



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALE

N°...../SNV/2016

THÈSE

Présentée par

BENMEDDOUR Tarek

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

THÈME

**Etude de l'activité biologique de quelques espèces végétales dans la
région des Aurès et au nord du Sahara algérien**

Soutenue publiquement le 08 / 12 /2016

DEVANT LE JURY

Président	Mme Saliha SERAICHE née DAHAMNA	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	Hocine LAOUER	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	Salah AKKAL	Pr. UMC Constantine
	Madani SARRI	MCA Univ. Msila
	Ziane LAIADI	MCA Univ. Biskra

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier le directeur de cette thèse, Mr. Hocine LAOUER, professeur à l'université de Sétif 1, pour m'avoir fait confiance malgré les connaissances plutôt légères que j'avais au départ sur le thème, puis pour m'avoir encouragé, conseillé, pendant presque six ans tout en me laissant une grande liberté pour la réalisation de ce travail.

Je remercie également les membres de jury :

-Mme Saliha SERAICHE née DAHAMNA, professeur à l'université de Sétif 1, pour avoir accepté de présider la soutenance de cette thèse.

Et,

- Mr. Salah AKKAL, professeur à l'université de Constantine 1, pour avoir accepté d'examiner cette thèse et pour sa contribution dans la publication de l'article,

- Mr Ziane LAIADI, maître de conférences à l'université de Biskra, et

- Mr Madani SARRI, maître de conférences à l'université de Msila pour avoir accepté d'examiner cette thèse

Je remercie mon frangin, Mr. Ali BENMEDDOUR, chercheur seigneur au centre national de recherche de Canada (CNRC).

*Je remercie Mr. Guido FLAMINI, Professeur au département de pharmacie, université de Pisa, Italie pour la réalisation des analyses GC/ GC-EIMS et pour sa contribution dans la publication de l'article sur *Launea lanifera*.*

Je remercie Mr. Norbert Kilian, chef du groupe de recherche Asterales, jardin botanique et musée botanique Berlin–Dahlem, Freie Universitaet Berlin, Allemagne et Mr. Matthias Erben, Université Ludwig-Maximilians de Munich, département de biologie I, botanique, systématique et mycologie, Menzinger, Allemagne pour l'identification des plantes.

Mes remerciements vont également à Mm. Patricia HAVELANGE, responsable du laboratoire de Mesures Physiques (LMP), Plateau technique de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), université de Montpellier pour m'avoir accueilli au sein de cette institution.

Je remercie Mr. Guillaume KAZALS, responsable de la nacelle spectrométrie de masse, pour ces efforts et pour le temps qui a sacrifié pour réaliser les analyses GC-MS des échantillons d'huiles essentielles.

Je remercie également tous les membres de ma petite et ma grande famille

Avant propos

Ce travail s'inscrit dans la valorisation des ressources biologiques naturelles. Dans l'objectif de trouver de nouvelles molécules naturelles bioactives pour remplacer les produits chimiques à impact négatif sur la santé et l'environnement, nous avons choisie de travailler sur les métabolites secondaires des végétaux.

Le travail a commencé en 2011, plusieurs espèces végétales ont été sélectionnées, plus de trente plantes (liste ci-dessous) sont recueillis pendant 4 saisons successives (2011, 2012, 2013 et 2014), les différentes régions de récolte sont distribuées dans la wilaya de Biskra et dans le sud des wilayas de Batna et Khenchla.

<i>Artemisia herba alba</i> (Djamourah w. Biskra, Tigharghar, T'kout et Ain Zaâtout (w. Batna) et Bouhmama (w. Khenchla)	<i>Juniperus phoenicea</i> (Djamourah, w. Biskra, Tigharghar et T'kout (w. Batna) et Bouhmama (w. Khenchla)
<i>Ailanthus altissima</i> (Batna, w. Batna)	<i>Launaea lanifera</i> (El Kattar, w. Biskra)
<i>Allium cepa</i> , <i>Allium fistulosum</i> et <i>Allium sativum</i> (Doucen, w. Biskra)	<i>Lavandula angustifolia</i> (El Kattar, w. Biskra)
<i>Ammi visnaga</i> (Biskra, Loutaya et Sidi Khelil, w. Biskra)	<i>Limonum bonduellei</i> (El Hadjeb, w. Biskra)
<i>Artemisia campestris</i> (T'kout, w. Batna)	<i>Mentha rotundifolia</i> (Djemourah, w. Biskra)
<i>Brocchia cineria</i> (Biskra, w. Biskra)	<i>Mentha spicata</i> (Zeribet El Oued, w. Biskra)
<i>Cistanche phelypaea</i> (Biskra, w. Biskra)	<i>Nerium oleander</i> (Ghassira, w. Batna)
<i>Citrus limonum</i> (Citron), <i>Citrus sinensis</i> (Orange douce) et <i>Citrus paradisis</i> (pamplemousse) (Doucen, w. Biskra)	<i>Ononis angustissima</i> (El Hadjeb, w. Biskra)
<i>Dittrichia viscosa</i> (Ghassira, w. Batna)	<i>Ononis natrix</i> (Ghassira, w. Batna)
<i>Euphorbia guyoniana</i> (Elhadjeb, w. Biskra)	<i>Peganum harmala</i> (Sidi Khilil, w. Biskra)
<i>Ferula communis</i> (El Hadjeb, w. Biskra)	<i>Pulicaria odora</i> (Biskra, w. Biskra)
<i>Haplophyllum tuberculatum</i> (Loutaya, w. Biskra)	<i>Santolina africana</i> (Djerma, w. Batna)
<i>Hertia cheirifolia</i> (Ain Yagout et T'kout, w. Batna)	<i>Teucrium pollium</i> (Biskra, w. Biskra)
	<i>Vitex agnus-castus</i> (Biskra, w. Biskra)

Plusieurs essais préliminaires ont été effectués, sur les différents extraits de ces plantes, surtout pour la détermination de l'activité biologique de leurs différents extraits (huiles essentielles, extraits aqueux et extraits alcooliques).

La deuxième étape du travail consiste à déterminer la composition chimique des huiles essentielles, les analyses ont été effectuées au niveau de Laboratoire de Département de Pharmacie, Université de Pisa, Italie et au niveau de Laboratoire de Mesures Physiques (LMP), Plateau technique de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Université de Montpellier, France.

Le travail à été accompagné par deux projets de recherche nationaux (CNEPRU)

- Etude des huiles essentielles de plantes aromatiques algériennes: composition chimique et activité biologique

- Biodiversité, conservation et valorisation des végétaux d'intérêt agronomique et médicale.

Pendant la préparation de cette étude, nous avons participé à des séminaires nationaux et internationaux et nous avons publié deux articles.

BENMEDDOUR Tarek. 2011. Effet Des Extraits De L'harmel (*Peganum harmala* L.), Le Laurier Rose (*Nerium oleander* L.) Et L'ailante (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swing.) Sur La Germination De Ganida (*Kochia scoparia* (L.) Schrad): Adventice Envahissante Des Nouvelles Plantations Du Palmier Dattier Dans La Wilaya De Biskra.

L'Atelier International sur : La connaissance, la Valorisation et la Gestion Durable des Ressources Naturelles dans les Zones Arides, université de Biskra 16-17 Novembre 2011.

BENMEDDOUR Tarek, LAOUER Hocine, ABDESSALAM Sara et CHAIBI Chourok. 2014. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Juniperus phoenicea* L. et *Artemisia herba alba* Asso., plantes montagnaises de la région de T'kout (w. de Batna) en Algérie.

Séminaire national sur «Etat des lieux, conservations et possibilités de valorisation des ressources biologiques dans l'Est algérien». 12 et 13/03/2014 Mila, Algérie.

BENMEDDOUR Tarek, AMRAOUI Khadija, ZAHRI Samiha. 2015. Allelopathic Activity of the Extracts of *Artemisia herba alba* Asso, *Juniperus phoenicea* L., *Vitex agnus-castus* L. and *Brochia cinerea* (Delile) Vis. On the Seed Germination of Some Weeds.

International Symposium on Genomics, Metagenomics, Plant Biotechnology, Environment And Health, Biskra, Algeria, 22 – 24 November, 2015

BENMEDDOUR Tarek, LAOUER Hocine, BENABDI Amira Afaf, BRAHIMI Safa. 2015. Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Activity of Extracts from Three Species of the Genus *Citrus*: *C. limonum*, *C. sinensis* and *C. paradisi* Grown In Algeria.

International Symposium on Genomics, Metagenomics, Plant Biotechnology, Environment And Health, Biskra, Algeria, 22 – 24 November, 2015

LAOUER H., BENMEDDOUR T., AMIRA S., AKKAL S. and FLAMINI G.. 2015. Chemical Composition of *Ononis naris* subsp. *angustissima* and *Euphorbia guyoniana* Essential Oils.

11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences-Ankara. June, 9-12, 2015, Ankara, Turkey

BENMEDDOUR, T., LAOUER, H., AKKAL, S., & FLAMINI, G. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Launaea lanifera* Pau grown in Algerian arid steppes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(11), 960-964.

BENMEDDOUR, T., LAOUER, H., BENABDI, A., & BRAHIMI, S. (2015). Evaluation of Antibacterial and Antifungal Activity of Extracts from Three Species of the Genus *Allium*: *A. cepa*, *fistulosum* and *sativum* Grown in Agricultural Area of Doussen (Wilaya of Biskra). *Courrier du savoir*, 19, 9-14.

Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iv
Introduction	1

Première Partie **Synthèse bibliographique**

Chapitre I **Les huiles essentielles**

I.1. Généralités sur les métabolites secondaires	5
I.2. Les huiles essentielles	6
I.2.1. Définitions	6
I.2.2. Applications	7
I.2.3. Propriétés	7
I.3. Les mécanismes de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	8
I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	10
I.4.1. Méthodes d'extraction par distillation	10
1.4.1.1. Extraction par hydrodistillation	10
1.4.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau	11
1.4.1.3. Hydro diffusion	11
1.4.1.4. Autres distillations spécialisées	11
A. Distillation Destructive	11
B. Cohobation	12
C. Rectification	12
D. Combinaison hydrodistillation – entraînement à la vapeur	12
E. Distillation fractionnée	12
I.4.2. Méthodes d'extraction par expression	13
1.4.2.1. Processus d'extraction à l'éponge	13
1.4.2.2. Scarification (Écuelle à piquer)	13
1.4.2.3. Machine à abrasion	13
I.4.3. Méthodes d'extraction par les solvants organiques	14
I.4.3.1. Macération	14

I.4.3.2.	Enfleurage	14
I.4.3.3.	l'extraction par fluides supercritiques	15
I.4.4.	Extraction avec des techniques innovantes	15
I.4.4.1.	Turbo distillation	15
I.4.4.2.	Extraction assistée par ultrasons	15
I.4.4.3.	Extraction assistée par micro-ondes	16
I.4.4.4.	Technologie de Détente Instantanée Contrôlée (DIC)	15
I.5.	Les stratégies de recherche dans le domaine des huiles essentielles	16

Chapitre II

Chimie des huiles essentielles

II.1.	Les principaux groupes des composés des huiles essentielles	18
II.1.1.	Les terpènes	18
II.1.1.1.	Biosynthèse des terpènes	18
II.1.1.2.	Les monoterpènes	19
II.1.1.3.	Les sesquiterpènes	19
II.1.1.4.	Les diterpènes	19
II.1.1.5.	Les norterpènes	19
II.1.2.	Les phénylpropanoïdes	20
II.1.2.1.	Biosynthèse des phénylpropanoïdes	20
II.1.2.2.	Les phénylpropanoïdes dans les huiles essentielles	20
II.1.3.	Les composés soufrés et azotés des huiles essentielles	20
II.2.	Les parfums floraux	20
II.3.	Relation des huiles essentielles avec les pigments et les parfums floraux	22

Chapitre III

Présentation des plantes étudiées

III.1.	<i>Cistanche phelypaea</i> (L.) P. Cout.	25
III.1.1.	Présentation du genre <i>Cistanche</i>	25
III.1.2.	Biologie et écologie	25
III.1.3.	Propriétés et utilisations	28
III.1.4.	Travaux antérieurs	28
III.2.	<i>Euphorbia guyoniana</i> Boiss. et Reut.	29

III.2.1.	Présentation du genre <i>Euphorbia</i>	30
III.2.2.	Biologie et écologie	30
III.2.3.	Propriétés et utilisation	30
III.2.4.	Travaux antérieurs	32
III.3.	<i>Launaea lanifera</i> Pau	35
III.3.1.	Présentation du genre <i>Launaea</i>	35
III.3.2.	Biologie et écologie	37
III.3.3.	Propriétés et utilisation	40
III.3.4.	Travaux antérieurs	40
III.4.	<i>Limonium bonduellei</i> (Lestib.) Kuntze	44
III.4.1.	Présentation du genre <i>Limonium</i>	44
III.4.2.	Biologie et écologie	45
III.4.3.	Propriétés et utilisations	47
III.4.4.	Travaux antérieurs	47
III.5.	<i>Ononis angustissima</i> Lam. subsp. <i>filifolia</i> Murb	50
III.5.1.	Présentation du genre <i>Ononis</i>	50
III.5.2.	Biologie et écologie	51
III.5.3.	Propriétés et utilisation	53
III.5.4.	Travaux antérieurs	53

Deuxième Partie
Partie expérimentale

Chapitre IV
Matériel et méthodes

IV.1.	Présentation de la région d'étude	56
IV.1.1.	La zone aride inférieure en Algérie	56
IV.1.2.	La région Nord de Sahara algérien	56
IV.2.	Préparation du matériel végétal	57
IV.2.1.	Récolte et identification	57
IV.2.1.1.	Récolte	57
IV.2.1.2.	Identification	61
IV.3.	Extraction des huiles essentielles	62

IV.4.	L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles	63
IV.4.1.	L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC)	63
IV.4.2.	L'analyse par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse par impact électronique (GC-EIMS)	63
IV.5.	Les tests de l'activité antibactérienne	64
IV.5.1.	Les souches bactériennes	64
IV.5.2.	Préparation des dilutions	65
IV.5.3.	Evaluation de l'effet antibactérien des huiles	65
IV.6.	Les tests de l'activité antifongique	66
IV.6.1.	Les espèces de moisissures	66
IV.6.1.1.	Isolement	67
IV.6.1.2.	Purification et identification	68
IV.6.2.	Les tests des huiles sur les moisissures	69
IV.6.2.1.	Préparation des dilutions	69
IV.6.2.2.	Ensemencement des boîtes	70
IV.6.2.3.	Evaluation de l'activité antifongique	71
IV.6.2.4.	Comparaison entre les effets des huiles	73
IV.7.	Analyse des données	73

Chapitre V

Résultats et discussions

V.1.	Analyse de la composition chimique des huiles essentielles	75
V.1.1.	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cistanche phelypaea</i> (L.) P. Cout.	75
V.1.2.	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Euphorbia guyoniana</i> Boiss. et Reut.	78
V.1.3.	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Launea lanifera</i> Pau.	81
V.1.4.	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Limonium bonduellei</i> (Lestib.) Kuntze	83
V.1.5.	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Ononis angustissima</i> Lam. subsp. <i>filifolia</i> Murb.	85
V.1.6.	Synthèse et discussion générale de la composition chimique	88
V.2.	Activité antibactérienne	92
V.2.1.	L'activité antibactérienne de chaque plante	92

V.2.1.1.	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Cistanche phelypaea</i>	92
V.2.1.2.	Activité antibactérienne des huiles essentielles d' <i>Euphorbia guyoniana</i>	93
V.2.1.3.	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Launaea lanifera</i>	94
V.2.1.4.	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Limonium bonduellei</i>	95
V.2.1.5.	Activité antibactérienne des huiles essentielles d' <i>Ononis angustissima</i>	96
V.2.2.	Comparaison entre les activités antibactériennes des cinq plantes	97
V.2.3.	Corrélation entre les composés chimiques et l'activité antibactérienne	100
V.2.4.	Synthèse et discussion générale de l'activité antibactérienne	101
V.3.	Activité antifongique	103
V.3.1.	Les espèces de moisissures identifiées	103
a.	<i>Aspergillus sp.</i> (Hyphomycètes)	103
b.	<i>Cladosporium sp.</i> (Hyphomycètes)	104
c.	<i>Fusarium sp.</i> (Hyphomycètes)	105
d.	<i>Rhizopus sp.</i> (Zygomycètes)	105
V.3.2.	Effets antifongiques des huiles sur chaque espèce de moisissures	106
V.3.2.1.	Après deux jours d'incubation	106
V.3.2.2.	Après quatre jours d'incubation	109
V.3.2.3.	Après cinq jours d'incubation	112
V.3.2.4.	Après 7 jours d'incubation (dernier jour)	116
V.3.3.	Comparaison entre les effets de chaque huile sur les espèces de champignons	119
V.3.3.1.	Effet de l'huile de <i>Cistanche phelypaea</i>	119
V.3.3.2.	Effet de l'huile d' <i>Euphorbia guyoniana</i>	121
V.3.3.3.	Effet de l'huile de <i>Launaea lanifera</i>	121
V.3.3.4.	Effet de l'huile de <i>Limonium bonduellei</i>	124
V.3.3.5.	Effet de l'huile d' <i>Ononis angustissima</i>	126
V.3.4.	Corrélation entre les composés chimiques et l'activité antifongique	128
V.3.5.	Synthèse et discussion générale de l'activité antifongique	131
	Conclusion	133
	Références	136
	Annexes	
	Publications	

Liste des abréviations

ATP	Adenosine triphosphate
ADP	Adenosine diphosphate
MS	Mass spectrometry (spectrométrie de masse)
DIC	Instantaneous Controlled Pressure Drop (Technologie de détente instantanée contrôlée)
HPLC	High-performance liquid chromatography (Chromatographie liquide à haute performance)
RMN	Résonance magnétique nucléaire (NMR : Nuclear Magnetic Resonance)
DAD	Diode-array detection (Détecteur à barrettes de diodes)
CCD	Carotenoid cleavage dioxygenase
GC	Gaz chromatography (chromatographie en phase gazeuse)
IC50	Inhibitory concentration of 50% (Concentration inhibitrice de 50%)
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DPPH	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl
HSV	Herpes simplex virus (le virus Herpes simplex)
H1N1	Hemagglutinin Type 1–Neuraminidase Type 1
LSP	<i>Limonium sinense</i> polysaccharides
HepG2	Human hepatocellular carcinoma cell line (lignée cellulaire de carcinome hépatocellulaire humain)
ATCC	American Type Culture Collection
FID	Flamme Ionization Detector (détecteur à ionisation de flamme)
LRI	Linear retention indices (indices de rétention linéaires)
EIMS	Electron impact mass spectrometry (spectrométrie de masse par impact électronique)
MH	Mueller-Hinton
DMSO	Diméthylsulfoxyde
PDA	Potato Dextrose Agar (gélose : pomme de terre-dextrose-agar)
PDB	Potato Dextrose Broth
ANOVA	Analysis of variance
<i>Ci ph</i>	<i>Cistanche phelypaea</i>
<i>Eu gu</i>	<i>Euphorbia guyoniana</i>
<i>La la</i>	<i>Launaea lanifera</i>
<i>Li bo</i>	<i>Limonium bonduellei</i>
<i>On an</i>	<i>Ononis angustissima</i>
SD	Standard deviation

Liste des tableaux

Tableau 1.	Les dilutions des huiles essentielles préparées pour les tests antibactériens	65
Tableau 2.	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cistanche phelypaea</i> (L.) P. Cout. recueillie dans la région de Biskra, Algérie	76
Tableau 3.	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Euphorbia guyoniana</i> Boiss. et Reut. recueillie dans la région de Choucha, Biskra, Algérie	79
Tableau 4.	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Launaea lanifera</i> Pau. recueillie dans la région d'El Kattar (steppes arides) située à l'Aurès, Algérie	82
Tableau 5.	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Limonium bonduellei</i> (Lestib.) Kuntze recueillie dans la région d'El Hajeb, Biskra, Algérie	84
Tableau 6.	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Ononis angustissima</i> Lam. subsp. <i>filifolia</i> Murb. recueillie dans la région de Biskra, Algérie	86
Tableau 7.	L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de croissance (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle de <i>Cistanche phelypaea</i> de la région de Biskra (Algérie).	92
Tableau 8.	L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle d' <i>Euphorbia guyoniana</i> de la région de Biskra (Algérie).	93
Tableau 9.	L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle de <i>Launaea lanifera</i> de la région des Aurès (Algérie).	95
Tableau 10.	L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle de <i>Limonium bonduellei</i> de la région de Biskra (Algérie).	95
Tableau 11.	L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des	97

zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle d'*Ononis angustissima* de la région de Biskra (Algérie).

- Tableau 12.** L'activité antibactérienne, exprimée en surfaces (mm²) des zones d'inhibition de croissance, des différentes dilutions des huiles essentielles des plantes *Cistanche phelypaea* (*Co ph*), *Euphorbia guyoniana* (*Eu gu*), *Launaea lanifera* (*La la*), *Limonium bonduellei* (*Li bo*) et *Ononis angustissima* (*On an*). **98**
- Tableau 13.** Coefficients de corrélations linéaires entre les classes chimiques et l'activité antibactérienne des huiles essentielles (à la dilution 1/2) sur les 4 souches testées (n=5) **100**
- Tableau 14.** Coefficients de corrélations linéaires entre les classes chimiques et l'activité antifongique des huiles essentielles sur les 4 champignons (n=5) **129**

Liste des figures

Figure 1.	Les principales voies de biosynthèse des composés volatiles dans les plantes	22
Figure 2.	Illustration de <i>Cistanche phelypaea</i> (L.) P. Cout.	27
Figure 3.	Illustration d' <i>Euphorbia guyoniana</i> Boiss. et Reut.	31
Figure 4.	Holotype de <i>Launaea lanifera</i> Pau (Kilian, 1997)	38
Figure 5.	Carte de distribution de <i>Launaea lanifera</i> Pau	39
Figure 6.	Illustration de <i>Limonium bonduellei</i> (Lestib.) Kuntze	46
Figure 7.	Illustration d' <i>Ononis angustissima</i> Lam. subsp. <i>filifolia</i> Murb.	51
Figure 8.	Distribution d' <i>Ononis angustissima</i> subsp. <i>filifolia</i>	52
Figure 9.	Divisions phytogéographiques de l'Afrique méditerranéenne et l'Afrique subsaharienne	56
Figure 10.	Images satellites montre les 4 localités des plantes recueillies	57
Figure 11.	Photos de <i>Cistanche phelypaea</i> (L.) P. Cout. dans la région de Biskra (Algérie)	59
Figure 12.	Photos d' <i>Euphorbia guyoniana</i> Boiss. et Reut. dans la région d'El Hadjeb, Biskra (Algérie)	59
Figure 13.	Photos de <i>Launaea lanifera</i> Pau dans la région d'El Kettar, Biskra (Algérie)	60
Figure 14.	Photos de <i>Limonium bonduellei</i> (Lestib.) Kuntze dans la région d'El Hadjeb, Biskra (Algérie)	60
Figure 15.	Photos d' <i>Ononis angustissima</i> Lam. subsp. <i>filifolia</i> Murb. dans la région d'El Hajeb, Biskra (Algérie)	61
Figure 16.	Les colonies des moisissures isolées, observées après 7 jours d'incubation à 28°C	67
Figure 17.	Mesure numérique des zones de la surface de la zone de croissance du mycélium d' <i>Aspergillus sp.</i> (cas de colonies multiples)	72

Figure 18.	Mesure numérique des zones de la surface de la zone de croissance du mycélium de <i>Fusarium sp.</i> (cas d'une colonie unique)	72
Figure 19.	Les classes chimiques identifiées dans les huiles essentielles des plantes <i>Cistanche phelypaea</i> , <i>Euphorbia guyoniana</i> , <i>Launaea lanifera</i> , <i>Limonium bonduellei</i> et <i>Ononis angustissima</i> par GC/GC–EIMS	89
Figure 20.	Courbe de corrélation linéaire entre la contenance en sesquiterpènes oxygénés et l'activité des 5 huiles sur la souche <i>E. coli</i> ATCC 25922	101
Figure 21.	L'espèce <i>Aspergillus sp.</i>	104
Figure 22.	L'espèce <i>Cladosporium sp.</i>	104
Figure 23.	L'espèce <i>Fusarium sp.</i>	105
Figure 24.	L'espèce <i>Rhizopus sp.</i>	105
Figure 25.	Taux de croissances d' <i>Aspergillus sp.</i> après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	107
Figure 26.	Taux de croissances de <i>Cladosporium sp.</i> après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	107
Figure 27.	Taux de croissances de <i>Fusarium sp.</i> après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	108
Figure 28.	Taux de croissances de <i>Rhizopus sp.</i> après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	109
Figure 29.	Taux de croissances d' <i>Aspergillus sp.</i> après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	110
Figure 30.	Taux de croissances de <i>Cladosporium sp.</i> après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	111
Figure 31.	Taux de croissances de <i>Fusarium sp.</i> après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	111
Figure 32.	Taux de croissances de <i>Rhizopus sp.</i> après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes	112
Figure 33.	Taux de croissances d' <i>Aspergillus sp.</i> après 5 jours de traitement par les	113

deux dilutions des huiles des cinq plantes

- Figure 34.** Taux de croissances de *Cladosporium sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 114
- Figure 35.** Taux de croissances de *Fusarium sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 115
- Figure 36.** Taux de croissances de *Rhizopus sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 115
- Figure 37.** Taux de croissances d'*Aspergillus sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 116
- Figure 38.** Taux de croissances de *Cladosporium sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 117
- Figure 39.** Taux de croissances de *Fusarium sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 118
- Figure 40.** Taux de croissances de *Rhizopus sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes 118
- Figure 41.** Effets de l'huile de *Cistanche phelypaea* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* 120
- Figure 42.** Effets de l'huile d'*Euphorbia guyoniana* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* 122
- Figure 43.** Effets de l'huile de *Launaea lanifera* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* 123
- Figure 44.** Effets de l'huile de *Limonium bonduellei* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* 125
- Figure 45.** Effets de l'huile d'*Ononis angustissima* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* 127

Résumé :

L'objectif du présent travail est d'étudier la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles de quatre plantes à fleurs, endémiques du Nord d'Afrique, à savoir *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. ; *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb ; *Launaea lanifera* Pau ; *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze et une plante parasite (*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.). L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles est réalisée par une méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse par impact électronique (GC et GC-EIMS). Tandis que, l'activité antimicrobienne est réalisée par le test de diffusion en gélose pour 4 souches bactériennes et quatre champignons. Les résultats montrent que toutes les plantes ont été pauvres en huiles essentielles (rendements très faibles). L'analyse des huiles a permis l'identification de plus de 91% des composés volatiles. Cette analyse a montré que les huiles sont riches en apocaroténoïdes, qui sont issus du métabolisme des caroténoïdes, avec des pourcentages allant de 15.2% jusqu'à 60.1% à l'exception de l'huile de *Cistanche phelypaea* (1.6%). Les composés majeurs de ces apocaroténoïdes varient, selon le nombre du carbone, de C11 (dihydroactinidiolide) à C18 (hexahydro farnésyl acétone). Cette ressemblance peut être expliquée par la couleur des fleurs, toutes les plantes possèdent des fleurs jaunes. Les apocaroténoïdes trouvés à des taux élevés sont des dérivés des caroténoïdes responsables de la coloration jaune des fleurs. L'effet antibactérien des huiles essentielles est généralement faible, en particulier celui de *Launaea lanifera*. L'huile essentielle de la plante parasite *Cistanche phelypaea* est la seule qui possède une activité sur les 4 souches bactériennes testées, *Escherichia coli* est la bactérie la plus sensible. Pour l'activité antifongique, nous avons constaté que l'inhibition de la croissance des mycéliums est élevée aux premiers jours du développement sur la gélose. Les huiles à faible dilution possèdent un pouvoir inhibiteur élevé par rapport à la dilution forte. Parmi les quatre moisissures étudiées dans ce travail, les espèces *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* ont été les plus sensibles à l'effet des huiles alors que l'espèce *Aspergillus sp.* a été la plus résistante.

Mots clé

Euphorbia guyoniana, *Ononis angustissima*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei*, *Cistanche phelypaea*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

The objective of this work is to evaluate the chemical composition and biological activity of essential oils of four flowering endemic plants to North Africa, namely *Euphorbia guyoniana* Boiss. and Reut. ; *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb; *Launaea lanifera* Pau; *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze and a parasitic plant (*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.). Chemical composition of essential oils was evaluated by gas chromatography-flame ionization detector and gas chromatography coupled to electron impact mass spectrometry (GC and GC-EIMS). While, the antimicrobial activity is tested by the agar diffusion method on 4 bacterial strains and four fungi. The results show that all the plants were poor in essential oils (very low yields). The analysis of oils has allowed the identification of more than 91% of volatile compounds. This analysis showed that the oils are rich in apocarotenoids, which are carotenoid breakdown products, with percentages ranging from 15.2% to 60.1% with the exception of *Cistanche phelypaea* oil (1.6%). The major components of these apocarotenoids vary depending on the number of carbon, from C11 (dihydroactinidiolide) to C18 (hexahydro farnesyl acetone). This similarity can be explained by the color of flowers, all plants are yellow flowered. The apocarotenoids found at high levels are derivatives of carotenoids, which are mostly responsible for yellow floral pigmentation. The antibacterial effect of essential oils is generally low, especially that of *Launaea lanifera*. The essential oil of the parasitic plant *Cistanche phelypaea* is the only one that possess activity on four bacterial strains tested, *Escherichia coli* is the most sensitive bacteria. Regarding the antifungal activity, it was found that the inhibition of mycelia growth is high in the early days of development on agar. Low oils dilution have a high inhibitory effect with respect to the high dilution. Of the four molds studied in this work, *Fusarium sp.* species and *Rhizopus sp.* were the most sensitive to the effect of oils while the species *Aspergillus sp.* was the most resistant.

