,18 \pm 4,22\%$ ($IC_{50} = 5,79 \pm 0,02\mu\text{g/ml}$).

Une diminution de la concentration du radical DPPH a été détectée en présence des extraits de *Micromeria graeca*. En effet, une concentration de 25µg/ml d'extrait méthanolique de cette plante provoque une diminution significative ($P < 0,05$) du radical DPPH qui est égale à $92,71 \pm 0,29\%$ ($IC_{50} = 8,47 \pm 0,03\mu\text{g/ml}$), la même dose de l'extrait aqueux donne une inhibition de $64,97 \pm 0,3\%$ ($IC_{50} = 16,72 \pm 0,08\mu\text{g/ml}$) alors que l'extrait éthanolique ne donne qu'une inhibition de 24,45% ($IC_{50} > 100\mu\text{g/ml}$).

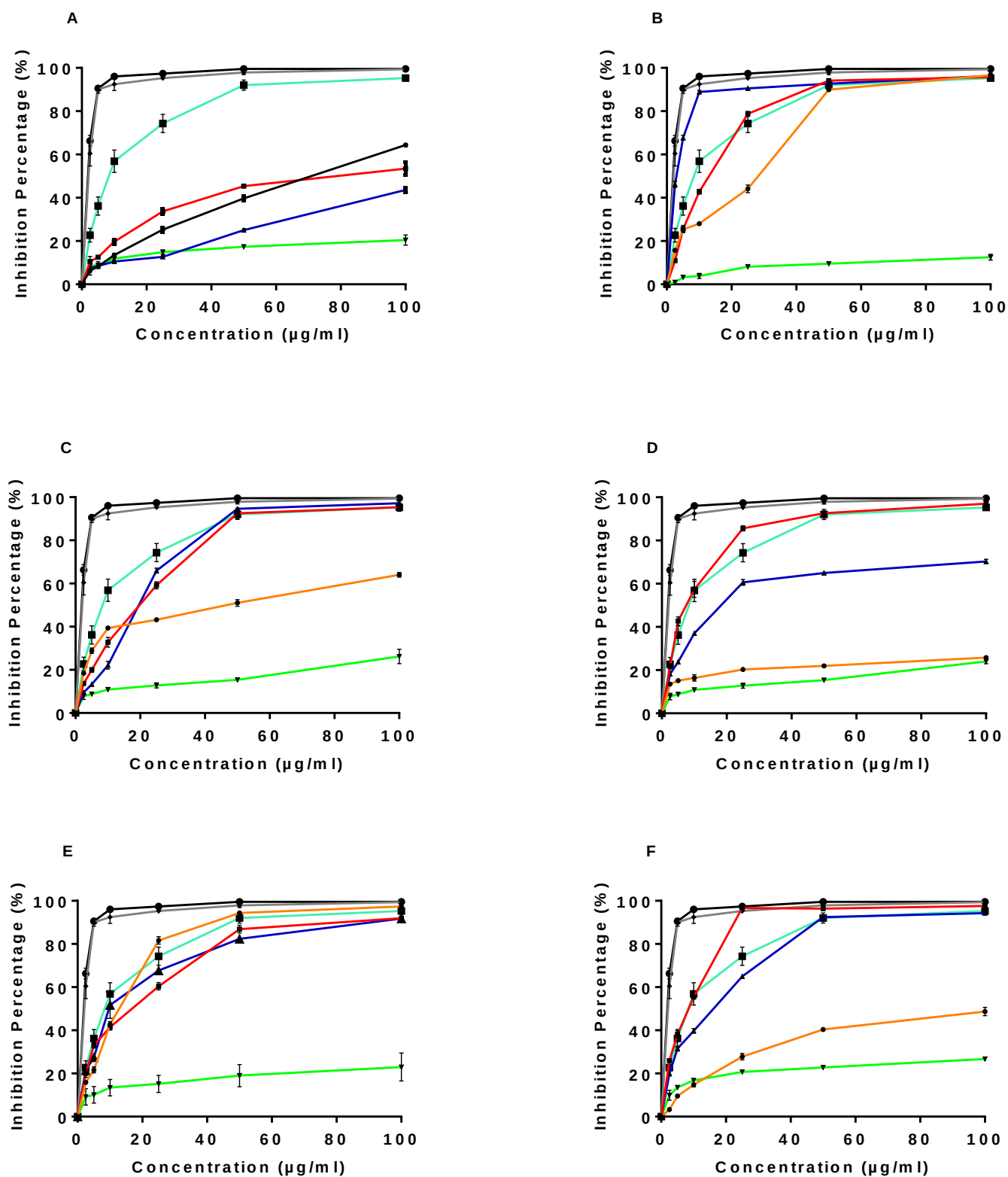


Figure 51 : Activité de piégeage du radical DPPH des extraits des plantes : (A) *Ruta montana* ; (B) *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer*; (C) d'*Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* ; (D) *Teucrium polium* subsp. *polium* ; (E) *Mentha suaveolens* ; (F) *Micromeria graeca*:

● Extract éthanolique ; ▲ Extract aqueux ; ▼ Huile essentielle ; ◆ Acide ascorbique
 ■ Extract méthanolique ; ⊕ Trolox ; ⊞ Hydroxytoluènebutylé

Les trois extraits de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* ont également un effet dose-dépendant vis-à-vis du radical DPPH, cet effet varie d'un extrait à un autre. On note qu'une dose de 25µg/ml de l'extrait aqueux de cette plante a montré un pouvoir réducteur significatif ($P<0,05$) qui atteint $90,54 \pm 0,67\%$ ($IC_{50}=2,93 \pm 0,02\mu\text{g/ml}$), de l'extrait méthanolique provoque une réduction de $78,75 \pm 1,11\%$ ($IC_{50}=12,09 \pm 0,02\mu\text{g/ml}$) alors que l'extrait éthanolique réduit le radical DPPH avec un pourcentage de $44,12 \pm 1,404\%$ ($IC_{50}=26,06 \pm 0,05\mu\text{g/ml}$). Cependant, l'huile essentielle de cette plante conduit à une faible activité, dont une forte dose de 100µg/ml ne provoque qu'un effet d'inhibition du DPPH de $12,45 \pm 1,32\%$ ($IC_{50}>100\mu\text{g/ml}$).

Concernant la plante *Achillea odorata ssp. pectinata*, les résultats montrent que ses extraits méthanoliques et aqueux possèdent une activité plus importante que celle de l'extrait éthanolique. En effet, à une dose de 50µg/ml, ces deux extraits ont une action inhibitrice significative ($P<0,05$) du DPPH qui est égale à $94,61 \pm 0,59\%$ ($IC_{50}=18,57\mu\text{g/ml}$) et $92,51 \pm 2,39\%$ tandis que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'extrait éthanolique n'atteint que $51 \pm 1,53\%$ ($IC_{50}=49,39 \pm 0,43\mu\text{g/ml}$). Notons aussi que l'huile essentielle est faiblement active contre le radical DPPH puisque, même à une dose de 100µg/ml, elle ne réduit que de $12,54 \pm 1,32\%$ du radical avec une $IC_{50}>100\mu\text{g/ml}$.

Les extraits de la plante *Mentha suaveolens* montrent également un effet dose-dépendant, à la dose de 50µg/ml les extraits éthanolique, méthanolique et aqueux provoquant une importante réduction du radical DPPH égale à $94,41 \pm 0,63\%$ ($IC_{50}=12,57 \pm 0,03\mu\text{g/ml}$), $86,90 \pm 1,81\%$ ($IC_{50}=15,83 \pm 0,05\mu\text{g/ml}$) et $82,40 \pm 0,99\%$ ($IC_{50}=8,78 \pm 0,02\mu\text{g/ml}$) respectivement. Alors que le pouvoir réducteur du DPPH de l'huile essentielle est relativement faible vu que la dose de 100µg/ml de cette huile, ne présente qu'un pouvoir qui ne dépasse pas $22,99 \pm 6,43\%$ ($IC_{50}>100\mu\text{g/ml}$).

Parmi les extraits de *Teucrium polium subsp. polium*, l'extrait méthanolique est significativement ($P<0,05$) le plus actif contre le radical DPPH. En effet, la dose 50µg/ml de cet extrait provoque une inhibition du DPPH de $92,64 \pm 0,82\%$ ($IC_{50}=5,52 \pm 0,09\mu\text{g/ml}$), contre un pourcentage, à la même dose, de $64,91 \pm 0,62$ ($IC_{50}=19,40 \pm 0,03$) pour l'extrait aqueux, alors que cette dose de l'extrait éthanolique atteint seulement $21,96 \pm 0,95$ ($IC_{50}>100\mu\text{g/ml}$). Cependant, le pourcentage de réduction du DPPH par l'huile essentielle de cette plante n'atteint que $24 \pm 1\%$ ($IC_{50}>100\mu\text{g/ml}$).

Le pouvoir réducteur du radical DPPH des extraits et de l'huile essentielle de *Ruta montana* est dose-dépendant, mais il reste faible par rapport aux extraits des autres plantes. En effet, à la dose de 100µg/ml le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique, d'extrait méthanolique, d'extrait aqueux ainsi que celui de l'huile essentielle n'atteint que $64,37 \pm 0,89\%$ ($IC_{50}=71,45 \pm 0,04\mu\text{g/ml}$), $53,49 \pm 2,84\%$ ($IC_{50}=82,12\pm 0,03\mu\text{g/ml}$), $43,61 \pm 1,05\%$ ($IC_{50}>100$) et $20,46 \pm 2,31\%$ ($IC_{50}>100\mu\text{g/ml}$), respectivement.

L'activité antiradicalaire des plantes étudiées a été rapportée par certains chercheurs. Une étude menée par Knežević *et al.* (2014) sur l'activité anti-DPPH de l'extrait éthanolique de *Micromeria graeca* (L.) Benth. ex Reich. a montré, contrairement à nos résultats, que cet extrait a une importante activité antiradicalaire avec une $IC_{50}= 8,79 \pm 0,01\mu\text{g/ml}$. Cette même étude a indiqué que l'extrait méthanolique de l'espèce *Micromeria croatica* (Pers.) Schott a un effet antiradicalaire moins important avec une $IC_{50}= 29,48 \pm 0,51\mu\text{g/ml}$.

Par ailleurs, les études menées sur la plante *Cistus ladanifer* ont montré que les extraits de cette plante sont doués d'une forte activité de piégeage du radical DPPH. En effet, Guimarães *et al.* (2010) ont rapporté des résultats similaires à les nôtres concernant l'activité antiradicalaire de *Cistus ladanifer* et dont l' IC_{50} est supérieur à 100µg/ml ($IC_{50}=36,28 \pm 0,36 \text{ mg/ml}$). Nos résultats confirment aussi ceux rapportés par Benayad (2013), puisque l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer* ont présenté une forte activité antioxydante, cette activité atteint 100% pour une concentration de 10 µg/mL pour les deux extraits. Contrairement à nos résultats, Sánchez-Vioque *et al.* (2013) ont rapporté que les extraits éthanoliques de cette plantes, préparés par deux technique d'extractions différentes (soxhlet et ultrason), présentent une activité antiradicalaire avec $IC_{50}= 94,4 \mu\text{g/ml}$ l'extrait préparé par Soxhlet alors que celui préparé par extraction à laide des ultrasons n'a montré aucune activité.

Peu d'études ont rapporté l'activité antioxydante de l'espèce *Achillea odorata*. En effet, Boutennoun *et al.* (2014) ont montré que des doses de 100 et 200µg/ml l'extrait hydro-méthanolique des feuilles d'*Achillea odorata* exercent une inhibition du radical DPPH avec un pourcentage de 65,24% et 88,34%, respectivement, qui sont des valeurs supérieures à celles obtenues avec le standard α -Tocopherol (53,39% et 75,17%).

Nos résultats sur l'activité de piégeage du radical DPPH concordent avec ceux rapportés par López *et al.* (2007). D'après ces auteurs les extraits aqueux et méthanolique de *Mentha suaveolens* Ehrh. ont une forte activité antioxydante avec des valeurs de $IC_{50}=30,64 \pm$

5,59%g/ml et $IC_{50}=37,82 \pm 0,46\mu\text{g/ml}$. De même Ahmad *et al.* (2011) ont rapporté que l'extrait méthanolique de la plante *Mentha suaveolens* a présenté une inhibition du radical DPPH avec un pourcentage de 82%. Cependant, une autre étude a donné une valeur d' $IC_{50}=169,86 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait éthanolique de *suaveolens* var. *variegata*, une valeur qui est très élevée par rapport à celle que nous avons trouvé (Moldovan *et al.*, 2014).

Pour la plante *Teucrium polium*, nos résultats sur l'activité antioxydante sont similaires avec ceux rapportés par les travaux de Sharififar *et al.* (2009), les études de ces auteurs ont montré que l'extrait méthanolique de cette plante est doué d'une forte activité antioxydante remarquable avec une valeur $IC_{50}=20,1 \pm 1,7\mu\text{g/ml}$. Nos résultats concordent avec ceux démontrés par une étude menée par Pacifico *et al.* (2012), cette étude a montré que l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* réduit le radical DPPH par un pourcentage de 88,1% dont $IC_{50}=26,6\mu\text{g/ml}$. Au contraire les résultats menés par Tepe *et al.* (2011) ont montré que l'extrait aqueux de *Teucrium polium* exerce un effet dose-dépendant contre le radical DPPH, une dose égale à 1mg/ml réduit le DPPH avec un pourcentage de 83,95%.

En ce qui concerne la plante *Ruta montana*, la même faible activité antioxydante de l'huile essentielle de cette plante récoltée de deux sites différents est rapportée par Amar *et al.* (2012) dont une dose de 1M réduit d'une manière faible le radical DPPH qui n'atteint que 8,16% et 11,62% pour les deux échantillons. Par ailleurs et contrairement à nos résultats, Kambouche *et al.* (2008) ont rapporté que la dose 16,7 $\mu\text{l/ml}$ en huile essentielle de cette plante réduit 50% du radical DPPH.

I.3. Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'un composé est associé à la présence des composés antioxydants qui provoquent la réduction de la forme complexe du ferricyanure à la forme ferreux. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAA/g d'extrait). Les valeurs du pouvoir réducteur des extraits sont comprises entre 0,1 et 60,17mg EAA/g d'extrait.

L'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Micromeria graeca* est doté significativement ($P<0,05$) d'un pouvoir réducteur de $60,17 \pm 1,64\text{mg EAA/g d'extrait}$, alors que les extraits éthanolique et aqueux ont une faible activité avec des pouvoirs réducteurs égaux, respectivement, à $3,93 \pm 1,44$ et $2,79 \pm 0,72 \text{ mg EAA/g d'extrait}$ (figure 52).

Parmi les extraits de *Mentha suaveolens* (figure 53), l'extrait méthanolique et aqueux ont significativement ($P<0,05$) un pouvoir réducteur très important $54,44 \pm 5,52\text{mg EAA/g}$

d'extract et $53,03 \pm 1,65$ mg EAA/g d'extract, respectivement, alors que celui de l'extract éthanologique donne $22,45$ mg EAA/g d'extract.

L'extract aqueux de la plante d'*Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (figure 54), quant à lui, exerce un effet réducteur significatif ($P < 0,05$) égal à $34,63 \pm 0,96$ mg EAA/g d'extract, suivi par celui de l'extract méthanolique avec $28,01 \pm 1,08$ mg EAA/g d'extract puis l'extract éthanologique avec $26,95 \pm 0,04$ mg EAA/g d'extract.

Pour *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* l'extract aqueux est significativement ($P < 0,05$) plus actif avec un pouvoir réducteur de $39,53 \pm 6,04$ mg EAA/g d'extract, suivi par l'extract méthanolique à un pouvoir réducteur de $23,69 \pm 0,48$ mg EAA/g d'extract puis l'extract éthanologique avec $21,08 \pm 0,06$ mg EAA/g d'extract (figure 55).