Keywords

Euphorbia guyoniana, *Ononis angustissima*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei*, *Cistanche phelypaea*, essential oil antibacterial activity, antifungal activity

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد التركيب الكيميائي واختبار النشاط البيولوجي للزيوت الأساسية المستخلصة من أربعة أنواع من النباتات المزهرة المستوطنة في شمال أفريقيا، وهي :

Euphorbia guyoniana Boiss. Reut. ; *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb; *Launaea lanifera* Pau; *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze
(*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.) ونبات متطفل

لتحليل التركيب الكيميائي للزيوت استعملت طريقة

Gas chromatography-flame ionization detector and gas chromatography coupled to electron impact mass spectrometry (GC and GC-EIMS)

أما اختبار النشاط الحيوي فقد تم بواسطة طريقة الانتشار في وسط مغذي صلب، تم تجريب الزيوت على أربع سلالات من البكتيريا وأربع أنواع من الفطريات. أظهرت النتائج أن جميع النباتات تحتوي على كميات ضئيلة جدا من الزيوت الأساسية (عوائد منخفضة جدا).

سمح تحليل الزيوت كيميائيا بتحديد مركبات بنسبة تفوق 91 % من إجمالي المواد الطيارة. وأظهر هذا التحليل أن معظم الزيوت غنية بمركبات apocarotenoids ، التي تعتبر من نواتج أيض الكاروتينات ، بنسب تتراوح بين 15.2% إلى 60.1% باستثناء النبات الطفيلي *Cistanche phelypaea* الذي أعطى نسبة 1.6 % ، المكونات الرئيسية لهذه apocarotenoids تختلف تبعا لعدد ذرات الكربون ، من C11 بالنسبة لـ dihydroactinidiolide إلى C18 بالنسبة لـ hexahydro farnesyl acetone ، هذا التشابه يمكن تفسيره بلون الأزهار ، فجميع النباتات أزهارها صفراء ، كما أن apocarotenoids التي عثر عليها بمستويات عالية هي من مشتقات الكاروتينات المسؤولة عن اللون الأصفر في الأزهار .

كان التأثير المضاد للجراثيم بالزيوت الأساسية منخفض عموما ، خصوصا زيت *Launaea lanifera*. النبات الطفيلي *Cistanche phelypaea* هو الوحيد الذي أعطى نشاط مضاد على السلالات البكتيرية الأربعة التي تم اختبارها، *Escherichia coli* هي البكتيريا الأكثر حساسية .

بالنسبة لنتيجة اختبار النشاط المضاد للفطريات، وجد أن تثبيط نموها كان عاليا في الأيام الأولى من تطورها في الوسط المغذي. الزيوت منخفضة التخفيف لها القدرة الأكبر على التثبيط والعكس بالنسبة للتخفيف العالي. من بين أنواع العفن الأربعة المدروسة في هذا العمل، *Fusarium sp.* و *Rhizopus sp.* كانت هي الأكثر حساسية لتأثير الزيوت في حين وجد أن نوع *Aspergillus sp.* كان الأكثر مقاومة.

الكلمات الدلالية

Euphorbia guyoniana, *Ononis angustissima*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei*, *Cistanche phelypaea*, essential oil antibacterial activity, antifungal activity.

Introduction

Les plantes synthétisent des milliers de métabolites pour leur croissance, développement, reproduction, défense et leur survie dans des environnements souvent difficiles et changeables. Tout commence par la fixation photosynthétique du carbone (Cseke *et al.*, 2006).

La synthèse des différents métabolites s'effectue le long des voies métaboliques qui se produisent dans un ou plusieurs compartiments cellulaires (les parois cellulaires, les systèmes membranaires, le cytosol et divers organites cellulaires) et dans les tissus souvent spécialisés (Seigler, 2006). La plupart des métabolites produits par ces voies ne quittent pas la plante, mais occasionnellement, quelques composés peuvent être libérés, certains attirent et d'autres repoussent, et sont à la base d'un type complexe de communications entre les plantes et les animaux (Schaefer & Ruxton, 2011).

Tout au long de l'histoire, les huiles essentielles ont été considérées avec beaucoup d'intérêt et l'homme a réalisé l'extraction à partir des plantes aromatiques depuis l'aube de l'humanité. Les applications d'huiles essentielles à des fins différentes sont variées et comprennent non seulement leur utilisation en cuisine pour améliorer le goût et la santé, mais aussi leur application dans la fabrication de parfums et de produits cosmétiques (Ríos, 2015).

L'Algérie, le plus grand pays du pourtour méditerranéen, est caractérisé par une grande diversité géographique constituée de zones côtières, des zones montagneuses, des hautes plaines steppiques et d'un grand Sahara. A ces ensembles géographiques naturels correspondent des bioclimats variés et des ressources phytogénétiques importantes. La flore algérienne compte, selon Quézel et Santa (1962-1963), plus de 3000 espèces naturelles avec un taux d'endémisme qui dépasse 8%.

Plusieurs espèces sont d'important intérêt économique et nécessitent d'être valorisées pour leurs propriétés nutritionnelles, thérapeutiques et cosmétiques. Les plantes nous offrent des milliers de nouveaux composés qui nous donnent des parfums, des arômes, des colorants, des fibres, des aliments, des boissons, des matériaux de construction, des chélateurs de métaux lourds (importants dans la biorestauration), des biocides et des régulateurs de croissance des plantes.

La plupart des produits naturels dans les plantes ont une valeur médicinale, il existe de nombreux composés pharmaceutiques dont les dérivés d'origine étaient d'origine végétale.

Soixante dix pour cent des populations des pays non développés ou en voie de développement sont les pratiquants principaux de la médecine traditionnelle et la pharmacopée. En Afrique, la médecine traditionnelle est pratiquée par plus de 80% des populations des régions rurales (Abayomi, 2010). Les habitants des villes, même dans les pays développés, pratiquent ce type de thérapie pour se rapprocher de tout ce qui est naturel.

Malheureusement l'utilisation des plantes médicinales en Algérie, même si elle est un peu modernisée, reste basée sur les traditions populaires et nécessite des améliorations surtout du point de vue scientifique.

Nous avons constaté, il y a plus d'une dizaine d'années, qu'un nombre important de produits importés est disponible sur les marchés algériens, ces produits sont accompagnés par des publicités diffusées par plusieurs chaînes télévisées et d'autres médias. L'augmentation du nombre de ces produits à remplacer progressivement les plantes locales habituellement utilisées.

Il y a un manque général de connaissances et beaucoup d'insuffisances au sujet des produits naturels dans les plantes de l'Algérie et leurs utilisations par les gens.

La valorisation des plantes doit être basée sur des résultats de recherches scientifiques concernant la composition chimique, la toxicité, la valeur nutritionnelle et d'autres caractéristiques.

Dans l'absence des études approfondies sur ces produits, surtout sur leurs compositions chimiques, les risques liés à la consommation de ces produits sont très considérables.

Cette recherche s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources végétales algériennes. Dans ce travail nous avons choisi de travailler sur les extraits naturels.

Notre objectif principal est la détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quelques plantes à fleurs des régions arides et semi arides dans l'est algérien. Nous visons aussi la valorisation de ces extraits pour mettre en évidence l'existence de substances chimiques qui peuvent posséder une activité biologique. Pour cela, nous avons testé

l'activité antimicrobienne de ces huiles sur quelques souches bactériennes pathogènes pour l'homme et sur quelques espèces fongiques contaminants des laboratoires de microbiologie.

Cinq plantes ont été choisies pour la réalisation de cette étude, quatre sont endémiques du nord d'Afrique :

- Une plantes des sables désertiques : *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut.,
- Une halophytes des régions arides : *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze,
- Une plante des steppes arides : *Launaea lanifera* Pau,
- Une plante endémique algéro-tunisienne : *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia*

Murb

- La cinquième espèce est une plante parasite des chénopodiacées halophytes, c'est *Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.

Nous avons constaté que peu de recherches ont été effectuées sur les extraits de ces plantes. Ceci a constitué la base principale du choix de ces espèces végétales. Le choix a été basé aussi sur la région de distribution de ces plantes (aride et semi aride). Ces cinq espèces végétales appartiennent à des familles différentes, le seul caractère en commun est la couleur jaune de leurs fleurs.

Cette thèse est structurée en 5 chapitres, trois chapitres dans la partie synthèse bibliographique et deux chapitres dans la partie expérimentale.

Le premier chapitre comporte des notions sur les métabolites secondaires des végétaux, les huiles essentielles et leurs méthodes d'extraction, les mécanismes de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et les stratégies de recherche dans ce domaine. Le deuxième chapitre est dédié à la chimie des huiles essentielles et aux parfums floraux. Les informations et les travaux antérieurs sur les cinq plantes étudiées sont présentés dans le troisième chapitre.

Dans la partie expérimentale, le chapitre matériel et méthode comporte un petit aperçu sur la zone aride en Algérie, la préparation du matériel végétale, les souches bactériennes utilisées, la purification et l'identification des espèces fongiques isolées, les méthodes suivies pour

l'extraction, l'identification de la composition chimique et les différents tests de l'activité antimicrobienne.

Les résultats sont présentés et discutés dans le dernier chapitre : la composition chimique de chaque plante, l'activité antimicrobienne sur chaque souche de bactérie et sur chaque espèce de moisissures y compris une analyse statistique, ainsi que des comparaisons entre les effets de chaque plante sur les différentes souches.

Première Partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Les huiles essentielles

I.1. Généralités sur les métabolites secondaires

Les produits naturels sont des composés organiques qui sont formés par les systèmes vivants. L'élucidation de leurs structures et leur chimie, la synthèse et la biosynthèse sont des domaines majeurs de la chimie organique et la biologie végétale.

Les domaines "Pharmacognosie" et "chimie des produits naturels" ont développé de façon concomitante, les deux ont co-évolué comme disciplines distinctes et sont aussi bien étroitement liées (Harborne, 1976). Les deux disciplines englobent d'énormes variétés de molécules d'origine naturelle qui sont synthétisées et accumulées par les plantes ou les organismes vivants et traitent principalement les structures chimiques de ces entités organiques, leur distribution naturelle, leur biosynthèse, leur métabolisme et leurs fonctions biologiques ou bioactivités (Mandal *et al.*, 2015).

Les composés d'origine naturelle peuvent être divisés en trois grandes catégories. Tout d'abord, il existe des composés qui se produisent dans toutes les cellules et jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules. Ces composés comprennent les acides nucléiques et les acides aminés et les sucres communs. Ils sont connus sous forme de métabolites primaires (Hanson, 2003). Le processus de synthèse de ces composés de plantes qui sont tous essentiels pour leur vie est généralement appelé métabolisme primaire (Mandal *et al.*, 2015).

En second lieu, il y a les molécules à haut poids moléculaire tels que les polymères de cellulose, des lignines et des protéines qui forment les structures cellulaires (Voet & Voet, 2005).

Enfin, il existe des composés qui sont caractéristiques des végétaux. Ce sont les métabolites secondaires (Hanson, 2003). Ces composés sont généralement bioactifs.

La plupart des métabolites primaires exercent leur effet biologique dans la cellule ou dans l'organisme qui est responsable de leur production. Les métabolites secondaires, d'autre part, ont souvent suscité l'intérêt en raison de leur effet biologique sur d'autres organismes (Mandal *et al.*, 2015).

Les plantes produisent une vaste gamme de métabolites secondaires. Ces composés ont d'importantes fonctions écologiques, offrant une protection contre les attaques par les herbivores et les microbes et servent comme appâts pour les pollinisateurs et les agents qui aident à la

dispersion des semences (Osbourn & Lanzotti, 2009). Ils peuvent également contribuer à la concurrence et au caractère invasif de la plante en supprimant la croissance des espèces végétales voisines, c'est un phénomène connu sous le nom d'allélopathie (Inderjit, 2001).

L'homme exploite des produits naturels comme sources de médicaments, des agents aromatisants, des parfums et pour un large éventail d'applications. Des progrès rapides ont été réalisés dans la compréhension des produits naturels, leur synthèse, fonctions et l'évolution de leur diversité métabolique. Il est opportun de bénéficier de ces informations ainsi que des progrès dans la chimie, la biologie végétale, l'écologie, l'agronomie et la santé humaine pour établir un guide complet de produits naturels d'origine végétale (Osbourn & Lanzotti, 2009).

I.2. Les huiles essentielles

I.2.1. Définitions

Les huiles essentielles sont des liquides aromatiques et volatils obtenus à partir de matières végétales, y compris les fleurs, racines, écorces, feuilles, graines, fruits, bois et des plantes entières (Hyldgaard *et al.*, 2012).

Les huiles essentielles sont également appelées huiles aromatiques, huiles volatiles, huiles végétales ou aetheroleum (Hammer & Carson, 2011).

Le terme huiles essentielles ou volatiles est défini par Parry (1922) comme des corps odoriférants de nature huileuse obtenus exclusivement à partir de sources végétales, généralement liquides (parfois semi-solides ou solides) à des températures ordinaires, et volatiles sans décomposition. Cette définition peut, selon Kaloustian & Hadji-Minaglou (2013), avoir des exceptions, beaucoup d'huiles essentielles, par exemple, sont partiellement auto décomposées lorsque elles sont distillées.

Les huiles essentielles sont des substances hautement volatiles isolées d'une plante odoriférante d'une seule espèce botanique par une méthode ou un processus physique. L'huile porte le nom de l'espèce de plante à partir de laquelle elle est dérivée, Ces huiles sont appelées essentielles car ils ont été pensées pour représenter l'essence même de l'odeur et de la saveur (Linskens & Jackson, 1991).

La pharmacognosie fournit l'outil pour identifier, sélectionner et traiter des produits naturels destinés à de différents usages thérapeutiques (Harborne, 1976). La pharmacognosie peut être divisée, d'après Mandal *et al.* (2015), pour couvrir les champs suivants:

- L'ethnobotanique médicale : qui s'intéresse à la compréhension et l'étude des utilisations traditionnelles des plantes à des fins médicinales.
- L'ethnopharmacologie : qui étudie l'efficacité des qualités de plantes traditionnellement utilisées et des substances médicinales qui en découlent.
- La phytothérapie : c'est une partie qui s'occupe de l'utilisation de mélanges bruts ou semi purs d'extraits à usage médicinal. Elle est parfois considérée comme une médecine alternative.
- La zoopharmacognosy : elle traite l'auto-médication des animaux (non humains) en sélectionnant et en utilisant des parties de plantes, des sols et des insectes pour traiter et prévenir les maladies.
- La pharmacognosie marine : qui étudie les produits chimiques dérivés d'organismes marins.

I.2.2. Applications

Les applications des huiles essentielles à des fins différentes sont variées et comprennent non seulement leur utilisation en cuisine pour améliorer le goût des aliments, mais aussi leur application dans la fabrication de parfums et des produits cosmétiques (Ríos, 2015).

I-2-3- Propriétés

Les huiles essentielles sont souvent caractérisées par un fort parfum (Bakkali, 2008). Elles sont différentes du point de vue composition, cependant, elles présentent certaines propriétés physiques en commun (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2013) :

Elles ont une faible solubilité dans l'eau mais elles sont solubles dans les graisses, l'alcool, les solvants organiques et les autres substances hydrophobes ;

Elles sont généralement liquides à des températures ambiantes internes (de chambre) ;

Elles sont toutes volatiles et entraînable à la vapeur d'eau ;

Elles présentent des couleurs variées, avec une dominance de jaune et ces nuances ;

Leur densité est généralement inférieure à 1 ;

Elles sont peut solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur ;

Elles sont oxydables et nécessitent des conditions de conservation particulières.

Les huiles essentielles ne constituent qu'une faible proportion du poids humide de la matière végétale, le plus souvent moins de 1% (Langenheim, 1994 ; Pengelly, 2004).

La présence, le rendement et la composition des huiles essentielles peuvent être influencés par de nombreux facteurs, y compris le climat, la nutrition des plantes et le stress (Hammer & Carson, 2011).

Dans la production commerciale des huiles essentielles, les programmes de sélection et de production sont souvent incités à améliorer les rendements et favoriser les compositions souhaitées (Figueiredo *et al.*, 2008).

I.3. Les mécanismes de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Alors que les spectres de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sont de plus en plus caractérisés, les moyens par lesquels elles exercent leur activité restent encore mal connus.

Pendant de nombreuses années, les mécanismes précis par lesquels les micro-organismes ont été inhibés (effet bactériostatique) et / ou tués (effet bactéricide) restaient peu claire et ont été attribués en grande partie à des effets non spécifiés sur les membranes ou les enveloppes microbiennes. Un grand nombre des effets précis des huiles essentielles et leurs composants sur les micro-organismes décrits impliquent des interactions avec les membranes biologiques (Thormar, 2011).

Le processus de l'effet des huiles essentielles dépend initialement de la nature chimique et des caractéristiques physico chimiques des substances bioactives, en particulier leur propriété hydrophobe. Cette propriété permet à la molécule de pénétrer la barrière de la membrane plasmique (la bicouche phospholipidique) des cellules microbiennes.

Une fois la substance pénètre la membrane, elle peut induire des changements de la conformation structurale, et peut donc perturber l'équilibre chimiosmotique par une fuite d'ions (K⁺) (Cox *et al.*, 2000).

Cependant, de nombreux effets variés et spécifiques ont été décrits. Par exemple, dans les bactéries, il a été démontré que le carvacrol provoque l'effondrement de la force proton-motrice et l'appauvrissement de l'ATP (adénosine triphosphate), conduisant à la mort (Ultee *et al.*, 2003) tandis que l'huile de *Mentha alternifolia* et son principal composant terpinène-4-ol augmentent la perméabilité membranaire aux ions potassium en causant des lésions membranaires irréversibles (Cox *et al.*, 2000).

Certains composés phénoliques entrent en interférence avec les enzymes membranaires des micro-organismes comme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons prévenant donc la phosphorylation de l'ADP (adénosine diphosphate) (Ultee *et al.*, 2003).

Pour d'autres composés comme le phénylpropanoïdes et le cinnamaldéhyde, ils peuvent interférer avec des protéines de la division bactérienne, empêchant ainsi la division cellulaire (Cox *et al.*, 2000).

Il a été démontré également que le carvacrol inhibe la synthèse de la flagelline, la protéine majeure des flagelles qui sont responsables de la motilité chez les bactéries (Burt *et al.*, 2007).

Des effets spécifiques sur les facteurs de virulence bactérienne, qui sont les produits par lesquels les bactéries établissent l'infection et produisent une maladie, ont également été identifiés. Un exemple de cinnamaldéhyde qui interfère avec la détection du quorum sensing, le processus de communication et de signalisation chez les bactéries (Brackman *et al.*, 2008).

L'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* inhibe l'activité de la protéase extracellulaire et l'expression des lipopolysaccharides de la paroi cellulaire (Iwalokun *et al.*, 2003); l'eugénol inhibe la production de la listeriolysine O (Filgueira *et al.*, 2006); et l'huile essentielle de *Mentha piperita* réduit les niveaux de l'entérotoxine staphylococcique B (Tassou *et al.*, 2000).

Chez les champignons aussi, des effets spécifiques sur l'intégrité des cellules fongiques la viabilité ou la virulence de l'espèce ont été mises en évidence (Hammer & Carson, 2011).

I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont stockées dans des cellules végétales spécialisées, généralement des conduites de résine, des glandes ou trichomes (poils glandulaires) (Pengelly, 2004), et peuvent être extraites à partir des différentes parties de la plantes par une variété de méthodes, y compris l'extraction par les solvants organiques, les fluides en phase supercritique, l'expression sous pression, la fermentation ou l'enfleurage sous faible ou haute pression (Bakkali, 2008). L'entraînement à la vapeur d'eau ou l'hydro-distillation sont utilisés principalement pour la production commerciale (Burt, 2004 ; Lahlou, 2004).

I.4.1. Méthodes d'extraction par distillation

1.4.1.1. Extraction par hydrodistillation

C'est la méthode la plus employée, les parties de la plante sont complètement immergées dans l'eau et chauffées jusqu'à ébullition. La vapeur résultante est récupérée après condensation. L'huile essentielle se sépare de l'eau par décantation.

L'eau qui est donc séparée dans ce processus est également utilisée et est commercialisée comme "eaux florales" (également appelée hydrolat ou eau douce).

L'hydrodistillation peut être effectuée, de préférence, à pression réduite (sous vide) afin de réduire la température à moins de 100 degrés, ce qui est bénéfique pour la protection du matériel végétal, ainsi que les huiles essentielles (Harborne, 1976).

La contrainte majeur de cette méthode est, selon Heong (2011), la modification de la composition de l'huile pour certaines plantes s'il y'a une exposition prolongée à l'eau chaude. Tout matériel botanique qui contient de grandes quantités d'esters ne supporte pas bien cette méthode d'extraction, car l'exposition prolongée à l'eau chaude induit l'hydrolyse des esters en alcools et en acides carboxyliques. Il est préférable donc de trouver une méthode d'extraction mieux adaptée.

1.4.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode, le matériel végétal est séparé de l'eau bouillonnante, le passage de la vapeur se fait du bas vers le haut et il fait entraîner les huiles. La vapeur d'eau chaude permet de libérer les molécules aromatiques de la matière végétale étant donné que la force de la vapeur peut libérer les huiles stockées dans les tissus végétaux.

La vapeur passe à travers un système de refroidissement pour condenser la vapeur d'eau, la récupération des huiles se fait selon le même principe de l'hydrodistillation.

Dans cette technique il y'a un effet conjugué de la chaleur et la pression, la vapeur d'eau est produite à une pression plus forte que l'atmosphère et se résume donc au-dessus de 100 degrés Celsius. La température dans cette technique est soigneusement contrôlée par la vapeur d'eau, ceci constitue un avantage et empêche d'éventuels dommages à l'huile (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2013).

Certaines huiles, comme celle de la lavande sont sensibles à la chaleur élevée et avec cette méthode d'extraction, l'huile conserve la composition initiale et quelques composés tels que l'acétate de linalyle ne se décomposent pas en linalol et acide acétique (Lis-Balchin, 2003).

1.4.1.3. Hydro diffusion

C'est un autre type de distillation par entraînement à la vapeur d'eau, et ne varie que dans la voie d'entrée de la vapeur. Avec l'hydrodiffusion la vapeur est alimentée par le haut pour atteindre le matériel végétal.

La condensation et la récupération du mélange eau-huile dans ce procédé se fait en dessous. Les principaux avantages de cette méthode sont l'économie en eau (moins de vapeur est utilisée), la réduction du temps de l'extraction et, souvent, le rendement en huile est plus élevé (Li *et al.*, 2014).

1.4.1.4. Autres distillations spécialisées

A. Distillation destructive

Cette technique est appliquée uniquement sur le bouleau (*Betula lenta* ou *Betula alba*) et le cade (*Juniperus oxycedrus*). Les parties les plus difficiles de ces arbres tels que les écorces, les

branches et les racines sont exposées à la distillation après avoir subi un processus de destruction sous une chaleur intense. Une huile typique est obtenue après condensation, décantation et séparation (Li *et al.*, 2014).

B. Cohobation

Lorsque l'huile de rose est extraite par hydrodistillation, un constituant principal, l'alcool phényléthylique, se dissout dans l'eau après condensation et n'entre pas dans la composition finale de l'huile essentielle.

Afin de produire une huile «complète», l'alcool phényléthylique doit être distillé à partir de l'eau et rajouté de nouveau à l'huile incomplète pour former une toute complète huile de rose, et est alors appelée "Rose Otto" (Rhind & Pirie, 2012).

C. Rectification

Quand une huile essentielle contient des impuretés, elle peut être purifiée par redistillation - soit à la vapeur ou sous vide, et cette purification par distillation est de nouveau appelée rectification. Un exemple de ceci est l'huile d'eucalyptus, qui est commercialisée en tant que «bidistillée» (Baser & Buchbauer, 2009).

D. Combinaison hydrodistillation - entrainement à la vapeur

Dans ce processus de couplage de deux méthodes, le matériel végétal est immergé dans l'eau bouillonnante, le mélange est mis en contact avec la vapeur d'eau pour augmenter la pression (Board, 2003).

E. Distillation fractionnée

C'est un processus de distillation normale, mais l'huile n'est pas récupérée d'une manière continue mais par lots, cette méthode est pratiquée pour purifier ou pour concentrer les huiles (Rhind & Pirie, 2012).

1.4.2. Méthodes d'extraction par expression

Les méthodes "pressée à froid" ou méthode d'expression se réalisent sans chaleur.

La plupart des huiles de noix et de graines sont extraites en utilisant une méthode «pressée à froid», l'huile est libérée sous pression mécanique élevée. Le produit obtenu est généralement une huile de bonne qualité.

Ces méthodes sont utilisées principalement pour les huiles d'agrumes, trois techniques sont utilisées :

1.4.2.1. Processus d'extraction à l'éponge

La plupart des essences d'agrumes sont extraites par des moyens d'expression, l'épicerpe du fruit est trempé dans de l'eau chaude pour faire la croûte plus souple. L'eau contribue à la rupture des cellules, les croutes sont ensuite pressées directement dans une éponge.

Dès que l'éponge est saturée avec le mélange huile-eau, elle est ensuite pressée et l'huile est récupérée par la suite après décantation (Dugo & Di Giacomo, 2003).

1.4.2.2. Scarification (Écuelle à piquer)

Cette forme d'extraction par expression est utilisée principalement pour obtenir des huiles essentielles d'agrumes. Les fruits sont placés dans un dispositif et tournés avec des bâtons pointus, les cellules de l'écorce des fruits sont endommagées et les huiles sont ensuite libérées suite à la rupture des parois cellulaires. Le mélange est récupéré au centre du dispositif puis soumis à une décantation pour séparer les huiles (Kar, 2003).

1.4.2.3. Machine à abrasion

Cette méthode d'extraction par expression est très semblable à la précédente, la peau des agrumes est enlevée par la machine d'extraction à l'abrasion, la peau est ensuite soumise à une centrifugation extrêmement rapide pour obtenir le mélange contenant les huiles (Dugo & Di Giacomo, 2003).

1.4.3. Méthodes d'extraction par les solvants organiques

Ces méthodes ne sont pas limitées à l'utilisation des solvants organiques, mais aussi à d'autres formes, telles que les huiles et les graisses solides ainsi que le dioxyde de carbone.

L'extraction par des solvants est particulièrement utilisée pour les plantes à très faible rendement en huile essentielle.

Ce type de méthodes aboutit à l'extraction des autres composés non volatils de la matière végétale, tels que les cires et les pigments, ce sont alors éliminés par d'autre processus (Rhind & Pirie, 2012). Sous l'extraction par solvant, il y'a plusieurs méthodes:

I.4.3.1. Macération

Les fleurs sont trempées dans l'huile chaude pour rompre leurs membranes cellulaires et l'huile chaude absorbe alors l'essence. L'huile est ensuite séparée et purifiée. Par le même procédé, d'autres solvants peuvent remplacer l'huile chaude (Clarke, 2009).

I.4.3.2. Enfleurage

L'enfleurage pourrait être comparé à certains aspects employés dans les macérations, mais se fait d'une manière légèrement différente.

Des plaques de verre dans un cadre (appelé un châssis) sont recouvertes de graisse végétale ou animale hautement purifiée et inodore, les pétales des fleurs sont pressées dans cette couche grasse.

La durée de l'extraction peut varier de quelques jours à quelques semaines pour permettre la libération des huiles dans la graisse. Ce processus peut être répété jusqu'à la saturation de la graisse utilisée (Baser & Buchbauer, 2009).

Le mélange (graisse et huile parfumée) est ensuite lavé à l'alcool pour séparer l'extrait de la graisse restante, l'huile est récupérée après évaporation de l'alcool. Cette méthode est très coûteuse et elle est presque abandonnée (Clarke, 2009).

I.4.3.3. L'extraction par fluides supercritiques

L'utilisation du CO₂ supercritique est une méthode moderne pour l'extraction et elle donne des huiles essentielles de bonne qualité.

L'état supercritique est un état intermédiaire gaz - liquide obtenus sous une haute pression, l'extraction des huiles essentielles est instantanée et se fait à basse température. Le CO₂ est par ailleurs inerte. Le gaz est éliminé par baisse de pression (Martinez, 2007).

I.4.4. Extraction avec des techniques innovantes

Plusieurs techniques qui respectent l'environnement ont récemment émergées, elles sont qualifiées de technique d'extraction vertes (Li *et al.*, 2014).

Le principe de l'extraction verte peut être généralisé par la découverte et la conception des procédés d'extraction qui pourrait réduire la consommation d'énergie, de permettre l'utilisation de solvants alternatifs et renouvelables à partir des ressources végétales innovantes de manière à éliminer les solvants à base de pétrole et de veiller à extraire des produits sûrs et de qualité élevée (Chemat, 2012).

I.4.4.1. Turbo distillation

Cette technique est développée pour réduire l'énergie et la consommation d'eau lors de l'ébullition et le refroidissement en hydro-distillation. L'extraction se fait sous forte agitation et par destruction continue de la matière végétale afin de réduire le temps (Chemat, 2010).

I.4.4.2. Extraction assistée par ultrasons

Le principe de cette technique est basé sur l'effondrement des bulles de cavitation générée pendant l'ultrasonication qui donne lieu à des micro-jets pour détruire les glandes contenant les huiles essentielles de manière à faciliter leurs libération.

D'un point de vue énergétique, la consommation est moindre par rapport aux procédés conventionnels (jusqu'à 20 fois moins sur un réacteur de 1l) (Asfaw *et al.*, 2005).

En plus de l'amélioration du rendement avec 44% d'augmentation par rapport aux méthodes traditionnelles (Mason *et al.* 2011), les huiles essentielles obtenues par ultrasons sont plus résistantes à la dégradation thermique (Porto *et al.* 2009).

I.4.4.3. Extraction assistée par micro-ondes

Les micro-ondes est une source de chaleur sans contact qui permet de réaliser un chauffage sélectif. Avec ces ondes, la distillation peut maintenant être complétée en quelques minutes.

Dans ce procédé, les matières végétales sont extraites dans un four à micro-ondes avec ou sans solvants. Basée sur le principe de la distillation à la vapeur d'eau, l'air comprimé est injecté en continu dans l'extracteur, l'eau et chauffé par micro-ondes. L'extraction peut être complétée en seulement 5 minutes et il n'y a aucune différence quantitatifs et qualitatifs dans les résultats par rapport à l'extraction conventionnelle (Périno-Issartier *et al.*, 2010).

I.4.4.4. Technologie de Détente Instantanée Contrôlée (DIC)

Le processus DIC est une technique d'extraction et de séparation directe. Il permet la libération des composés volatils par l'évaporation pendant une courte période et à haute température (180 °C) et sous une haute pression (10 bars) à partir de plusieurs cycles de chute de pression instantanés (Besombes *et al.*, 2010).

I.5. Les stratégies de recherche dans le domaine des huiles essentielles

Selon Mandal *et al.* (2015), les stratégies de recherche dans le domaine de la chimie des produits naturels et de la pharmacognosie ont beaucoup évolués, elles peuvent être classées en deux catégories principales :

a) Les stratégies anciennes comportant :

- Des études chimiotaxonomiques simples.
- Une sélection des sources naturelles basée simplement sur les rapports ethnobotanique et ethnopharmacologie.
- Des études simples sur la surveillance phytochimique et sur les processus donnant leur bioactivité.
- Des isoléments simples et une identification des composés d'origine naturelle suivie par des investigations *in vitro* et *in vivo*.

b) Les stratégies contemporaines comportant aussi :

- Les progrès modernes dans les techniques d'extraction et de séparation ont réellement aidé les phytochimistes pour effectuer l'isolement et l'essai de l'activité biologique des métabolites secondaires.

- Des stratégies pour accéder au métagénome des sources botaniques par la construction des banques de gènes. Ces stratégies génomiques semblent être un outil prometteur pour la découverte de composés bioactifs (Marco, 2010).

- L'introduction des concepts de la pharmacologie inversée (Hacker *et al.*, 2009), la chimiogénomique, l'ingénierie chimique (Kubinyi et Müller, 2004), l'analyse des microréseaux de gènes (Segall, 2015) et les empreintes digitales métabolomiques et les empreintes chimiques (Riddhi *et al.*, 2013) ont effectivement accéléré et réorienté plus les recherches pour la découverte de médicaments.

- La disponibilité des outils de criblage à haut débit a effectivement ouvert les possibilités méthodologiques pour une enquête approfondie sur le mode d'action pharmacologique, les effets de synergie, les effets de synergie multicible, et la propriété multicible des extraits bruts complexes (Hacker *et al.*, 2009).

- L'introduction et la promotion des techniques sophistiquées couplées "hyphenated techniques" : chromatographie liquide à haute performance - spectrométrie de masse (HPLC-MS), HPLC- résonance magnétique nucléaire (RMN), HPLC-MS-RMN, HPLC-détecteur à barrettes de diodes (diode array detector DAD)-MS-RMN, ... etc.) dans le domaine des techniques de séparation avec des détecteurs à haute sensibilité ont permis une meilleure détection des petits composés moléculaires présents dans les systèmes biologiques (Colegate et Molyneux, 2007).

Dans toutes ces opérations, des procédés sont nécessaires pour la séparation, la purification et l'identification de nombreux constituants différents présents dans des plantes. Ainsi, les progrès dans la compréhension de la phytochimie sont directement liés à l'exploitation réussie des techniques connues, et la poursuite du développement de nouvelles techniques pour résoudre tous les problèmes (Harborne, 1976). L'un des défis de la phytochimie est d'effectuer toutes les opérations ci-dessus sur de très petites quantités d'échantillon.

Chapitre II

Chimie des huiles essentielles

II.1. Les principaux groupes des composés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de plusieurs composés, Elles peuvent contenir jusqu'à environ 100 composants, bien que de nombreux produits contiennent environ 20 à 60 (Langenheim 1994 ; Pengelly, 2004). Les composés présents dans les huiles essentielles sont de classes chimiques variées. Ils sont tous des hydrocarbures et leurs dérivés oxygénés, et ils peuvent également contenir l'azote ou le soufre. Ils sont généralement des composés de bas poids moléculaire avec une hydrosolubilité limitée (Weidenhamer *et al.*, 1993 ; Griffin *et al.*, 1999).

II.1.1. Les terpènes

Les terpènes, aussi connus comme isoprènes ou terpénoïdes ou isoprénoïdes quand ils contiennent l'oxygène, sont le plus grand groupe de composés naturels, avec plus de 30 000 structures connues (Breitmaier, 2006 ; Başer & Demirci, 2007).

Les terpènes sont considérés comme des polymères d'isoprène et ils sont classés selon le nombre d'unités d'isoprène à partir duquel ils ont été biogénétiquement dérivés (Croteau *et al.*, 2000), par conséquent, hémi-, mono-, sesqui- et diterpènes contiennent 1, 2, 3 et 4 unités d'isoprène, respectivement. Les triterpènes et les tétraterpènes contiennent 6 et 8 unités isoprène respectivement.

Les monoterpènes sont les terpènes les plus courants trouvés dans les huiles essentielles, suivis par les sesquiterpènes. De nombreuses huiles essentielles sont constituées essentiellement de monoterpènes et sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés (Thormar, 2010).

II.1.1.1. Biosynthèse des terpènes

La synthèse de terpènes dans les plantes se produit par l'intermédiaire de deux voies biologiques distinctes. La voie de mévalonate est la première qui a été décrite et a lieu principalement dans le cytoplasme, le réticulum endoplasmique et les mitochondries, produisant principalement les sesquiterpènes, stéroïdes et ubiquinones (Dubey *et al.*, 2003).

Une autre voie connue comme la voie non mévalonate ou voie de phosphate méthyl-érythritol, cette voie a lieu dans les chloroplastes des cellules végétales et est en grande partie responsable de la synthèse des hémi-, les mono- et les diterpènes. En plus d'autres terpènes

supérieurs ne se trouvent pas dans les huiles essentielles comme les caroténoïdes et les phytols de chlorophylle (Dubey *et al.*, 2003).

II.1.1.2. Les monoterpènes

Les monoterpènes peuvent être cycliques ou acycliques (également connu sous le nom linéaire), régulières ou irrégulières, et leurs dérivés comprennent des alcools, des esters, des phénols, des cétones, des lactones, des aldéhydes et des oxydes (Keszei *et al.*, 2008).

II.1.1.3. Les sesquiterpènes

Ils sont formés par la combinaison de trois unités d'isoprène, tous provenant du farnésyle pyrophosphate par divers procédés de cyclisation. Parmi les terpénoïdes présents dans les huiles essentielles, les sesquiterpènes peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques (Başer & Demirci, 2007).

II.1.1.4. Les diterpènes

Ils sont très fréquents et sont des composants importants de résines végétales (Langenheim, 2003), mais sont présents en petites quantités dans de nombreuses huiles essentielles. Ils peuvent être acycliques ou cycliques et ils sont de poids moléculaires plus élevé que leurs homologues mono- et sesquiterpènes. Ce poids signifie qu'ils ont besoins d'une plus grande quantité d'énergie pour être libérés par distillation à la vapeur. Leur concentration augmente avec l'augmentation des temps de distillation (Başer & Demirci, 2007).

II.1.1.5. Les norterpènes

Les caroténoïdes (C40) sont une classe de terpènes plus élevés sur la base de huit unités isoprènes et sont importants dans les plantes pour plusieurs raisons, y compris leur rôle dans la photosynthèse (Hirschberg, 2001). Ils ne se rencontrent pas dans les huiles essentielles. Cependant, ils sont pertinents pour les huiles parce que lorsque leur carbone terminal est clivé, généralement par oxydation, ils donnent une gamme de composés plus petits connus comme apocaroténoïdes (Schwab *et al.*, 2013). Le groupe le plus commun des apocaroténoïdes répandus se résulte lorsque les caroténoïdes sont clivés à la position 9-10, ce qui donne des produits C13 connus sous le nom de norterpenoids ou norisoprénoïdes. Ce sont des composants mineurs

importants de certaines huiles essentielles, contribuant notamment à l'arôme et la saveur (Cooper *et al.*, 2003).

II.1.2. Les phénylpropanoïdes

II.1.2.1. Biosynthèse des phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont regroupés ensemble sur la base de leur origine biosynthétique commune qui est la voie du shikimate. Cette voie ne se produit que dans les microorganismes et les plantes. C'est une voie responsable de la synthèse d'un grand nombre des composés phénoliques dans les plantes et, à partir du glucose chez les plantes, produit des acides aminés aromatiques; le phenylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Les phénylpropanoïdes proviennent des acides aminés aromatiques (Herrmann & Weaver, 1999).

II.1.2.2. Les phénylpropanoïdes dans les huiles essentielles

Seulement environ 50 phénylpropanoïdes ont été décrits, le plus souvent ils sont moins abondants que les terpènes dans les huiles essentielles (Bakkali, 2008).

II.1.3. Les composés soufrés et azotés des huiles essentielles

Plus rarement, quelques composés présents dans les huiles essentielles contiennent un ou plusieurs molécules de soufre ou d'azote. La présence de soufre, en particulier confère souvent une forte odeur caractéristique (Pengelly, 2004).

II.2. Les parfums floraux

Le nom parfum est défini étant un mélange odorant de composition complexe. Il est constitué généralement d'huiles essentielles ou des molécules de synthèse ou les deux, ces composés sont dilués dans un alcool. Un nombre important de combinaisons sont possibles, mais seules quelques-unes deviendront de grands succès industriel et commercial en parfumerie (Guillot, 2010).

Le terme fragrance caractérise tout composé volatil odorant. Souvent, on entend par ce terme (bonne odeur). Les fragrances sont utilisées à une grande échelle, comme des additifs en pharmaceutique pour les médicaments, les produits cosmétiques, les savons, les détergents, les produits de nettoyage et ils sont additionnés aussi à plusieurs produits comme les papiers de

toilette, les bougies parfumées et tout produits parfumés. Elles peuvent aussi masquer des odeurs désagréables (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2013).

Les constituants de parfum floral comprennent une grande variété de substances chimiques végétales en général lipophiles. Les principales classes de produits volatils floraux sont les mêmes que ceux rapportés pour être libérés à partir d'autres parties de la plante. Les parties végétatives libèrent également de nombreux constituants volatils (Dudareva & Pichersky, 2006).

Les parfums floraux sont des mélanges de nombreuses molécules, les fleurs produisent des parfums par tous leurs organes floraux mais surtout par les pétales (Sauvion *et al.*, 2013). Cependant, la diversité des composés volatiles dans les parties végétatives est inférieure à celle trouvée dans les pétales (Knudsen *et al.*, 2006).

Les composés volatiles végétaux floraux sont issus des voies du métabolisme secondaire des plantes par le biais de processus anaboliques et cataboliques. La figure 1 illustre les principales voies de biosynthèse et de la production des composés aromatiques. Ces voies multifonctionnelles produisent également des pigments végétaux, des composés de défense, les composants structurels, de croissance et des substances de signalisation (Raguso, 2001).

La première fonction des composés volatiles des parties floraux des plantes à fleurs est d'attirer et de guider les insectes pollinisateurs (Raguso, 2001). Cependant, des fonctions supplémentaires peuvent être attribuées à la présence de produits chimiques volatils dans les fleurs, y compris la défense et la protection contre les stress abiotiques. Ces fonctions supplémentaires peuvent aider à expliquer une partie de l'abondance et la variété des différents constituants détectés (Janardhanan & Thoppil, 2004).

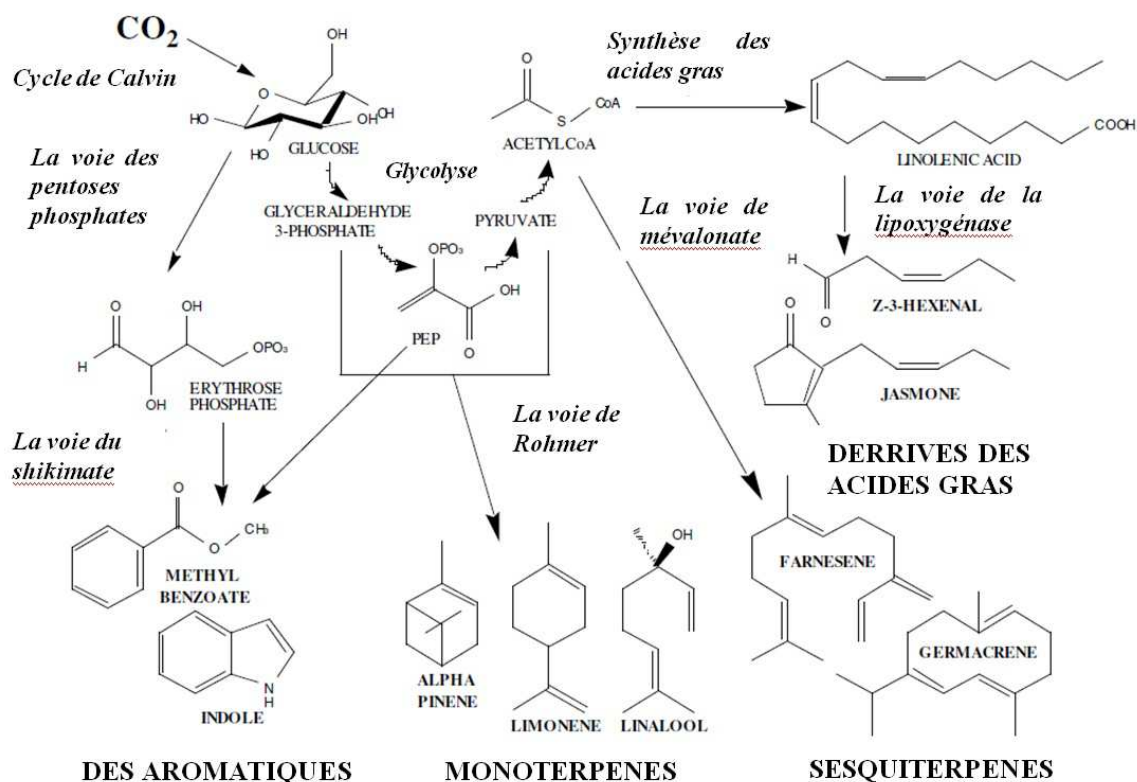


Figure 1. Les principales voies de biosynthèse des composés volatiles dans les plantes.

(Figure de Paré & Tumlinson (1997), modifiée).

Les noms de voies sont en italique; les noms de métabolites représentatifs et les produits finis sont en petits majuscules; les substances volatiles sont en caractères gras et en grand majuscules.

II.3. Relation des huiles essentielles avec les pigments et les parfums floraux

La couleur des fleurs est le premier caractère visible pour différencier entre les plantes. Selon Polese (2007), les plantes à fleurs sont classées sous cinq catégories suivant la couleur de leurs fleurs :

- Les plantes à fleurs bleues ou violettes (varie du bleu pâle au violet intense)
- Les plantes à fleurs rouges ou roses (roses, mauves, rouges et rouge-violet)

c. Les plantes à fleurs blanches (couleur varie du blanc pur au blanc crème et les fleurs majoritairement blanches).

d. Les plantes à fleurs jaunes (couleur allant de jaune pâle à orangé, y compris le jaune-vert)

e. Les plantes à fleurs vertes ou brunes (les fleurs sont peu visibles)

Deux classes différentes de pigments déterminent la couleur des fleurs, des feuilles et des fruits, à savoir les chlorophylles et les caroténoïdes liposolubles et les flavonoïdes hydrosolubles (Mulder-Krieger & Verpoorte, 1994).

Il existe de nombreuses façons d'obtenir une coloration jaune. Probablement la majorité des plantes portant des fleurs jaunes contiennent des caroténoïdes, mais il y a des plantes qui ont seulement des flavonoïdes jaunes ou des caroténoïdes et des flavonoïdes simultanément. Dans d'autres cas des alcaloïdes jaunes, comme la berbérine, sont impliqués (Harborne, 1976).

Les caroténoïdes sont connus à travers les couleurs rouge-orange des fruits et légumes comme les oranges, les tomates et les carottes, et les couleurs jaunes de nombreuses fleurs, Ils sont responsables de la couleur de la plupart des fleurs jaunes (Cseke *et al.*, 2006).

Les caroténoïdes sont essentiels pour les plantes pour la photosynthèse, agissant à l'assimilation de la lumière et, en particulier, dans la protection contre la photo-oxydation destructive (Pfander *et al.*, 1998).

Les apocaroténoïdes sont des produits de clivage des caroténoïdes, ils ont des fonctions importantes comme des arômes et des composés de signalisation ainsi que des pigments (Schwab *et al.*, 2013). Le clivage de β -carotène donne le dérivé β -ionone, un composé de parfum important dans les fleurs de nombreuses espèces végétales (Schwartz *et al.*, 2001).

L'huile essentielle qui représente le parfum de certaines fleurs jaunes contient souvent des apocaroténoïdes, qui sont des terpénoïdes volatils irréguliers, y compris les β -ionone (un cyclohexane à 13 carbones) et le geranylacétone (un aldéhyde à C13 également) (Cooper *et al.*, 2003).

Ces apocaroténoïdes sont les produits d'oxydation des caroténoïdes, catalysés par les dioxygénases, enzymes de clivage des caroténoïdes (connues sous l'abréviation CCD), qui ont été isolées et caractérisées (Dudareva & Pichersky, 2006).

Les apocaroténoïdes entrent souvent dans la composition des huiles essentielles, ils sont caractérisés par leur faible odeur (Pavia *et al.* 2015), et ils contribuent de manière significative à l'ensemble du parfum de la fleur même s'ils sont présents à de très faibles concentrations dans la fraction volatile.

Chapitre III

Présentation des plantes étudiées

III.1. *Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.

(Famille : Orobanchaceae)

III.1.1. Présentation du genre *Cistanche*

Cistanche Hoffman. & Link, l'un des genres de la famille Orobanchaceae, comporte 22 espèces. Il est principalement distribué dans les terres arides et désertiques de l'hémisphère nord. En Europe, *Cistanche phelypaea* se trouve dans le sud de l'Espagne, du Portugal et de l'île de Crète, il est également présent dans le nord d'Afrique, la Chine et la péninsule arabique (Heid-Jørgensen, 2008).

le genre *Cistanche* est un parasite des halophytes (Scott, 2013 ; Öztürk *et al.*, 2014) Chénopodiacées ligneuses et des Tamaricacées des zones sub-désertiques (Kreutz, 1995 ; Amigues, 2002).

Le genre *Cistanche* est représenté en Algérie par trois espèces (Quézel et Santa, 1962) : *C. Phelipaea* (L.) P. Cout. ; *C. violacea* (Desf.) Beek. et *C. mauritanica* (Coss. et Dur.) Beck

Cistanche phelypaea (L.) P. Cout., Synonymes: *Lathraea phelypaea* L., *Phelypaea lutea* Desf., *Phelypaea lusitanica* Coss. (Paiva *et al.*, 2001), est l'espèce la plus réponde en Afrique du Nord. Elle est connue en Algérie sous plusieurs noms, le plus commun est "Danoun".

III.1.2. Biologie et écologie

Les plantes parasites ont pu s'adapter à tous les types des communautés de plantes et dans tous les environnements où les plantes à fleurs se reproduisent, à l'exception des milieux aquatiques.

C'est principalement la concurrence pour l'eau qui est le principal facteur aboutissant à l'évolution des plantes parasites, en milieu aquatique, l'eau n'est pas une limitation pour le développement des plantes (Joel *et al.*, 2013).

Une plante parasite comme *Cistanche*, pénètre les tissus vivants d'une autre plante (l'hôte) à partir de laquelle elle tire certains ou, généralement, tous les éléments nécessaires pour son développement. Il existe des différents types de parasites selon la partie de la plante hôte où elles sont fixées et selon le niveau de dépendance en besoins nutritifs (Heid-Jørgensen, 2008).

Chez *Cistanche phelypaea*, comme chez plusieurs plantes parasites, l'haustorium est l'organe spécial, qui envahit les tissus des racines de l'hôte. Cet organe sert, selon Joel *et al.* (2013), de structure physiologique et pont qui permet à la plante parasite de retirer l'eau et les nutriments des systèmes conducteurs des plantes hôtes.

Deux principaux types de plantes parasites sont reconnus :

(A) hémiparasites (facultatifs) qui sont capables de faire la photosynthèse, bien qu'ils ne sont pas nécessairement autonomes avec le carbone et

(B) holoparasites (obligatoires) et qui n'ont pas de capacités photosynthétiques (Hibberd *et al.*, 1998), ces derniers, dont il fait partie *Cistanche*, tirent tous leurs besoins en carbones de leurs hôte (Hibberd *et al.*, 1999).

Le cycle de vie de *C. phelypaea* et la majorité des Orobanchacées holoparasites comprend plusieurs phases clés du développement. Après la germination, la plantule se développe indépendamment jusqu'à l'étape où elle se fixe à un hôte. Celle-ci est la phase indépendante du développement du parasite. Puis vient la phase intrusive (envahissant) de développement, qui comprend : (a) le développement d'un haustorium terminal à la pointe de la racine, (b) l'invasion de l'haustorium dans les tissus de l'hôte, et (c) le développement des liaisons conductrices primaires avec l'hôte. Enfin, la phase est dite compatible, dans laquelle le développement du parasite est coordonné avec celui de l'hôte. Le développement de l'haustorium dépend de sa capacité à surmonter les mécanismes de résistance de l'hôte (Joel *et al.*, 2013).

Un tubercule se développe suite à l'établissement de la connexion initiale avec les tissus vasculaires de l'hôte par l'haustorium terminale de *C. phelypaea*, la plante parasite rapidement convertit les composés de l'hôte en métabolites spécifiques du parasite (Aber *et al.*, 1983).

À un stade jeune, la plante est une tige épaisse (3-4 cm), blanche, rose ou jaunâtre qui sort de la terre, nue, sans feuillage voisin, d'un aspect appétissant. La tige complètement développée est robuste, elle peut s'élever jusqu'à 1,5 m, avec de grandes fleurs (4-5 cm) (fig. 2) d'un jaune éclatant, sans feuilles, un peu grasse et tendre. Cette plante est historiquement consommée par les indigènes (Amigues, 2002). La plante est un parasite d'*Atriplex halimus*, la zone de recueil est dominée par un peuplement d'*atriplex*.

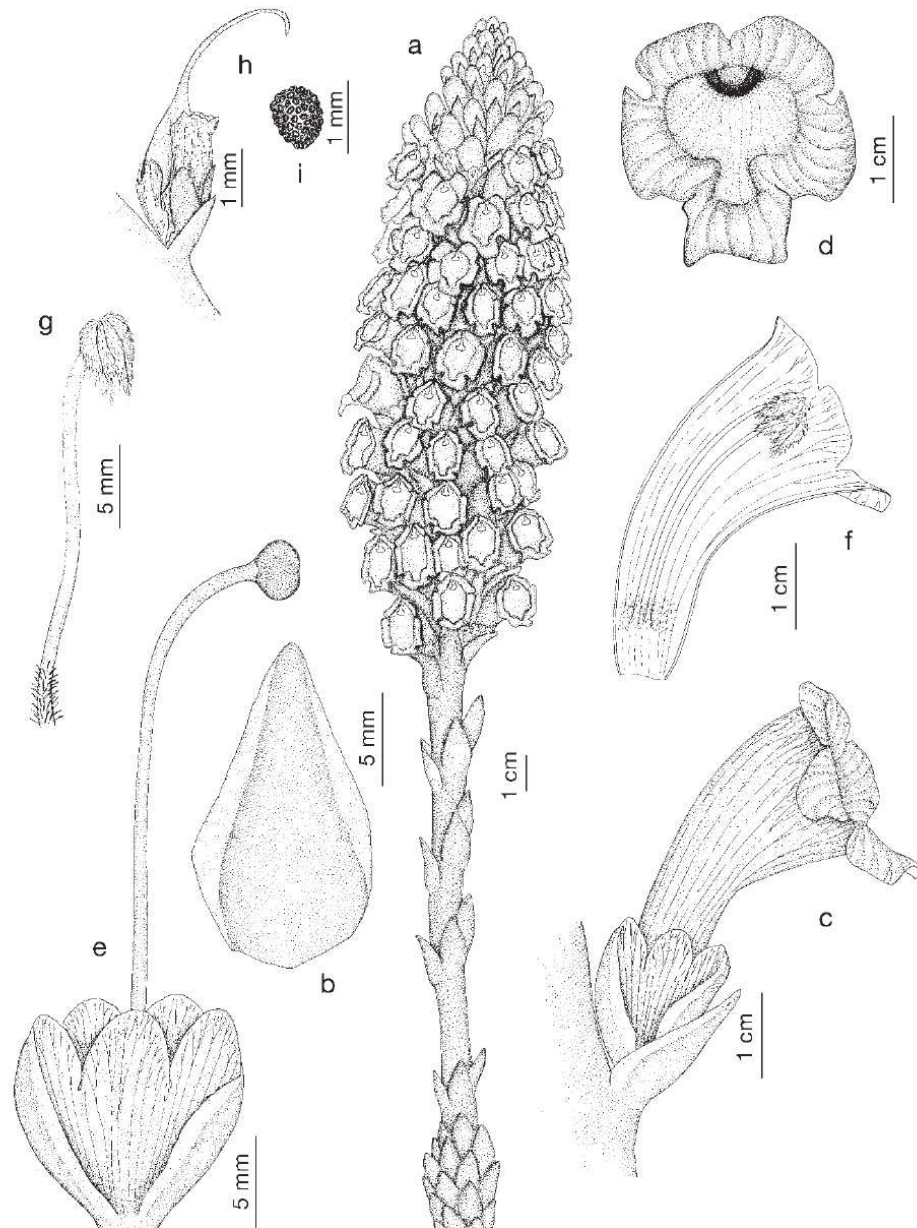


Figure 2. Illustration de *Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.

a) La partie aérienne; b) bractées; c) vue de côté de la fleur; d) vue de face de la fleur; e) bractéoles, calice et pistil; f) coupe longitudinale de la corolle et les étamines; g) l'étamine; h) les fruits, les bractées, bractéoles et restes de calice et la corolle; i) graine (Paiva *et al.*, 2001).

III.1.3. Propriétés et utilisations

Les parties souterraines de *Cistanche* sont consommées bouillies à l'eau ou cuites sous la cendre. Elles peuvent être aussi transformées en une farine, après trempage dans l'eau pour une période de temps, pour réduire leur forte amertume, et séchage (Bellakhdar, 2006).

Plusieurs espèces des plantes parasites sont d'une importance économique comme source des huiles essentielles (Joel *et al.*, 2013).

C. phelypaea est utilisée en médecine traditionnelle au Yémen comme verrucide (Fleurentin, 2004), la tige est utilisée en décoction pour traiter les diarrhées (Sakkir *et al.*, 2012).

III.1.4. Travaux antérieurs

Plusieurs études phytochimiques et pharmacologique sur les espèces de *Cistanche* ont été réalisées, *Cistanche deserticola* (Ebringerová *et al.*, 1997 ; Cai *et al.*, 2010), *Cistanche sinensis* (Liu *et al.*, 2013).

La majorité des études effectuées sur *Cistanche phelypaea* sont concentrées sur la détermination des composés non volatiles et leurs activités biologiques. Le profile des lipides bioactifs et des acides gras de *C. phelypaea* à été étudié par Ramadan *et al.* (2011). Les glycosides phenylethanoïdes dans les extraits bruts (Deyama *et al.*, 2006). Des différentes fractions des extraits alcooliques (Deyama *et al.*, 1995), La composition et l'effet pharmacologique des extraits éthylacétatiques ont été étudiés pour leur toxicité aiguë, analgésique, antipyrétique, activité diurétique et pour son effet sur les muscles lisses (Melek *et al.*, 1993).

En Algérie, la composition chimique et l'activité anti inflammatoire *in vitro* de la fraction soluble dans l'éthyle acétate de l'extrait hydro alcoolique de *Cistanche violacea* à été déterminée par Bougandoura *et al.* (2016).

III.2. *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut.

(Famille : Euphorbiaceae)

III.2.1. Présentation du genre *Euphorbia*

Euphorbia L. sensu lato (Euphorbiaceae), avec près de 2000 espèces actuellement reconnues et avec une répartition quasi mondiale, est parmi les plus grands des " genres géants " des plantes à fleurs (Webster, 1994 ; Steinmann, 2003 ; Horn *et al.*, 2012).

En Afrique, les genres *Chamaesyce*, *Elaeophorbia*, *Euphorbia*, *Endadenium*, *Monadenium* et *Synadenium* se rencontrent naturellement et tous sauf *Chamaesyce* et *Euphorbia* sont endémiques. Pour le genre *Euphorbia* il existe 11 sous genres utilisés dans le monde, dont huit sont naturellement présents en Afrique (Bruyns *et al.*, 2006).

Le développement d'une classification naturelle pour *Euphorbia* a été entravée par (a) le très grand nombre des espèces visées, (b) la très large distribution du genre, (c) l'extrême complexité des classifications qui ont été mis dans le passé et (d) le très haut degré de convergence dans de nombreux caractères végétatifs et l'incertitude qui en découle (Bruyns *et al.*, 2006).

Euphorbia est le très grand genre, il est distribué presque partout sur le globe (cosmopolite). Il est reconnu en Algérie par plusieurs sections :

Chamaesyce Raf. (= Genre *Chamaesyce* S. F. Gray),

Agaloma (Raf.) House,

Poinsettia (Graham) House,

Eremophyton (Boiss.) L.C Wheeler,

Lycopsis (Boss.) L.C Wheeler,

Tithymalus Pers.,

Rhizanthium (Boiss.) L. C. Wheeler

Esula Pers.

En Algérie, Quézel et Santa (1962) ont noté que la détermination de certaines espèces algériennes d'Euphorbes est très délicate, ils ont cité 36 espèces regroupées en 7 séries.

Au Sahara, les espèces de ce genre sont très rares, *E. guyoniana* Boiss. et Reut. (qui fait partie de la sixième série) est parmi les espèces les plus représentées, elle est caractéristique des dunes de sables désertiques (Quézel et Gast, 1997).

III.2.2. Biologie et écologie

Les Euphorbes (genre *Euphorbia* L. sensu lato), sont des végétaux caractérisés par la présence de latex. En Afrique du Nord et au Sahara, ce genre est représenté par plus de 50 espèces. Elles sont présentes dans pratiquement tous les milieux écologiques. Sur le plan morphologique, les espèces sont très variées, ligneuses, buissonnantes et cactoïdes. Ils existent des espèces vivaces et d'autres annuelles (Quézel et Gast, 1997).

Desanges (1980) a noté que c'est le roi Juba qui a découvert l'euphorbe dans le mont Atlas (Maroc). Le nom de la plante est celui du médecin personnel de Juba (Euphorbios). Le roi Juba a écrit un traité entier sur les qualités pharmaceutiques de l'euphorbe surtout sur l'utilisation du suc de la plante.