Les extraits aqueux, méthanolique de *Teucrium polium* subsp. *polium* ont un pouvoir réducteur significatif ($P < 0,05$) avec des valeurs égales à $26,53 \pm 7,64$ mg EAA/g d'extract et $22,47 \pm 1,10$ mg EAA/g d'extract contre un effet réducteur d'une valeur de $6,59 \pm 0,96$ mg EAA/g d'extract pour l'extract éthanologique (figure 56).

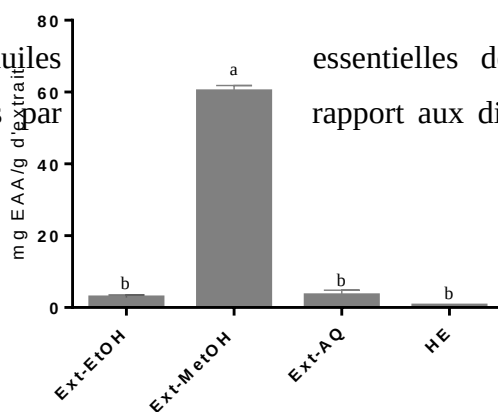
En ce qui concerne la plante *Ruta montana* (figure 57), les résultats ont montré que l'extract éthanologique a montré un effet significatif ($P < 0,05$) de $15,29 \pm 0,54$ mg EAA/g d'extract suivi par l'extract méthanolique avec $8,67 \pm 2,89$ mg EAA/g d'extract alors que l'extract aqueux a montré un effet faible de $2,19 \pm 0,44$ mg EAA/g d'extract.

Les résultats que nous avons obtenus par le test du FRAP confirment les résultats de d'autres études. En effet, nos résultats confirment ceux rapportés par De Marino *et al.* (2012) qui ont montré que l'extract aqueux de *Teucrium polium* est doué d'un pouvoir réducteur du Fe^{2+} en Fe^{3+} important de 307 mg AAE/g d'extract. De même Tepe *et al.* (2011) ont trouvé que l'extract aqueux exerce un pouvoir réducteur dose-dépendant, dont la concentration 1 mg/ml donne une absorbance de $0,600$ (sachant que le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de la densité optique de la solution test).

Boutennoun *et al.* (2014) ont montré que le pouvoir réducteur de l'extract hydro-méthanolique (20:80) d'*Achillea odorata*, est dose-dépendant.

Nos résultats sont similaires avec les résultats trouvés par Amensour *et al.* (2010), où cette équipe a montré que les pouvoirs réducteurs des extraits méthanoliques ($DO_{700} = 0,842 \pm 0,019$) et aqueux ($DO_{700} = 0,897 \pm 0,056$) de *Cistus ladanifer* à la dose $500 \mu\text{g/ml}$ sont significativement supérieurs à celles de l'extract éthanologique ($DO_{700} = 0,274 \pm 0,001$).

Enfin les huiles
montré des effets faibles par
étudié



essentielles des six plantes testées ont
rapport aux différents extraits des plantes

Figure 52: Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de *Micromeria graeca*, exprimé en mg EAA/g d'extrait

Les lettres différentes (a-b) indiquent un effet significatif ($P < 0,05$)

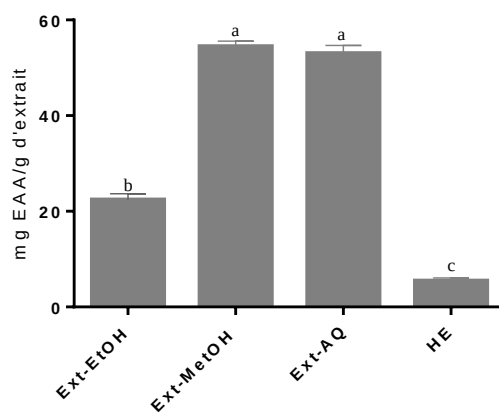


Figure 53 : Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de *Mentha suaveolens*, exprimé en mg EAA/g d'extrait

Les lettres différentes (a-c) indiquent un effet significatif ($P < 0,05$)

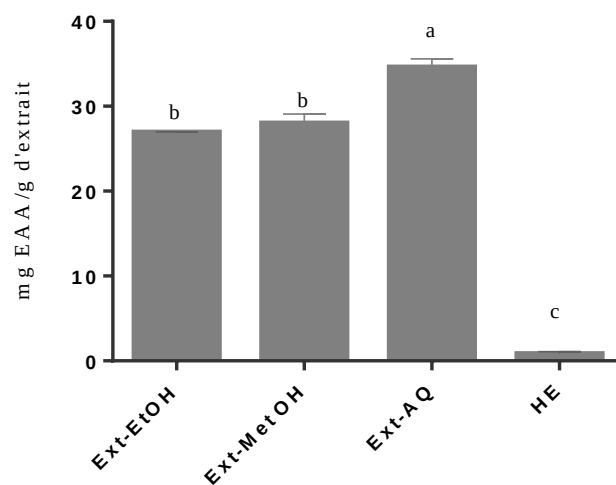


Figure 54: Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits d'*Achillea odorata L ssp. pectinata*, exprimé en mg EAA/g d'extract

Les lettres différentes (a-c) indiquent un effet significatif ($P < 0,05$)

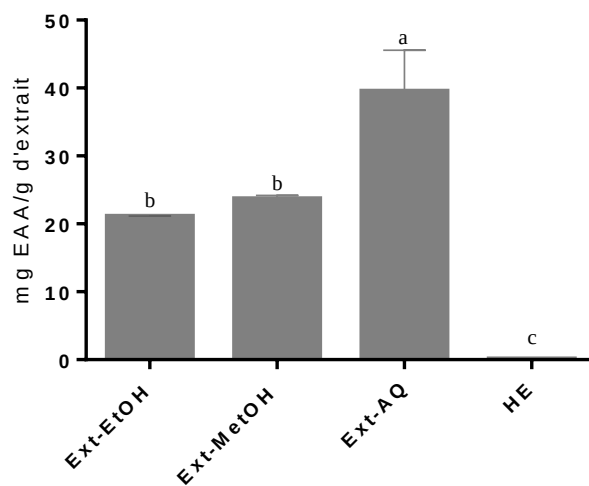


Figure 55 : Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer*, exprimé en mg EAA/g d'extract

Les lettres différentes (a-c) indiquent un effet significatif ($P < 0,05$)

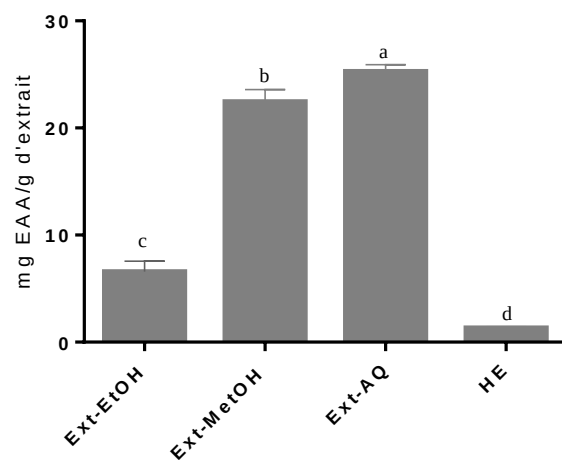


Figure 56 : Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de *Teucrium polium* subsp. *polium*, exprimé en mg EAA/g d'extrait

Les lettres différentes (a-d) indiquent un effet significatif ($P<0,05$)

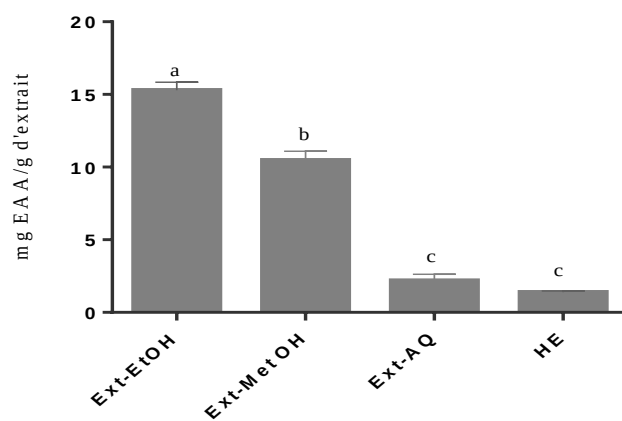


Figure 57: Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) par les extraits de *Ruta montana*, exprimé en mg EAA/g d'extrait

Les lettres différentes (a-c) indiquent un effet significatif ($P<0,05$)

I.4. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons testé l'activité antioxydante des huiles essentielles, des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des plantes *Ruta Montana*, *Achillea odorata* L. ssp. *pectinata* (lamk) Briq, *Teucrium polium* ssp. *polium* , *Mentha suaveolens*, *Micromeria graeca* et *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* par deux tests : le test de piégeage du radical libre DPPH et le test du pouvoir réducteur des ions ferrique.

Cette étude nous a permis de conclure que l'activité antiradicalaire est dose dépendante. On note également que pour les deux tests, les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux semblent présenter un intérêt réel par leurs activités antioxydante plus manifeste que les huiles essentielles.

Parmi les extraits actifs, l'extrait aqueux de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* a montré une activité antiradicalaire intéressante ($IC_{50}=2,93\pm0,02$ µg/ml), alors que pour le test de FRAP l'extrait méthanolique de *Micromeria graeca* a montré la plus intéressante activité avec $60,17\pm1,67$ mg d'équivalence d'acide ascorbique par gramme d'extrait de plante. Cela laisse supposer que ces extraits sont riches en composés actifs capable de piéger les radicaux libres et de réduire les ions ferriques.

Chapitre 5. Contribution à l'application de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* dans la bioconservation des produits alimentaires

I.1. Introduction

Suite à l'augmentation des intoxications d'origine alimentaire, la sécurité alimentaire constitue une préoccupation majeure pour les consommateurs et les industries alimentaires (Sandri *et al.*, 2007). L'usage des produits de synthèse pour la conservation des produits alimentaires est parmi les stratégies employées depuis longtemps. A nos jours, l'impact d'utilisation de ces produits chimiques comme des additifs alimentaires est souvent critiquée (Chanthaphon *et al.*, 2008). Le recours à l'usage des sources naturelles est une approche proposée pour assurer la qualité de conservation des produits alimentaires (Brul *et al.*, 1999 ; Kumudavally *et al.*, 2011 et Hyldgaard *et al.*, 2012). En effet, les plantes médicinales constituent une source importante des composés antimicrobiens (Cowan, 1999 ; Tepe *et al.*, 2004 et Mandic *et al.*, 2008).

Durant ces dernières années, plusieurs recherches sont menées sur l'activité antimicrobienne des plantes médicinales contre les microorganismes contaminant des produits alimentaires (Holley et Patel, 2005; Burt, 2004 et Gill *et al.*, 2002).

C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés dans ce chapitre à évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* ssp. *pectinata*, qui a montré un effet antibactérien le plus important parmi les six plantes étudiées dans notre test *in vitro*, dans deux modèles de systèmes d'alimentation, le jus du chou d'une part et, la soupe d'orge, d'autres part.

Les travaux, décrits dans ce chapitre, consistent dans un premier temps à évaluer la toxicité de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* sur des *souris albinos*, puis dans un second temps de tester l'effet antibactérien de deux concentrations de l'huile essentielle de cette plante à savoir CMI et 4CMI sur deux modèles de systèmes d'alimentation inoculés par les souches bactériennes pathogènes pour l'Homme, à savoir *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis* DSM 6633.

I.2. La toxicité aigüe de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*

Les résultats de l'étude de la toxicité aigüe de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* ont montré que l'administration orale d'une seule dose (2000 mg / kg de poids corporel) de l'huile essentielle de cette plante à des souris n'a pas causé de décès dans les quatorze jours qui suivent le début du traitement. Nous n'avons observé également ni signes de toxicité ni changements de poids corporel significatifs. Ces observations révèlent que la valeur de dose létale moyenne orale (DL₅₀) de l'huile essentielle de la plante testée est supérieure à 2000 mg / kg de poids corporel chez la souris. Par conséquent, cette huile essentielle est classée dans la catégorie 2, dont la DL₅₀ est supérieure à 2000 mg/kg.

I.3. Effet de l'huile essentielle sur les souches et *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis* DSM 6633 dans la bioconservation : modèle alimentaire « Jus des Choux »

Les résultats de la figure 58, représentant l'effet antibactérien *in vivo* des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata*, montrent que l'addition des concentrations (CMI, 4CMI) de l'huile essentielle cette plante réduit la concentration de la souche *Proteus mirabilis* lors de la bioconservation du jus du chou, cette réduction est dose-dépendante. En effet, la réduction de la concentration de la souche *Proteus mirabilis* par 4CMI est significative ($P < 0,05$) à partir de 1^{er} jour jusqu'à la fin de la bioconservation. Alors la concentration CMI stabilise la croissance des bactéries aux environs de la concentration 10⁵UFC/ml, puis au 14^{ème} jour la concentration atteint 10⁶ ufc/ml.

La figure 59 représente l'effet des concentrations CMI et 4CMI sur la souche *Bacillus subtilis* DSM 6633 ensemencée dans le modèle alimentaire de bioconservation « jus du chou ». En effet, on note la présence de deux phases, la première est caractérisée par une réduction significatif ($P < 0,05$) exercée par CMI et 4CMI de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* sur la concentration de la souche (Il s'agit du 1^{er} jour pour CMI et entre 1^{er} jour et cinquième jours pour 4CMI), puis une deuxième phase caractérisée par une croissance bactérienne dont la concentration des bactéries est semblable à celle du témoin.

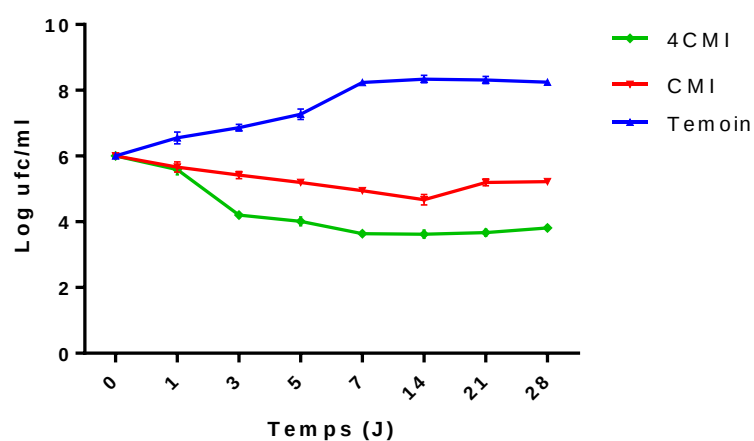


Figure 58: Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* contre la souche *Proteus mirabilis* dans le modèle alimentaire de bioconservation « Jus des Choux»

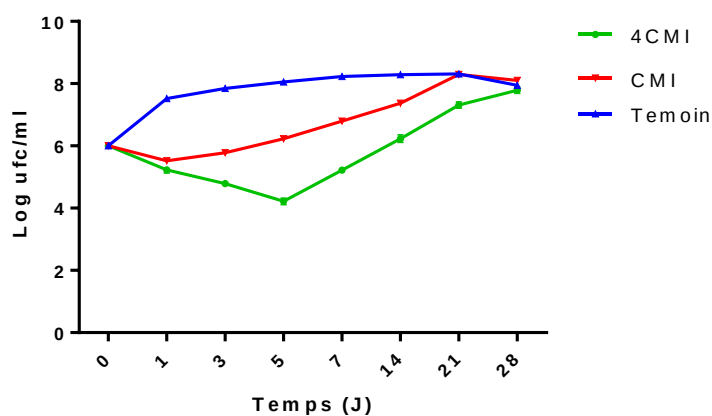


Figure 59: Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* contre la souche *Bacillus mirabilis* DSM 66333 dans le modèle alimentaire de bioconservation « Jus des Choux»

I.4. Effet de l'huile essentielle sur les souches et *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis* DSM 6633 dans la bioconservation : modèle alimentaire « la soupe d'orge »

Les résultats présentés dans la figure 60 montrent que les concentrations (CMI ; 4CMI) de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* ssp. *pectinata* stabilisent la concentration de la bactérie *Proteus mirabilis* durant la période de la bioconservation du modèle alimentaire utilisant la soupe d'orge, dont l'effet est dose-dépendant.