C'est une plante de 30-100 cm, à feuilles linéaires, à tiges souvent ramifiées dès la base (fig. 3). Les noms vernaculaires de cette plante sont «Halib El Daba» et «Ammaïa» selon Quézel et Santa (1962), elle est appelée en Algérie aussi «Lebina» dans la région est du nord de Sahara (Chehema et Djebbar, 2008).

III.2.3. Propriétés et utilisations

Euphorbia guyoniana est une plante vivace, très utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne surtout par les populations sahariennes. Les tiges et les feuilles sont utilisées en cataplasme (une préparation de plante assez pâteuse pour application sur la peau) en cas de morsures de serpent (Chehema et Djebbar, 2008). La résine de l'euphorbe (le suc blanc «Halib ou Lebina») est utilisée en frictions sur les globes oculaires pour améliorer la vision. Lorsqu'il est dilué dans l'eau saline, le latex d'*E. guyoniana* possède des effets laxatifs. Il est aussi efficace contre les morsures de serpent, dans ce cas il est administré dans le sang à travers une incision (Quézel et Gast, 1997).

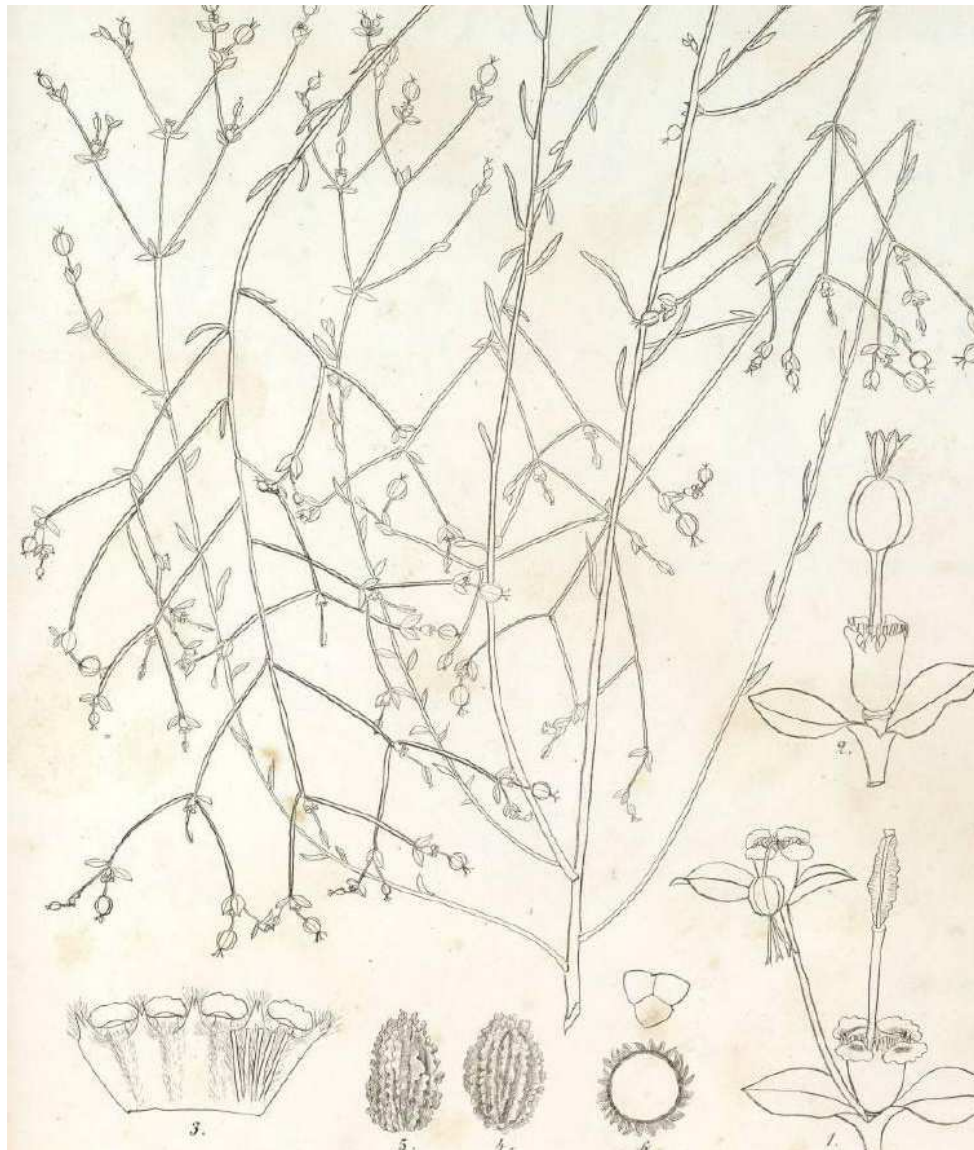


Figure 3. Illustration d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. (Boissier & Heyland, 1866)

Au Maroc, cette plante est utilisée traditionnellement en décoction par voie orale contre les vers intestinaux et sous forme de collyre pour traiter certaines infections oculaires bactériennes (Trachome) (El Rhaffari et Zaid, 2002).

Telli *et al.* (2016) ont cité *E. guyoniana* parmi les plantes utilisées dans le traitement de diabète dans la région de Ouargla (Algérie), ils ont signalé aussi la toxicité de cette plante.

III.2.4. Travaux antérieurs

L'analyse chromatographique de l'extrait de chlorure de méthylène / méthanol des parties aériennes d'*Euphorbia guyoniana* a donné deux nouveaux diterpènes jatrophanes, désignés guyonianins E et F. Ces composés ont présenté une cytotoxicité sur des cellules embryonnaires du rein humain (Hegazy *et al.*, 2010).

Un nouvel alcaloïde, le 1,5-diphényl-3-styryl-2-pyrazoline, en plus de six flavonoïdes connus à savoir, kaempférol, kaempférol 3-O-glucoside, kaempférol 3-rutinoside, quercétine, quercétine 3-O-glucoside et la rutine, ont été isolés à partir des parties aériennes d'*Euphorbia guyoniana* (Boudiar *et al.*, 2010).

En Algérie, *E. guyoniana* récoltée à Biskra a fait l'objet de plusieurs études phytochimiques sur différents extraits de leurs différentes parties.

Des nouveaux diterpènes de type abiétane 1 et 2 sont isolés, identifiés et déterminés structuralement dans les racines de cette plante après extraction dans le CHCl₃ (Haba *et al.*, 2009 ; Haba *et al.* 2013).

Les extraits d'*E. guyoniana* ont été testés sur 19 souches bactériennes à Gram + et Gram -. Les zones d'inhibition obtenues ont été remarquables surtout sur *Bacillus subtilis*, *Moraxella catarrhalis* et *Staphylococcus aureus* résistantes et non résistantes à la méthicilline. Les effets antiprolifératifs des extraits ont été évalués aussi contre des lignées cellulaires adhérentes humaines (A431, A2780 ...). Une inhibition notable de la croissance cellulaire a été trouvée (Palici *et al.*, 2015).

Deux nouveaux composés ayant des squelettes tigliane et cycloartane en plus de quatre diterpénoïdes connus et 13 triterpénoïdes ont été isolés à partir des racines de cette plante (Haba *et al.*, 2007).

Une classe rare de diterpènes bicycliques a été trouvée aussi dans l'extrait de dichlorométhane des parties aériennes d'*E. guyoniana*, deux nouveaux diterpènes de polyester, nommés guyonianin A et B ont été identifiés (Ahmed *et al.*, 2006). Un autre guyonianin C a été isolé par El-Bassuony (2007), ce composé a la caractéristique structurale commune des pénicillines, il possède une grande activité antibactérienne contre les souches Gram +, en particulier *Bacillus cereus*, et il n'a pas d'effet sur les souches à Gram -.

E. guyoniana récoltée dans la région de Ghardaïa (Algérie) a fait l'objet d'une étude sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*). L'ingestion des feuilles de chou trempées dans l'extrait acétonique des feuilles de cette plante par les insectes génère une mortalité de 100% chez les larves et 66,67% chez les adultes. Une réduction de la prise alimentaire a été observée aussi suite à une perte de poids chez les larves et les adultes et d'autres effets comme les difficultés et les anomalies dans la mue (Kemassi *et al.*, 2013).

Les extraits aqueux des parties aériennes d'*E. guyoniana* ont été aussi testés sur la mortalité des larves d'une espèce de moustique (*Culex pipiens*). L'extrait à forte concentration a engendré une mortalité larvaire de 100% alors qu'à faible concentration la mortalité été de 56,67% (Kemassi *et al.*, 2015).

Il est intéressant de noter la présence de nombreuses classes chimiques telles que des flavonoïdes, des stérols ou triterpènes, des saponines, des tanins, des caroténoïdes et des alcaloïdes dans les extraits méthylène chlorure de méthanol et n-butanol d'*E. guyoniana* récoltée à El-Oued (Algérie). Ces extraits inhibent la croissance des bactéries (*Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* et *Escherichia coli*) avec des zones d'inhibition de diamètre moyen variait en fonction de la concentration et du type de la bactérie (Zellagui *et al.*, 2012c).

Les extraits de cette plante ont été testés aussi pour d'autres activités biologiques. Le pouvoir allélopathique de l'extrait aqueux a été testé *in vitro* sur la germination de deux mauvaises herbes (*Bromus tectorum* et *Melilotus indica*) et une espèce de céréale (*Triticum aestivum*). L'effet inhibiteur de l'extrait a été important à des fortes concentrations (Nasrine *et al.*, 2013).

Une étude a été effectuée au Cameroun sur une espèce africaine d'euphorbes, il s'agit d'*Euphorbia golondrina*, une herbe médicinale exotique envahissante utilisée par le peuple Mundani du Cameroun. Cette étude a été réalisée par Ndam *et al.* (2016) qui ont visait à déterminer les constituants phytochimiques de l'extrait acétonique de cette plante et d'évaluer son activité antimicrobienne et antioxydante *in vitro*. L'analyse a montré que la plante contient des classes de constituants tels que des sesquiterpènes, des monoterpènes, des alcaloïdes, des composés phénoliques et des hydrocarbures aromatiques. Parmi les 30 composés identifiés, l'oxyde de caryophyllène (14.16%), le camphre (9,41%) et le phytol (5,75%) ont été les principaux composés. Une bonne activité antibactérienne a été trouvée avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm contre *Bacillus cereus* suivie par *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 17 mm.

A la limite de nos connaissances, aucune étude sur les huiles essentielles d'*E. guyoniana* algérienne a été effectuée. Cependant quelques travaux de recherche ont été publiés sur les huiles essentielles d'autres espèces du genre *Euphorbia*. Quelques travaux sont cités ici à titre d'exemples.

La composition chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia hebecarpa* Boiss., une plante endémique à l'Iran a été étudiée par Akhgar *et al.* (2014). 28 composants ont été identifiés, ce qui représente 97,6% de l'huile totale. Les principaux constituants étaient; le bisabolol (31,2%), le cis-Cadin-4-en-7-ol (20,1%), le trans-pipéritol (8,6%), le cis-p-menth- 2-en-1-ol (6,4 %) et le trans-p-menth-2-ène-1-ol (6,2%). Les sesquiterpènes oxygénés (59,3%) étaient les éléments les plus abondants dans l'huile. Cette plante a été également riche en sesquiterpènes oxygénés, parmi eux l'élémol (57,5%) a été rapporté comme constituant principal.

Les huiles essentielles des feuilles d'*E. caracasana* Boiss et d'*E. cotinifolia* L. recueillies à Venezuela, ont été analysées par GC (Chromatographie en phase gazeuse)-MS. les principaux constituants d'*E. caracasana* ont été le Beta-caryophyllène (33,7%), l'alpha-humulène (18,8%) et l'aromadendrène (8,4%), tandis que ceux d'*E. cotinifolia* étaient le bêta-caryophyllène (39,3%), le germacrène-D (21,5%) et l'alpha-copaène (9,3%) (Rojas *et al.*, 2009).

La composition chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia fischeriana* du nord de la Chine a été analysée aussi par (GC, GC-MS), 43 composants ont été identifiés. L'eudesmol β - (18,22%), le p-Menth-8-én-2-ol (9,36%), l'oxyde de caryophyllène (8,61%), le β -Selinol

(6,83%), le Cedrol (4,30%) et le β -sélinène (4,21 %) ont été les principaux composants. L'activité antioxydante de l'huile de cette espèce, déterminée par spectrophotométrie avec 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), a indiquée une valeur IC50 de 57.24 pg / ml (Cui *et al.*, 2011).

III.3. *Launaea lanifera* Pau

(Famille : Asteraceae)

III.3.1. Présentation du genre *Launaea*

Launaea, qui a été publié en 1822 par Henri de Cassini (le pionnier de la taxonomie moderne des Composées), est le premier nom disponible pour ce genre. Il a été initialement publié pour accueillir une seule nouvelle espèce, mais, en raison de la diversité morphologique considérable parmi les espèces concernées, il est devenu comme nom pour le genre dans son sens plus large (Kilian, 1997).

Launaea est un genre de l'ancien monde distribué principalement en Afrique et au sud ouest de l'Asie (Bohm & Stuessy, 2001). Une espèce rudérale unique, *L. intybacea*, a été introduite au début avec le commerce trans-atlantique de l'Afrique de l'ouest à l'Amérique centrale et des Caraïbes, et est maintenant très répandue et naturalisée dans cette région (Kilian, 1997).

La plus grande diversité des espèces du genre *Launaea* se trouve dans une zone à deux volets dans lesquels plus de 90% de toutes les espèces sont représentées (Brown & Mies, 2012). Une ceinture qui s'étend du nord ouest d'Afrique, en grande partie limitée par la mer Méditerranée et le tropique du Cancer, et, jusqu'à l'Asie mineure (Kilian, 1997).

Le genre *Launaea* est représenté par 54 espèces avec 10 sous espèces, regroupées en 8 sections (Kilian, 1997).

1. *Launaea* sect. Pseudosonchus
2. *Launaea* sect. Acanthosonchus
3. *Launaea* sect. Cornutae
4. *Launaea* sect. Cervicornes
5. *Launaea* sect. Microrhynchus

6. *Launaea* sect. *Launaea*
7. *Launaea* sect. *Castanospermae*
8. *Launaea* sect. *Zollikoferia*

L'espèce *Launaea lanifera* Pau appartient à la section *Microrhynchus*.

Selon Quézel et Santa (1962), en plus de *L. lanifera* Pau, huit autres espèces du genre *Launaea* sont aussi présentes en Algérie, à savoir

- L. anomala* (Batt.) M.,
 - L. arborescens* (Batt.) M.,
 - L. glomerata* (Cass.) Hook. f.,
 - L. angustifolia* (Desf.) Muschler,
 - L. nudicaulis* (L.) Hook. f.,
 - L. quercifolia* (Desf.) M.,
 - L. Cassiniana* (Jaub. et Spach)
- et *L. resedifolia* O. K. qui est représentée par trois sous espèces ;
- L. resedifolia* ssp. *Mucronata* (Forsk.),
 - L. resedifolia* ssp. *ongiloba* (B. et R.) M.,
 - L. resedifolia* ssp. *eu-resedifolia* M. Quézel et Santa (1962).

D'après la dernière révision de Kilian (1997), Le genre *Launaea* est représenté en Algérie par les dix (10) espèces suivantes :

- L. lanifera* Pau,
- L. pumila* (Cav.) Kuntze,
- L. arborescens* (Batt.) Murb.,
- L. capitata* (Spring.) Dandy,
- L. angustifolia* (Desf.) Kuntze,
- L. nudicaulis* (L.) Hook. f.,
- L. quercifolia* (Desf.) Pamp.,
- L. mucronata* (Forssk.) Muschl.,
- L. amal-amina* N. Kilian,
- L. fragilis* (Asso) Pau,

et par cinq (5) sous espèces aussi ;

- L. fragilis* subsp. *fragilis*,
- L. mucronata* subsp. *mucronata*,
- L. mucronata* subsp. *cassiana*,
- L. angustifolia* subsp. *angustifolia*,
- L. angustifolia* subsp. *Arabica*.

Les synonymes de *L. lanifera* sont

- Launaea spinosa* subsp. *acanthoclada* (Maire) Ozenda, (Ozenda, 1958),
- Zollikoferia spinosa* Batt. et Auct. (Quézel et Santa, 1962),
- Launaea acanthoclada* Maire (Vogt & Oberprieler, 2012).

III.3.2. Biologie et écologie

Launaea est l'un des genres les plus communs dans les régions arides et sahariennes de l'Afrique du Nord (Noumi *et al.*, 2010). *L. lanifera* Pau est une plante herbacée vivace à fleurs jaunes, c'est une chamaephyte (fig. 4) qui peut atteindre 40 cm de hauteur (Tutin *et al.*, 1976 ; Kilian, 1997).

L. lanifera se développe à différents étages bioclimatiques, du niveau de la mer jusqu'à près de 2000 m d'altitude dans les massifs de l'Atlas saharien, elle est un peu concurrentiel, héliophile (préfère les endroits ensoleillés) et lithophile (pousse sur les sols rocheux). C'est une plante qui préfère les types de végétation ouverts (Mejias, 1994).

Comme dans d'autres espèces épineuses du genre *Launaea*, les inflorescences épineuses lignifiées des périodes de floraison antérieures protègent les jeunes inflorescences émergentes à l'intérieur du coussin épineux. En raison de cette protection, *L. lanifera* est assez commune dans les zones de pâturage (Kilian, 1997). Cette plante est appelée "Agherramou" dans la région des Aurès à l'est algérien.

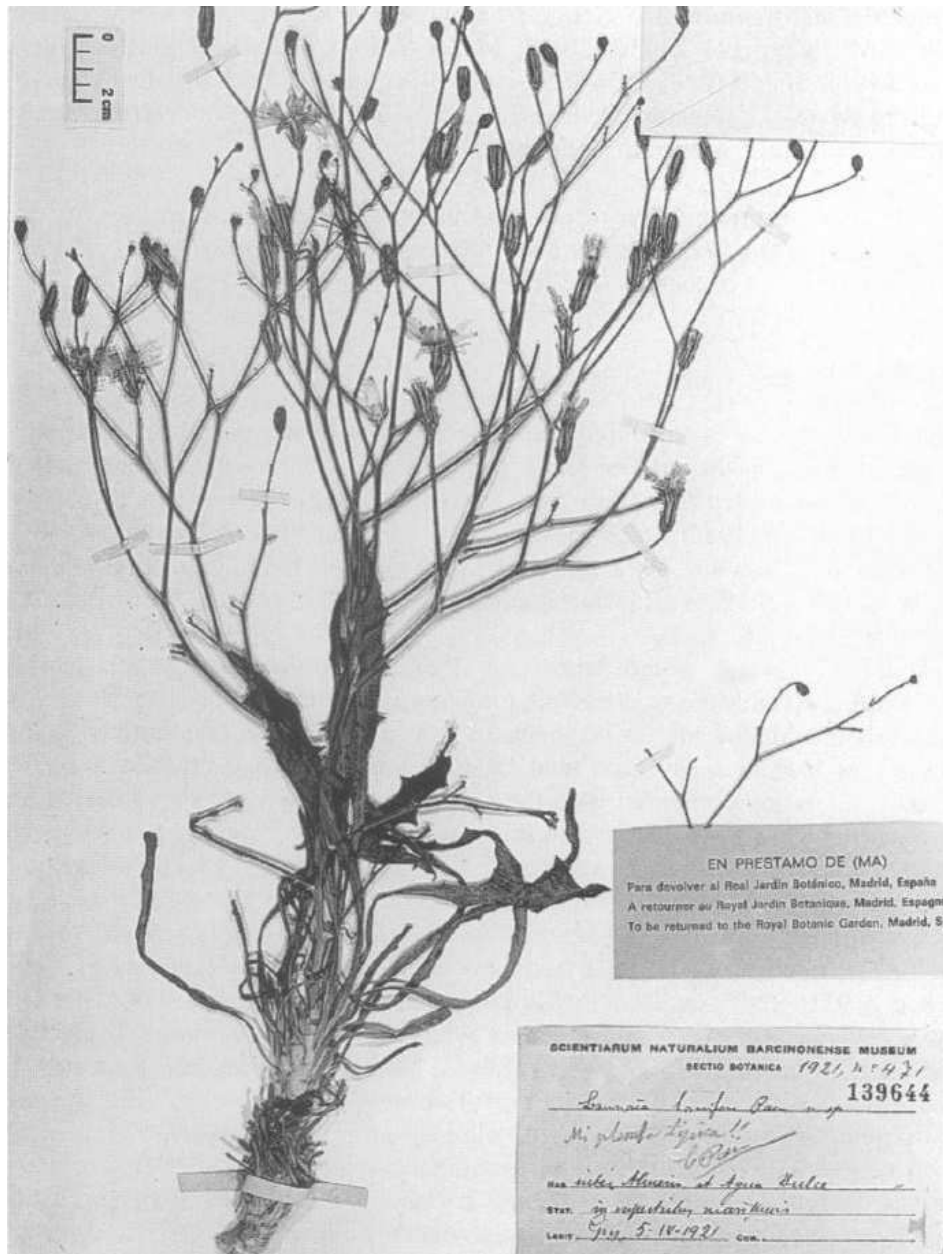


Figure 4. Holotype de *Launaea lanifera* Pau Kilian (1997)

Comme le montre la figure 5, *L. lanifera* est distribuée du sud-ouest du Maroc vers l'Est à travers les chaînes montagneuses du sud du massif de l'Atlas et les hauts plateaux presque à la frontière tunisienne. Elle pousse surtout dans les steppes arides algériennes supérieures (Kilian *et al.*, 1995) et elle atteint la côte méditerranéenne dans la région qui s'étend entre Al Hoceima au Maroc et Oran en Algérie, cette région est caractérisée par une diminution des précipitations en comparaison avec les zones côtières adjacentes (Kilian, 1997). Sa distribution est plus étendue au-delà de la mer Méditerranée dans les régions arides du sud-est de l'Espagne (Sánchez-Gómez *et al.*, 2011).

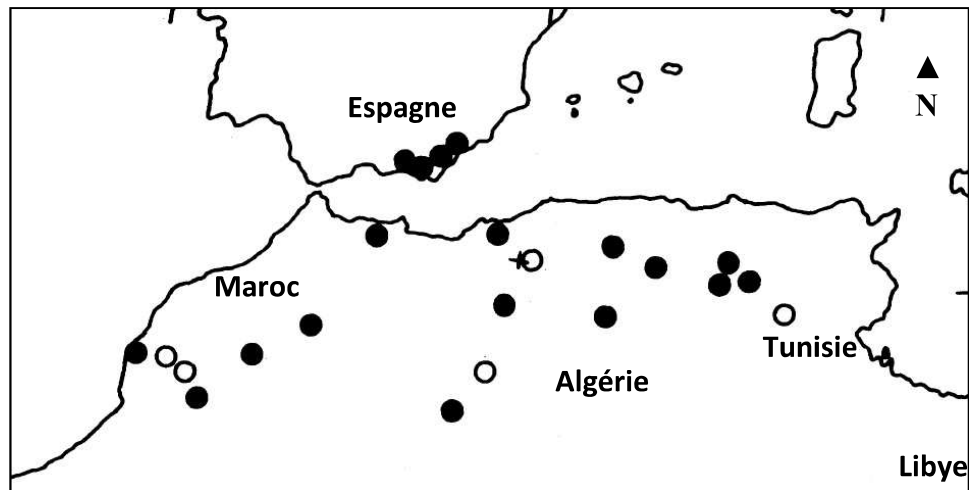


Figure 5. Carte de distribution de *Launaea lanifera* Pau (Kilian, 1988), modifiée

○ : Selon citations, ● : spécimen (herbarium)

III.3.3. Propriétés et utilisation

Traditionnellement, les espèces de *Launaea* ont été utilisées en Afrique du Nord pour le traitement de plusieurs maladies, en particulier celles du foie (Auzi *et al.*, 2007), des poumons et de l'estomac, ainsi que pour guérir les plaies infectées (Cheriti *et al.*, 2012). Quelques espèces sont utilisées en Inde pour le traitement du rhumatisme (Parekh et Chanda, 2006). *Launaea acanthodes* est une plante utilisée dans la médecine populaire d'Iran comme une hypoglycémiante (Ameneh *et al.*, 2015). Les racines de *L. nudicaulis* sont utilisées en Pakistan pour soulager le mal aux dents (Rashid *et al.*, 2000).

D'après Cheriti *et al.* (2012), plusieurs espèces du genre *Launaea* sont largement utilisées en médecine traditionnelle d'Algérie dans leurs régions de distribution: *Launaea residifolia*, connue sous le nom de "Lemkar", est utilisée pour soulager les douleurs hépatiques. *L. nudicaulis*, appelée en Algérie "Reghama", est utilisée en cas des troubles du tractus gastrointestinal, en cas de la fièvre infantile et dans certaines affections cutanées comme l'eczéma. *L. arborescence* (nom vernaculaire: "Oum Lbina") est utilisée traditionnellement pour le traitement des maladies de l'appareil digestif et pour lutter contre certaines helminthiases chez les enfants. Le latex de cette espèce est appliqué localement pour guérir les maux de gorge et dans le traitement des furoncles.

Dans les régions sahariennes, certaines plantes de ce genre sont appelées "Marar", dérivé du mot "Murr", qui signifie «amer» à cause de l'amertume qu'il confère au lait des chameaux qui broutent sur elle (Mandaville, 2011).

III.3.4. Travaux antérieurs

De nombreuses études ont déjà été réalisées pour étudier la composition chimique des différentes espèces de *Launaea*. Cependant, la plupart de ces enquêtes ont été centrées sur des extraits bruts obtenus par les solvants organiques.

Les effets de l'extrait hydro-alcoolique de *Launaea acanthodes* ont été étudiés sur la structure des tubules séminifères et les niveaux sériques de testostérone et de gonadotrophine chez les rats hyperglycémiques. Il a été suggéré que l'administration de cet extrait a eu un impact bénéfique dans la protection des testicules contre les effets pathogènes et dégénératifs de l'hyperglycémie. Il a été conclu que certains composés actifs dans l'extrait de cette plante sont

capables de compenser certains effets négatifs de l'hyperglycémie sur les testicules. Une partie d'effets positifs de l'extrait peut être attribuée au potentiel antioxydant des composés flavonoïdes. A cet égard, il a été démontré que, du fait de posséder des effets antioxydants, les flavonoïdes peuvent entraîner une augmentation des niveaux accrus de testostérone sérique par la réduction des radicaux libres d'oxygène chez les rats diabétiques ainsi que le nombre et la motilité des spermatozoïdes (Ameneh *et al.*, 2015).

Les différents extraits, polaires (les extraits hydro alcooliques, de l'acétate d'éthyle et de butanol) et non polaires (les extraits de chloroforme et de l'éther de pétrole) des parties aériennes de *Launaea nudicaulis* ont été testés pour leur activité antibactérienne, sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les trois extraits polaires ont montré une bonne activité contre les bactéries à Gram + et à Gram-, alors que les extraits non polaires n'ont montré aucune activité antibactérienne (Al-Mahrezi *et al.*, 2011).

Le potentiel neuropharmacologiques de l'extrait éthanolique de *Launaea resedifolia* a été évalué sur les animaux du laboratoire. Cet extrait a présenté un effet inhibiteur sur l'activité locomotrice des souris, un effet anti-nociceptif et une activité anti-inflammatoire (Auzi *et al.*, 2007).

Il a été démontré, dans une étude sur *Launaea procumbens*, que la fraction méthanolique et la fraction d'acétate d'éthyle de cette plante ont une phytotoxicité importante, ces extraits réduisent le développement des racines et des parties aériennes des plantes cultivées, ce qui pourrait être du à la présence de substances allélochimiques (Khan *et al.*, 2011).

Il a été démontré aussi que l'extrait méthanolique de *L. procumbens* protège de manière significative le foie contre les dommages oxydatifs par restauration de l'activité des enzymes antioxydantes et la peroxydation lipidique (Khan *et al.*, 2012a).

Dans une étude effectuée par Khan *et al.* (2012b) sur *L. procumbens*, les extraits méthanoliques bruts de la plante entière et ses différentes fractions (n-hexane, acétate d'éthyle et chloroforme) ont montré une activité antioxydante considérable *in vitro*, cette activité est attribuée aux composés phénoliques et polyphénoliques tels que la myricétin, la catéchine, la vitexine, l'orientin, l'hyperoside et la rutine.

Makasana *et al.* (2014) ont démontré l'effet antiurolithiatique de l'extrait méthanolique brut des feuilles de *L. procumbens*. Cet extrait peut prévenir le dépôt de cristaux d'oxalate de calcium dans le rein en prévenant les dommages par peroxydation induite à la surface de la membrane tubulaire rénale, qui, à son tour peut empêcher la fixation de l'oxalate crystal de calcium et le développement ultérieur des calculs rénaux.

Une autre étude sur les feuilles de la même espèce (*L. procumbens*) à été menée par Reddy & Mishra (2012) pour évaluer le profil phytochimique et l'activité antibactérienne de quatre extraits différents (méthanolique, éthanolique, chloroformique et aqueux). L'activité antibactérienne a été déterminée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) contre 4 souches de bactéries pathogènes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*. L'extrait méthanolique a montré l'activité maximale contre presque toutes les espèces de bactéries, tandis que l'activité minimale a été notée pour l'extrait aqueux. Le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique a révélé la présence d'alcaloïdes, des phénols, des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes et des triterpènes glycosides.

En Algérie, Moussaoui *et al.* (2010) ont testé l'activité antimicrobienne de l'extrait n-butanolique de *Launaea resedifolia* sur 11 souches bactériennes et un champignon. Ils ont constaté que l'effet le plus puissant était contre *Morganii Morganella*, *Streptococcus sp.*, *Enterobacter sp.* et *Proteus mirabilis*.

Dans une enquête phytochimique sur *Launaea arborescens*, une endémique algérienne, l'analyse des extraits de l'éther de pétrole a conduit à l'isolement d'une série de terpènes tri et sesquiterpènes à partir des parties aériennes et racinaires (Bitam, 2011). L'analyse de la fraction butanolique de l'extrait hydroacétonique de cette plante à été effectuée par Sekkoum *et al.* (2014) et à conduit à l'isolement de nouveaux flavonoïdes.

Une autre espèce, *L. glomerata*, a fait l'objet d'une étude effectuée par Zellagui *et al.* (2012a). Les extraits obtenus par l'éther de pétrole de cette plante ont été analysés et testés pour leurs activités contre des souches bactériennes à Gram + (*Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*) et d'autres à Gram- (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus merabilis* et *Klebsiella pneumoniae*). Les résultats ont révélé la présence de certains groupes chimiques tels que des flavonoïdes, des stéroïdes, des triterpènes, des saponines et des caroténoïdes. L'activité antibactérienne n'était pas importante.

Une étude est menée en Espagne par Giner *et al.* (1992) sur les extraits méthanoliques de trois espèces, *L. resedifolia*, *L. arborescens* et *L. acanthoclada* (*L. lanifera*). Cette étude a montré que ces trois espèces sont chimiquement semblables, les composés isolés ont été: le lutéoline, le lutéoline-7-O-glucoside, le lutéoline-7-O-rhamnoside, le apigénine-7-O-glucoside, l'esculétine, le 7-glucoside (cichoriin), l'acide férulique et le méthyl-cafféate, et les différences entre eux ne sont que quantitatives. Le principal composé est la cichoriin et le reste des constituants phénoliques se trouvent en petites quantités.

Les extraits méthanoliques et éthanoliques de *L. resedifolia* et *L. nudicaulis* ont été testés sur quelques souches bactériennes, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella Pneumoniae* et sur l'espèce fongique *Aspergillus spp.* Une activité inhibitrice importante a été notée surtout sur *B. subtilis* (Rashid *et al.*, 2000).

Au meilleur de notre connaissance, très peu de recherches ont étudié les huiles essentielles des espèces du genre *Launaea*. Pour les espèces présentes en Algérie, seules les huiles essentielles de *L. arborescens* et *L. resedifolia* (*L. fragilis*) ont été étudiées.

Les analyses chimiques par GC-MS a permis l'identification de 86,68% de la composition totale de l'huile essentielle de *L. resedifolia* (*L. fragilis*) et 19 composés volatils ont été identifiés. Les composés identifiés sont principalement des esters, des alcools, des cétones et des terpènes. Les principaux constituants sont le dioctylphtalate (39,84%), l'acide décanoïque, l'ester décyclique (12,09%), le 11-octadecenal (11,24%), et l'eucalyptol (07.31%), tandis que d'autres constituants étaient présents en quantités relativement faibles. Cette huile révèle une activité antibactérienne *in vitro*, confirmée par les diamètres de la zone d'inhibition (11 à 37 mm) et par la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI : 0,09 - 0,69) en fonction du micro-organisme testé (Zellagui *et al.*, 2012b).

Dix-sept composés, dont les monoterpènes oxygénés, les alcools, les aldéhydes, et des esters, ont été identifiés dans l'huile essentielle des parties aériennes de *L. arborescens*, ce qui représente 84,96% de l'huile totale. Les esters ont été les plus dominant dans l'huile (58,24%) avec du dioctylphtalate (38,6%) et de l'acide décanoïque, l'ester décyclique (12,07%). La partie terpénoïde est composée de deux monoterpènes oxygénés qui représente 7,24% de l'huile et les aldéhydes constituent 16.09 % (Cheriti *et al.*, 2006).

En outre, un autre travail de recherche sur la composition de l'huile essentielle de *L. nudicaulis* qui se développe à Oman a également été publié (Al-Mahrezi *et al.*, 2011). L'huile essentielle des parties aériennes de cette plante a été analysée par GC-MS. Dix-sept constituants ont été identifiés, les principaux constituants sont: le limonène, le *Z*-citral et l'*E*-citral.

III.4. *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze

(Famille : Plumbaginaceae)

III.4.1. Présentation du genre *Limonium*

Le genre *Limonium* (famille Plumbaginaceae) est représenté par 150 espèces approximativement (Erben, 1979).

Brullo & Erben (1989) ont cité 36 espèces du genre *Limonium* répertoriées en Tunisie. Erben (1979) a cité quelques espèces abondantes et caractéristiques des pays de nord d'Afrique.

Limonium fallax (Wangerin) Maire, Maroc

Limonium tunetanum (Barratte & Bonnet) Maire, Tunisie

Limonium fradinianum (Pomel) Erben, Algérie

Limonium sebkarum (Pomel) Maire, Algérie

Limonium pomelianum (Rouy) Erben, Algérie

Limonium linguum (Pomel) Pons & Quézel in Quézel & Santa, Algérie

Limonium multiceps (Pomel) Erben, Algérie

Limonium chrysopotamicum Maire, Maroc

Limonium arboreum (Willd.) Erben, îles les Canaries, Espagne

Limonium frutescens (Webb ex Lem.) Erben, îles les Canaries, Espagne

Limonium bonduellei (Lestib.) Kuntze, Maroc, Algérie

Limonium bonduellei (Lestib.) Kuntze est actuellement le nom accepté de cette plante (Brullo & Erben, 1989 ; Karis, 2004).

Synonyme :

Statice bonduellei T. Lestib. (Karis, 2004),

Limonium sinuatum (L.) Mill. subsp. *bonduellei* (T. Lestib.) Sauvage & Vindt (Quézel et Santa, 1962).

III.4.2. Biologie et écologie

C'est une plante annuelle, herbacée buissonnante, caractérisée par son calice jaune remarquable, les pétales apparaissent souvent rigides. Ses feuilles lobées forment une rosette basale au centre de laquelle se dressent des tiges (fig. 6) ne dépassant pas 60 cm de haut (Karis, 2004).

Ce genre est distribué le long des côtes, dans les steppes, et dans les déserts de tous les continents, la plus grande partie est localisée dans les régions méditerranéennes Ouest (Erben, 2012), d'où elle est originaire (Sykes, 1981).

En raison de leur faible capacité concurrentielle, la majorité des espèces du genre *Limonium* sont des halophytes facultatives et elles s'installent facilement dans des sols salins ou en haute concentration en minéraux (Erben, 1979 ; Grigore *et al.*, 2014).

Les halophytes sont caractérisées par une grande plasticité physiologique, puisqu'elles s'installent dans des environnements extrêmes, elles doivent développer des systèmes d'adaptation pour résister à des changements fréquents dans le niveau de salinité. Parmi les mécanismes adaptatifs, les halophytes synthétisent des métabolites bioactifs, issus du métabolisme primaire et secondaire (Öztürk, 2014).



Figure 6. Illustration de *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze (Brongnaert & Decaisne, 1851)

III.4.3. Propriétés et utilisations

Plusieurs plantes halophytes ont traditionnellement été utilisées à des fins médicales et nutritionnelles et plusieurs espèces du genre *Limonium* sont utilisées en médecine traditionnelle dans différents pays du monde.

En Tunisie, certaines espèces sont utilisées traditionnellement pour le traitement de l'hémorragie, les troubles menstruels chez les femmes (Ksouri *et al.*, 2012), la fièvre, l'arthrite et les rhumatismes (Aniya *et al.*, 2002), elles possèdent des propriétés cardioprotecteurs, anti-inflammatoires et antibactériennes (Murray *et al.*, 2004).

Dans la médecine populaire chinoise, *L. sinense* est une plante utilisée pour le traitement de la fièvre, l'hémorragie, l'hépatite et d'autres troubles. Récemment, il a été constaté que les polysaccharides bruts de cette plante possèdent une activité anti-tumorale significative (Tang *et al.*, 2014).

III.4.4. Travaux antérieurs

Plusieurs études ont été effectuées pour l'étude phytochimique des différentes espèces du genre *Limonium*. La plupart de ces recherches ont été portées sur des extraits des solvants organiques.

L'activité antioxydante de l'extrait d'acétate d'éthyle de *L. Bonduellei* et ses constituants: l'ériodictyol, la lutéoline, l'apigénine et l'acide 4-hydroxy-3-méthoxy, ont été étudiés *in vitro*. Le contenu phénolique et des flavonoïdes ont été déterminés et l'inhibition de la formation de malondialdéhyde et le balayage de DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) ont été analysés. Les flavonoïdes purs ont montré un effet antioxydant élevé (Benaïssa *et al.*, 2013).

La composition chimique de la plante halophyte *L. echioides* a fait l'objet d'une étude en Tunisie (Saïdana *et al.*, 2008). Soixante-cinq composés ont été identifiés, l'acide palmitique a été trouvé en tant que composé prédominant. L'huile essentielle a inhibé la croissance des bactéries, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*, mais aucun effet antibactérien a été observé sur *Pseudomonas aeruginosa*. L'huile ne possède pas une activité antifongique.

Une évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes *in vitro* de 10 extraits différents de *L. delicatulum* a été effectuée par Medini *et al.* (2014a), cette plante a été récoltée au sud de la Tunisie et a montré une variabilité dans la quantité des phénols et de l'activité biologique selon le stade de développement. La plante au stade de floraison été riche en métabolites et très active biologiquement. Les extraits méthanoliques, éthanoliques et acétoniques avait une activité antioxydante très importante. Une activité antibactérienne de l'extrait éthanolique est trouvée contre la bactérie *Salmonella*. Les principaux composés phénoliques sont l'acide p-coumarique et l'acide chlorogénique.

Dans une autre étude en Tunisie, les activités biologiques des différents extraits liés à leurs contenus phénoliques d'une autre halophyte (*L. densiflorum*) ont été étudiées sur des lignées cellulaires humaines et des macrophages. L'extrait méthanolique a présenté la plus forte activité antioxydante et anti-inflammatoire. L'extrait dichlorométhanolique a affiché l'activité anticancéreuse humaine la plus élevée contre le carcinome du poumon et les lignées de cellules d'adénocarcinome du côlon. L'estimation de la teneur en composés phénoliques a montré que les extraits méthanoliques et éthanoliques avaient les quantités les plus élevées. Le trans 3-hydroxycinnamique, le myricetin et l'isorhamnetin sont les composés majeurs (Medini *et al.*, 2015).

La même espèce (*L. densiflorum*) a fait l'objet d'une étude sur l'activité antivirale. Les différentes fractions obtenues par l'hexane, le dichlorométhane, l'éthanol et le méthanol, ont été testées contre le virus de la grippe H1N1 et le virus de l'herpès HSV-1. Une bonne activité antivirale a été trouvée avec des extraits d'éthanol et de méthanol sur le HSV-1. Bien que le dichlorométhane à une excellente activité antiherpétique, l'extrait d'hexane n'a aucun effet. L'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) de ces extraits a montré que les flavonoïdes et les saponines étaient les principales catégories de produits naturels trouvés et qui peuvent être responsables de ces activités antivirales (Medini *et al.*, 2014b).

Nostro *et al.* (2012) ont rapporté le contenu phénolique et l'activité antimicrobienne des inflorescences de *L. Avei* recueillie en Italie. Les extraits éthanoliques de cette plante ont présenté une activité contre les bactéries à Gram + telles que *Staphylococcus aureus*, y compris les souches résistantes à la méthicilline. En revanche, une faible activité a été trouvée sur les bactéries à Gram - et *Candida albicans*. L'analyse HPLC-DAD (High-Performance Liquid

Chromatography with Diode-Array Detection) a révélé dix acides phénoliques et quatre flavonoïdes avec une quantité importante d'acide m-coumarique, de naringine et de la quercétine.

La composition chimique des huiles essentielles de différents cultivars de *L. latifolia*, *L. x altaica* et *L. perezii* a été analysées par GC et GC-MS, cette analyse a montré une teneur élevée en composés carbonylés, surtout pour *L. perezii*, tels que le nonanal (9,8%), le phénylacétaldéhyde (2,7%) et le décanal (1.5%). Certains des composés carbonyles présents dans le profil aromatique sont issus de l'activité de la lipoxygénase sur les tissus coupés. La présence d'hydrocarbures tels que l'heneicosane (C21), le docosane (C22), le tricosane (C23), le tétracosane (C24), l'heptacosane (C27) et l'octacosane (C28) a également été mis en évidence (Soriano Cano *et al.*, 1998).

Dans une étude effectuée par Tang *et al.* (2012), les polysaccharides de *L. sinense*, qui pousse en Chine, ont montré une inhibition évidente de la croissance des tumeurs de souris transplantées. Ces polysaccharides ont également amélioré remarquablement la fonction des macrophages (phagocytose) dans les souris.

Tang *et al.* (2014) ont isolé et purifié trois polysaccharides; LSP11, LSP21, LSP31 à partir de *L. sinense* et on constaté que le LSP21 présentait l'effet anti-tumorale le plus significatif, cette effet est observé par l'inhibition dose-dépendante de la croissance des cellules HepG2 (Lignée d'hépatoblastome humain) *in vitro*.

III.5. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb

(Famille : Fabaceae)

III.5.1. Présentation du genre *Ononis*

Le genre *Ononis* est divisé dans l'ensemble en deux sections avec 22 sous sections (Sirjaev, 1932).

La section 1 : *Natrix* (Sirjaev, 1932) comporte 10 sous sections (1. *Antiquae*, 2. *Biflorae*, 3. *Maroceanae*, 4. *Mauritanicae*, 5. *Natrix*, 6. *Pilosae*, 7. *Reclinatae*, 8. *Rhodanthae*, 9. *Torulosae*, 10. *Viscosae*).

La section 2 : *Bugrana* (Sirjaev, 1932) (= *Ononis* (Turini, 2010) comporte 12 sous sections (11. *Bugranoides*, 12. *Chrysanthae*, 13. *Crinitae*, 14. *Diffusae*, 15. *Intermediae*, 16. *Mitissimae*, 17. *Ononis*, 18. *Pinnatae*, 19. *Salzmannianae*, 20. *Variegatae*, 21. *Verae*, 22. *Villosissimae*).

Actuellement, le genre comprend 86 espèces acceptées, l'espèce *Ononis angustissima* Lam. appartient à la section *Natrix* et la sous section 5. *Natrix* (Turini, 2010).

La révision la plus récente de la sous section *Natrix*, à la limite de nos connaissances, a été effectuée par Förther & Podlech (1991) dans la Macaronésie, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale adjacente. Six (6) sous espèces d'*Ononis angustissima* Lam. sont distribuées dans l'Afrique du Nord et le sud d'Espagne, il s'agit de :

1. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *angustissima* : distribuée dans les îles Canaries, Espagne.
2. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *longifolia* (Willd.) Förther & Podl. îles Canaries, Espagne
3. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *polyclada* Murb. Maroc, Algérie, Tunisie
4. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *mauritii* (Maire & Sennen) Förther & Podl. Maroc et Algérie.
5. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *falcata* (Viv) Murb. Algérie, Tunisie, Lybie
6. *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb. Algérie, Tunisie

Le centre principal de la diversité du genre *Ononis* est situé dans la partie sud de la péninsule ibérique et les zones adjacentes du nord du Maroc et de l'Algérie (Turini, 2010).

III.5.2. Biologie et écologie

Ononis angustissima Lam. subsp. *filifolia* Murb., Synonyme : *Ononis natrix* L. subsp. *filifolia* (Murb.) Sirj. (Sirjaev, 1932) est un sous-arbrisseau non visqueux, pérenne, à fleurs jaunes.

Cette espèce vivace est une chamaephyte pourvu d'une longue racine pivotante, à partir de sa base ligneuse et tortueuse, partent des rameaux dressés (fig. 7) et agglomérés pour former un dôme haut de 10-40 cm (Vanden Berghen, 1978). Les rameaux sèches des années précédentes persistent.

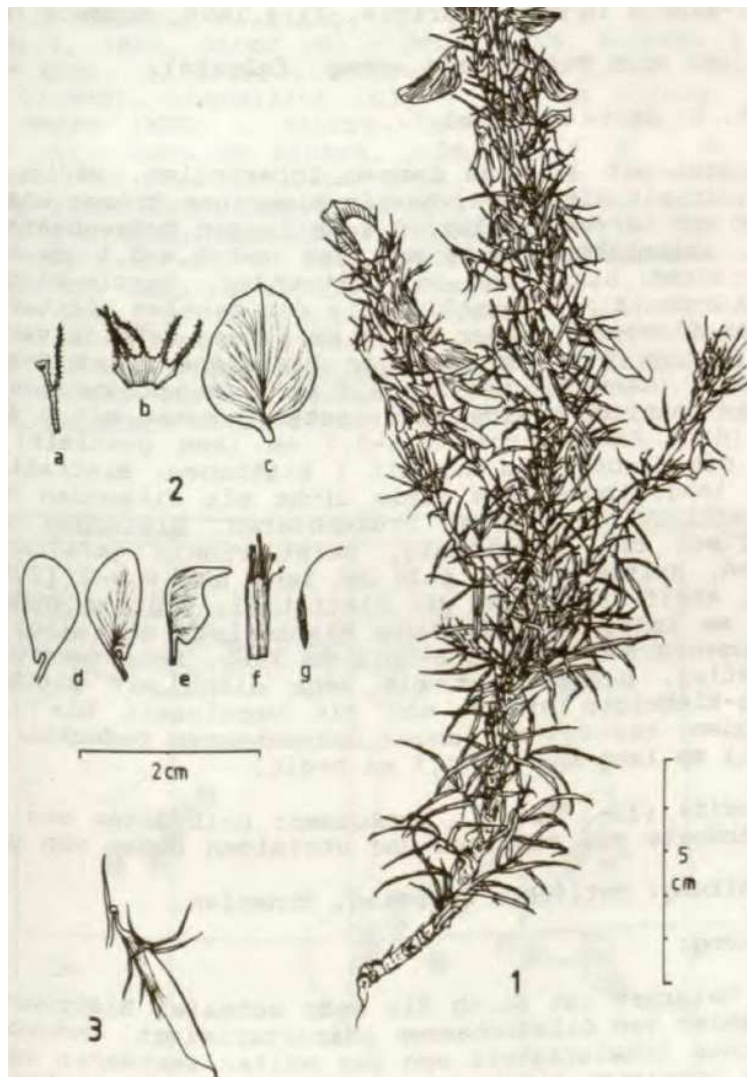


Figure 7. Illustration d'*Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb.
1. partie aérienne 2. Pièces florales 3. Fruits (Förther & Podlech, 1991)

Selon Förther & Podlech (1991), elle est endémique algéro-tunisienne. En Algérie elle est localisée seulement dans la zone est du Sahara septentrionale, et exactement dans la Wilaya de Biskra (El Kantara, El Outaya, montagne de sable près de Biskra, dunes de Biskra, Tolga) (fig. 8).



Figure 8. Distribution d'*Ononis angustissima* subsp. *filifolia* (Förther & Podlech, 1991),
modifiée

● Localité de distribution

III.5.3. Propriétés et utilisation

Cette plante est utilisée traditionnellement en Algérie pour leur propriétés hémostatiques, les parties aériennes sont utilisées en décoction (Chehma et Djebbar, 2008). En Tunisie, une autre espèce, *Ononis natrix*, est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des caries dentaires (Sassi *et al.*, 2007). En Jordanie, les plantes de ce genre sont utilisées pour leur effet hypoglycémiant (Al-Aboudi & Afifi, 2011).

III.5.4. Travaux antérieurs

La composition chimique de l'huile essentielle d'*Ononis angustissima* (Lam.) Batt. et Trab. a été analysée par GC et GC-MS, les composants identifiés constituant 78,8% de l'huile. Les principaux constituants sont l'anethol (2.4%), α -copaène (2.4%), β -selinène (2.7%), tridecan-2-one (2.2%), valencène (5.0%), α -muurolène (1.2%), γ -cadinène (3.4%), δ -cadinène (5.0%), (E)-nerolidol (1.5%), 1,10-diepicubénol (3.1%), 10-épi- α -cadinol (4.1%), β -eudesmol (7.5%), Z,Z-farnésol (8.8%), 6,10,14-triméthyl-pentadécane-2-one (3.0%) et trans-phytol (17.4%) (Youcef *et al.*, 2014).

L'huile essentielle d'*Ononis viscosa* L. subsp. *breviflora* (DC.) Nyman a été analysée par CG-MS. Quarante composés ont été caractérisés représentant 81,3% de l'huile. L'hexahydrofarnésylacétone (12,5%), le carvacrol (10,0%), l'acide laurique (8,3%), le nonanal (5,5%), l'*E*-géranylacétone (4,8%), et le dodécane (4,8%) ont été identifiés comme les principaux constituants (Erdemgil *et al.*, 2002).

Quatre flavonoïdes ont été identifiés dans l'extrait chloroformique d'*O. angustissima* récoltée dans la zone de Bechar (Bouheroum *et al.*, 2009).

L'extrait hydroéthanolique d'*O. angustissima* recueillie dans la steppe aride à Laghouat (Algérie) a été analysé pour leur contenu phénolique et a été testé pour leur activité de piégeage des radicaux. Les résultats de cette étude montrent que cette plante peut être utilisée comme une source d'antioxydants naturels. La teneur en composés phénoliques est importante; les flavonoïdes (4,24 %), les dérivés hydroxycinnamiques (0,09%) et les dérivés hydroxybenzoïques (1,37%) (Djeridane *et al.*, 2010). D'autres flavonoïdes ont été identifiés dans l'extrait hydrométhanolique de cette plante (Mezrag *et al.*, 2013).

Les huiles essentielles des deux plantes *O. Natrix* L. et *O. Sicula* ont été analysées par GC et GC-MS et testées pour leur activité antioxydante (Al-Qudah *et al.*, 2014). Soixante-dix-sept composants ont été caractérisés dans l'huile essentielle d'*O. Sicula*. L'huile a été riche en sesquiterpènes oxygénés (66,29%), en hydrocarbures sesquiterpéniques (20,10%), les principaux constituants sont le Selin-11-en-4- α -ol (12,76%) et le α -sélénène (6,27%). Parmi les 85 composés identifiés dans l'huile d'*O. Natrix*, le (2*E*,6*E*)-farnésyl (18,83%), le dodécane (12,58%) et le tiglate d'éthyle 2-phényle (5,20%) ont été les principaux constituants. L'activité antioxydante de ces huiles essentielles a été bonne à modérée.

Les huiles essentielles d'*O. natrix* recueillie dans la région de Guelmim (sud du Maroc) à été étudiée par Elamrani & Benaissa (2010). Un rendement important a été obtenu (de 0,7 à 1,3%). L'analyse de la composition chimique a révélé un total de 63 composés, ce qui représente un pourcentage d'identification de 93,3%. Les principaux composants étaient l'acétone farnésyle (27,3%), l'acétone de géranyle (20,3%), le thymol (13,7%) et le camphore (5,5%). L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cette plante a été évaluée sur six souches bactériennes: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enteritidis*. Deux souches ont montré une sensibilité significative : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Escherichia coli* (ATCC 25922).

L'huile d'*O. natrix* L. récoltée dans la région d'Al Hoceima au nord du Maroc a été analysée par GC et GC-MS. Vingt-six Constituants ont été identifiés, comprenant des mono- et des hydrocarbures sesquiterpéniques (54,4%), des terpènes oxygénés (14,2%) et le thymol (2,9%). Les composants principaux de l'huile ont été le camphore (16,2%) et le p-caryophyllène (9%) (Khallouki *et al.*, 2002).

La composition chimique et l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Ononis natrix* ont été étudiées par Mhamdi *et al.* (2014). Cette plante récoltée en Tunisie a montré des taux élevés des phénols totaux et des flavonoïdes. La composition chimique a révélé la présence de la quercétine (24,5%), l'amentoflavone (14,1%), les flavones (11,3%) et le kaempférol (10,5%). L'extrait des feuilles a montré une activité antioxydante élevée et un large spectre d'activité contre tous les microorganismes testés avec des diamètres des zones d'inhibition bactérienne allant de 8,5 à 17 mm.

Cinq extraits (aqueux, butanolique, chloroformique, résineux et hexanique) de l'espèce *Ononis pubescens* L. récoltée en Espagne ont été criblés par un test pharmacologique multidimensionnel chez des rats. Une action dépressive sur le système nerveux central a été observée pour tous les extraits en même temps que l'apparition d'actions pharmacologiques spécifiques (analgésie, hypoglycémie) (Montero *et al.*, 1988).

Hamdan & Afifi (2008) ont montré que l'extrait hydrométhanolique d'*O. natrix* L. récoltée en Jordanie possède une activité hypoglycémiant et une activité inhibitrice de l' α -amylase *in vitro*.

Une enquête sur la cytotoxicité et l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*O. serrata*, une plante médicinale en Arabie Saoudite a été menée par Kuete *et al.* (2013). Cette étude a ainsi recensé les effets de l'extrait de cette plante sur la distribution du cycle cellulaire, l'apoptose et la fonction mitochondriale dans des lignes cellulaires leucémiques humaines. Les résultats ont montré que l'utilisation de cette plante est possible pour le contrôle des maladies cancéreuses.

Une analyse quantitative des stérols et des triterpène (terpénoïde) a été réalisée (Daruházi *et al.*, 2008) sur différentes fractions (chloroforme, hexane, éthanol et éthyle acétate) des racines d'*O. spinosa* L. les stérols (b-sitostérol, campestérol, stigmastérol, stigmatéstan-3,5-diène) et les dérivés triterpéniques (b-amyrine et un onocerin) ont été identifiés.

Deuxième Partie

Partie expérimentale

Chapitre 4

Matériel et méthodes

IV.1. Présentation de la région d'étude

IV.1.1. La zone aride inférieure en Algérie

En Algérie, toutes les hautes plaines qui sont situées entre l'Atlas tellien et l'Atlas saharien appartiennent à la zone aride moyenne ou supérieure, à l'exception du centre de la dépression hodnéenne. La zone aride inférieure, qui est appelée aussi présaharienne ou sub-désertique, comprend les piedmonts sud de l'Atlas saharien, sur une largeur de 20 à 50 km, elle s'étend de l'est vers l'ouest entre Khangat Sidi Naji dans la wilaya de Biskra et Béchar dans la wilya de Béchar en passant par Biskra, El Bayadh, Laghouat, Ouled Djellal et Aïn Sefra (Le Houérou, 1995).

IV.1.2. La région Nord de Sahara algérien

L'Afrique du Nord est caractérisée par deux régions floristiques: la région méditerranéenne et la région saharo-sindienne, ou saharo-arabienne (Zohary, 1973). Brown (1974) a caractérisé cinq secteurs phytogéographiques dans le Sahara; le Sahara océanique et occidental, le Sahara central, les hauts montagnes sahariens, le Sahara méridional et enfin le Sahara septentrional ou le Nord du Sahara. Ce dernier secteur est constitué de deux grandes régions : le nord-ouest du Sahara et le nord-est, la région de Biskra appartient à cette dernière. Quézel (1978) a donné une division plus détaillée, du point de vue phytogéographique, de l'Afrique du nord (fig 9).

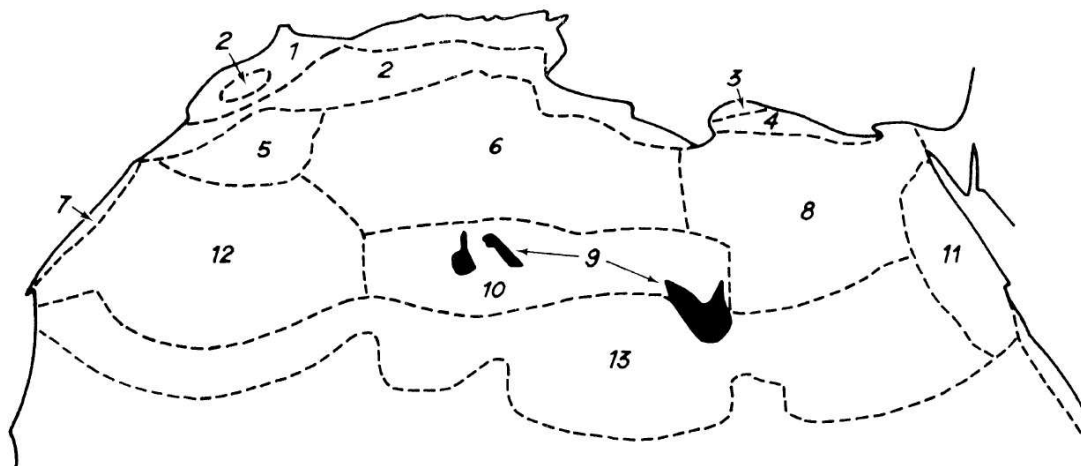


Figure 9. Divisions phytogéographiques de l'Afrique méditerranéenne et l'Afrique subsaharienne (Quézel, 1978).

1. Le domaine méditerranéen-Nord africain.
2. Le domaine steppique-Nord africain.
3. Le domaine Cyrénéen-méditerranéen.
4. Le domaine steppique-est africain.
5. Le domaine Saharien nord-ouest.
6. Le domaine Saharien nord.
7. Le domaine saharien océanique.
8. Le domaine saharien nord-est.
9. Le domaine de hautes montagnes sahariennes.
10. Le domaine saharien central.
11. Le domaine saharien est.
12. Le domaine saharien ouest.
13. Le domaine saharien sud.
14. Le domaine sahélien nord.

La végétation du Sahara est décrite comme étant très clairsemée avec des herbes et de petits arbustes, sauf dans des zones limitées où l'humidité est plus abondante, des arbustes et des arbres plus grands apparaissent. Les végétaux éphémères (période de vie très courte) sont largement dispersés dans le désert et plus abondamment dans le nord du Sahara. Le grand désert central est stérile de la végétation (Brown, 1974).

IV.2. Préparation du matériel végétal

IV.2.1. Récolte et identification

IV.2.1.1. Récolte

Nous avons recueilli les plantes à différentes localités (fig. 10) dans la région d'étude. Les parties recueillies et celles utilisées se diffèrent d'une plante à une autre. Le séchage est effectué à une température ambiante pendant un mois, sauf pour *C. phelypaea* qui a été laissée 45 jours jusqu'au séchage complet.