En effet, la réduction de la concentration de la souche est significative ($P < 0,05$) pour les deux concentrations testées. On note ainsi qu'après trois jours du début du test, la concentration de la souche *Proteus mirabilis* est maintenue à une valeur d'environ 10^2 ufc/ml jusqu'à la fin du test. De même la concentration CMI de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* inhibe la croissance des bactéries en gardant leurs concentrations aux environs de 10^5 ufc/ml.

En ce qui concerne l'effet des différentes concentrations vis-à-vis la souche bactérienne *Bacillus subtilis* DSM 6633, présenté dans la figure 61, les résultats ont montré que la concentration 4CMI de l'huile essentielle de plante *Achillea odorata* réduit significativement ($P < 0,05$) la concentration de la souche bactérienne testée dans les 14 premiers jours de la bioconservation, puis elle augmente à 10^6 ufc/ml. Tandis qu'aucun effet sur la croissance bactérienne n'est observé après l'addition de la concentration CMI de cette huile essentielle dont l'évolution de la concentration est semblable au témoin durant toute la période de la bioconservation du modèle alimentaire « la soupe d'orge ».

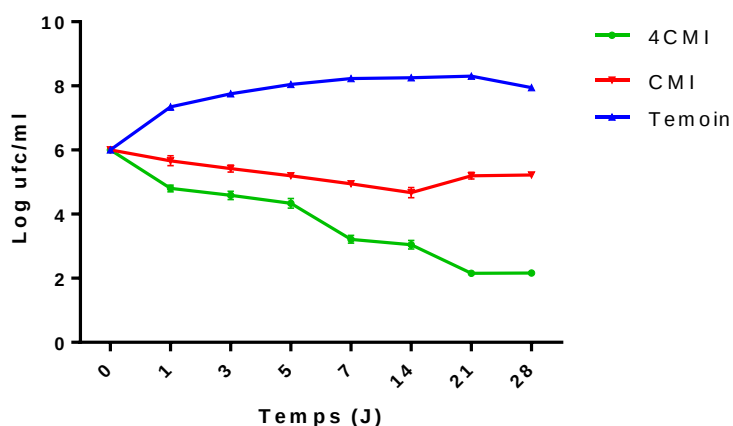


Figure 60: Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* contre la souche *Proteus mirabilis* dans le modèle alimentaire de bioconservation « soupe d'orge »

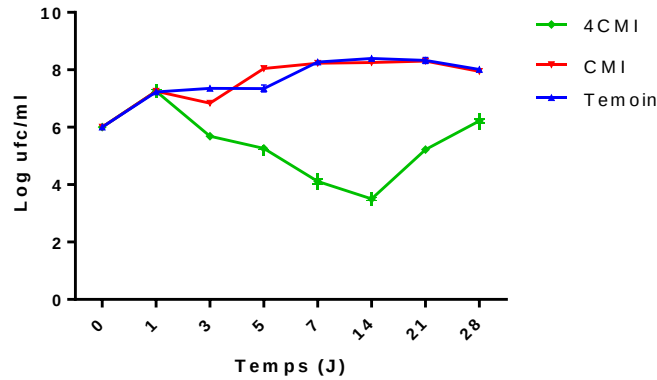


Figure 61 : Effet antibactérien des concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* contre la souche *Bacillus subtilis* DSM 6633 dans le modèle alimentaire de bioconservation « soupe d'orge »

I.5. Conclusion

nos objectifs dans cette partie de thèse était l'étude de la toxicité aigüe de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* et de l'activité antibactérienne de deux concentrations (CMI et 4CMI) de l'huile essentielle de cette plante dans deux systèmes de bioconservation alimentaires, à savoir la « Soupe d'orge » et le « jus de chou », préalablement inoculés artificiellement par les souches *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis* DSM 6633.

Les résultats de la toxicité aigüe ont montré que l'huile essentielle n'a pas d'effet toxique sur les souris albinos. Par ailleurs, les résultats de test de bioconservation ont montré que l'effet antibactérien est dose-dépendant. En effet, l'addition de la concentration 4CMI de l'huile essentielle testée dans le système alimentaire « soupe d'orge » inoculé par les souches *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis* DSM 6633 a réduit d'une manière remarquable la concentration de ces souches.

Ces résultats indiquent que l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata* pourrait être utilisée dans la conservation naturelle des produits alimentaires.

Chapitre 6. Contribution à la lutte contre l'agent pathogène de la tomate (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*)

I.1. Introduction

L'objectif de ce chapitre consiste en la recherche des traitements à base des substances naturelles pour le contrôle des maladies causés par *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (souche *Cmm*), agent causale du chancre bactérien de la tomate. Durant cette étude nous avons testé :

- L'effet des extraits des plantes sur la population de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis* à la surface des semences.
- L'effet des extraits des plantes sur le pourcentage de la germination des semences inoculées ou non par *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3.
- L'effet de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* sur la réduction de l'incidence du chancre de la tomate.

I.2. Effet des extraits des plantes sur la population de la souche Cmm à la surface des semences

Les résultats des figures 62 et 63 montrent que les traitements des semences inoculées par la souche *Cmm* par les concentrations (CMI et 4CMI) ont réduit significativement ($P < 0,05$) le nombre de la population de cette souche en comparaison avec le témoin, et en plus cette réduction est dose-dépendante. En effet, la meilleure réduction du nombre de la population de la souche *Cmm* est observée avec les traitements par la concentration 4CMI des huiles essentielles des plantes *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* et *Mentha suaveolens* ainsi que l'extrait méthanolique du *Cistus ladanifer*, dont le nombre de la population de la souche pathogène est réduit respectivement du 5,94logUFC/semence (témoin) à 3,98, 4,14 et 4,58 logUFC/semence. Les traitements des semences par les autres extraits n'ont pas d'effet significatif sur le nombre de la population de *Cmm*.

Nos résultats sont similaires avec ceux rapportés par Talbi *et al.* (2011). Ces auteurs ont montré que le traitement des semences de tomate, inoculées artificiellement par la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, par les extraits aqueux des plantes *Lavandula*

coronopifolia, *Rubus ulmifolius*., *Rosa canina*, *Cistus monspliensis*, *Pistacia atlantica*, *Anvillea radiata*, *Lavandula stoechas* et *Cistus crispus*, a eu un effet significative sur la réduction de la population du pathogène à la surface des semences traitées

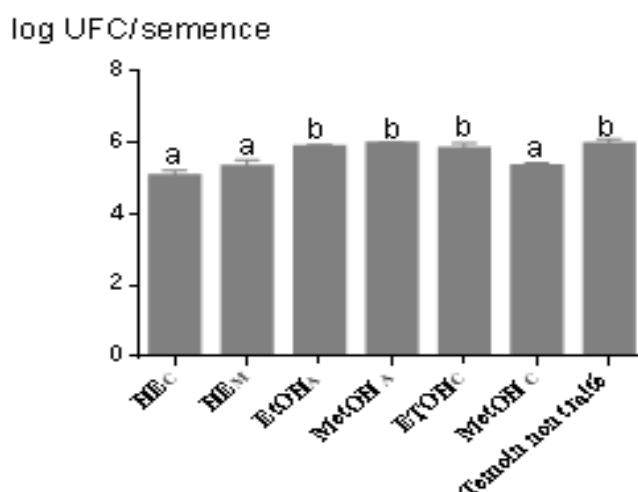


Figure 62 : Effet de la concentration CMI des extraits des plantes sur la population de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* à la surface des semences de tomates inoculées.

HE_C : Huile essentielle de *Cistus ladanifer* ; HE_M : huile essentielle de *Mentha suaveolens* ; EtOH_A : Extrait éthanolique d'*Achillea odorata* ; MethOH_A : extrait méthanolique d'*Achillea odorata* ; EtOH_C : Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* et MethOH_C : Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*

Les lettres différentes (a-b) indiquent des résultats significativement différents P<0,05

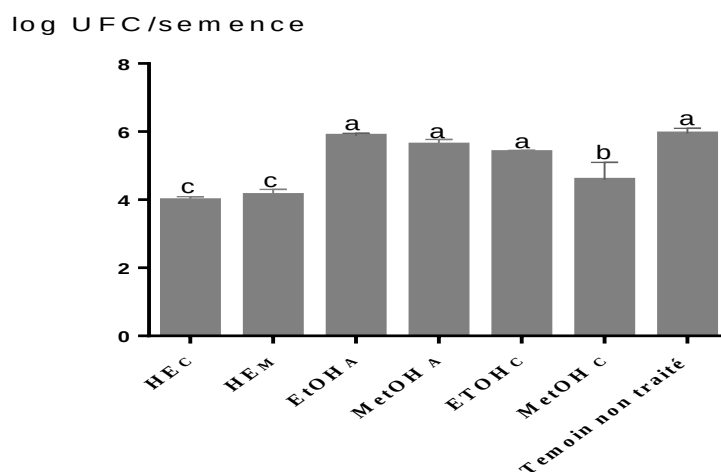


Figure 63 : Effet de la concentration 4CMI des extraits des plantes sur la population de la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* à la surface des semences de tomates inoculées.

HE_C : Huile essentielle de *Cistus ladanifer* ; HE_M : huile essentielle de *Mentha suaveolens* ; EtOH_A : Extrait éthanolique d'*Achillea odorata* ; MethOH_A : extrait méthanolique d'*Achillea odorata* ; EtOH_C : Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* et MethOH_C : Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*

Les lettres différentes (a-c) indiquent des résultats significativement différents P<0,05

I.3. Effet des extraits des plantes sur le pourcentage de la germination des semences

Ce test est réalisé pour vérifier si nos extraits ont un effet négatif sur la germination des semences de la tomate « Campbell 33 ». Les résultats présentés dans les figures 64 et 65, relatifs à l'effet des concentrations (CMI et 4CMI) sur la germination des semences et ont montré que les concentrations (CMI et 4CMI) testées des huiles essentielles des plantes *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* et *Mentha suaveolens* inhibent significativement ($P < 0,05$) par rapport au témoin de la germination dont 4CMI inhibe totalement la germination des semences de la tomate, alors que les autres extraits n'ont pas donné un effet négatif sur le taux de la germination. Notons aussi que le DMSO, utilisé pour faire des dilutions des huiles essentielles (à 10%), n'a montré aucun effet sur le taux de la germination.

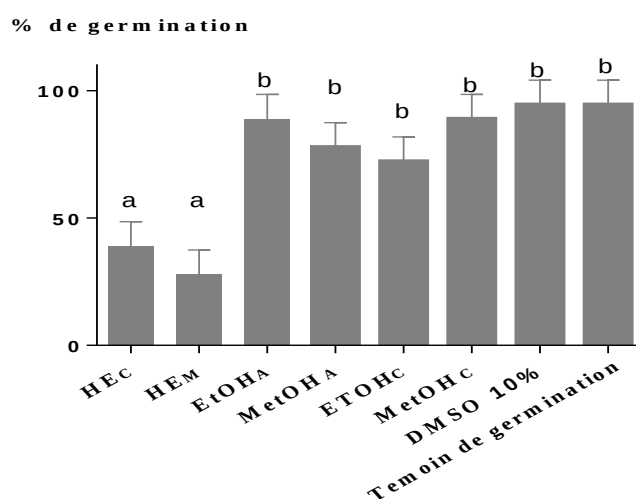


Figure 64 : Effet de la concentration CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences non inoculées.

HE_C : Huile essentielle de *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer*; HE_M : huile essentielle de *Mentha suaveolens* ; EtOH_A : Extrait éthanolique d'*Achillea odorata* ; MethOH_A : extrait méthanolique d'*Achillea odorata* ; EtOH_C : Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* et MethOH_C : Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*.

Les lettres différentes (a-b) indiquent des résultats significativement différents $P < 0,05$

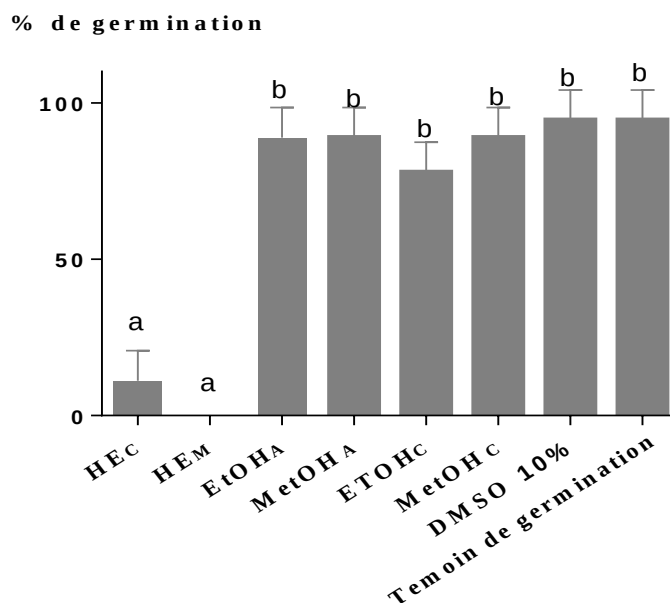


Figure 65: Effet de la concentration 4CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences non inoculées.

HE_C : Huile essentielle de *Cistus ladanifer* ; HE_M : huile essentielle de *Mentha suaveolens* ; EtOH_A : Extrait éthanolique d'*Achillea odorata* ; MethOH_A : extrait méthanolique d'*Achillea odorata*; EtOH_C : Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* et MethOH_C : Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*

Les lettres différentes (a-b) indiquent des résultats significativement différents $P < 0,05$

I.4. Effet des extraits des plantes sur le pourcentage de la germination des semences inoculées par *Clavibacter michiganensis*. ssp. *michiganensis*

Les résultats ont montré qu'après 2 semaines de traitement, les semences de la tomate ont germé avec des pourcentages de germination variable (Figures 66 et 67). En effet, les pourcentages de germination des semences inoculées et traitées par les concentrations des extraits méthanoliques et éthanoliques des plantes *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* et *Achillea odorata* L ssp. *pectinata* sont significativement supérieurs de celui du témoin non traité. On note également que cet effet est dose-dépendant, dont les traitements par la concentration 4CMI de les extraits méthanoliques de *Cistus ladanifer* et d'*Achillea odorata* ont montré les plus importants pourcentages de germination avec des taux de 77,77% et 72,22%, respectivement.

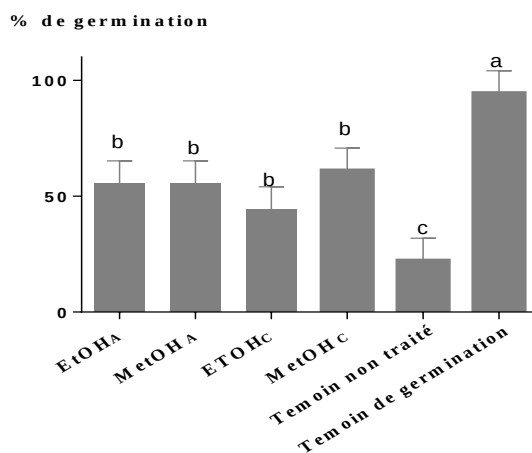


Figure 66: Effet de la concentration CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences inoculées par la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.

EtOH_A: Extrait éthanolique d'*Achillea odorata*; MethOH_A: extrait méthanolique d'*Achillea odorata*; EtOH_C: Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* et MethOH_C: Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*

Les lettres différentes (a-c) indiquent des résultats significativement $P < 0,05$

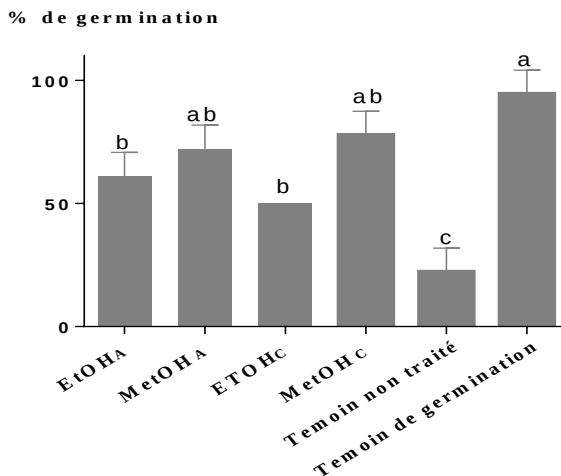


Figure 67: Effet de la concentration 4CMI des extraits sur le pourcentage de germination des semences inoculées par la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.

EtOH_A: Extrait éthanolique d'*Achillea odorata*; MethOH_A: extrait méthanolique d'*Achillea odorata*; EtOH_C: Extrait éthanolique de *Cistus ladanifer* et MethOH_C: Extrait méthanolique de *Cistus ladanifer*

Les lettres différentes (a-c) indiquent des résultats significativement $P < 0,05$

L'effet bénéfique des traitements par les extraits des plantes sur les semences de tomate inoculées par la souche Cmm est rapporté par plusieurs chercheurs. En effet, le traitement par l'extrait aqueux de *Lavandula coronopifolia* augmente le pourcentage de germination des semences inoculées par la souche pathogène (Talbi *et al.*, 2011). De même Kotane *et al.*, (2013) ont montré la possibilité d'utilisation de l'extrait mixte Hexane-Méthanol de *Satureja hortensis* comme désinfectants des semences de la tomate.

1.5. Etude du pouvoir protecteur de l'extrait méthanolique du *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* contre le chancre de la tomate

Au cours de cette expérience, nous avons testé l'effet de l'extrait méthanolique de la plante *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* sur l'apparition des symptômes du chancre de la tomate. Les résultats (figures 68 et 69) montrent que les symptômes sont observés après deux semaines dans le cas du témoin positif. Alors que ces symptômes n'apparaissent dans le lot traité qu'après quatre semaines. On note également que l'extrait méthanolique de la plante *Cistus ladanifer* réduit significativement l'incidence de la maladie (IM) du chancre de la tomate avec 58,14%. Le pourcentage de réduction de cette incidence (RI) est 41,66%.

La possibilité d'usage des plantes médicinales dans le contrôle du chancre de la tomate est confirmée par d'autres recherches. En effet, Balestra *et al.* (2009) ont montré l'efficacité des extraits des plantes *Allium sativum* et *Ficus carica* dans le contrôle *in vivo* des maladies qui touchent la tomate qui sont causées par les souches *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*, *Xanthomonas vesicatoria* et *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. Une étude récente a montré l'efficacité significative des extraits d'*Origanum onites* dans la réduction des symptômes du chancre induit chez la tomate causé par *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis* (Kotan *et al.*, 2014).

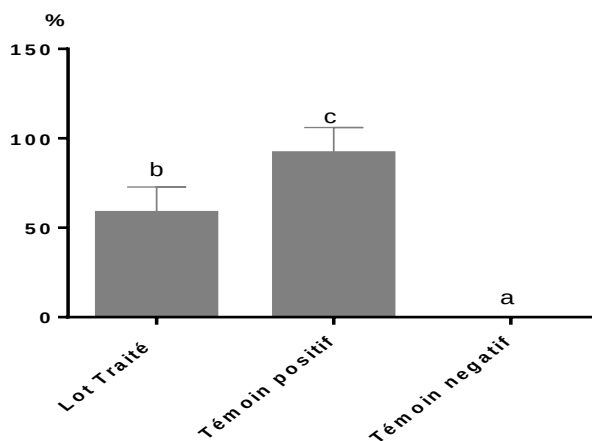


Figure 68 : Effet de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer* (4CMI) sur l'incidence du chancre de la tomate.

Les lettres différentes (a-c) indiquent des résultats significativement $P < 0,05$

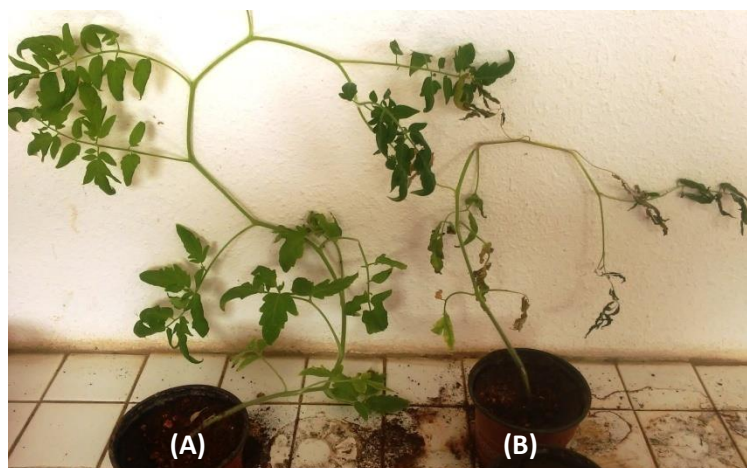


Figure 69 : Aspects morphologiques de l'effet de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer* (4CMI) sur l'incidence du chancre de la tomate. (A), plantule inoculée et traitée ; (B) plantule inoculée et non traitée.

1.6. Conclusion

Les tests entamés dans ce chapitre avaient pour objectif d'étudier l'effet des extraits des plantes étudiées pour le contrôle ou la suppression de la population de *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3, agent causale du chancre de la tomate, de la surface des semences de celle-ci (variété Campbell 33). Nos résultats ont montré que la concentration 4CMI de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* et de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* ont réduit d'une manière significative la population de l'agent pathogène à la surface des semences de la tomate inoculées artificiellement.

Pour le test de germination, les résultats ont montré que les extraits méthanoliques et éthanoliques des plantes *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* et *Achillea odorata* ssp. *pectinata* à la concentration de 4CMI améliorent les pourcentages de germination des semences inoculées par rapport aux semences non traitées, tandis que les huiles essentielles ont montré un effet néfaste sur la germination des semences de la tomate.

Nous avons également conclu que l'extrait méthanolique de la plante *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* réduit significativement l'incidence de la maladie (IM) du chancre de la tomate. Nos résultats pourraient contribuer au développement de futurs biopesticides naturels pour le contrôle des maladies causées par la souche *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* 1616-3.

DISCUSSION GENERALE

- **Sensibilité des bactéries Gram positive et des bactéries Gram négative**

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet antimicrobien des extraits de *Ruta Montana*, *Achillea odorata* ssp. *pectinata*, *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens*, *Micromeria graeca* et *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* utilisées dans la médecine traditionnelle marocaine, contre des souches pathogènes pour l'Homme et des souches phytopathogènes. L'étude de leur pouvoir antimicrobien a été réalisée par la technique de diffusion par disque pour la détermination des diamètres des zones d'inhibition et par la méthode de microplaque pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales fongicides (CMF).

Nos résultats indiquent que les extraits testés sont actifs à la fois sur les bactéries Gram⁺ et les bactéries Gram⁻. Cependant, dans la littérature les bactéries gram⁺ sont plus sensibles aux extraits de plantes que les bactéries Gram(-) (Cosentino *et al.*, 1999 ; Karaman *et al.*, 2003). La faible sensibilité des bactéries gram négative est due à la présence d'une surcouche qui empêche la perméabilité des produits à l'intérieure de la cellule (Cox *et al.*, 2001 ; Bagamboula *et al.*, 2004). Selon Wilkinson *et al.* (2003) les bactéries à gram positif ne sont pas toujours plus sensibles aux extraits naturels que ceux à gram négatif.

En effet, les études menées par Oumzil *et al.* (2002) ; Delaquis *et al.* 2002 ; Gulluce *et al.* (2007) ; et Derwich *et al.*(2010) ont montré qu'il n'y a pas de sélectivité de l'effet antimicrobienne des extraits entre les bactéries gram positive et gram négative, de même aucune différence de sensibilité n'est observée lors de l'étude de l'activité antibactérienne de 50 huiles essentielles entre les souches gram positive et gram négative (Deans *et al.*, 1987).

Aussi Wan *et al.* (1998) ont montré que les souches gram négative *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas fluorescens* sont aussi sensibles que les souches gram positive testées.

Cette différence de la sensibilité des souches gram⁺ et gram⁻ pourrait être attribué selon Dorman et Deans (2000) à la spécificité de chaque composé présents à la composition chimique de chaque huile essentielle qui présentent différents degrés d'activité contre gram positives et gram-négatives, ces auteurs ont montré que les souches gram négative sont plus sensibles à certains composés volatiles que les souches gram positives, et réciproque, il est donc possible que la variation de la composition chimique d'une huile à Une autre soit

suffisante pour provoquer une variabilité du degré de susceptibilité des bactéries gram-négatives et Gram-positives.

- **Corrélation entre la composition chimique des extraits et leurs activités antimicrobiennes**

Nos résultats ont montré que parmi les 24 extraits testés, les huiles essentielles sont les plus actives. Cette importante bioactivité, observée chez les souches Gram⁺ et les souches Gram⁻, est liée à la composition chimique de ces huiles essentielles (Teixeira *et al.*, 2012). L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse nous a permis d'identifier plusieurs composés doués de l'activité antimicrobienne.

En effet, l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta montana* a montré que le composé majoritaire est 2-Undécanone (63,97%). Ce dernier composé est rapporté antimicrobien (Gibka *et al.*, 2013 ; Orlanda *et al.*, 2015).

L'huile essentielle d'*Achillea odorata* ssp. *pectinata* a montré aussi une remarquable activité antimicrobienne qui pourrait être attribuée à la richesse de cette huile essentielle en Camphor, Bornyl acétate, Borneol et Cineol (Eucalyptol). En effet, l'activité antimicrobienne du Camphor et du 1,8-Cineol a été rapportée par (De Vincenzi *et al.*, 1996 ; Pattnaik *et al.*, 1997; Tzakou et Couladis., 2001; Mourey and Canillac, 2002; Viljoen *et al.*, 2003 ; Lopes-Lutz *et al.*, 2008). Les résultats des études menées par Knobloch *et al.*, (1989) ; Tabanca *et al.*, (2001) ont montré l'activité antimicrobienne du Borneol.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante *Teucrium polium* ssp. *polium* pourrait être attribuée à sa forte teneur en Beta-pinène, la présence du Germacrene D et alpha-pinène. En effet, le Germacrene D exerce un pouvoir antibactérien et antifongique (Kalodera *et al.*, 1997 ; Kazarinova *et al.*, 2002 ; Simic *et al.*, 2002 ; Kiran *et al.*, 2006). L'activité antibactérienne des composés Beta-pinène et Alpha-pinène est rapporté par Wang *et al.*, (2012).

L'huile essentielle de *Mentha suaveolens* a montré aussi une activité antimicrobienne très importante. Cette activité pourrait être attribuée à ses composés majoritaires. En effet, l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* est riche en Piperitenone oxide, Germacrene D et piperitone oxide. Les effets antibactériens et antifongiques de ces composés sont rapportés par Karaman *et al.*, (2003) ; Kitic *et al.*, (2002) ; Sahin *et al.*, (2002).

Les résultats de l'activité antimicrobienne indiquent que l'huile essentielle du *Micromeria graeca* est dotée d'une importante bioactivité, cette dernière pourrait être due à la

composition chimique de cette huile. En effet, les études menées par Kim *et al.* (1995) ; Inouye *et al.* (2001) ; Saddiq et Khayyat, (2010) ont montré l'activité antibactérienne du Citral. du même Da Silva *et al.* (2008) ont montré le pouvoir antifongique du citral contre *Candida spp* (Da Silva *et al.* 2008). Le Nerol est rapporté par Dorman *et al.* (2000) comme un agent antibactérien.

A son tour l'huile essentielle de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* a montré un remarquable effet antimicrobien, cet effet pourrait être attribué à ses composés majoritaires. En effet, le borneol et l'aromadendrene sont deux composés connus par leur pouvoir antibactérien et antifongique (Tabanca *et al.* (2001) ; Moreira *et al.*, 2003 ; Mulyaningsih *et al.*, 2010 et 2011).

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux, on note les extraits méthanoliques sont les plus actifs, suivis par les extraits éthanoliques, alors que, à l'exception de l'effet antibactérien de l'extrait aqueux du *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* contre la souche PSS, les extraits aqueux n'ont montré aucune activité antimicrobienne. Cela suggère que le méthanol et l'éthanol solubilisent le maximum des molécules bioactives. La détermination des teneurs des extraits testés en composés phénoliques a montré que tous les extraits sont riches par ces composés. La présence des composés phénoliques explique l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques et éthanoliques. Cependant la différence en activité antimicrobienne entre les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux pourrait être expliquée selon certains auteurs par le fait que l'activité antimicrobienne des composés phénoliques est liée à leur poids moléculaire. En effet, les molécules de haut poids moléculaires sont trop grandes pour établir des ponts hydrogènes pour traverser la paroi bactérienne tandis que les molécules de faibles poids moléculaires pénètrent facilement par la paroi bactérienne (Field et Lettinga, 1992 ; Amensour *et al.*, 2010).

- **Corrélation entre l'activité antioxydante et la composition chimique des extraits de plantes étudiées :**

Par leurs activités antioxydantes, les substances naturelles présentent un intérêt socioéconomique très important (Barla *et al.*, 2007 ; Bektas et Ozturk, 2007; Chang et Sung, 2008). Ces nombreuses recherches ont rapporté l'activité antioxydante des extraits de plantes, selon certains auteurs cette activité pourrait être due à la présence des composés phénoliques

(Velioglu *et al.*, 1998). Pour cela les polyphénols et les flavonoïdes ont un grand intérêt scientifiques (Li *et al.*, 2009).

Certains études ont rapporté la corrélation positive entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante (Shyu *et al.*, 2009; Wijekoon *et al.*, 2011; Voon *et al.*, 2012). D'autre études ont montré qu'il n'y a pas de corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydant (Kähkönen *et al.*, 1999 ; Ismail *et al.*, 2004).

Selon Tawaha *et al.* (2007) une teneur de composés phénoliques supérieur à 20mg/g est considérée très élevée. Nos résultats ont montré que la forte teneur de certains extraits en composés phénoliques corrèle avec leur activité de piégeage du radical DPPH, alors que d'autres (Exemple : les extraits de *Ruta montana*) ne sont pas en corrélation entre leur forte teneur en composés phénolique et leur activité antiradicalaire du DPPH

Nos résultats ont montré, à la fois, l'existence d'une corrélation positive entre les teneurs des extraits des plantes *Cistus ladanifer subsp. ladanifer*, *Micromeria graeca*, *Achillea odorata subsp. pectinata*, *Teucrium polium subsp. polium* et *Ruta montana* en composés phénoliques et leur activité antioxydante. Ainsi l'existence d'une corrélation négative entre la teneur des extraits de *Mentha suaveolens* en composés phénoliques et leur activité de piégeage du radical DPPH.

La forte corrélation entre la teneur en composés phénoliques des extraits des plantes et leurs activités de piégeage du radical DPPH pourrait être attribuée à la richesse de ces extraits par des composés phénoliques doués d'une forte activité antioxydante, par contre l'absence de cette corrélation pourrait être attribuée à :

- la présence des produits non phénoliques tels que les sucres, les acides aminés qui réagit avec le Folin-Ciocalteu en donnant un taux phénolique apparent élevé (Prior *et al.*, 2005 ; Djeridane *et al.*, 2006).
- la réaction avec le radical DPPH diffère d'un composé phénolique à un autre. En effet, L'activité antiradicalaire dépend du nombre et de l'orientation du groupe hydroxyl du composé phénolique (Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Heim *et al.*, 2002). Shahidi et Naczka (2004) suggèrent que les composés phénoliques simples sont moins actifs que ceux qui contiennent des groupes ortho et para di hydroxyle ou hydroxy et methoxy.
- l'interaction antagoniste entre les composés phénoliques et ceux non phénoliques (Babbar *et al.*, 2011).