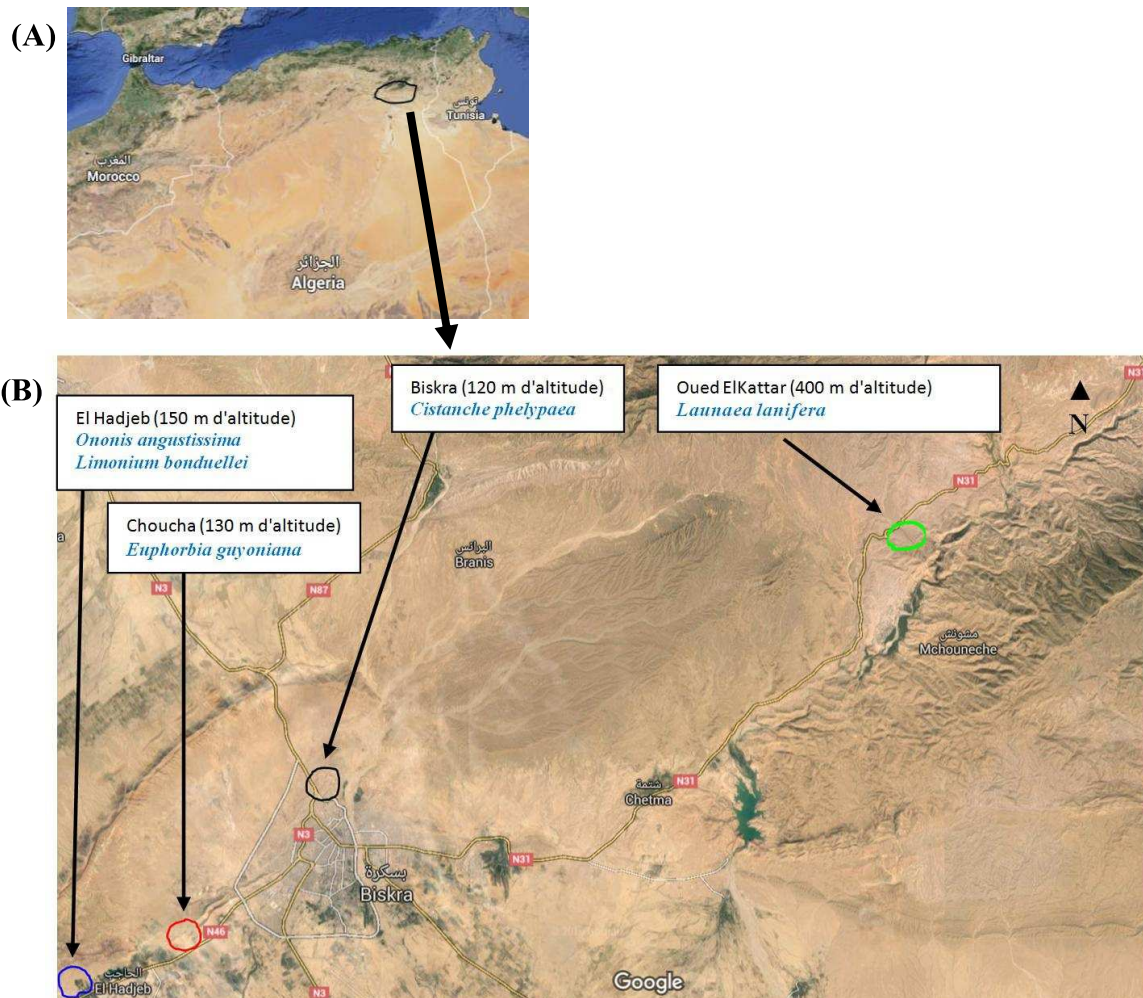


Figure 10. Images satellites montre les 4 localités des plantes recueillies www.google.dz/maps [15/05/2016]

(A). Algérie, (B). Région de Biskra et une partie des Aurès

***Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.**

Cette plante parasite ne s'observe qu'au stade de la floraison (fig. 11), les parties aériennes ont été recueillies dans un terrain dominé par des touffes de l'atriplex (*Atriplex halimus*), elle est recueillie pendant le mois d'avril 2014, juste à coté de la ville de Biskra (120 m d'altitude). Le matériel végétal recueilli se compose principalement de fleurs entières.

Euphorbia guyoniana

Cette plante a été recueillie en 2014 dans une zone caractérisée par un sol sableneux. Le recueil est effectué pendant le mois de février à Choucha, située à 10 km à l'ouest de la ville de Biskra (130 m d'altitude), la plante été au stade de la floraison (fig. 12). Le matériel végétal recueilli se compose principalement de fleurs et de branches, et une petite quantité de feuilles.

***Launaea lanifera* Pau**

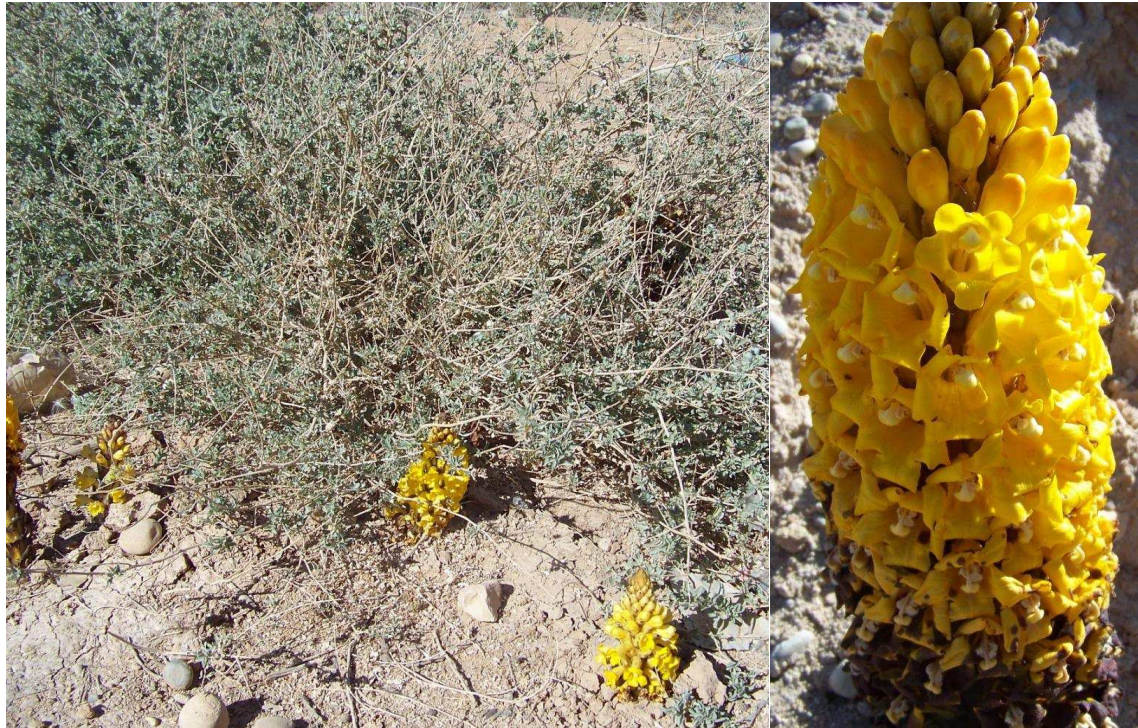
Les fleurs, les branches d'inflorescences sont les parties majoritaires utilisées de cette plante, en plus d'une petite quantité des feuilles. La zone de récolte (El Kattar, 400 m d'altitude), située à 40 km au nord est de la wilaya de Biskra dans la région des Aurès est caractérisée par un sol rocheux. La plante est recueillie pendant le mois d'avril 2014. Le matériel végétal récolté se compose principalement de fleurs et de branches d'inflorescences. Les branches sèches des années précédentes (fig. 13) ont été éliminées.

***Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze (Famille : Plumbaginaceae)**

Les parties aériennes constituées par des inflorescences et des bractées (fig. 14) ont été recueillies pendant le mois de mai 2014, à El Hadjeb (150 m d'altitude), situé à 20 km à l'ouest de la ville de Biskra. Le matériel végétal recueilli se compose principalement des inflorescences (fleurs et bractées).

***Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb (Famille : Fabaceae)**

Cette plante a été recueillie aussi à El Hadjeb (150 m d'altitude) et au stade de la floraison (fig. 15), mais pendant le mois de mars 2014. C'est les parties aériennes (fleurs, tiges et feuilles) qui ont été recueillies aussi. Le matériel végétal de cette plante qui est utilisé par la suite se compose principalement de fleurs et de feuilles.



(A) (B)
Figure 11. Photos de *Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout. dans la région de Biskra (Algérie) (02.04.2014)

(A). Des plantes d'*Atriplex halimus* parasitées par *C. phelypaea*
 (B). Une tige (partie aérienne) fleurie de *C. phelypaea*



(A) (B)
Figure 12. Photos d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. dans la région d'El Hadjeb, Biskra (Algérie) (10.02.2012)

(A). La plante en stade de floraison
 (B). Un zoom sur les différentes parties aériennes



(A)

(B)

Figure 13. Photos de *Launaea lanifera* Pau dans la région d'El Kattar, Biskra (Algérie) (24.04.2014)

(A). La plante en stade de floraison dans un sol rocheux

(B). Les nouvelles inflorescences et les inflorescences épineuses lignifiées



(A)

(B)

Figure 14. Photos de *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze dans la région d'El Hadjeb, Biskra (Algérie) le 05.05.2014

(A). La partie basale

(B). Les inflorescences



(A)

(B)

Figure 15. Photos d'*Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb. dans la région d'El Hajeb, Biskra (Algérie) le 13.02.2011

(A). Des plantes en stade de floraison

(B). Des tiges fleuries et des tiges sèches de l'année précédente

Des spécimens sont déposés dans un herbier personnel au département des sciences de la nature et de la vie, université de Biskra, Algérie, sous les codes :

Launaea lanifera Pau (AST-010-4-2014).

Euphorbia guyoniana Boiss. et Reut. (EUP-011-2-2014).

Limonium bonduellei (Lestib.) Kuntze (PLA-012-4-2014).

Cistanche phelypeaea (L.) P. Cout. (ORO-013-4-2014).

Ononis angustissima Lam. subsp. *filifolia* Murb (FAB-014-3-2014).

IV.2.1.2. Identification

Les plantes étudiées ont été identifiées conformément aux ouvrages publiés,

- *Launaea lanifera* (Kilian *et al.*, 1995 ; Kilian, 1997 ; Vogt & Oberprieler, 2012)
- *Limonium bonduellei* (Lledó *et al.*, 2005 ; Erben, 2012 ; Teani *et al.*, 2012)
- *Euphorbia guyoniana* (Boissier & Heyland, 1866 ; Quézel et Gast, 1997)
- *Cistanche phelypeaea* (Quézel et Santa, 1962 ; Paiva *et al.*, 2001)
- *Ononis angustissima* (Sirjaev, 1932 ; Vanden Berghen, 1978 ; Förther & Podlech, 1991 ; Turini, 2010).

Et ont été authentifiées par des botanistes :

- Dr. Norbert Kilian, chef du groupe de recherche Asterales, jardin botanique et musée botanique Berlin–Dahlem, Freie Universitaet Berlin, Allemagne (communication privée).
- Dr. Matthias Erben, Université Ludwing-Maximilians de Munich, département de biologie I, botanique, systématique et mycologie, Menzinger, Allemagne (communication privée).
- Pr. Laouer Hocine, département de biologie et d'écologie végétale, Faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Sétif 1, Algérie (directeur de cette thèse).

IV.3. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par distillation. La méthode choisie est celle de l'entraînement à la vapeur d'eau, elle est réalisée pendant 5 heures en utilisant un appareil de Clevenger. Le procédé d'extraction est le suivant:

La vapeur d'eau générée à partir d'un ballon (2000 ml d'eau distillée) passe à travers une ampoule modifiée (2000 ml) à double ouvertures, contenant une quantité de la matière végétale (1000g). La vapeur chargée des huiles essentielles atteindre ensuite l'appareil Clevenger où elle est condensée.

Des quantités différentes des plantes sèches ont été utilisées et l'opération a été répétée selon la quantité : 5000g de *Launaea lanifera* (5 fois), 3000g de *Cistanche phelypaea* (3 fois), 3000g de *Limonium bonduellei* (3 fois), 4000g d'*Ononis angustissima* (4 fois) et 3000g d'*Euphorbia guyoniana* (4 fois).

A chaque fois, l'huile, y compris celle qui reste adhérente aux parois de l'appareil Clevenger, a été récupérée par décantation après addition d'éther diéthylique (C₂H₅)₂O (Biochem Chemopharma, Cosne sur Loire, France). Après évaporation du solvant, l'huile a été stockée à 4 °C dans un flacon en verre opaque.

Détermination des rendements en huiles essentielles

Les rendements ont été déterminés en % par rapport aux poids des plantes sèches utilisées.

Le rendement (masse / masse) : poids de l'huile / poids du matériel végétale sec

IV.4. L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles

IV.4.1. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC)

Les analyses GC ont été effectuées sur un appareil HP-5890 Series II (Hewlett-Packard Company, Wilmington, USA) équipé avec des colonnes capillaires DB-WAX et DB-5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm d'épaisseur de la paroi). Les paramètres de l'analyse étaient les suivants:

- la température du four est programmée de 60 °C à 240 °C (3 °C / min),
- la température d'injection et de détection est de 220 °C,
- l'hélium est utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 2 ml / min,
- l'appareil est couplé à un détecteur de type Flamme Ionization Detector (FID),
- Le volume injecté est de 0,5 μl dans une solution d'hexane à 10% de l'huile, le rapport split ratio est de 1:30.

L'identification des composants a été effectuée, pour les deux colonnes, par :

- comparaison de leur temps de rétention avec ceux des échantillons authentiques purs et
- comparaison de leurs indices linéaires de rétention (l.r.i.) calculés par rapport à une série des n-alkanes (C8-C25) (Fluka, Buchs / SG, Suisse).

IV.4.2. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse par impact électronique (GC-EIMS)

Les analyses GC-EIMS ont été effectuées avec un chromatographe en phase gazeuse Varian CP-3800 (Varian, Walnut Creek, CA, USA) équipé d'une colonne capillaire DB-5 (30 mx 0,25 mm; épaisseur de revêtement de 0,25 μm) et un détecteur ion trap mass Varian Saturn 2000. Les conditions analytiques étaient:

- les températures de l'injecteur et des lignes de transfert sont de 220 et 240 °C, respectivement;
- la température du four est programmée de 60 °C à 240 °C (3 °C / min);
- le gaz vecteur est l'hélium, débit : 1 ml / min;
- Le volume injecté est de 0,2 μl dans une solution d'hexane à 10% de l'huile;
- Le rapport split ratio est de 1:30.

L'identification des constituants a été basée sur :

- la comparaison de leur temps de rétention avec ceux des échantillons authentiques,
- la comparaison de leurs indices linéaires de rétention par rapport à la série des n-alkanes (C8-C25) (Fluka, Buchs / SG, Suisse),
- et sur ordinateur par rapport à une base de données commerciale (NIST 02 et ADAMS) et une bibliothèque de spectres de masse propre du laboratoire (Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, via Bonanno Pisano 6, 56126 Pisa (PI), Italy) construite à partir de substances et composants d'huiles connus et des données de la littérature sur la MS (Stenhagen *et al.*, 1974 ; Massada, 1976 ; Jennings & Shibamoto, 1980 ; Swigar & Silverstein, 1981 ; Davies, 1990 ; Adams, 1995).

IV.5. Les tests de l'activité antibactérienne

IV.5.1. Les souches bactériennes

Nous avons testé quatre souches bactériennes.

Deux à Gram négatif

- *Escherichia coli* ATCC 25922

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Et deux à Gram-positif

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

Les bactéries ont été obtenues à partir de la collection d'isolats de bactéries référencées (ATCC : American Type Culture Collection) du laboratoire de bactériologie du centre hospitalier universitaire Benbadis, Constantine, Algérie.

Ces bactéries sont régulièrement utilisées dans la sélection préliminaire des extraits de plantes pour l'activité antibactérienne et pour les tests de résistance aux antibiotiques (Washington, 1985 ; Lorian, 2005, Ahmad *et al.*, 2006).

L'activité antibactérienne *in vitro* des 5 huiles essentielles a été réalisée suivant la méthode de diffusion à partir de disque sur milieu de culture solide (Ait-Ouazzou *et al.*, 2012). Le milieu utilisé est la gélose Mueller-Hinton (MH) (Biochem Chemopharma, Cosne sur loire, France).

Tout d'abord, à partir de cultures jeunes sur gélose MH, nous avons préparé une suspension de chaque souche bactérienne dans l'eau physiologique stérile à une

concentration finale d'environ 10^6 unités formant colonie (UFC) / ml mesurée par la méthode turbidimétrique (Goldman & Green, 2008). Les suspensions ont été incubées pendant 1 heure à 37°C , puisensemencées en surface du milieu MH.

IV.5.2. Préparation des dilutions

Les huiles ont été diluées dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) (Biochem Chemopharma, Cosne sur loire, France). Nous avons préparé trois dilutions, (1/2, 1/20 et 1/100) volume (huile) / volume (DMSO) (tab. 1).

Tableau 1. Les dilutions des huiles essentielles préparées pour les tests antibactériens

Dilution	1/2	1/20	1/100
rappports (v:v)	1:1	1:19	1:99
(volume (huile) / volume (DMSO) ($\mu\text{l}/\mu\text{l}$))	40/40	4/76	1/99

Une quantité de $5\ \mu\text{l}$ de chaque dilution a été déposée sur chaque disque (disque stérile en papier Watman de 5 mm de diamètre). La teneur en huile par chaque disque est respectivement de $2.5\ \mu\text{l}$, $0.25\ \mu\text{l}$ et $0.05\ \mu\text{l}$ pour les trois dilutions. Un disque supplémentaire (contrôle négatif) a été ajouté dans chaque boîte de Pétri, avec $5\ \mu\text{l}$ de DMSO.

L'expérience a été réalisée en trois répétition. Toutes les boîtes ont été incubées pendant 24 h à 37°C .

IV.5.3. Evaluation de l'effet antibactérien des huiles

L'activité antibactérienne des 5 huiles a été estimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (zone autour des disques + le diamètre du disque) en millimètres. Ces diamètres sont ensuite convertis en surfaces, vu que la diffusion des substances dans la gélose se fait d'une façon uniforme, ce qui donne des halos typiquement circulaires autour des disques (Ahmad *et al.*, 2006). Nous avons converti les diamètres des zones d'inhibition en surface pour donner plus de visibilité aux résultats de l'activité antibactérienne, surtout le remplacement du diamètre 5 mm par une valeur de "0" (5 : diamètre de disque, qui cause toujours des confusions en lecture des résultats). La conversion est basée sur le calcul de la surface d'un cercle :

$$\text{L'aire du cercle} = \pi \times R^2$$

où

π : le nombre pi = 3.14 et R : rayon du cercle

Pour calculer la surface d'inhibition

$$\begin{aligned} \text{Surface d'inhibition} &= \text{surface de la zone d'inhibition} - \text{surface du disque} \\ &= \left[\pi \times \left(\text{diamètre de la zone d'inhibition} / 2 \right)^2 \right] - \left[\pi \times \left(\text{diamètre de disque} / 2 \right)^2 \right] \\ \text{Surface d'inhibition} &= \left[3.14 \times \left(\text{diamètre de la zone d'inhibition} / 2 \right)^2 \right] - [19.62] \end{aligned}$$

La sensibilité ou la résistance des souches sont évaluées conformément à l'échelle de Ponce *et al.* (2003), qui a classé la sensibilité des bactéries en 4 niveaux: résistante, sensible, très sensible et extrêmement sensible. Ce classement est basé sur le diamètre de la zone (halo) d'inhibition obtenue autour des disques (5 mm de diamètre).

Les valeurs + et – représentent le degré de sensibilité des souches

- Non sensible ou résistante (-) : Surface < 30.6 mm² (diamètre < 8 mm)
- Sensible (+) : 44 mm² < surface < 134.2 mm² (9 mm < diamètre < 14 mm)
- Très sensible (++) : 157 mm² < surface < 263.8 mm² (15 mm < diamètre < 19 mm)
- Extrêmement sensible (+++) : surface > 294.4 mm² (diamètre > 20 mm).

IV.6. Les tests de l'activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles a été testée sur des champignons mycéliens (moisissures).

IV.6.1. Les espèces de moisissures

Les espèces choisies dans cette étude sont des moisissures isolées aux niveaux du laboratoire de microbiologie du département des sciences de la nature et de la vie, Biskra.

Nous avons constaté, depuis la mise en service de ces laboratoires, que le problème majeur des expérimentations effectuées dans le domaine de la microbiologie est la contamination. Ce qui influence négativement sur les résultats des études réalisées. Nous avons constaté aussi que les moisissures ont été les contaminants majeurs.

Pour cela notre idée été de tester l'effet des huiles sur des espèces de moisissures isolées au niveau du laboratoire.

L'identification des espèces isolées est basée seulement sur les caractères cultureux (macroscopiques) et morphologiques (microscopiques), le niveau d'identification est limité aux genres seulement.

IV.6.1.1. Isolement

Les champignons ont été isolés à partir de l'aire (atmosphère) du laboratoire. Il est bien évident que les particules dans l'atmosphère ont tendance à se sédimenter lorsque le milieu (aire) est stable (pas de turbulence). La turbulence dans un laboratoire est provoquée généralement par la mobilité des personnes.

Nous avons laissé 20 boîtes de Pétri ouvertes la nuit dans deux laboratoires différents (10 boîtes par laboratoire). La moitié de ces boîtes a été coulées auparavant avec le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar, DIFCO, Le Pont de Claix, France) et l'autre moitié avec le milieu Sabouraud agar (DIFCO, Le Pont de Claix, France). Ces deux milieux, caractérisés par une légère acidité, sont souvent utilisés comme milieux de base pour la culture et l'isolement des champignons (pathogènes ou saprophytes) aux laboratoires (Chabasse *et al.*, 1999).

La plupart des moisissures requièrent pour leur développement de l'oxygène et croissent bien en l'absence de la lumière. Les températures optimales de la croissance des moisissures varient selon les espèces, des températures de 25-30 °C sont souvent idéales pour l'incubation des champignons filamenteux (Van Griensven, 2000).

Les boîtes récupérées après 15 heures, sont recouvertes et incubées à 28 °C pendant 7 jours.

Après cette période, nous avons observé plusieurs colonies de moisissures (fig. 16) qui présentent des caractères cultureux hétérogènes.



Figure 16. Les colonies (A, B, C, D et E) des moisissures isolées, observées après 7 jours d'incubation à 28°C.

IV.6.1.2. Purification et identification

Purification

La purification des espèces a été réalisée par une série de repiquages. La première étape consiste à un transfert d'une partie du mycelium de chaque colonie dans une boîte de PDA, les colonies qui présentent les mêmes caractères sont considérées de la même espèce.

Les boîtes de toutes les colonies sélectionnées sont incubées pendant 7 jours à 28 °C.

La repicage est arrêté une fois la culture est pure (un seule type de colonie sur le milieu). Les repicages successifs ont permis de purifier 9 espèces de moisissures.

Identification

La méthode d'identification des moisissures que nous avons adoptée est fondée principalement sur la combinaison des observations macroscopiques et microscopiques (Engelkirk *et al.*, 2011).

L'observation macroscopique est basée sur les caractères cultureux observés à l'œil nu et sous une binoculaire à un grossissement $\times 40$. L'examen permet de déterminer les 3 caractères cultureux suivants :

- la vitesse de croissance,
- la texture et
- la couleur.

L'observation microscopique est réalisée par la technique de ruban adhésif (Chabasse *et al.*, 1999). Elle consiste à appuyer à la surface de la colonie, à l'aide d'une pince, un petit morceau de scotch transparent, coté collant sur le champignon.

Le ruban est collé à une lame en verre.

La coloration au bleu coton au lactophénol.

L'observation sous le microscope (jusqu'à $\times 1000$).

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur ...etc.) et des spores (forme, couleur, texture des parois,...) (Van Griensven, 2000).

La confirmation de l'identification est effectuée conformément aux clés d'identification (Mallet, 1981 ; Van Griensven, 2000 ; Watanabe, 2010 ; Petrini & Petrini, 2013 ; Campbell & Johnson, 2013), nous avons utilisé aussi quelques sites web pour comparer nos observations, à savoir :

http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions [20/03/2016]

<http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/Moulds/Moulds.html> [20/03/2016]

<http://www.caltexmoldservices.com/Caltex/section/home/> [20/03/2016]

IV.6.2. Les tests des huiles sur les moisissures

Nous avons effectué les tests sur des mycéliums jeunes. Les souches pures des moisissures isolées sont ensemencées aseptiquement sur milieu PDA en boîte de Pétri et incubées pendant 6 jours à 28 °C.

IV.6.2.1. Préparation des dilutions

Les huiles essentielles ne sont pas miscibles dans le milieu PDA, pour cela l'addition de l'huile au milieu de croissance a été réalisée selon une méthode déjà effectuée par Hassane *et al.* (2012) avec quelques modifications.

Le principe de cette technique est basé sur l'objectif d'obtenir une répartition homogène de l'huile essentielle dans le milieu et d'assurer un contact maximum entre le mycélium fongique et les substances chimiques contenues dans l'huiles.

Les dilutions ont été préparées, en deux étapes, par l'utilisation de deux milieux différents (un bouillon et une gélose), le PDB (Potato Dextrose Broth, DIFCO, Le Pont de Claix, France) puis le PDA.

Les deux dilutions finales que nous avons préparé sont 1/2000 et 1/4000 (volume / volume) :

Initialement, dans des tubes à essai, des volumes d'huiles essentielles ont été ajoutés aux milieux PDB pour préparer un volume de 2 ml.

- La dilution 1/2000 : 100 μ l de l'huile + 1900 μ l de milieu PDB.

- La dilution 1/4000 : 50 μ l de l'huile + 1950 μ l de milieu PDB.

Les tubes des dilutions ont été agités fortement pour obtenir une émulsion.

Ensuite, chaque suspension a été ajoutée immédiatement et aseptiquement à des flacons contenant 198 ml de PDA en surfusion (encore liquide) (+50 °C) déjà stérilisés par autoclavage.

Le mélange (encore liquide) est agité soigneusement pour assurer une répartition homogène de l'huile essentielle, puis coulé directement dans des boîtes de Pétri (9 cm de diamètre). Chaque boîte est coulée par un volume de 12 ml.

IV.6.2.2. Ensemencement des boites

Après solidification, les boîtes ont été inoculées avec une partie du mycélium sous forme d'un disque (5 mm de diamètre) prélevé du centre du mycélium jeune précultivé et placé aseptiquement dans le centre de la boîte.

Trois boites (répétitions) ont été utilisées pour chaque espèce identifiée. Les boites des témoins ont été coulées par le PDA sans additifs.

Les boites sont ensuite incubées pendant 7 jours à 28 °C, cette période permet aux champignons, selon Gilbert et Woods (2006), de coloniser toute la surface de la gélose.

IV.6.2.3. Evaluation de l'activité antifongique

Pour évaluer l'effet inhibiteur des huiles sur les différentes moisissures, nous avons suivie la croissance des mycéliums pendant 7 jours d'incubation. L'évaluation a été effectuée 4 fois :

- après 2 jours d'incubation (48 heures),
- après 4 jours (96 heures),
- après 5 jours (120 heures),
- et après 7 jours (168 heures).

L'inhibition est estimée, pour chaque espèce de champignons, par la détermination de taux de croissance (%) dans les boîtes traitées par les deux dilutions des différentes huiles. Ces taux sont comparés statistiquement avec les taux calculés dans les boîtes des témoins.

Ce taux de croissance représente le pourcentage de la surface occupée par le mycellium fongique par rapport à la surface globale de la boîte. Nous avons choisie les taux puisque nous avons remarqué une irrégularité des colonies poussées dans les différentes boîtes de Pétri.

Pour certaines espèces, la croissance à été notée sur différentes zone de la gélose (fig. 17), cela a compliqué la mesure du diamètre. Pour d'autres espèces, la croissance du mycélium a été radiale à partir du point de dépôt du disque mais la forme de la colonie n'est pas typiquement circulaire (fig. 18).

Nous avons utilisé une méthode de mesure numérique basée sur la mesure de la surface de croissance.

Nous avons pris une photo de chaque boîte, Les photos sont ensuite enregistrées et traitées avec le logiciel Media Cybernetics Image-Pro Plus version 5.1 (Media Cybernetics, 2004).

Les mesures ont été effectuées selon deux cas :

- Mesure directe de la zone couverte par le mycellium lorsque la zone de croissance est continue et se présente comme une colonie unique (fig. 18).
- Mesure de la zone (ou des zones) non couverte par le mycellium lorsqu'il existe plusieurs colonies qui forment une zone discontinue (fig. 17).

Les mesures sont données en pixel (l'unité standard du logiciel).