Nos résultats ont montré une faible activité antioxydante des huiles essentielles des plantes étudiées. Certains chercheurs ont étudié l'activité antioxydante de certains composés majoritaires de nos huiles essentielles. En effet, Wu *et al.* (2006) ont montré que même à une concentration de 1,2mg/ml le camphor n'a inhibé que 15% de DPPH. De même une investigation de l'activité antioxydante des composés eucalyptol, camphor, beta-pinene, borneol, terpinen-4-ol, et alpha-pinene a montré qu'aucun composé testé n'a montré d'activité antioxydante Candan *et al.* (2003).

L'étude de l'activité de piégeage du DPPH par les huiles essentielles d'*Artemisia absinthium*, d'*Artemisia santonicum* et d'*Artemisia spicigera* et leurs composés majeurs : le camphor et l'eucalyptol, a montré que toutes les huiles ont montré une activité antioxydante alors que le camphor et l'eucalyptol testés individuellement n'ont pas montré une activité antioxydante assez importante (Kordali *et al.*, 2005).

Alors qu'en utilisant les deux techniques : Le dosage acide Aldéhyde / carboxylique et la peroxydation lipidique avec une incubation de 30 jours et 18h, respectivement, Lee *et al.* (2001) ont montré l'eucalyptol et terpinen-4-ol sont doués d'une activité antioxydante. On note que le temps d'incubation pourrait influencer sur l'activité antioxydante des huiles essentielles.

Cavar *et al.* (2012) ont rapporté l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Artemisia annua*, riche en camphor et 1,8-Cineole, dont $IC_{50}=27,07\pm 0,18$ mg/ml. La faible activité antioxydante des huiles essentielles de nos plantes pourrait s'expliquer par les faibles concentrations testées par rapport aux autres études.

L'absence des composés phénoliques dans les compositions chimiques des huiles essentielles des plantes étudiées tel que Carvacrol, Thymol, and Eugenol qui sont des composés doués d'activité antioxydante (Mastelić *et al.*, 2008) pourrait expliquer nos résultats.

- **L'activité antibactérienne des huiles essentielles dans les systèmes alimentaires**

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Achillea odorata* subsp. *pectinata* dans deux systèmes alimentaires « Soupe d'orge » et « jus de chou » a montré qu'il y a une différence entre ces résultats et ceux *in vitro*. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés dans la littérature dont l'effet antibactérien dans les systèmes alimentaires est réduit par rapport aux tests *in vitro* (Catherine *et al.*, 2012).

Plusieurs auteurs ont attribué cette différence à certains facteurs. Ultee *et al.* (2000 et 2001) ont rapporté que l'interaction des huiles essentielles avec les constituants des systèmes alimentaire exige l'addition des fortes doses des huiles pour avoir un effet antibactérien significatif.

Selon (Mejlholm et Dalgaard, 2002) l'affinité des huiles essentielles aux acides gras diminue leur interaction avec les bactéries qui se trouvent dans la phase aqueuse. Ultee *et al.* (2000 et 2001) ont suggéré que l'interaction des huiles essentielles avec les constituants des systèmes alimentaire exige l'addition des fortes concentrations en huiles pour avoir un effet antibactérien significatif.

Le pH du milieu pourrait modifier l'activité antibactérienne dans le système alimentaire. En effet, Burt *et al.* (2004) ont rapporté qu'une valeur faible de pH, l'hydrophobicité des huiles essentielle augmente, ce qui facilite leur pénétration à la cellule cible.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le but de cette étude a été de tester l'activité antimicrobienne et antioxydante des extraits des plantes *Achillea odorata* L ssp. *pectinata* (Asteraceae), *Ruta montana* (L.) (Rutaceae.), *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens* et *Micromeria greaca* (Lamiaceae) ainsi que *Cistus ladanifer* ssp. *ladanifer* (Cistaceae).

Tout d'abord, nous avons réalisé une enquête ethnopharmacologique à la province de Guercif, cette enquête a permis d'identifier une centaine de plantes utilisées, correspondant à 49 familles botaniques. *Rosmarinus officinalis*, *Origanum compactum*, *Artemisia herba-alba*, *Thymus* sp., *Mentha pulegium*, *Nigella sativa*, *Lavandula stoechas*, *Visnaga daucoides*, *Aristolochia longa* et *Cenchrus spicatus* sont les taxa les plus utilisés par la population locale. Les résultats de cette étude ont montré que la feuille constitue la partie la plus utilisée, et généralement, les remèdes sont préparés sous forme de décoction. Sur l'ensemble des maladies traitées, le diabète et les maux digestifs sont les plus fréquents.

Dans une deuxième étape nous avons sélectionné six plantes (cinq plante suite aux résultats de l'enquête et une plante au hasard) dont nous avons étudié l'activité antimicrobienne sur des souches pathogènes pour l'Homme et des souches phytopathogènes par la technique de diffusion sur disque et la technique de microplaque. Les résultats ont montrés que les huiles essentielles sont les substances les plus actives que les autres extraits contre les souches bactériennes testées dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre 7 mm et une inhibition totale et les CMI's varient entre 0,19 et 12,5mg/ml.

Dans une troisième étape nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits des plantes sélectionnées par la technique de piégeage du radical DPPH et le test du pouvoir réducteur (FRAP). Les résultats ont montré que les extraits organiques sont plus actifs que les huiles essentielles dont les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux ont une activité antioxydante plus prononcée que les huiles essentielles. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH varie entre 12,54% et 97,6%, et le pouvoir réducteur varie entre 60mg EAA/ g d'extrait.

Dans le but d'expliquer les résultats des activités biologiques réalisées, nous avons déterminé dans une quatrième étape par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse la composition chimique des huiles essentielles et la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits des plantes testées. Les résultats ont montré que les composés majoritaires sont β -Pinène et le Germacrène D pour *Teucrium polium* ssp. *polium*, le Camphor

pour *Achillea odorata subsp. pectinata*, le Piperitenone oxide pour *Mentha suaveolens*, le 2-Undecanone pour *Ruta montana*, le 1,4-Methano-1H-Indene, octahydro-1 pour *Cistus ladanifer* et le Geranial pour *Micromeria*. Par ailleurs, la teneur en composés phénoliques varie entre 19,45 et 112,04 mg EAG/g d'extrait, la teneur en flavonoïdes varie entre 0,32 et 190,18 mg ER/g d'extrait.

Dans une cinquième étape nous avons opté, d'une part, à étudier la toxicité de l'huile essentielle de la plante *Achillea odorata ssp. pectinata* et son action antibactérienne de deux concentrations (CMI et 4CMI) dans deux modèles des systèmes d'alimentation, « le jus du chou » et « la soupe d'orge » inoculés avec les souches *Bacillus subtilis DSM 6633* et *Proteus mirabilis*. Et d'autre part, d'évaluer l'effet protecteur des concentrations (CMI, 4CMI) de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* et de *Mentha suaveolens* ainsi qu'avec les extraits méthanoliques et éthanoliques des plantes *Cistus ladanifer* et *Achillea odorata* contre la souche *Clavibacter michiganensi ssp. michiganensis 1616-3*.

Les résultats ont montré que de l'huile essentielle d'*Achillea odorata ssp. pectinata* n'est pas toxique. L'étude de l'effet antibactérien dans les deux systèmes alimentaires a montré que cet effet est dose-dépendant dont l'addition de la concentration 4CMI de l'huile essentielle testée dans le système alimentaire « soupe d'orge » inoculé par les souches *Proteus mirabilis* et *Bacillus subtilis DSM 6633* a réduit d'une manière remarquable la concentration de ces souches.

Nos résultats de l'étude de l'effet protecteur des extraits contre souche *Clavibacter michiganensi ssp. michiganensis 1616-3* ont montré que la concentration 4CMI de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer*, et de l'huile essentielle de *Mentha suaveolens* ont réduit d'une manière remarquable le nombre de l'agent pathogène à la surface des semences de la tomate inoculées artificiellement. Les résultats ont montré aussi que les extraits méthanoliques et éthanoliques des plantes *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* et *Achillea odorata subsp. pectinata* à la concentration (4CMI) améliorent les pourcentages de germination des semences inoculées par rapport aux semences non traitées. Tandis que les huiles essentielles ont montré un effet néfaste sur la germination des semences de la tomate.

En outre, la concentration de 4CMI l'extrait méthanolique de *Cistus ladanifer subsp. ladanifer* a réduit l'incidence de la maladie du chancre de la tomate.

Le présent travail nous a permis de contribuer à la valorisation de six plantes médicinales : *Ruta montana* (Rutaceae.), *Achillea odorata* ssp. *pectinata* (Asteraceae), , *Teucrium polium* ssp. *polium*, *Mentha suaveolens* et *Micromeria graeca* (Lamiaceae) ainsi que *Cistus ladanifer* (Cistaceae).

Cette étude nécessite d'être complétée par un certain nombre de travaux. Ainsi, on se propose de :

- 1- Approfondir l'étude phytochimique et continuer la recherche sur les six plantes étudiées afin d'isoler, de purifier et d'identifier les molécules impliquées dans les activités biologiques testées.
- 2- Caractériser le mode d'action antimicrobienne des molécules isolées
- 3- Etude de l'efficacité des extraits des plantes en combinaison
- 4- Elargir l'étude des activités biologiques des extraits des six plantes
- 5- Tester l'efficacité des extraits des plantes dans le contrôle du chancre bactérien de la tomate dans le champ.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abdennebi E. (2006). Activités antibactériennes en médecine vétérinaire. Chapitre 17 : Résistance aux antibiotiques 229-243.
- Aburjai T, Hudaib M, Cavrini V. (2006). Composition of the Essential Oil from Jordanian Germander (*Teucrium polium* L.). Journal of Essential Oil Research. 18:97-99
- Acherkoug M (2013) Evaluation de l'impact des aménagements pastoraux sur la restauration des pâturages dégradés du couloir Taourirt-Taforalt (Maroc oriental). Thèse de doctorat, Université Mohammed Premier, Oujda.
- Acherkoug M, Maatougui A, El houmaiz M.A. (2011). Communautés végétales et faciès pastoraux dans la zone de Taourirt-Tafoughalt du Maroc oriental: écologie et inventaire floristique. Acta Botanica Malacitana 36 :125-136.
- African Plant Database (version 3.4.0). Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria, "accès [Décembre, 2016]", de < <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/>>
- Ahamrouni J (1996) Erosion hydrique dans le bassin versant de la Moulouya (Maroc Oriental). Recherche de zones sources d'envasement de la retenue du barrage Mohamed V. Doctorat Th. 3^e cycle, Université Cheikh Anta Diop, Dakar.
- Ahmad N, Fazal H, Ahmad I, Abbasi B.H. (2012). Free radical scavenging (DPPH) potential in nine *Mentha* species. Toxicology and Industrial Health 28(1): 83–89.
- Ait-Ouazzou A, Lorán S, Arakrak A, Laglaoui A, Rota C, Herrera A, Pagán R, Conchello P. (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International 45: 313–319.
- Akerele O, (1990). Medicinal plants and primary health care: an agenda for action. Essential Drugs Monitor 10: 8-9.
- Alías J-C, Sosa T, Valares C, Escudero J-C , Chaves N. (2012). Seasonal Variation of *Cistus ladanifer* L. Diterpenes . Plants 1:6-15; doi:10.3390/plants1010006.
- Ali-Shtayeh M.S, Al-Nuri M.A, Yaghmour R.M.-R, Faidi Y.R. (1997). Antimicrobial activity of *Micromeria nervosa* from the Palestinian area. Journal of Ethnopharmacology 58 : 143 – 147.
- Alizadeh A, Ranjbaran J. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of *Micromeria hedgei* Rech. f. oil from Iran. Natural Product Research 31 (2): 210–213
- Amar Z, Abdelwahab B, Abdelhakim B, Noureddine G. (2012). Environmental impact on the Chemical Composition and yield of essential oils of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L and their antioxidant and antibacterial activities. Advances in Environmental Biology, 6(10): 2684-2688.
- Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Aarab L, El Ajjouri M, Chaouch A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 14(1) : 141-148

Amarowicz R, Dykes G.A, Pegg R.B. (2008). Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagopyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. Short report. *Fitoterapia* 79 : 217–219

Amensour M, Bouhdid S, Fernández-López J, Idaomar M, Skali Senhaji N, Jamal Abrini. (2010). Antibacterial Activity Of Extracts Of *Myrtus communis* Against Food-Borne Pathogenic And Spoilage Bacteria. *International Journal of Food Properties* 13:1215–1224.

Amensour M, Sendra E, Abrini J, Pérez-Alvarez J.A, Fernández-López J. (2010). Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. *Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos totales en extractos de myrtus*. *CyTA – Journal of Food* : 8 (2) 95–101

Andrade D, Gil C, Breitenfeld L, Domingues F, Duarte A.P. (2009). Bioactive extracts from *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo* L. *Industrial Crops and Products* 30 : 165–167

Ashiwada Y, Naka G-I, Hang J-J, Lee K-H. (1992). Antitumor agents, 129. Tannins and related compounds as selective cytotoxic agents. *Journal of Natural Products* 55 (8) : 1033–1043

B

Babbar N, Oberoi H.S, Uppal D.S, Patil R.T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International* 44: 391–396

Bachar M, Zidane L, Rochdi A (2016) Plantes Médicinales et Phytothérapie Traditionnelle utilisées au niveau du Parc Naturel Régional de Bouhachem «Rif du Maroc» -cas de la commune rurale de Tazroute-. *J. Mater. Environ. Sci.* **7(11)** : 4175-4204.

Bagamboula C.F, Uyttendaele M, Debevere J. (2004). Inhibitory effects of thyme and basil essential oils, carvacrol, thyme, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol* 21 : 33–42.

Balestra G.M, Heydari A, Ceccarelli D, Ovidi E, Quattrucci A. (2009). Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection* 28: 807–811

Barchan A, Bakkali M, Arakrak A, Pagán R, Laglaoui A. (2014). The effects of solvents polarity on the phenolic contents and antioxidant activity of three *Mentha* species extracts. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 3(11): 399-412

Barla A, Ozturk M, Kultur S, Oksuz S. (2007). Screening of antioxidant activity of three *Euphorbia* species from Turkey. *Fitoterapia* 78: 423–425.

Bate-Smith E.C and Swain T. (1962). *Comparative Biochemistry*, Vol. 3, Mason, H. S. and Florkin, M., Eds., Academic Press, New York 764.

Bekhechi C, Bekkara F. (2011). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Achillea odorata* L. subsp. *Pectinata* (Lamk) var. *microphylla* (Willd.) Willk. From Northwestern Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 23: 42-46

Bektas N, Ozturk N. (2007). Antioxidant activity of *Punica granatum* (Pomegranate) flowers. *Toxicol. Lett.* 172, S62.

Bellakhdar J (1978) Médecine traditionnelle et toxicologie ouest sahariennes. Contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Editions techniques nord-africaines, Rabat.

- Bellakhdar J (1997) La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris.
- Bellakhdar J, Claisse R, Fleurentin J, Younos C. (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. Journal of Ethnopharmacology, 35(2): 123-143.
- Bellakhdar J, Honda G, Miki W (1982) Herb drugs and herbalists in the Maghreb. Studia Culturae Islamicae, 19. Institute for the study of Languages and Cultures of Asia and Africa, Tokyo.
- Bellakhdar J. (1978). Médecine traditionnelle et toxicologie ouest sahariennes. Contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Editions techniques nord-africaines, Rabat.
- Belmekki N, Bendimerad N, Bekhechi C, Xavier Fernandez X. (2013). Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. Journal of Medicinal Plants Research 7(14): 897-90
- Benayad N, Mennane Z, Charof R, Hakiki A, Mosaddak M. (2013). Antibacterial activity of essential oil and some extracts of *Cistus ladaniferus* from Oulmes in Morocco. J. Mater. Environ. Sci. 4 (6): 1066-1071
- Benayad N. (2013) .évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolées de plantes marocaines et activité anticancéreuse. Thèse doctorat. Faculté des Sciences, Université Mohammed V – Agdal Rabat
- Bennaoum Z, Benhassaini H, Falconieri D, Piras A , Porcedda S. (2017).Chemical variability in essential oils from *Ruta* species among seasons, and its taxonomic and ecological significance. Natural Product Research, <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1303692>.
- Benomari F.Z, Djabou N, Medbouhi A, Khadir A, Bendahou M, Selles C, Desjobert J-M, Jean Costa, Muselli A. Chemical variability and biological activities of essential oils of *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. from Algeria. doi: 10.1002/cbdv.201600098
- Benrahmoune Idrissi Z, Dubruille C. (2003). Invitation à l'amour des plantes. Guide floristique illustré de la réserve biologique de Sidi Boughaba. Scriptura Editions, Imprimerie Al maarif al Jadida, Rabat, 18-25.
- Bezić N, SkoCibuSi M, Dunkić V, Radonić A. (2003). Composition and Antimicrobial Activity of *Achillea clavennae* L. Essential Oil. Phytotherapy Research 17: 1037–1040.
- Beziç N, Skocibusic M, Dunkic V, Radonic A. Composition and Antimicrobial Activity of *Achillea clavennae* L. Essential Oil. (2003). Phytotherapy Research 17 :1037–1040
- Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A, Ziyat A. (2002). Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. Int J Diabetes & Metabolism 10: 33-50
- BO (2009) Bulletin Officiel n° 5744 du 24 Joumada II 1430 (18 Juin 2009)
- Bouaichi A, Benkirane R, Habbadi K, Benbouazza A, Achbani E. H. (2015). Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causal agent of olive knot. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science Volume 8:41-45
- Bouhdid S, Skali S.N, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux D, Amensour M , Abrini J. Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. (2008). African Journal of Biotechnology 7 (10):1563-1570

Boukhira S, EL Mansouri L, Bousta D. (2013). Ethnobotanical studies of some medicinal and cosmetic plants used in the province of Sefrou, Middle Atlas of Morocco. The Journal of Ethnobiology and Traditional Medicine. Photon 120: 661-670.

Boulos L (1983) Medicinal Plants of North Africa. *Medicinal plants of the world*, 3. Reference Publications Inc., Algonac, Michigan.

Boutaoui N. (2012). Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae) Etude de la phase acétate d'éthyl. MEMOIRE Présenté pour obtenir le diplôme de Magister en Chimie Organique Option : Chimie structurale-Synthèse organique et Substances Naturelles. République Algérienne démocratique et populaire, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, Université Constantine, Faculté des sciences exactes département de chimie.

Boutennoun H, Boussouf L, Rawashdeh A, Al-Qaoud K, Abdelhafez S, Kebieche M, Khodir Madani. (2014). In vitro cytotoxic and antioxidant activities of phenolic components of Algerian *Achillea* leaves. Arabian Journal of Chemistry (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.05.013>

Božović M, Pirolli A, Ragno R. (2015). *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) Essential Oil and Its Main Constituent Piperitenone Oxide: Biological Activities and Chemistry. Molecules 20: 8605-8633.

Bräuchler C, Meimberg H, Abele T, Heubl G. (2005). Polyphyly of the genus *Micromeria* (Lamiaceae) evidence from cpDNA sequence data, Taxon 54: 639–650

Bräuchler C, Ryding O, Heubl G. (2008). The genus *Micromeria* (Lamiaceae), a synoptical update, Willdenowia, 2008, 38, 363–410

Brent K.J, Hollomon D.W. (1998). Fungicide Resistance: The Assessment of Risk. Monograph No. 2. FRAC, Global Crop Protection Federation, Brussels, pp. 1–48.

Brul S, Coote P. (1999). Preservative agents in foods – Mode of action and microbial resistance mechanisms. *Int J Food Microbiol* 50:1–17

Bukvicki D, Stojkovic D, Sokovic M, Nikolic M, Vannini L, Montanari C, Petar D. (2015). Marine Potential application of *Micromeria dalmatica* essential oil as a protective agent in a food system. *LWT - Food Science and Technology* doi: 10.1016/j.lwt.2015.03.053.

Burt S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223–253.

Buzzini P, Arapitsas P, Goretti M, Branda E, Turchetti B, Pinelli P, Ieri F, Romani A. (2008). Antimicrobial and Antiviral Activity of Hydrolysable Tannins. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 8: 1179-1187

e

Çakir A, Duru M.E, Harmandar M, Ciriminna R, Passannanti S. (1998). Volatile Constituents of *Teucrium polium* L. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research* 10: 113-115

Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sökmen A, Akpulat H.A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology* 87 : 215–220

Catherine A.A, Deepika H, Negi P.S. (2012). Antibacterial activity of eugenol and peppermint oil in model food systems. *The Journal of Essential Oil Research* 24 (5): 481–486

Ćavar S, Maksimović M, Vidic D, Paric A. (2012). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial Crops and Products* 37 : 479–485

Chang S.K, Sung P.M. (2008). Antioxidant activities of ethanol extracts from seeds in fresh Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) and wine processing waste. *Bioresour. Technol* 99:4503–4509.

Chanthaphon S, Chanthachum S, Hongpattarakere T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus spp.* against food-related microorganisms. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30 (Suppl.1): 125-131

Charlwood BV, Banthorpe DV. (1991) *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 7: Terpenoids. Academic, London.

Chater A.O, Guinea E. (1972). *Micromeria Benth.* In: Heywood V.H., Burges N.A., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A. (Eds.), *Flora Europaea*, Vol. 3, Cambridge University Press, Cambridge

Cijo G.V, Graham D, Vasantha H.P.R. (2016). Plant flavonoids in cancer chemoprevention: Role in genome stability, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, doi: 10.1016/j.jnutbio.

Claisse R (1990) Pharmacopée traditionnelle au Maroc: marché populaire de Yacoub El Mansour. *Actes du Premier Colloque Européen d’Ethnopharmacologie*, Metz, 22–25 Mars : 448-449.

Cosentino S, Tuberoso C. I. G, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E, Palmas F. (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology* 29: 130–135

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564–582.

Cox S.D, Mann C.M, Markham J.L, Gustafson J.E, Warmington J.R, Wyllie S.G. (2001). Determination the antimicrobial action of *tea tree* oil. *Molecules* 6, 87–91

Cristiane de Bona Da Silva C.B, Guterres S.S, Weisheimer V, Schapoval E.E.S. (2008). Antifungal Activity of the Lemongrass Oil and Citral Against *Candida spp.*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 12(1):63-66.

Cristina Figueiredo A, Barroso J.G, Pais M.S.S, Scheffer J.J.C. (1992) . Composition of the essential oils from leaves and flowers of *Achillea millefolium* L. *ssp millefolium*. *Flav. Fragr. J.* 7 (4) : 219–222.

Croteau R, Kutchan TN, Lewis NG. Natural products (secondary metabolites). (2000). In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R, editors. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Rockville, MD, US: American Society of Plant Physiologists. 1250-318.

D

Da Silveira S.M, Luciano F.B, Fronza N, Cunha Jr.A, Scheuermann G.N , Werneck Vieira C.R. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C. *LWT - Food Science and Technology* 59: 86-93.

Dahmane E.M. Elaboration de nouveaux micro/nanoparticules et biofilms à base de chitine et chitosane et leurs applications au relargage des médicaments et des huiles essentielles. (2012). Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad Faculté Des Sciences Et Techniques Marrakech.

- Daoudi A, Hrok H, Belaidi R, Slimani I, Ibijbijen J, Nassiri L. (2016). Valorization of *Ruta montana* and *Ruta chalepensis*: Ethnobotanical study, phytochemical screening and Antibacterial activity. J. Mater. Environ. Sci. 7 (3): 926-935
- Darabpourn E, Motamedi H, Seyyed Nejad S.M. (2010). Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine 124-127.
- De Marino S, Festa C, Zollo F, Incollingo F, Raimo G, Evangelista G, Iorizzi M. (2012). Antioxidant activity of phenolic and phenylethanoid glycosides from *Teucrium polium* L. Food Chemistry 133: 21–28
- De Vincenzi M, Mancini E, Dessi M.R. (1996). Monographs on botanical avouring substances used in foods. Part V. Fitoterapia 67: 241–251.
- Deans S.G, Ritchie G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. International Journal of Food Microbiology 5: 165– 180.
- Delaquis P.J, Stanich K, Girard B, Mazza G. (2002). Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill , Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential Oils. Int. J. Food Microbiol., 74: 101-109.
- Derwich E, Benziane Z, Boukir A. (2010). Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *mentha rotundifolia* from morocco. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 9 (1): 19-28
- Dewanto V, Wu X.Z, Liu R.H. (2002). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. J. Agr. Food Chem. 50:4959–4964.
- Dixon R.A, Pasinetti G.M. (2010). Flavonoids and Isoflavonoids: From Plant Biology to Agriculture and Neuroscience. Plant Physiology 154: 453–457
- Djabou N, Muselli A, Allali H, Dib M.E, Tabti B, Varesi L, Costa J. (2012). Chemical and genetic diversity of two Mediterranean subspecies of *Teucrium polium* L. Phytochemistry 83: 51–62
- Djarri L, Ferhat M, Merabet G, Chelghoum A, Laggoune S, Semra Z, Smati F, Kabouche Z. (2013). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta montana* from Constantine (Algeria). Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre 5 (4):70-73
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry 97: 654–660
- Dorman H.J.D, Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88: 308–316
- Duru M.E, Öztürk M, Aysel Uğur A, Ceylan Ö. (2004). The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. Journal of Ethnopharmacology 94 : 43–48

f

El Arch M, Satrani B, Farah A, Bennani L, Boriky D, Mohamed Fechtal M, Mohamed Blaghen M, Talbi M. (2003). Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. Acta Botanica Gallica 150 (3) :267-274.

- El Beyrouthy M , Arnold N , Delelis-Dusollier A , Dupont F, de Foucault B. (2008) Morphologie du trichome des *Teucrium* du Liban, Acta Botanica Gallica: Botany Letters, 155(4) : 563-576.
- El Guiche R, Tahrouch S, Amri O, El Mehrach K, Hatimie A. (2015). Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of 30 Medicinal and Aromatic Plants Located in the South of Morocco. International Journal of New Technology and Research 1(3): 07-11
- El Mansouri L., Ennabili A., Bousta D. (2011). Socioeconomic interest and valorization of medicinal plants from the Rissani oasis (SE of Morocco). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 10(1): 30-45.
- El-Kashoury EA, El-Askary H.I, Kandil Z.A, Ezzat S.M, Salem M.A, Sleem A.A. (2014). Chemical and biological study of *Mentha suaveolens* Ehrh. cultivated in Egypt. Journal Of Medicinal Plant Research 8(20): 747-755
- El-Shazly A M, Hafez S. S, Wink M. (2004). Comparative study of the essential oils and extracts of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. and *Achillea santolina* L. (Asteraceae) from Egypt. Pharmazie 59 (3): 226-230
- Ennabili A, Gharnit N, Elhamdouni E. (2000). Inventory and social interest of medicinal, aromatic and hony-plants from Mokrisset Region (NW of Morroco). *Stud Bot* 19: 57 -74.
- Ennabili A, Gharnit N, Maach Y, El Meskaoui A, Bousta D. (2006). Exploitation des plantes médicinales et alimentaires du bassin versant de l'oued Laou (Nord ouest du Maroc). *J Bot Soc Bot France* 36 : 71-79.



- Fakchich J, Elachouri M. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.*, 154(1): 76-87.
- Farah A, Satrani B , Fechtal M , Chaouch A, Talbi M. (2001). Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583). Acta Botanica Gallica 148 (3) : 183-190.
- Fertout-Mouri N, Latrèche A, Mehdadi Z, Toumi-Bénali F, Khaled M.B. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). DOI 10.1007/s10298-016-1048-1
- Field J. A, Lettinga G. (1992). Toxicity of tannic compounds to microorganisms. Plant polyphenols: synthesis, Proprieties, Significant. Basic Life Si. 59: 673-692
- Formisano C, Mignola E, Rigano D, Felice S, Bellone G, Bruno M, Rosselli S. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Micromeria fruticulosa* (Bertol.) Grande (Lamiaceae) growing wild in Southern Italy. Flavour And Fragrance Journal, 22: 289–292
- Fougrach H, Badri W, Malki M. (2007). Flore vasculaire rare et menacée du massif de Tazekka (région de Taza, Maroc). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, 29: 1-10.
- Foyer C.H, Lelandais M, Kunert K.J, (1994). Photooxidative stress in plants, Plant. Physiol. 92: 696–717.

França Orlanda J.F, Nascimento A.R. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) volatile oils, from São Luís, Maranhão, Brazil. South African Journal of Botany 99: 103–106.

Friedman M, Henika P. R, Mandrell R. E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. Journal of Food Protection 65:1545–1560.



Gherib M, Bekhechi C, Paoli M, Atik Bekkara F, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Micromeria debilis* Pomel from Algeria. (2016). Journal of Essential Oil Research. DOI: 10.1080/10412905.1179687

Gibka J, Kunicka-Styczyńska A, Gliński M. (2009) Antimicrobial Activity of Undecan-2-one, Undecan-2-ol and Their Derivatives, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 12(5): 605-614, DOI: 10.1080/0972060X.2009.10643763

Gilani A.H, Atta-ur-Rahman. (2005). Trends in ethnopharmacology. Journal of Ethnopharmacology 100 (1-2): 43-49.

Gill A.O, Delaquis P, Russo P, Holley R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. Int. J. of Food Microbiol. 73: 83– 92.

Gomes P.B, Mata V.G, Rodrigues A.E. (2005) Characterization of the Portuguese-Grown *Cistus ladanifer* Essential Oil, Journal of Essential Oil Research 17(2): 160-165

Goulas V, Gomez-Caravaca A.M, Exarchou V, Gerothanassis I.P, Segura-Carretero A, Gutiérrez A.F. (2012). Exploring the antioxidant potential of *Teucrium polium* extracts by HPLC-SPE-NMR and on-line radical-scavenging activity detection. LWT - Food Science and Technology 46 :104-109

Graciela Calderón de Rzedowski and Rzedowski J.(1994).Flora del valle de thhuacan-cuicatlan, fasciculo 6, cistaceae, <http://www.ibiologia.unam.mx/BIBLIO68/fulltext/fasiculosfloras/fas6.pdf>

Graciela Calderón de Rzedowski. (1992). Flora del bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 2, Cistaceae. <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/Flora%202.pdf>

GriffithsD. W., in *Toxic Substances in Crop Plants*, ed. D’MelloJ. P. F, DuffusD. M, and Duffus J. H. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1991, p. 180.

Guimarães R, Sousa M.J, Ferreira I.C.F.R. (2010). Contribution of essential oils and phenolics to the antioxidant properties of aromatic plants. Industrial Crops and Products 32 :152–156.

Guinoiseau E. (2010). Molécules antibactériennes issues d’huiles essentielles : Séparation, Identification et Mode d’action. Thèse de Doctorat Université De Corse-Pasquale Paoli

Guitton . (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : Aspects évolutifs et physiologiques, THÈSE DE DOCTORAT, Université de Saint-Etienne – Jean-Monnet , Discipline : Biologie et Physiologie Végétales.

Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A, Ozkan H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. Food Chemistry 103: 1449–1456.