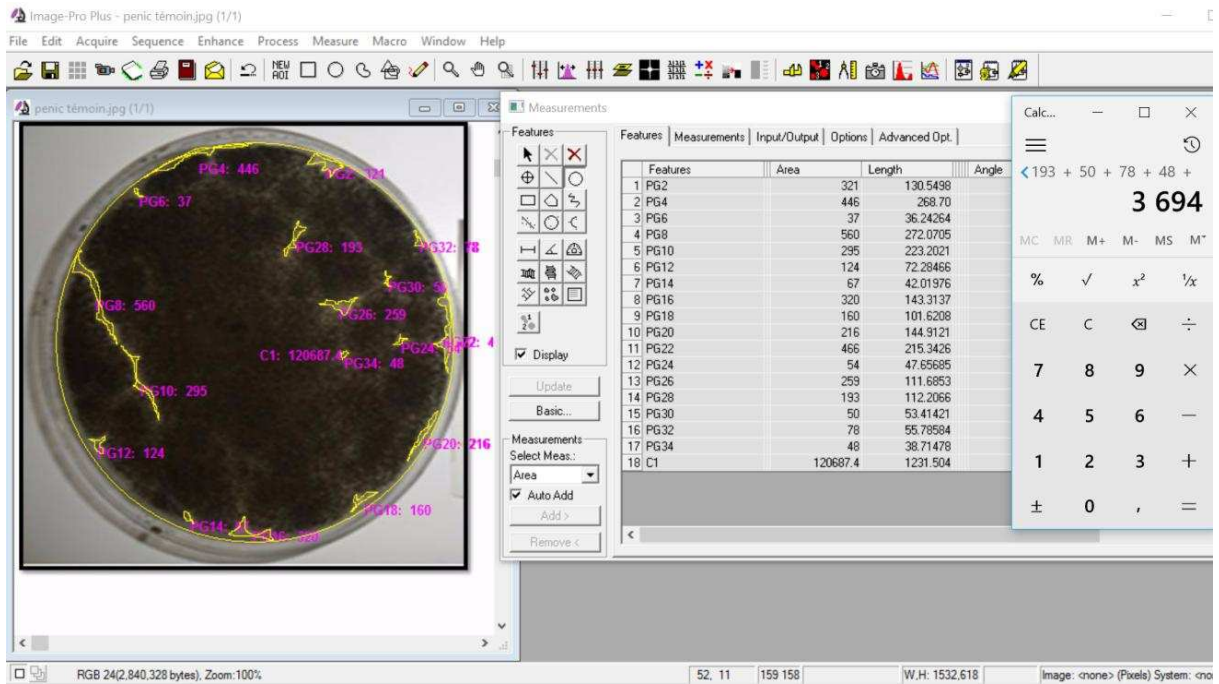


Figure 17. Mesure numérique des zones de la surface de la zone de croissance du mycellium d'*Aspergillus sp.* (cas de colonies multiples)

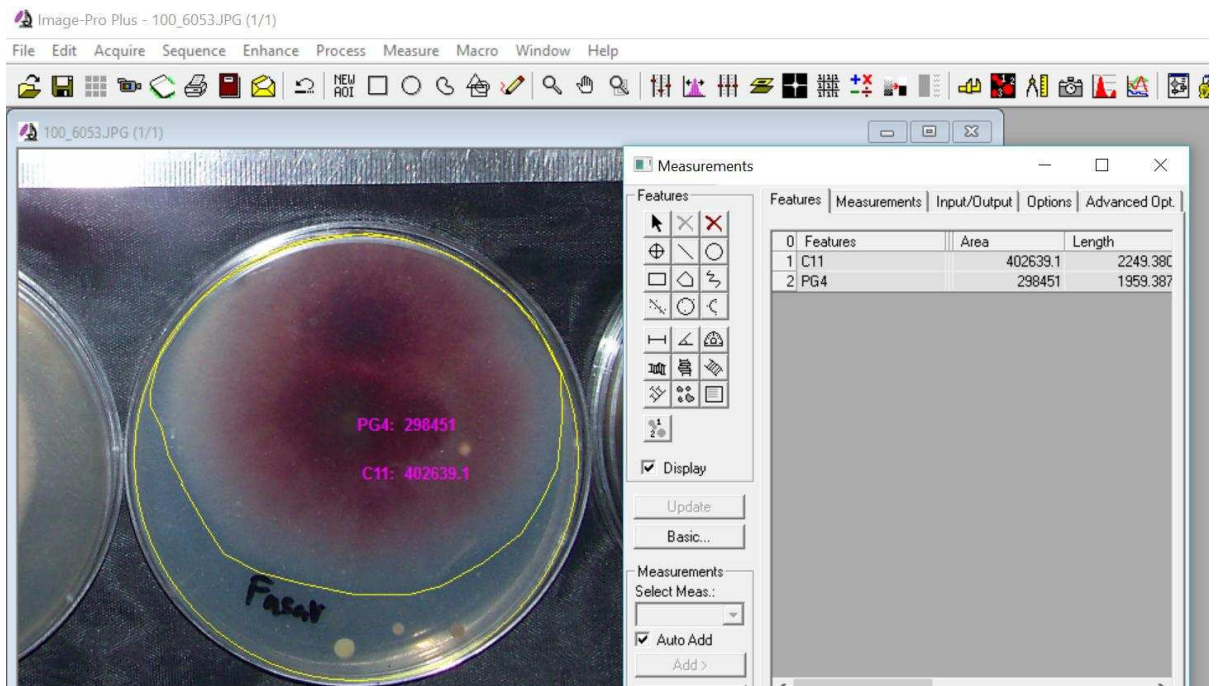


Figure 18. Mesure numérique des zones de la surface de la zone de croissance du mycellium de *Fusarium sp.* (cas d'une colonie unique)

IV.6.2.4. Comparaison entre les effets des huiles

Pour la comparaison entre les activités antifongiques de chaque huile testée sur les quatre espèces fongiques, nous avons calculé l'indice antifongique (pourcentage d'inhibition) qui est déterminé par la formule de Wang *et al.* (2005). Ces auteurs ont calculé cette indice sur la base des diamètres des zones d'inhibition.

Dans notre travail, les diamètres sont remplacés par les taux de croissances. Le calcul de l'indice antifongique est basé sur le pourcentage de la surface de croissance dans les témoins.

$$\text{Indice antifongique} : I_{af} = \left(1 - T_a/T_b\right) \times 100$$

Dont :

T_a : le taux de la surface de la zone de croissance dans la boîte traitée par l'huile

T_b : le taux de la surface de la zone de croissance dans la boîte du témoin.

Pour chaque dilution 3 répétitions sont réalisées.

IV.7. Analyse des données

Une analyse de la variance (ANOVA) a été effectuée pour vérifier la signification des résultats des tests de l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique).

Dans le cas de l'activité antibactérienne, pour chaque souche bactérienne, un arrangement factoriel des traitements (dilution des huiles \times plantes) est adopté avec 3 répétitions. Les données obtenues portant sur les surfaces des zones d'inhibition sont soumises à une ANOVA à deux voies et les moyennes sont comparées selon le test Fischer LSD.

Concernant l'activité antifongique, pour chaque espèce de moisissure, et pour chaque jour (2^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème}), un arrangement factoriel des traitements (dilution des huiles \times plantes) est adopté avec 3 répétitions. Les données obtenues portant sur les taux de surface des zones de croissance mycélienne y compris ceux calculés dans les boîtes des témoins sont soumises à une ANOVA factoriel et les moyennes sont comparées selon le test Fischer LSD.

Une analyse par matrice de corrélation a été effectuée pour vérifier s'il y'a une relation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne et quelle est la classe chimique et les composés qui peuvent être responsables de cette activité.

Pour l'activité antibactérienne, l'analyse a été effectuée par matrice des coefficients de corrélation linéaire entre les surfaces d'inhibition des 4 souches bactériennes et les classes chimiques et tous les composés identifiés dans les huiles.

Pour l'activité antifongique, l'analyse a été effectuée par matrice des coefficients de corrélation linéaire entre les indices d'inhibition fongiques calculés pour les 4 espèces de moisissure et les classes chimiques et tous les composés identifiés dans les huiles.

Toutes les données ont été analysées par la version 8.0 du logiciel STATISTICA (StatSoft, 2007).

Chapitre 5

Résultats et discussions

V.1. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

L'analyse a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (GC) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse par impact électronique (GC-EIMS). L'identification a été basée sur les temps de rétention, les indices linéaires de rétention (indice de Kovats) et sur une base de données commerciale et une bibliothèque de spectres de masse construite à partir de substances connues et des données de la littérature sur la MS.

Tous les composés identifiés des huiles essentielles des espèces étudiées sont listés dans les Tableaux 1, 2, 3, 4 et 5 avec leurs pourcentages correspondants et leurs indices linéaires de rétention (Iri) relatifs à une série des *n*-alkanes, dans l'ordre de leur élution à partir de la colonne capillaire DB-5.

V.1.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.

Le rendement en huile essentielle de *C. phelypaea* obtenu est d'environ 0.007%. La masse du matériel végétal séché soumis à l'hydrodistillation est de 3000 g. La masse de l'huile essentielle obtenue est de 0.2 g ce qui correspond à un volume d'environ 0.25 ml. Cette huile est d'une couleur très sombre, presque noire et d'une odeur intense, l'odeur est spécifique et elle est un peu différente de celle de la plante en stade de floraison.

Les analyses GC et GC / GC-EIMS ont permis d'identifier vingt (20) composés qui représentent un pourcentage de 93.4% de la composition totale de l'huile volatile (tab. 2).

Les résultats montrent que les sesquiterpènes oxygénés sont les plus dominants dans cette huile avec un pourcentage très élevé (68.2%), ces composés sont représentés majoritairement par le (*E,E*)-méthyl farnésate avec un pourcentage de 44.8%, le (*E*)-nérolidyl acétate et le γ -eudesmol représentent des pourcentages de 9.6% et 9.4% respectivement.

Les autres composés identifiés qui représentent un pourcentage de 14.6%, sont principalement le 1-tétradécanol (6.8%), et le (*E*)-2-heptadécène (5%). Les monoterpènes oxygénés représentent 4.8% de la composition de cette huile et les hydrocarbures

sesquiterpéniques ne représentent que 1%. Le limonène est le seul hydrocarbure monoterpénique identifié avec un pourcentage de 3.2%.

Tableau 2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout. recueillie dans la région de Biskra, Algérie

	Constituents	l.r.i.	Pourcentage
1	limonène	1032	3.2
2	fenchone	1089	1.0
3	linalool	1101	0.6
4	4-terpinéol	1179	0.6
5	<i>endo</i> -fenchyl acétate	1221	1.6
6	carvone	1244	0.5
7	oxide de pipériténone	1365	0.5
8	(<i>E</i>)- β -damascénone	1382	0.5
9	(<i>E</i>)-géranylacétone	1455	1.1
10	β -sélinène	1487	0.5
11	<i>n</i> -pentadécane	1500	2.3
12	δ -cadinène	1524	0.5
13	(<i>E</i>)-nérolidol	1564	2.0
14	1-hexadécène	1593	0.5
15	γ -eudésmol	1632	9.4
16	1-tétradécanol	1676	6.8
17	(<i>E</i>)-2-heptadécène	1709	5.0
18	(<i>E</i>)-nérolidyl acétate	1718	9.6
19	(<i>E,E</i>)- α -farnésal	1736	2.4
20	(<i>E,E</i>)-méthyl farnésoate	1783	44.8
	Hydrocarbures monoterpéniques		3.2
	Monoterpènes oxygénés		4.8
	Hydrocarbures sesquiterpéniques		1.0
	Sesquiterpènes oxygénés		68.2
	Apocaroténoïdes		1.6
	Autres		14.6
	Total identifié		93.4

^a l.r.i. indices linéaires de rétention relatifs à une série de *n*-alcane (colonne DB-5)

L'huile essentielle de *C. phelypaea* qui se développe en Algérie n'a pas, à la limite de nos connaissances, fait l'objet d'une étude phytochimique. Cependant d'autres espèces du genre *Cistanche* dans d'autres régions géographiques ont été étudiées.

Les huiles essentielles de *C. salsa* et *C. tubulosa* ont été extraites par entraînement à la vapeur (Jiang *et al.*, 2009), 38 et 21 composants ont été identifiés respectivement dans les deux huiles. Les principaux constituants de l'huile essentielle de *C. salsa* se compose des alcanes, des alcools, des aldéhydes et des composés hétérocycliques, tandis que l'acide palmitique et l'acide linoléique sont les deux principaux constituants de l'huile totale de *C. tubulosa*.

Nous avons montré aussi l'existence des alcools ((*E*)-nérolidol, γ -eudesmol et 1-tétradécanol) à des taux relativement élevés dans l'huile de *C. phelypaea*.

L'analyse des composés volatils des fleurs de *C. deserticola* par GC-MS réalisée par Qiao *et al.* (2012) a montré une teneur élevée en esters et en hydrocarbures aromatiques. Effectivement, l'huile de *C. phelypaea* que nous avons analysé été majoritairement composée des esters comme le (*E*)-nérolidyl acétate et le (*E,E*)-méthyl farnésoate.

La composition de l'huile essentielle que nous avons démontré pourrait être expliquée, d'une part, par l'existence de quelques composés dans l'atriplex, étant donné que *Cistanche* étudié dans ce travail est un holoparasites non photosynthétiques des racines d'*Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) et il tire tous leurs besoins en carbones de leurs hôte (Hibberd *et al.*, 1998 ; Scott, 2013 ; Öztürk *et al.*, 2014). Il est bien connu aussi que les plantes parasites et semi-parasites peuvent puiser les métabolites secondaires de leurs plantes hôtes (Stermitz, 1998).

De l'autre part, les plantes à fleurs parasites obligatoires ont aussi la capacité de biosynthétiser plusieurs métabolites secondaires ou de les transformer par le phénomène d'induction de la synthèse de quelques molécules (Joel *et al.*, 2013).

Dans l'absence des travaux effectués sur les huiles essentielles d'*Atriplex halimus*, il est difficile de discuter la composition chimique de *C. phelypaea* en rapport avec la plante hôte.

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les autres extraits de cette plante halophyte (*A. halimus*). Clauser *et al.* (2013) ont analysé l'extrait méthanolique de l'atriplex et ils ont identifié

des nouveaux flavonoïdes glycosides. L'analyse des extraits aqueux d'*A. halimus* a démontré la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponines et des alcaloïdes (Chikhi *et al.*, 2014). La composition de la fraction buthanolique des extraits éthanoliques a été démontrée par Kabbash & Shoeib (2012), des glycosides flavonoliques, des glucosides phénoliques, des ecdystéroïdes, des mégastigmane sulfatés et des glycosides flavonoïdiques méthoxylés sont isolés.

V.1.2. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut.

Le rendement en huile essentielle obtenu par entraînement à la vapeur d'eau des parties aériennes d'*E. guyoniana* est d'environ 0.007%. Une quantité de 3000 g du matériel végétal séché a été soumise à l'hydrodistillation. La masse de l'huile essentielle obtenue est de 0.24g ce qui correspond à un volume d'environ 0.28 ml.

L'huile est d'une couleur sombre, elle vire vers le marron foncé, l'odeur n'est pas spécifique et elle est presque absente. Nous avons constaté, pendant le recueil, que l'odeur de la plante est très faible.

Les analyses GC et GC / GC–EIMS ont permis d'identifier dix-neuf (19) composés qui représentent un pourcentage de 92.3% de la composition totale de l'huile volatile (tab. 3).

L'huile essentielle d'*E. guyoniana* est riche en apocaroténoïdes (15.2%), et en monoterpènes oxygénés (10 %). L'hexahydrofarnésyl acétone (4 %), le (*E*)– β –damascénone (3.6%) et le (*E*)– β –ionone (2.8 %) sont les principaux apocaroténoïdes, alors que le *trans*-pipéritol acétate (3.1%) est le monoterpène oxygéné majeur.

Il faut noter la dominance des alcanes, le *n*-pentadécane est présent avec un pourcentage de 35.5%, le *n*-heptadécane avec 11.3% et le *n*-tétradécane avec 11.1%.

Tableau 3.

Composition chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. recueillie dans la région de Choucha, Biskra, Algérie

Constituents	l.r.i.	Pourcentage
1 limonène	1032	2.9
2 <i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol	1123	1.9
3 <i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	1142	1.6
4 <i>trans</i> -pipéritol	1207	1.5
5 1-octyl acétate	1213	1.0
6 pipéritone	1254	1.9
7 <i>trans</i> -pipéritol acétate	1343	3.1
8 (<i>E</i>)- β -damascénone	1382	3.6
9 cyperène	1399	2.3
10 <i>n</i> -tétradécane	1400	11.1
11 β -cedrène	1420	1.7
12 (<i>E</i>)-géranylacétone	1455	2.2
13 3,4-dehydro- β -ionone	1486	1.0
14 (<i>E</i>)- β -ionone	1487	2.8
15 <i>n</i> -pentadécane	1500	35.5
16 dihydroactinidiolide	1536	1.6
17 <i>n</i> -hexadécane	1600	1.3
18 <i>n</i> -heptadécane	1700	11.3
19 hexahydrofarnésyl acétone	1845	4.0
Hydrocarbures monoterpéniques		2.9
Monoterpènes oxygénés		10.0
Hydrocarbures sesquiterpéniques		4.0
Apocaroténoïdes		15.2
Autres		60.2
Total identifié		92.3

^a l.r.i. indices linéaires de rétention relatifs à une série de *n*-alcane (colonne DB-5)

Euphorbia est un genre géant, avec près de 2000 espèces réparties sur presque tout le globe (Webster, 1994; Steinmann, 2003 ; Horn *et al.*, 2012). A la limite de nos connaissances, aucune étude sur les huiles essentielles d'*E. guyoniana* soit en Algérie ou dans les pays nord africains (l'aire de distribution de cette espèce) a été effectuée.

Quelques exemples sont cités dans cette partie, mais c'est très difficile de discuter les résultats obtenus dans ces exemples en raison de la grande diversité qui existe dans ce genre.

Euphorbia hebecarpa, une plante endémique à l'Iran a été étudiée par Akhgar *et al.* (2014), la composition chimique de son huile essentielle contient 28 composants identifiés, ce qui représente 97.6% de l'huile totale. La similarité qui peut être observée entre cette plante et notre plante est au niveau des constituants majeurs, le trans-pipéritol (8.6%), le cis-p-menth-2-en-1-ol (6.4 %) et le trans-p-menth-2-ène-1-ol (6.2%). Ces trois composés sont aussi identifiés dans l'huile d'*E. guyoniana* avec des pourcentages de 1.5%, 1.9% et 1.6% respectivement. De l'autre côté une grande différence existe entre les deux espèces, *E. hebecarpa* est très riche en sesquiterpènes oxygénés (59.3%), alors que cette famille chimique est totalement absente dans l'huile d'*E. guyoniana*.

Dans un autre continent (l'Amérique latine), les huiles essentielles des feuilles d'*E. caracasana* et d'*E. cotinifolia* recueillies à Venezuela, ont été analysées par GC-MS. Les principaux constituants identifiés dans ces deux plantes se différencient complètement de ceux identifiés dans notre plante (*E. guyoniana*), il s'agit de Beta-caryophyllène, l'alpha-humulène, l'aromadendrène, le bêta-caryophyllène, le germacrène-D et l'alpha-copaène (Rojas *et al.*, 2009).

Un dernier exemple peut être cité sur la composition chimique de l'huile essentielle d'*E. fischeriana*, une euphorbe connue au nord de la Chine (Cui *et al.*, 2011). Parmi les constituants majeurs identifiés (β -eudésmol, p-Menth-8-en-2-ol, oxyde de caryophyllène, β -sélénol, cedrol et β -sélénène) dans l'huile de cette espèce, aucun de ces composés n'a figuré dans la composition de l'huile d'*E. guyoniana*.

V.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle de *Launea lanifera* Pau.

Un rendement trop faible a été obtenu, il est d'environ 0.005% calculé à partir du poids sec, il correspond à un volume de 250 µl de l'huile essentielle. Cet huile est d'une couleur jaune-orange et n'a pas d'odeur caractéristique.

Les analyses GC et GC / GC–EIMS ont permis d'identifier vingt quatre (24) composés qui représentent un pourcentage de 92% de la composition totale de l'huile volatile (Tab. 4).

Le rendement en huile essentielle obtenue dans notre étude est très faible par rapport à ceux obtenus à partir de *L. resedifolia* (*L. fragilis*), 0.9% (Zellagui *et al.*, 2012b), et *L. arborescens*, 0.07% (Cheriti *et al.*, 2006), deux plantes abondantes dans le Sahara algérien. Un rendement de 0.035% a été obtenu à partir de *L. nudicaulis* présente à Oman (Al–Mahrezi *et al.*, 2011).

Comme il est indiqué dans le tableau 4, l'huile essentielle de *L. lanifera* est riche en apocaroténoïdes (56.7%), principalement l'hexahydrofarnésyl acétone (31.6 %), suivie par (*E*)–β–ionone (8.5 %) et (*E*)–β–damascénone (7.0%). Deux composés seulement représentant les hydrocarbures monoterpéniques et les hydrocarbures sesquiterpéniques sont identifiés, il s'agit de limonène et de β–caryophyllène respectivement, ils sont présents par un pourcentage faible (2.8%) chacun.

En comparaison avec d'autres espèces du même genre, la composition de *L. lanifera* est complètement différente. Ceci est corroboré par le pourcentage élevé d'esters (60.61%) et la teneur relativement faible (8.95%) de monoterpènes reportés dans l'huile de *L. resedifolia* (*L. fragilis*) (Zellagui *et al.*, 2012b).

Les alcanes et les cétones sont également révélés être les principaux constituants (58.24%) de l'huile de *L. arborescens* (Cheriti *et al.*, 2006). D'autre part, les constituants indiqués pour l'huile essentielle de *L. nudicaulis* (Al–Mazroa *et al.*, 2006) étaient principalement des hydrocarbures à longue chaîne. *L. lanifera* contient également des hydrocarbures jusqu'à C18; Les autres composés qui constituent le pourcentage restant (28.5%) de la composition totale sont majoritairement des hydrocarbures non-terpéniques, les plus importants sont 2–méthyltétradécane et *n*–heptadécane (3.8 % chacun), principalement le *n*–pentadécane, le *n*–hexadécane, le *n*–heptadécane et le *n*–octadécane, mais en faible concentration (11.4%).

Tableau 4.

Composition chimique de l'huile essentielle de *Launea lanifera* Pau. recueillie dans la région d'El Kattar (steppes arides) située à l'Aurès, Algérie

Constituents	I.r.i.	Pourcentage
1 limonène	1032	2.8
2 nonanal	1102	2.2
3 décanal	1205	2.9
4 undécanal	1307	1.2
5 (<i>E</i>)- β -damascénone	1382	7.0
6 tétrahydrogéranylacétone	1407	1.6
7 dodécanal	1409	2.2
8 β -caryophyllène	1419	2.8
9 4-(2,4,4-triméthylcyclohexa-1,5-dienyl)-but-3-en-2-one	1429	1.5
10 (<i>E</i>)-géranylacétone	1455	1.7
11 2-méthyltétradécane	1462	3.8
12 3,4-dehydro- β -ionone	1486	3.2
13 (<i>E</i>)- β -ionone	1487	8.5
14 <i>n</i> -pentadécane	1500	1.3
15 tridécanal	1510	2.2
16 dihydroactinidiolide	1536	1.6
17 oxyde de caryophyllène	1582	1.8
18 <i>n</i> -hexadécane	1600	2.0
19 tétradécanal	1614	1.2
20 <i>n</i> -heptadécane	1700	3.8
21 pentadécanal	1716	2.0
22 benzyl benzoate	1763	1.2
23 <i>n</i> -octadécane	1800	2.5
24 hexahydrofarnésyl acétone	1845	31.6
Hydrocarbures monoterpéniques		2.8
Monoterpènes oxygénés		0.0
Hydrocarbures sesquiterpéniques		2.8
Sesquiterpènes oxygénés		1.8
Apocaroténoïdes		56.7
Autres		28.5
Total identifié		92.6

^a I.r.i. indices linéaires de rétention relatifs à une série de *n*-alcane (colonne DB-5)

V.1.4. Composition chimique de l'huile essentielle de *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze

Le rendement en huile essentielle obtenu à partir des parties aériennes de *L. bonduellei* est d'environ 0.006%. 3000 g du matériel végétal séché a été soumis à hydrodistillation. La masse de l'huile essentielle obtenue est de 0.18g ce qui correspond à un volume d'environ 0.23 ml.

Cette huile est d'une couleur très claire, elle est jaune transparente. Comme la plante n'a pas d'odeur caractéristique, l'huile aussi ne présente pas une odeur caractéristique.

Les analyses GC et GC / GC–EIMS ont permis d'identifier vingt quatre (24) composés qui représentent un pourcentage de 97.2% de la composition totale de l'huile volatile (tab. 5). Ces composés appartiennent principalement à 4 classes chimiques.

L'analyse de l'huile de cette plante halotolérante a montré une dominance des apocaroténoïdes avec un pourcentage qui dépasse 60% et le composé dominant est l'hexahydrofarnésyl acétone (56.3%), 4 autres composés de la même classe sont identifiés mais à des pourcentages faibles (> 1%).

L'hexadécanal (11.2%) et le 2-méthyltétradécane (7.7%) viennent en deuxième position tant que composés majeurs de cette huile. Soriano Cano *et al.*, (1998) ont trouvé aussi des teneurs élevées en composés carbonylés dans les huiles de trois espèces du genre *limonium* (*L. latifolia*, *L. x altaica* et *L. perezii*), notamment le nonanal (9.8%), le phénylacétaldéhyde (2.7%) et le décanal (1.5%), ils ont expliqué l'existence de ces composés par l'activité de certaines enzymes (la lipoxygénase) qui attaquent les tissus endommagés de la plante lors de sa préparation pour la distillation.

Tableau 5.

Composition chimique de l'huile essentielle de *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze recueillie dans la région d'El Hadjeb, Biskra, Algérie

	Constituents	l.r.i.	Pourcentage
1	limonène	1032	0.8
2	naphthalène	1181	1.6
3	1-décyl acétate	1410	0.3
4	β -caryophyllène	1419	0.6
5	(<i>E</i>)-géranylacétone	1455	0.9
6	2-méthyltétradécane	1462	7.7
7	3,4-dehydro- β -ionone	1486	0.9
8	(<i>E</i>)- β -ionone	1487	1.0
9	α -muurolène	1499	0.6
10	δ -cadinène	1524	1.6
11	dihydroactinidiolide	1536	1.0
12	spathuléol	1577	0.5
13	caryophyllène oxide	1582	0.3
14	carotol	1598	0.5
15	<i>n</i> -hexadécane	1600	0.4
16	1- <i>epi</i> -cubénol	1629	0.4
17	T-cadinol	1642	3.3
18	α -cadinol	1655	2.8
19	1-tétradécanol	1676	1.6
20	<i>n</i> -heptadécane	1700	1.0
21	pentadécanal	1716	1.1
22	<i>n</i> -octadécane	1800	0.8
23	hexadécanal	1818	11.2
24	hexahydrofarnésyl acétone	1845	56.3
	Hydrocarbures monoterpéniques		0.8
	Hydrocarbures sesquiterpéniques		2.8
	Sesquiterpènes oxygénés		7.8
	Apocarotenoïdes		60.1
	Autres		25.7
	Total identifié		97.2

^a l.r.i. indices linéaires de rétention relatifs à une série de *n*-alcane (colonne DB-5)

La composition chimique de l'huile de *Limonium bonduellei* telle qu'elle figure dans le tableau 5 peut aussi être comparée à la composition des autres *Limonium* qui se développent dans la même zone géographique et sous les mêmes conditions climatiques. C'est le cas de la plante halophyte *L. echioides* qui pousse en Tunisie (Saidana *et al.*, 2008). L'huile de cette plante est composée de 65 substances (identifiées), les composés majeurs étaient principalement des hydrocarbures à un pourcentage de 40% (surtout les alcanes) et d'autres composés comme l'acide hexadécanoïque (acide palmitique) (9.76%), le (*E,E*)-farnésyl acétate (7%), et le linoléate de méthyle (5.26%).

La composition des deux plantes, *L. bonduellei* (Algérie) et *Limonium echioides* (Tunisie), est différente malgré la similarité observée pour la teneur en hydrocarbures.

V.1.5. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb.

Le rendement en huile d'*O. angustissima* obtenu est faible, il est d'environ 0.015%. Cette valeur est obtenue à partir de 4000 g de la plante sèche. Le volume de l'huile essentielle obtenu est d'environ 0.7 ml qui correspond à 0.6g, ce rendement est très faible en comparaison avec celui obtenu (0.73 %) par Mechehoud *et al.* (2014).

Cette huile est d'une couleur brune foncée et d'une odeur intense, elle représente l'odeur caractéristique de la plante.

L'analyse de la composition de l'huile que nous avons effectuée a permis d'identifier trente quatre (34) composés qui représentent un pourcentage de 91.6% de la composition totale de l'huile volatile (tab. 6).

Une dominance des sesquiterpènes oxygénés est notée avec un pourcentage de 32.6%, le β -eudesmol (6.6%), le α -cadinol (6.4%) et le T-cadinol (6.1%) sont les composés majoritaires. La classe des apocaroténoïdes représente 21.4 %, elle est représentée principalement par l'hexahydrofarnésyl acétone (14.8 %). Le limonène (2.3 %) et le méthyle eugénol (0.8 %) sont les seuls composés identifiés représentant des hydrocarbures monoterpéniques et des phénylpropanoïdes respectivement.

Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb. recueillie dans la région de Biskra, Algérie

Constituents	I.r.i.	Pourcentage
1 limonène	1032	2.3
2 fenchone	1089	1.8
3 linalool	1101	6.2
4 4-terpinéol	1179	1.2
5 α -terpinéol	1191	2.5
6 <i>endo</i> -fenchyl acétate	1221	1.0
7 nérol	1227	0.9
8 carvone	1244	0.9
9 géraniol	1256	2.8
10 4-vinylguaiacol	1314	1.1
11 α -copaène	1377	0.8
12 (<i>E</i>)- β -damascénone	1382	1.6
13 méthyl eugénol	1403	0.8
14 (<i>E</i>)-géranylacétone	1455	1.3
15 γ -muurolène	1478	3.3
16 3,4-dehydro- β -ionone	1486	1.4
17 (<i>E</i>)- β -ionone	1487	1.5
18 valencène	1493	0.8
19 2-tridécanone	1496	1.4
20 α -muurolène	1499	1.3
21 <i>trans</i> - γ -cadinène	1514	2.3
22 δ -cadinène	1524	3.9
23 dihydroactinidiolide	1536	0.8
24 α -cadinène	1538	0.8
25 α -calacorène	1543	1.5
26 (<i>E</i>)-nérolidol	1564	4.5
27 1,10-di- <i>epi</i> -cubénol	1615	1.7
28 1- <i>epi</i> -cubénol	1629	3.8
29 T-cadinol	1642	6.1
30 α -muurolol	1646	2.1
31 β -eudesmol	1650	6.6
32 α -cadinol	1655	6.4
33 <i>cis</i> - α -santalol	1682	1.4
34 hexahydrofarnésyl acétone	1845	14.8
Hydrocarbures monoterpéniques		2.3
Monoterpènes oxygénés		17.3

... Suite du tableau 6 ...	
Hydrocarbures sesquiterpéniques	14.7
Sesquiterpènes oxygénés	32.6
Phénylpropanoïdes	0.8
Apocaroténoïdes	21.4
Autres	2.5
Total identifié	91.6

^a **I.r.i. indices linéaires de rétention** relatifs à une série de *n*-alcane (colonne DB-5)

Du point de vue composé majoritaire l'observation de cette composition montre que les phénylpropanoïdes sont quelques fois présents dans les parfums floraux, c'est une classe formée à partir de la voie des phénylpropanoïdes, qui commence par la désamination de la phénylalanine (Knudsen *et al.*, 2006).