- Haddouchi F, Chaouche T.M, Zaouali Y, Ksouri R, Attou A, Benmansour A. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry* 141: 253–258
- Haleng J , Pincemail J , Defraigne J.O, C. Charlier C , Chapelle J.P. Le stress oxydant. (2007).
- Hamimed S. (2009). Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum* L. Mémoire Présenté pour L'obtention du diplôme de Magister en chimie organique, option : Substances thérapeutique d'origine naturelle. République algérienne démocratique et populaire ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, Université Mentouri Constantine, Faculté des sciences exactes, Département de chimie
- Hammami I, Smaoui S, Ben Hsouna A, Hamdi N, Ali Triki M. (2015). *Ruta montana* L. leaf essential oil and extracts: characterization of bioactive compounds and suppression of crown gall disease. *EXCLI Journal* 14:83-94
- Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. Review. *Phytochemistry* 68 : 2831–2846
- Haslam E. (1989). Plant Polyphenols – Vegetable Tannins Revisited – Chemistry and Pharmacology of Natural Products, Cambridge University Press, Cambridge, 9
- HCP (Haute Commissariat au Plan) (2012) La Région de l'Oriental. Disparités intra-régionales et développement contrasté. Direction Régionale Oujda, Oujda.
- HCP (Haute Commissariat au Plan) (2013) Monographie de la Région de Taza-al Hoceima-Taounate. Direction Régionale Taza-Alhoceima-Taounate, Al Hoceima.
- Heim K.E, Tagliaferro A.R, Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572–584
- Heywood VH (1992) La etnobotánica y la estrategia mundial para la conservación. *Etnobotanica*, **92**: 15-16.
- Holley R. A, Patel D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 22: 273- 292.
- Hopkins W.G. (2003). Physioloàgie végétale. 1ère ed.Bruxelles : de boech et larcier s.a.
- Hseini S, Kahouadji A, Lahssissene H,Tijane M (2007) Analyses floristique et ethnobotanique des plantes vasculaires médicinales utilisées dans la région de Rabat (Maroc occidental). *Lazaroa***28**: 93 - 100.
- Huang B, Ke H, He J. (2011). Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem Toxicol* 49:185–90
- Hussain A, Anwar F, Nigam P.S, Ashraf M, Gilani N.H. (2010). Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *J Sci Food Agric* 90: 1827–1836
- Hyltdgaard M, Mygind T, Meyer RL. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol* 3:12

Q

Innocenti G, Vegeto E, Dall'Acqua S, Ciana P, Giorgetti M, Agradi E. (2007). *In vitro* estrogenic activity of *Achillea millefolium* L. *Phytomed* 14: 147-52.

Inouye S, Takizawa T, Yamaguchi H. (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of antimicrobial Chemotherapy* 47:565-573

Ismail A, Marjan Z.M, Foong C.W. (2004). Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry* 87 : 581–586

Isman MB, Plant essential oils for pest and diseasemanagement. (2000). *Crop Protect* 19:603–608.

J

Jouad H, Haloui M, Rhiauani H, El-Hilaly J, Eddouks M (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane). *J. Ethnopharmacol.* 77(2-3): 175-182.

K

Kabouche Z, Boutaghane N, Laggoune S, Kabouche A, Ait-Kaki Z, Benlabed K. (2005). Comparative antibacterial activity of five *Lamiaceae* essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy* 15:129–133

Kacem M, Kacem I, Simon G, Ben Mansour A, Chaabouni S, Elfeki A, Bouaziz M. (2015). Phytochemicals and biological activities of *Ruta chalepensis* L. growing in Tunisia, *Food Bioscience*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.08.001>

Kähkönen M. P, Hopia A.I, Vuorela H.J, Rauha J.P, Pihlaja K, Kujala T.S, Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 47:3954–3962.

Kahouadji A (1986) Recherches floristiques sur le massif montagneux des Beni Snassene (Maroc oriental). Doctorat Th. 3^e cycle, Université Montpellier 2.

Kahouadji MS (1995) Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Maroc oriental. Doctorat Th. 3^e cycle, Université Mohamed I, Oujda.

Kalodera Z, Pepeljnjak S, Blazevic C.N, Petrac T. (1997). Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* essential oil. *Pharmazie*, 52(11): 885–886.

Kambouche N, Merah B, Bellahouel S, Bouayed J, Dicko A, Derdour A, Younos C, Soulimani R. (2008). Chemical Composition and Antioxidant Potential of *Ruta montana* L. Essential Oil from Algeria. *Journal of medicinal food* 11 (3): 593–595.

Karaman I, Sahin F, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M, Adiguzel A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology* 85: 231–235.

Kasrati A., Jamali A, Bekkouche K, Lahcen H, Markouk M, Wohlmuth H, Leach D, Abbad A. (2013). Essential oil composition and antimicrobial activity of wild and cultivated mint timija (*Mentha suaveolens* subsp. *timija* (Briq.) Harley), an endemic and threatened medicinal species in Morocco. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* 27(12) : 1119-1122

- Kazarinova N.V, Tkachenco K.G, Uzychenko L.M, Safonova N.G, Tkachev A.V., Koruljuk E.A. (2002). Component composition and analysis of antibiotic activity of essential oil of *Origanum vulgare* L. grown in regions of West Siberia. *Rastitel'nye Resursy*, 38(2): 99–103.
- Kelen M, Tepe B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology* 99: 4096-4104.
- Khabbach A, Libiad M, Ennabili A, Bousta D (2012) Medicinal and cosmetic use of plants from the province of Taza, Northern Morocco. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 11(1): 46-60.
- Kim J.M, Marshall M.R, Cornell J.A, Preston J.F, Wei C.I. (1995). Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* on culture medium and on fish cubes. *Journal of Food Science* 60(6):1364–1374
- Kitic D, Jovanovic T, Ristic M, Palic R, Stojanovic G. (2002). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *glandulosa* (Req.) P.W. Ball from Montenegro. *Journal of Essential Oil Research*, 14(2), 150–152.
- Knobloch K, Pauli A, Iberl B, Weigand H, Weis N. (1989). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components, *Journal of Essential Oil Research*, 1(3): 119-128
- Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 20 : 165–177
- Koliopoulos G, Pitarokili D, Kioulos E, Michaelakis A, Tzakou O. (2010). Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitol Res* 107:327–335
- Konan N.A, Lincopan N, Collantes Diaz I.E, Jacysyn J.F, Tiba T.M.M, Amarante Mendes JG, et al. (2012). Cytotoxicity of cashew flavonoids towards malignant cell lines. *Exp Toxicol Pathol* 64:435-440.
- Kordali S, Cakir A, Mavi A, Kilic H, Yildirim A. (2005). Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Three Turkish *Artemisia* Species. *J. Agric. Food Chem* 53 :1408-1416
- Kotan R, Cakir A, Dadasoglu F, Aydin T, Cakmakci R, Ozer H, Kordali S, Metee E, Dikbasf N. (2010). Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. *J Sci Food Agric* 90: 145–160.
- Kotan R, Cakirb A, Ozerc H, Kordalia S, Cakmakci R, Dadasoglud F, Dikbase N, Aydinf T, Kazaz C. (2014). Antibacterial effects of *Origanum onites* against phytopathogenic bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria. *Scientia Horticulturae* 172 : 210–220
- Kremer D, Dunkić V, Mirko Rušić M, Matevski V, Ballian D, Bogunić F, Eleftheriadou E, Stešević D, Kosalec I, Bezić N, Stabentheiner E. (2014). Micromorphological traits and essential oil contents of *Micromeria kernerii* Murb. and *M. juliana* (L.) Benth. (*Lamiaceae*). *Phytochemistry* 98: 128–136.
- Kremer D, Dunkić V, Stešević D, Kosalec I, Ballian D, Bogunić F, Bezić N, Stabentheiner E. (2013). Traits micromorphologiques et huile essentielle De *Micromeria longipedunculata* Bräuchler (*Lamiaceae*), *Cent. Eur. J. Biol.* 9(5) : 559-568.

Kremer D, Dunkić V, Stešević D, Kosalec I, Ballian D, Bogunić F, Bezić N, Stabentheiner E. (2014). Micromorphological traits and essential oil of *Micromeria longipedunculata* Bräuchler (Lamiaceae). Central European Journal of Biology 9(5): 559-568

Kremer D, Stabentheiner E, Dunkić V, Dragojević M, Ilerd I, Vujić L, Kosalec I, Dalibor Balliane, Bogunić F, Bezić N. (2012). Micromorphological and Chemotaxonomical Traits of *Micromeria croatica* (Pers.) Schott. Chemistry & Biodiversity 9

Kumar A, Schweizer H.P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. Reviews- Advanced Drug Delivery 57 : 1486– 1513

Kumar P, Mishra S, Malik A, Satya S. (2011). Insecticidal properties of Mentha species: A review. Ind. Crops. Prod 34:802–817.

Kumudavally K.V, Tabassum A, Radhakrishna K, Bawa A.S. (2011). Effect of ethanolic extract of clove on the keeping quality of fresh mutton during storage at ambient temperature (25±2 °C). J Food Sci Technol 48:466–471

Kunyanga C.N, Imungi K.J, Okoth M, Momanyi C, Biesalski H.K, Vadivel V. (2011). Antioxidant and Antidiabetic Properties of Condensed Tannins in Acetonic Extract of Selected Raw and Processed Indigenous Food Ingredients from Kenya. Journal of Food Science 76 (4) :C560-C567

ℒ

Lee K.G., Shibamoto T. (2001). Antioxidant activities of volatile components isolated from Eucalyptus species. Journal of the Science of Food and Agriculture 81:1573–1579.

Levy S.B, Marshall B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses .Nature Medicine Supplement Volume 10 (12)

Li H-Y, Hao Z-B, Wang X-L, Huang L, Li J-P. (2009). Antioxidant activities of extracts and fractions from Lysimachia foenum-graecum Hance. Bioresource Technology 100: 970–974

Ligne Directrice de L'OCDE pour les essais de Produits Chimiques, 17décembre, 2001. Toxicité orale aiguë-Méthode par classe de toxicité aiguë.

Lister E, Wilson P. (2001). Measurement of Total Phenolics and ABTS Assay for Antioxidant Activity. Crop Research Institute, Lincoln, New Zealand.

Lograda T, Ramdani M, Chalard P, Figueredo G, Deghar A. (2014). Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Teucrium polium* L. Essential Oil from Eastern Algeria. American Journal of Advanced Drug Delivery 2 (6): 697-710

Lopes-Lutz D, Alviano D.S, Alviano C.S, Kolodziejczyk,P.P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. Phytochemistry 69 (8): 1732–1738.

López J.L, Rodríguez R, Cuerva J.M, J. Oltra E, Bazdi B, Dahdouh A, Lamarti A, Ibn Mansour A. (2005). Composition of the Essential Oils of *Cistus ladaniferus* and *C. monspeliensis* from Morocco, Journal of Essential Oil Research, 17(5): 553-555.

López V, Akerreta S, Casanova E, García-Mina J.M, Caverro R.Y, Calvo M.I. (2007). In Vitro Antioxidant and Anti-rhizopus Activities of Lamiaceae Herbal Extracts. Plant Foods Hum Nutr 62:151–155.

ℳ

- Mandic A.I, Dilas S.M, Cetkovic G.S, Canadanovic-Brunet JM, Tumbas V.T. (2008). Polyphenolic composition and antioxidant activities of grape seed extract. *International Journal of Food Properties* 11: 713–726.
- Mariotti JP, Tomi F, Casanova J, Costa J, Bernardini AF (1997) Composition of the essential oil of *Cistus ladaniferus* L. cultivated in Corsica (France). *Flavour Fragr. J.* 12: 147-151
- Marmouzi I , El Madani N, Charrouf Z, Cherrah Y, El Abbes Faouzi M.Y. (2015). Proximate analysis, fatty acids and mineral composition of processed Moroccan *Chenopodium quinoa* Willd. and antioxidant properties according to the polarity. *Phytothérapie* DOI 10.1007/s10298-015-0931-5
- Mastelić J, Jerković I, Blazević I, Poljak-Blazi M, Borović S, Ivančić-Baće I, Smrečki V, Zarković N, Brčić-Kostić K, Vikić-Topić D, Müller N. (2008). Comparative Study on the Antioxidant and Biological Activities of Carvacrol, Thymol, and Eugenol Derivatives. *J. Agric. Food Chem* 56 : 3989–3996
- Mazid M, Khan TA, Mohammad F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Review. *Biology and Medicine*, 3 (2) *Special Issue*: 232-249
- Mehdioui R, Kahouadji A (2007) Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Vie, 29: 11-20.
- Mejlholm O, Dalgaard P. (2002). Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology* 34: 27– 31.
- Mejri J, Abderrabba M, Mejri M. (2010). Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products* 32: 671–673
- Moghtader M. (2009). Chemical composition of the essential oil of *Teucrium polium* L. from Iran. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. sci* 5(6): 843-846
- Moldovan R.I, Oprean R, Benedec D, Hanganu D, Duma M, Oniga I, Vlase L. (2014). LC-MS analysis, antioxidant and antimicrobial activities for five species of *mentha* cultivated in Romania. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 9 (2): 559 – 566.
- Moreira I.C, Lago J.H.G, Young M.C.M, Roque N.F. (2003). Antifungal aromadendrane sesquiterpenoids from the leaves of *Xylopia brasiliensis*. *J. Braz. Chem. Soc.* 14:828–831
- Mourey A, Canillac N. (2002). Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control* 13 :289–292
- Mulyaningsih S, Sporer F, Reichling J, Wink M. (2011). Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical Biology* 49(9): 893–899
- Mulyaningsih S, Sporer F, Zimmermann S, Reichling J, Wink M. (2010). Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine* 17 : 1061–1066.
- Mytle N, Anderson G.L, Doyle M.P, Smith M.A. (2006). Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control* 17: 102–107.

N

Naghbi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S, Ghorbani A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian J. Pharmaceut.Res.*2: 63-79.

Novais MH, Santos I, Mendes S, Pinto-Gomes C (2004) Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *J. Ethnopharmacol.*93: 183-195.

.

O

Oumzil H, Ghouami S, Rhajaoui M, Ildrissi A, Fkih-Tetouani S, Faid M, Benjouad A. (2002). Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oils of *Mentha suaveolens*. *Phytotherapy research* 16:727-731

Oyaizu M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr* 44: 307–15

P

Pacifico S, D'Abrosca B, Scognamiglio M, D'Angelo G, Gallicchio M, Galasso S, Monaco P, Fiorentino A. (2012). NMR-based metabolic profiling and in vitro antioxidant and hepatotoxic assessment of partially purified fractions from Golden germander (*Teucrium polium* L.) methanolic extract. *Food Chemistry* 135: 1957–1967.

Paolini J, Falchi A, Quilichini Y, Desjobert J-M, De Cian M-C, Varesi L, Costa J(2009) Différenciation morphologique, chimique et génétique de deux sous-espèces de *Cistus creticus* L. (*C. creticus* subsp. *Eriocephalus* et *C. creticus* subsp. *Corsicus*). *Phytochemistry* 70 : 1146–1160.

Parada M, Carri E, Angels Bonet M, Vallès J (2009) Ethnobotany of the Alt Empordà region (Catalonia, Iberian Peninsula): Plants used in human traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*124(3): 609-618.

Pattnaik S, Subramanyam V.R, Bapaji M, Kole C.R. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essentials oils. *Microbios* 8:39–46.

Patwardhan B. (2005). Ethnopharmacology and drug discovery .*Journal of Ethnopharmacology* 100 (1-2): 50-52

Perez-Alonso M.J, Velasco-Negueruela A, Lopez-Saez J.A. (1993). The essential oils of two Iberian *Teucrium* species. *J. Essent. Oil Res* 5: 397- 402

Perry N.B, Anderson R.E, Brennan N.J, Douglas M.H, Heaney A.J, McGimpsey J.A, Smallfield B.M. (1999). Essential oils from Dalmation Sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons and sites. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2048-2054.

Petretto G.L, Fancello F, Zara S, Foddai M, Mangia N.P, Sanna M.L, Omer E.A, Menghini L, Chessa M, Pintore G. (2014). Antimicrobial Activity against Beneficial Microorganisms and Chemical Composition of Essential Oil of *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis* Grown in Sardinia. *Journal of Food Science* 79 (3): M369-M377.

Pietta P.G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042

Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne J.O. (2002). Nutrition et stress oxydant , Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* 16 : 233–239

Ponce A.G, Fritz R, del Valle C, Roura S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 36: 679–684

Prior R.L, Wu X, Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 53(10): 4290-4302

Q

Quezel P, Barbero M, Benabid A, Rivas-Martinez S. (1992). Contribution a l'etude des groupements forestiers et pre-forestiers du Maroc oriental. *Stvdia Botánica*10: 57-90.

Quezel P, Santa S. (1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions CNRS, Paris 7.

R

Radulović N, Blagojević P. (2012). Volatile secondary metabolites of *Micromeria dalmatica* 360 Benth. (Lamiaceae): biosynthetical and chemotaxonomical aspects. *Chemistry and Biodiversity*9: 1303-1319.

Ravi Kiran R.R.S, Bhavani K, Sita Devi P, Rajeswara Rao B.R, Janardhan Reddy J.K. (2006). Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Bioresour. Technol.* 97, 2481– 2484. *Rev Med Liege* (62) : 10 628-638

Rice-Evans C.A, Miller N.J, Paganga G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radic Biol Med* 20: 933–956.

Roy NK, Dureja P. (1998). New ecofriendly pesticides for integrated pest management. *Pest World* 3:16–21

Rustaiyan A, Mojab F, Masoudi S, Yari M. (1999). The composition of the essential oil of *Achillea tenuifolia* Lam. from Iran. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 18 (2) : 108–110.

S

Saad Alami Y (2015) Entre pauvreté et enclavement, Guercif rêve d'une seconde chance. *Leconomiste* N° 4566. <http://www.leconomiste.com/article/974082-entre-pauvrete-et-enclavement-guercif-reve-d-une-seconde-chance> "[accès 2016]".

Saddiq A.A, Khayyat S.A. (2010). Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: Citral. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 98:89–93

Sadeghi H, Jamalpoor S, Shirzadi M.H. (2014). Variability in essential oil of *Teucrium polium* L. of different latitudinal populations. *Industrial Crops and Products* 54 :130– 134

Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M, Adiguzel A, Kotan R.. (2002). Evaluation of antimicrobial activities *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 61–65.

Sánchez-Vioque R, Polissiou M, Astraka K, De los Mozos-Pascual M, Tarantilis P, Herraiz-Penalver D, Santana-Méridas O. (2013). Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Industrial Crops and Products* 49:150– 159.

Sandri I.G, Zacaria J, Fracaro F, Delamare A.P.L, Echeverrigaray S. (2007). Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chem*103:823–828

Santos-Buelga C, Scalbert A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds– nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1094-1117

Sarah S. N, Sijam K, Omar D. (2012). Antibacterial activity of *Psidium guajava* L. methanol leaf extract against plant pathogenic bacteria in the genera *Pectobacterium* and *Xanthomonas*. *Int. J. Appl. Biol. Pharmac. Technol* 3: 246-252.

Šarić-Kundalić B, Fialová S, Dobeš C, Ůlzant S, Tekel'ová D, Grančai D, Reznicek G, Saukel J. (2009). Multivariate numerical taxonomy of *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. *Sci. Pharm*77: 851–876.

Shahat A.A, Marzouk M.S. 13- Tannins and Related Compounds from Medicinal Plants of Africa. In : Kuete, V. (Ed.), *Medicinal Plant Research in Africa*. (2013). Elsevier, Oxford, 479-555

Shahidi F, Naczki M. (2004). *Food phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*. Lancaster, PA.

Sharififar F, Dehghani-Nudeh G, Mirtajadini M . (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L.. *Food Chemistry* 112 : 885–888.

Shyu Y-S, Lin J-T, Chang Y-T, Chiang C-J., Yang D-J. (2009). Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chemistry* 115: 515–521.

Simic N, Palic R, Vajs V, Milosavljevic S, Djokovic D. (2002). Composition and Antibacterial Activity of *Achillea asplenifolia* Essential Oil, *Journal of Essential Oil Research*, 14(1): 76-78,

Sofowora A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Académie suisse des sciences naturelles : Karthala.

Soualeh N, Soulimani R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie* 14:44-57

Stefkov G, Karapandzova M, Stefova M, Kulevanova S. (2009). Seasonal variation of flavonoids in *Teucrium polium* L. (*Lamiaceae*). *Macedonian pharmaceutical bulletin*, 55(1, 2) 33 - 40

Suleimenov Y.M, Atazhanova G.A, Ozek T, Demirci B, Kulyyasov A.T, Adekenov S.M, Baser K.H.C. (2001). Essential oil composition of three species of *Achillea* from Kazakhstan. *Chem. Nat. Compd.* 37 (5) : 447–450.

Sutour S, Bradesi P, De Rocca-Serra D, Casanova J, Tomi F. (2008). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis* (Req.) Greuter. *Flavour And Fragrance Journal* 23: 107–114

J

Tabanca N, Kırimer N, Demirci B, Demirci F, Can Baser K.H. (2001). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and the Enantiomeric Distribution of Borneol. *J. Agric. Food Chem.* 49:4300-4303

Tabuti JRS (2006) Traditional knowledge in Bulamogi County – Uganda: Importance to sustainable livelihoods. In “D. Millar et al. (ed.), African Knowledge and Sciences: Understanding and supporting the ways of knowing in Sub-Saharan Africa. CTA, Bolgatanga U/R Region, Ghana, CTA, p. 98-105.

Tahraoui A, El-Hilaly J, Israili Z.H, Lyoussi B. (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). Journal of Ethnopharmacology 110 : 105–117

Taleb-Toudert K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabélie (nord Algérien), évaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat en sciences biologiques . Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, Faculté des sciences biologiques et des sciences Agronomiques, département de biologie Animale et végétale.

Talibi I, Amkraz N, Askarne L, Msanda F, Saadi B, Boudyach E. H, Boubaker H, Bouizgarne B. Ait Ben Aoumar A. (2011). Antibacterial activity of Moroccan plants extracts against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of tomatoes' bacterial canker. Journal of Medicinal Plants Research 5(17) : 4332-4338

Tawaha K, Alali F.Q, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elmat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry 104: 1372–1378.

Teixeira B, Marques A, Ramos C, Batista I, Serrano C, Matos O, Neng N.R, Nogueira J.M.F, Saraiva J.A, Nunes M.L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. Industrial Crops and Products 36: 81–87.

Tepe B, Daferera, Sökmen D, Polissiou M, Sökmen M.A. (2004). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus eigi*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52 (5):1132–1137.

Tepe B, Degerli S, Arslan S, Malatyali E, Sarikurkcü C. (2011) Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. Fitoterapia 82: 237–246.

Touati D, Atta-ur R, Ulubelen A. (2000). Alkaloids from *Ruta montana*. Phytochemistry 53, 277-279

Tzakou O, Couladis M . (2001). The essential oil of *Micromeria graeca* (L.) Benth et Reichenb. growing in Greece. Flavour And Fragrance Journal 16: 107–109

✓

Ultee A, Smid E.J. (2001). Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. International Journal of Food Microbiology 64:373–378.

Ultee A. (2000). Bactericidal action of carvacrol towards the food pathogen *Bacillus cereus*. A Case Study of a Novel Approach to Mild Food Preservation. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 97 pp.

✓

Valdés B, Rejdali M, Achhal El kadmiri A, Jury JMSL, Montserrat M. (2002). Catalogue des plantes vasculaires du Nord du Maroc incluant des clés d'identification. Madrid. Editions CSIC.

Valverde R-M. (1991). El género *Micromeria benthami*(*labiatae*) en la península Ibérica e islas baleares, Anales Jardín Botánico de Madrid, 48(2) 131-156.

Velioglu Y.S, Mazza G, Gao L, Oomah B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 4113–4117.

Verdeguer M, M. Amparo Blazquez I, Herminio Boira. (2012). Chemical composition and herbicidal activity of the essential oil from a *Cistus ladanifer* L. population from Spain. Natural Product Research 26(17): 1602–1609.

Verma S, Singh SP. (2008) Current and future status of herbal medicines. *Veterinary World*, 1(11): 347-350.

Viljoen A, van Vuuren S, Ernst E, Klepser M, Demirci B, Baser H, van Wyk B-E. (2003). *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae)-the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. Journal of Ethnopharmacology 88 : 137–143

Vladimir-Knežević S , Blažeković B, Kindl M, Vladić J, Lower-Nedza A.D, and Brantner A.H. (2014). Acetylcholinesterase Inhibitory, Antioxidant and Phytochemical Properties of Selected Medicinal Plants of the *Lamiaceae* Family. *Molecules* 19:767-782. doi:10.3390/molecules19010767.

Voon H.C, Bhat R, Gulam R. (2012). Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11:34–55.

Vuko E, Dunkić V, Bezić N, Ruščić M, Kremer D. (2012) . Chemical composition and antiphytoviral activity of essential oil of *Micromeria graeca*. *Nat Prod Commun.* 7:1227–1230.

W

Wan J, Wilcock A, Coventry M.J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology* 84: 152–158.

Wansi J.D, Devkota K.P, Tshikalange E, Kuete V. 14- Alkaloids from the Medicinal Plants of Africa. In: Kuete, V. (Ed.), *Medicinal Plant Research in Africa*. (2013). Elsevier, Oxford 557

Wijekoon M.M.J.O, Bhat R, Karim A.A. (2011). Effect of extraction solvents on the phenolic compounds and antioxidant activities of bungakantan (*Etlingera elatior* Jack.) in florescence. *Journal of Food Composition and Analysis* 24: 615–619.

Wilkinson J.M, Hipwell M, Ryan T, Cavanagh H.M.A. (2003). Bioactivity of *Backhousia citriodora*: Antibacterial and antifungal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:76– 81.

Wu C, Chen F, Wang X, Kim H-J, He G-Q, Haley-Zitlin V, Huang G. (2006). Antioxidant constituents in feverfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification. *Food Chemistry* 96: 220–227

Y

Ybert E, De Laage de Meux A/Coordinateurs éditoriaux (2001) *Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparation, Soins*. Larousse/VUEF.

Yoshizawa S, Horiuchi T, Fujiki H. (1987). Antitumor Promoting Activity of (-)-Epigallocatechin Gallate, the ~ Main Constituent of “Tannin” in Green Tea. *Phytotherapy Research* 1 (1) 1987 44-47

Zidane H, Elmiz M, Aouinti F, Tahani A, Wathelet J, Sindic M, Elbachiri A. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts of *Cistus ladanifer* and *Cistus libanotis* growing in Eastern Morocco. *African Journal of Biotechnology*. 12 (34): 5314-5320

Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J. Ethnopharmacol.* 58 (1) : 45-54.

REFERENCES WEBBOGRAPHIQUES

ANP (Association Nature et Patrimoine) (2016) SIBE de Béni Snassen et grotte des Pigeons à Tafoughalt. http://www.naturepatrimoine.org/anap/files/Tafoughalt_Grotte+SIBE.pdf "[Accès, Octobre 2016]".

APDN (Agence Pour la Promotion et le Développement du Nord). Les Provinces du Nord. Province de Guercif. http://www.apdn.ma/index.php?option=com_content&view=article&id=116&Itemid=157&lang=fr "[Accès, Octobre 2016]".

BDPFA (Base de données des plantes d'Afrique). (2012)., Conservatoire et Jardin botaniques & South African National Biodiversity Institute, <https://www.villege.ch/musinfo/bd/cjb/afrique/resultat.php?efNom=ruta+montana&efFamille=&projet%5B%5D=FSA&projet%5B%5D=FTA&projet%5B%5D=FNA&projet%5B%5D=BDM&langue=fr&pbRecherche=Rechercher> [Accès, Janvier 2016]

DL/RJB/CSIC (Digital library, real jardin botanico, consejo superior de investigaciones científicas). (2017) [http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/F\(44\)COS_Fl_Descr_France_1/COS_Fl_Descr_France_1_362.pdf](http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/F(44)COS_Fl_Descr_France_1/COS_Fl_Descr_France_1_362.pdf) . [Accès, Janvier 2017]

Graciela Calderón de Rzedowski and Rzedowski J. (1994). Flora del valle de thhuacan-cuicatlan, fascículo 6, cistaceae, <http://www.ibiologia.unam.mx/BIBLIO68/fulltext/fasiculosfloras/fas6.pdf> [Accès, Janvier 2017]

Graciela Calderón de Rzedowski. (1992). Flora del bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 2, Cistaceae. <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/Flora%202.pdf> [Accès, Janvier 2017]

HF (Herbier France). (2017). Famille des *Rutaceae* (Rutacées). <http://herbierfrance.free.fr/descrifamilles/rutaceae.htm> [Accès, Janvier 2017]

INDH (2016) Initiative Nationale pour le Développement Humain. <http://guercif-indh.gov.ma/valeurs-et-principes-de-lindh/> "[accès, Mars 2016]".

NPC (Native plant of California). (2014) . *Lamiaceae* : the mint family : A fragrant family important for medicinal and culinary purposes . <http://www.nativeplants.org/wp-content/uploads/lamiaceae-of-the-world.pdf>

(TB, 2011a) (Tela-botanica, 2011a).. *Achillea odorata* L. <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-404-synthese>. [accès, December 2011]

(TB, 2011b) (Tela-botanica, 2011b).). *Teucrium polium* subsp. *polium* .<http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-67413-synthese>. [Accès, Décembre 2011]

TB (2017a) (Tela-botanica, 2017a).*Ruta montana* (L.) L. .<http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-58994-synthese>. [accès, Janvier 2017]

(TB, 2017b) (Tela-botanica, 2017b).*Mentha suaveolens* Ehrh. <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-42243-synthese>. [accès, Janvier 2017]

(TB, 2017c) (Tela-botanica, 2017b).*Micromeria graeca* (L.) Benth. ex Rchb. <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75442-synthese>. [accès, Mars 2017]

(TB, 2017d.) *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer*. <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-17996-synthese>. [accès, Janvier 2017]

UICN-Med (International Union for Conservation of Nature for Mediterranean/ Union Mondial pour la Nature (UICN)). A Guide to Medicinal Plants in North Africa. <http://www.uicnmed.org/nabp/database/HTM/PDF/p67.pdf>. [Accès, Février 2017].

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche questionnaire de la prospection ethnopharmacologique

FICHE D'ENQUÊTE

ZONE d'Enquête:

SEX: ☐ F ☐ M

AGE: ☐ A1<30 ☐ A2 [31-40] ☐ A3 [41-50] ☐ A4 [51-60] ☐ A5 >60

PLANTES UTILISEES (Nom Local):

- 1-
- 2-
- 3-
- 4-
- 5-
- 6-

INDICATION :

- 1-
- 2-
- 3-
- 4-
- 5-
- 6-

PARTIE UTILISEE

- 1-
- 2-
- 3-
- 4-
- 5-
- 6-

METHODE DE PREPARATION:

- 1-
- 2-
- 3-
- 4-
- 5-
- 6-

Annexe 2 : Composition chimique des milieux utilisés

Milieu Muller Hinton Agar : pour un litre

Infusion de viande bovine	02g
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Amidon soluble	1,5g
Agar	15,0g

Milieu Muller Hinton liquide : pour un litre

Infusion de viande bovine	02g
Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Amidon soluble	1,5g
Autoclaver 20 minutes à 115°C	

Milieu LPGA : pour un litre

Extrait de levure	05g
Peptone	05g
Glucose	10g
Agar	15-18g

Milieu LPG : pour un litre

Extrait de levure	05g
Peptone	05g
Glucose	10g

Solution d'eau physiologique 0,9% NaCl

NaCl	09g
Eau distillée	1000ml

Solution tampon PBS: pour un litre

NaCl	08g
KCl	0,2g
Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	1,13g
KH ₂ PO ₄	0,2g