Cette composition est complètement différente à celle d'*Ononis angustissima* déterminée par Mechehoud *et al.* (2014). D'après leur résultat, les composés majeurs sont le phytol (17.4%), valencène (5.0%), δ -cadinène (5.1%), β -eudesmol (7.5%) et (*Z,Z*)-farnésol (8.8%). Cette différence peut être due à l'espèce de la plante. Ces auteurs ont travaillé sur une autre sous espèce d'*O. angustissima* qui est recueillie à Bechar dans le sud-ouest de l'Algérie. La sous espèce *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb. est, selon Förther & Podlech (1990), endémique algéro-tunisienne, en Algérie elle est localisée seulement dans la zone est du Sahara septentrionale.

Quelques similarités peuvent être notées pour notre sous espèce et l'autre sous espèce de Bechar. Les hydrocarbures monoterpéniques sont présents à faible proportion dans les deux sous espèce (2.3 % dans *O. angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb. et 1.0 % dans la sous espèce de Bechar et les fractions des hydrocarbures sesquiterpéniques sont élevées (14.7 % dans la sous espèce de l'est Algérien et 49.9% dans la sous espèce de l'ouest).

En plus, la fraction oxygénée (monoterpènes oxygénés + sesquiterpènes oxygénés) explique bien la relation entre les deux sous espèce (49.9 % dans l'huile de la sous espèce de Biskra et 54.8% dans l'huile de la sous espèce de Bechar).

V.1.6. Synthèse et discussion générale de la composition chimique

Les rendements obtenus sont en générale très faible (0.005% – 0.015%), ceci à nécessiter l'utilisation des quantités importantes des plantes pour l'extraction. Le rendement des plantes en huiles essentielles varie, selon Naves (1947), de 0.005% à 10% et le plus souvent moins de 1% (Pengelly, 2004).

Les métabolites secondaires chez les végétaux sont globalement présents à des taux variables (Hanson, 2003), mais la fraction volatile (les huiles essentielles) ne constituent qu'une faible proportion du poids humide de la matière végétale (Langenheim, 1994). Autrefois, des quantités relativement importantes de matériaux végétaux sont nécessaires pour isoler, purifier et caractériser ces substances (Seigler, 1998).

La présence, le rendement et la composition des huiles essentielles, chez les plantes, ne sont pas stable, ils peuvent être influencés par de nombreux facteurs, y compris le climat, la nutrition des plantes, le stress (Hammer & Carson, 2011) et d'autres facteurs pédo-géographiques (Seigler, 1998).

L'analyse des 5 huiles a montré que les apocaroténoïdes, les hydrocarbures monoterpéniques, les hydrocarbures sesquiterpéniques et les autres composés (majoritairement des hydrocarbures non-terpéniques) sont présents dans toutes les plantes. Cette analyse a montré aussi que les phénylpropanoïdes sont présents uniquement dans l'huile d'*Ononis angustissima* alors que les huiles de *Limonium bonduellei* et *Launaea lanifera* ne contiennent pas des monoterpènes oxygénés (fig. 19).

Toutes les espèces étudiées dans ce travail sont des plantes à fleurs jaunes. La pigmentation florale jaune est principalement due à l'existence des caroténoïdes (Glover, 2014) qui représentent l'une des principales familles des pigments chez les végétaux (Ainsworth, 2008).

Bien que les substances volatiles de fleurs sont synthétisées par quelques grandes voies biochimiques, leur diversité provient des modifications enzymatiques (par exemple hydroxylations, acétylations et méthylations) qui accroissent la volatilité des composés à l'étape finale de leur formation (Dudareva *et al.*, 2004).

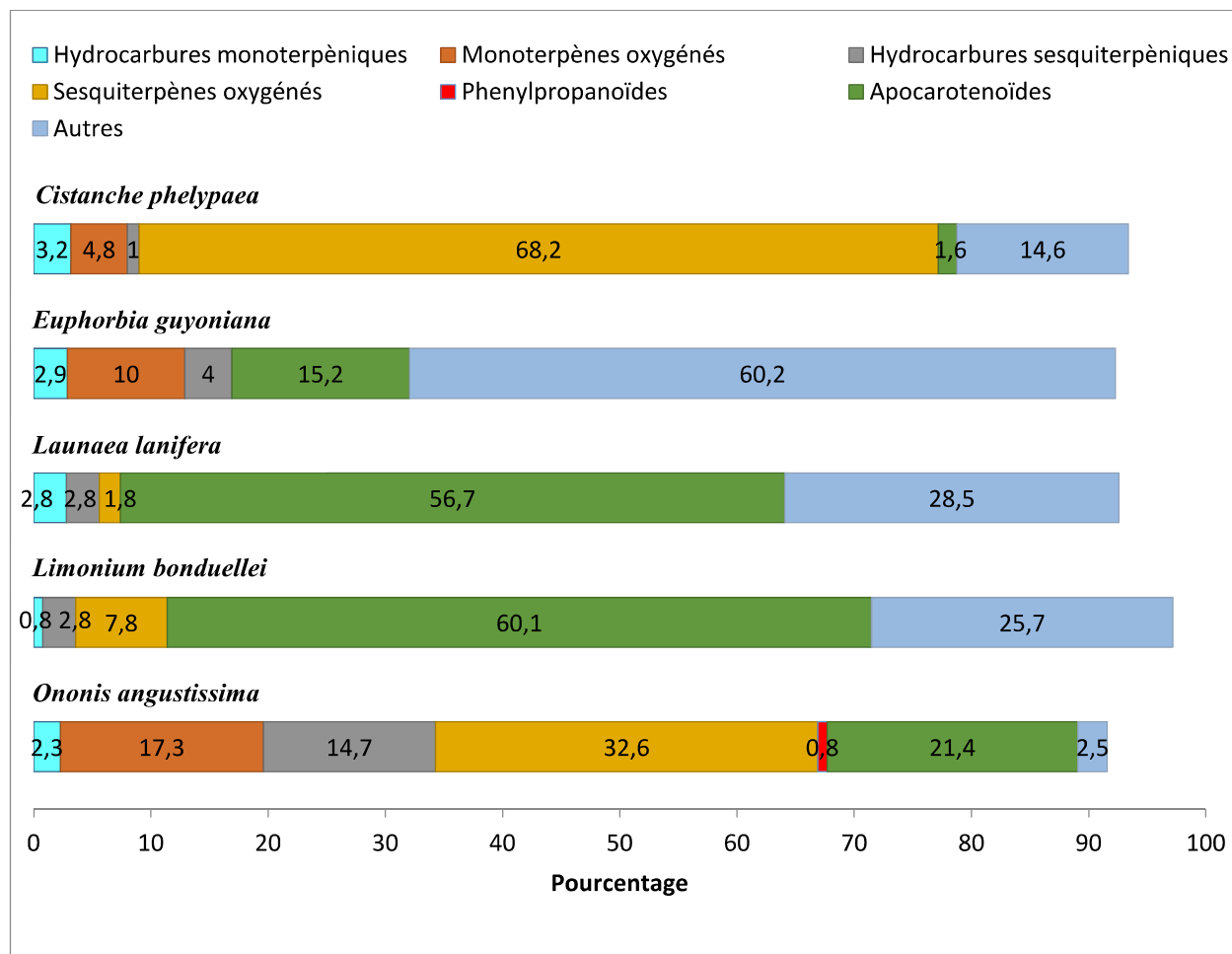


Figure 19. Les classes chimiques identifiées dans les huiles essentielles des plantes *Cistanche phelypaea*, *Euphorbia guyoniana*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei* et *Ononis angustissima* par GC/GC–EIMS.

Un grand nombre de produits issus du métabolisme des caroténoïdes sont des apocaroténoïdes (Gleason & Chollet, 2012 ; Schwab *et al.*, 2013). Les apocaroténoïdes de taille C9-C19 sont des constituants volatils (Seigler, 1998) et leur solubilité très élevée permet leur incorporation dans l'huile essentielle (Kläui *et al.*, 1981). Ceci est également le cas des huiles essentielles des espèces, à l'exception de *Cistanche phelypaea*, analysées dans la présente étude, où des pourcentages élevés des apocaroténoïdes (15.2–60.1%) qui varie de C11 (dihydroactinidiolide) à C18 (hexahydrofarnésyl acétone) ont été observés.

Les ionones, comme le 3,4-dehydro- β -ionone et (*E*)- β -ionone, qui sont parmi les apocaroténoïdes présents dans les huiles des plantes analysées, sont des terpénoïdes irréguliers issus du clivage des caroténoïdes (Winterhalter & Rousseff, 2002).

Le taux faible des apocaroténoïdes trouvés dans l'huile de *C. phelypaea*, malgré la couleur jaune de ces fleurs, peut être expliqué par la particularité de cette plante parasite. Qui puise directement les métabolites secondaires de leur hôte, sous forme de composés finaux (Hibberd *et al.*, 1999) ou transformés à partir d'autres substances organiques (Aber *et al.*, 1983).

Les huiles de *C. phelypaea* et d'*O. angustissima* contiennent le linalool, ce composé est synthétisé par la linalool synthase, l'enzyme la plus bien étudiée de la biosynthèse de parfum floral, c'est une terpène synthase qui convertit le géranyle diphosphate au linalool (Dudareva & Pichersky, 2000).

L'absence d'une odeur caractéristique de l'huile de *Launaea lanifera*, *Euphorbia guyoniana* et *Limonium bonduellei* est attribuée à l'absence de composés aromatiques importants (Pavia *et al.*, 2015). Le matériel végétal utilisé dans cette étude contient une grande quantité de fleurs (presque 95%). Les apocaroténoïdes peuvent souvent être rencontrés dans la fraction volatile (odeur) de quelques fleurs (Dudareva & Pichersky, 2000), y compris le β -ionone et le dehydro- β -ionone (Maia *et al.*, 2013). Ces apocaroténoïdes sont caractérisés par leur faible odeur et contribuent de manière significative à la fragrance globale même si elles sont présents en très faibles concentrations dans le parfum (Nath *et al.*, 2014).

L'analyse effectuée sur les huiles des 5 plantes a mis en évidence une teneur élevée en composés carbonylés, tels que le décanal, le *n*-tétradécane le *n*-pentadécane, le *n*-heptadécane et le 2-méthyltétradécane. Certains des composés carbonylés présents dans les profils aromatiques sont, selon Soriano Cano *et al.* (1998), issus de l'activité de la lipoxigénase sur les tissus coupés.

La forte variabilité que nous avons constatée dans le rendement en huiles essentielles des différentes plantes étudiées et leur composition peut être expliquée, selon Li *et al.* (2014), par divers paramètres appartenant à deux catégories. Les paramètres intrinsèques liés directement à l'espèce, les organes et la maturité des plantes, le stade de la récolte et quelques facteurs environnementaux comme le climat et le sol. Les paramètres extrinsèques concernent la méthode et le temps de l'extraction et de stockage, qui peuvent causer des grandes déviations dans les

compositions chimiques en raison de l'hydrolyse. La méthode d'extraction que nous avons choisie dans cette étude est l'entraînement à la vapeur d'eau qui, selon Kaloustian & Hadji-Minaglou (2013), empêche les dommages à l'huile causés par l'hydrolyse sous haute température.

V.2. Activité antibactérienne

Dans cette partie nous allons présenter les résultats de l'activité antibactérienne de chaque plante sur les différentes souches, nous allons comparer aussi les effets des différentes huiles essentielles sur les quatre souches à chaque dilution.

Dans cette partie :

Les valeurs + et – représentent le degré de sensibilité des souches selon Ponce *et al.* (2003):

Non sensible ou résistante (-) : diamètre < 8mm ; Sensible (+) : 9 mm < diamètre < 14 mm ; Très sensible (++) : 15mm < diamètre < 19 mm ; Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

Dans tous les tableaux, les valeurs sont données en moyennes de trois répétitions \pm l'écart-type (SD).

V.2.1. L'activité antibactérienne de chaque plante

V.2.1.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Cistanche phelypaea*

Aux différentes dilutions testées, nous avons observé des zones d'inhibition pour la plupart des souches. La seule exception est celle de l'effet de l'huile essentielle de cette plante à la dilution 1/100, qui n'a montré de zone sur la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (tab. 7). Les diamètres des zones d'inhibition obtenus varient de 6 mm (obtenus sur *P. aeruginosa* à la dilution 1/20) jusqu'à 17 mm, cette dernière zone est notée pour *Escherichia coli* à la dilution 1/2.

Tableau 7. L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de croissance (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle de *Cistanche phelypaea* de la région de Biskra (Algérie).

Souches testées		Quantité de l'huile par disque ^a (μ l)		
		2.5	0.25	0.05
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10,7 (\pm 0,4)	10 (\pm 0,7)	9,3 (\pm 0,4)
		+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	12 (\pm 0,5)	8,7 (\pm 0,4)	7,7 (\pm 0,2)
		+	-	-
Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10 (\pm 0,7)	6 (\pm 0,0)	5 (\pm 0,0) NI ^b
		+	-	-
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	17 (\pm 0,8)	14,3 (\pm 0,6)	8,3 (\pm 0,4)
		++	+	-

^a Le disque contient 5 μ l de chaque dilution (1/2, 1/20 et 1/100), ^b NI: Absence de zone d'inhibition.

Par application de l'échelle de Ponce *et al.* (2003) pour interpréter les diamètres des zones obtenues, la souche *S. aureus* ATCC 25923 été sensible (+) aux trois dilutions de l'huile et la souche *E. coli* ATCC 25922 été très sensible (++), alors que les deux souches *S. aureus* ATCC 43300 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 ont été résistantes (-) aux dilutions 1/20 et 1/100.

A la limite de notre recherche bibliographique, aucune étude qui traite l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *C. phelypaea* a été effectuée. Cependant, les extraits alcooliques et aqueux ont été testés pour leur activité antioxydante (Hatil & Hamed, 2015). Les extraits hydroalcooliques d'une autre espèce du même genre (*Cistanche tubulosa*) recueilli en Iran montrent une bonne activité inhibitrice sur *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonelle entrica* et *E. coli* (Keymanesh *et al.*, 2009).

V.2.1.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Euphorbia guyoniana*

Tableau 8. L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle d'*Euphorbia guyoniana* de la région de Biskra (Algérie).

Souches testées		Quantité de l'huile par disque ^a (µl)		
		2.5	0.25	0.05
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	13,2 (±0,8)	10 (±0,0)	8 (±0,0)
		+	+	-
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	13,8 (±0,6)	11,3 (±0,3)	7,7 (±0,4)
		+	+	-
Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10,7 (±0,4)	9 (±0,7)	5 (±0,0) NI ^b
		+	+	-
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6,7 (±0,3)	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI
		-	-	-

^a Le disque contient 5 µl de chaque dilution (1/2, 1/20 et 1/100), ^b NI: Absence de zone d'inhibition.

Tel qu'il figure dans le tableau 8, les résultats montrent que l'activité de l'huile essentielle d'*E. guyoniana*, quelque soit la dilution, est notée sur les souches bactériennes à Gram + (*S. aureus*). Les diamètres obtenus pour la souche ATCC 43300 sont les plus grand (13.8 mm à la dilution 1/2). Pour les souches à Gram -, aucune zone d'inhibition a été obtenue à la dilution élevée (1/100), la souche d'*E. coli* est la plus résistante à l'huile.

Selon l'échelle de sensibilité, trois souches testées ont été sensibles (+) aux dilutions 2.5 et 0.25. A la dilution élevée (1/100), les 4 souches ont été résistantes (-).

Le même résultat a été trouvé par Palici *et al.* (2015), pour les extraits non volatiles d'*E. guyoniana*, ces extraits ont été testés sur des souches bactériennes à Gram + et -. Les zones d'inhibition obtenues ont été remarquables surtout sur les bactéries à Gram + à savoir *Bacillus subtilis*, *Moraxella catarrhalis* et *Staphylococcus aureus*.

El-Bassuony (2007) a démontré aussi que le guyonianin C, composé isolé de cette plante qui a la caractéristique structurale des pénicillines, possède une activité antibactérienne contre les souches Gram +, en particulier *Bacillus cereus*, et il n'a pas d'effet sur les souches à Gram -.

L'effet inhibiteur des extraits des plantes, quelques soit leur nature, est certainement due à la présence d'un ou de nombreux composé. Les flavonoïdes, les stérols, les saponines, les tanins, les caroténoïdes et les alcaloïdes sont des classes chimique identifiées dans l'extrait de méthylène chlorure de méthanol et de n-butanol d'*E. guyoniana* recueillie à El-Oued (Algérie). Ces extraits possèdent une activité antibactérienne sur quelques bactéries (Zellagui *et al.*, 2012c), y compris les souches qui sont testées dans ce travail, à savoir *S. aureus* et *E. coli*.

V.2.1.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Launaea lanifera*

Les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle caractérisée de *L. lanifera* ont été évaluées aussi en mesurant les zones d'inhibition sur gélose MH, comme il est indiqué dans le tableau 9. Des zones d'inhibition limitées ont été obtenues même à la dilution la plus faible (1/2) de l'huile. Les diamètres de ces zones, selon l'échelle de Ponce *et al.* (2003), ne signifient aucune sensibilité.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus pour d'autres espèces du même genre, une activité importante a été rapportée pour les huiles essentielles de *L. residifolia*, sur quelques souches bactériennes y compris celle utilisées dans cette étude; *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* (Zellagui *et al.*, 2012b). Ce résultat peut être dû à la différence complète dans la composition chimique des deux huiles essentielles (voire section V.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle de *Launaea lanifera*).

Tableau 9. L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle de *Launaea lanifera* de la région des Aurès (Algérie).

Souches testées		Quantité de l'huile par disque ^a (µl)		
		2.5	0.25	0.05
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	7 (±0,3)	5 (±0,0) NI ^b	5 (±0,0) NI
		-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	6 (±0,1)	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI
		-	-	-
Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI
		-	-	-
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI
		-	-	-

^a Le disque contient 5 µl de chaque dilution (1/2, 1/20 et 1/100), ^b NI: Absence de zone d'inhibition.

V.2.1.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Limonium bonduellei*

L'observation des résultats (tab. 10) montre que les diamètres obtenus autour des disques imprégnés par les différentes huiles, à la même dilution, ont été presque similaire pour les 4 souches bactériennes. Les diamètres varient de 8.3 à 11 mm à la dilution faible, et de 5 à 8.5 mm à la dilution élevée.

D'après l'échelle de Ponce *et al.* (2003), les trois souches *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* ATCC 25923 ont été sensibles à la dilution faible (1/2) alors que la quatrième souche été résistante. Aux dilutions élevées, toutes les souches sont résistantes.

Tableau 10. L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle de *Limonium bonduellei* de la région de Biskra (Algérie).

Souches testées		Quantité de l'huile par disque ^a (µl)		
		2.5	0.25	0.05
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11 (±0,1)	9 (±0,0)	8,5 (±0,3)
		+	+	-
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	8,3 (±0,2)	5 (±0,0) NI ^b	5 (±0,0) NI
		-	-	-
Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10,3 (±0,4)	8 (±0,7)	7,7 (±0,4)
		+	-	-
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 (±0,7)	8 (±0,2)	6 (±0,7)
		+	-	-

^a Le disque contient 5 µl de chaque dilution (1/2, 1/20 et 1/100), ^b NI: Absence de zone d'inhibition.

Les huiles essentielles extraites à partir d'autres espèces du genre *Limonium* sont aussi actives sur quelques souches bactériennes y compris *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. C'est le cas de *Limonium echioides* (Saïdana *et al.*, 2008), mais l'huiles de cette plante halophyte n'a pas inhibé la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les autres types d'extraits des plantes de ce genre ont été testés aussi pour leur activité antibactérienne. L'évaluation des propriétés antimicrobienne *in vitro* de l'extrait éthanolique de *L. delicatulum* a montrée une activité contre la bactérie *Salmonella* (Medini *et al.*, 2014a). Les extraits éthanoliques de l'espèce *L. Avei* ont présenté une activité contre les bactéries Gram+ telles que *Staphylococcus aureus*, y compris les souches résistantes à la méthicilline. En revanche, une faible activité a été trouvée sur les bactéries à Gram– et sur *Candida albicans* (Nostro *et al.*, 2012).

Les substances contenues dans les différents extraits (hexanique, dichlorométhanolique, éthanolique ou méthanoliques) des plantes de ce genre, peuvent aussi être à l'origine d'une activité antivirale (Medini *et al.*, 2014b).

V.2.1.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Ononis angustissima*

L'observation des diamètres des zones d'inhibition obtenus à différentes dilution de l'huile essentielle de cette plante montre une absence totale de zones d'inhibition à la dilution élevée (1/100). A la dilution faible (1/2), les diamètres obtenus varient de 8.7 mm pour *E. coli* à 12 mm pour *S. aureus* ATCC 25923 (tab 11).

La projection de ces valeurs sur les intervalles de degrés de sensibilité montre que seulement les deux souches de *S. aureus* ont été sensibles (+).

Ce résultats est très proche des résultats d'Elamrani & Benaïssa (2010), qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Ononis natrix*, une espèce très proche systématiquement (la même sous section). L'huile de cette plante a donné le même effet contre les deux souches bactériennes: *S. aureus* ATCC 25923 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 alors que son effet été positif sur *E. coli* ATCC 25922 contrairement à notre résultat.

Tableau 11. L'activité antibactérienne, exprimée en moyennes des diamètres (mm) des zones d'inhibition de développement (le diamètre des disques (5 mm) inclus), de l'huile essentielle d'*Ononis angustissima* de la région de Biskra (Algérie).

Souches testées		Quantité de l'huile par disque ^a (µl)		
		2.5	0.25	0.05
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12 (±0,7)	9 (±0,8)	5 (±0,0) NI ^b
		+	+	-
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	10 (±0,2)	8,3 (±0,4)	5 (±0,0) NI
		+	-	-
Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6,7 (±0,4)	5 (±0,0) NI	5 (±0,0) NI
		-	-	-
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	8,7 (±0,4)	7 (±0,5)	5 (±0,0) NI
		-	-	-

^a Le disque contient 5 µl de chaque dilution (1/2, 1/20 et 1/100), ^b NI: Absence de zone d'inhibition.

L'huile de cette espèce a été testée aussi par Mhamdi *et al.* (2014) sur les mêmes espèces bactériennes (sans spécification de la souche), et a donné un large spectre d'activité contre tous les microorganismes testés avec des diamètres des zones d'inhibition bactérienne allant de 8,5 à 17 mm.

V.2.2. Comparaison entre les activités antibactériennes des cinq plantes

Statistiquement, l'analyse de variance (ANOVA) indique que les zones d'inhibition de chaque souche bactérienne sont significativement affectés à $P < 0.01$ par les facteurs plante et dilution et par l'interaction plante \times dilution. La comparaison des moyennes des surfaces des zones d'inhibition montre aussi des différences entre l'effet des huiles des 5 espèces de plantes testées (tableau 12).

Ces différences sont basées sur les valeurs des surfaces des zones d'inhibition, qui, sont aussi calculées sur la base des diamètres de ces zones.

Mais, dans notre travail nous avons adopté l'échelle de Ponce *et al.* (2003) pour évaluer l'activité antibactérienne. Cette échelle indique que :

- Les surfaces $< 30.6 \text{ mm}^2$, ne sont pas différentes et elles signifient une résistance de la bactérie à l'huile essentielle, mentionnée par (-)

- Les valeurs de l'intervalle (44 mm² – 134.2 mm²), ne sont pas aussi différentes et signifient sensibles (+)

- Les valeurs de l'intervalle (157 mm² – 263.8 mm²), ne sont pas différentes et signifient très sensibles (++).

Tableau 12. L'activité antibactérienne, exprimée en surfaces (mm²) des zones d'inhibition de croissance, des différentes dilutions des huiles essentielles des plantes *Cistanche phelypaea* (*Ci ph*), *Euphorbia guyoniana* (*Eu gu*), *Launaea lanifera* (*La la*), *Limonium bonduellei* (*Li bo*) et *Ononis angustissima* (*On an*).

		Souches bactériennes			
		Gram +		Gram -	
(C)	Plante (P)	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E.coli</i> ATCC 25922
1/2	<i>Ci ph</i>	70.2 (±0.4) f +	93.4 (±0.5) f +	58.9 (±0.7) fg +	207.2 (±0.8) h ++
	<i>Eu gu</i>	117.2 (±0.8) h +	129.9 (±0.6) g +	70.2 (±0.4) g +	15.3 (±0.3) bc -
	<i>La la</i>	18.8 (±0.3) g -	8.6 (±0.1) b -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -
	<i>Li bo</i>	75.4 (±0.1) bc +	34.8 (±0.2) cd -	63.7 (±0.4) g +	58.9 (±0.7) f +
	<i>On an</i>	93.4 (±0.7) b +	58.9 (±0.2) e +	15.3 (±0.4) bc -	39.4 (±0.4) ef -
1/20	<i>Ci ph</i>	58.9 (±0.7) ef +	39.4 (±0.4) d -	8.6 (±0.0) ab -	140.9 (±0.6) g +
	<i>Eu gu</i>	58.9 (±0.0) ef +	80.6 (±0.3) f +	44 (±0.7) ef +	0 (±0.0) a -
	<i>La la</i>	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -
	<i>Li bo</i>	44 (±0.0) cde +	0 (±0.0) a -	30.6 (±0.7) de -	30.6 (±0.2) cde -
	<i>On an</i>	44 (±0.8) cde +	34.8 (±0.4) cd -	0 (±0.0) a -	18.8 (±0.5) bcd -
1/100	<i>Ci ph</i>	48.7 (±0.4) ed +	26.6 (±0.2) c -	0 (±0.0) a -	34.8 (±0.4) de -
	<i>Eu gu</i>	30.6 (±0.0) cb -	26.6 (±0.4) c -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -
	<i>La la</i>	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -
	<i>Li bo</i>	37.1 (±0.3) cd -	0 (±0.0) a -	26.6 (±0.4) cd -	8.6 (±0.7) ab -
	<i>On an</i>	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -	0 (±0.0) a -
ANOVA					
	Plante (P)	***	***	***	***
	Dilution (C)	***	***	***	***
	Interaction (Plante X C)	***	***	***	***

Les couleurs des cellules et les signes (+) et (-) représentent le degré de sensibilité des souches selon Ponce *et al.* (2003). résistante (-) ; sensible (+) ; très sensible (++)

Les moyennes suivies par la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes selon le test Fischer LSD à $P < 0.01$. *** Signification à $P < 0.01$.

La comparaison entre les activités antibactériennes des huiles essentielles sur les souches testées, selon l'échelle de Ponce *et al.* (2003), est présentée aussi dans le tableau 12. Dans ce tableau, nous avons coloré les cellules qui portent le même signe (-, +, ++) par la même couleur.

A la dilution 1/100,

Cette dilution est la plus élevée, elle correspond à une quantité de 0.05 µl de l'huile par disque. L'effet inhibiteur des huiles essentielles, lorsque la dilution est élevée, est en générale faible, une seule souche (*S. aureus* ATCC 25923) a été sensible (+), seulement à l'huile de *C. phelypaea*, les autres souches ont été résistantes à toutes les huiles utilisées.

Aux dilutions 1/20 et 1/2,

La souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a été sensible à toutes les huiles sauf à celle de *L. lanifera*. Les deux souches *S. aureus* ATCC 43300 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 ont été sensibles aux huiles de *C. phelypaea*, *E. guyoniana* et *O. angustissima*.

Une seule souche (*E. coli* ATCC 25922) a été très sensible (++) , cette sensibilité est engendrée par l'huile de *C. phelypaea* à la dilution minimale (1/2), mais cette souche a été résistante aux autres huiles.

Par rapport au Gram, par application des intervalles de sensibilité, l'effet des différentes huiles a été plus visible sur les souches à Gram +.

Nous avons testé 5 huiles, à 3 dilutions, sur 4 souches bactériennes, parmi ces 60 tests, 13 dilutions d'huiles ont inhibé les bactéries à Gram+ et 7 seulement ont été actifs sur les Gram-.

Quantitativement, sur la base des surfaces d'inhibition, les différentes dilutions ont été testés sur 2 souches à Gram + et 2 souches à Gram -, 15 pour chaque souche.

Les moyennes des surfaces d'inhibition (tab. 12) ont montré que sur 30 tests effectués sur les souches à Gram -, *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* ATCC 27853, 14 tests n'ont pas donné d'inhibition (zone = 0), ce qui représente 46.66%,

De l'autre côté et pour les souches à Gram+ (*S. aureus* ATCC 43300 et ATCC 25923), 11 tests seulement n'ont pas donné d'inhibition, le pourcentage dans ce cas est de 36.66%.

V.2.3. Corrélation entre les composés chimiques et l'activité antibactérienne

Etant donné que l'activité antibactérienne des huiles a été observée à la dilution faible (1/2), nous avons choisie cette dilution pour vérifier les corrélation qui peuvent exister entre l'activité et les classes chimiques. Les corrélations entre l'activité et les composés identifiés sont vérifiées également à la même dilution et le tableau globale des coefficients de corrélation est présenté en Annexe 1.

Tableau 13. Coefficients de corrélations linéaires entre les famille chimiques et l'activité antibactérienne des huiles essentielles (à la dilution 1/2) sur les 4 souches testées (n=5)

Classes chimiques	Souches bactériennes			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Hydrocarbures monoterpéniques	-0.06	0.45	-0.18	0.24
Monoterpènes oxygénés	0.67	0.48	-0.09	-0.09
Hydrocarbures sesquiterpéniques	0.35	-0.04	-0.44	-0.33
Sesquiterpènes oxygénés	0.04	0.25	0.11	0.92*
Phenylpropanoïdes	0.28	-0.07	-0.46	-0.17
Apocaroténoïdes	-0.56	-0.83	-0.34	-0.58
Autres	0.29	0.46	0.47	-0.40

* Signification à $P < 0.05$

L'analyse de corrélation linéaire entre les pourcentages des classes chimiques constituant les différentes huiles essentielles et l'activité antibactérienne de ces huiles a montré qu'une seule relation linéaire significative existe (tab. 13), c'est le cas de l'activité obtenue sur la souche *E. coli* ATCC 25922 et les sesquiterpènes oxygénés.

Cette corrélation est positive avec un coefficient $r = 0.91$ (fig. 20). Cela explique l'activité élevée de l'huile de *C. phelypaea*, riche en sesquiterpènes oxygénés (68%), sur *E. coli* ATCC 25922 (surface de la zone d'inhibition = 207 mm²). Elle explique également l'absence des zones d'inhibition dans le cas des huiles d'*E. guyoniana* et *L. lanifera*. Ces huiles contiennent des taux faible en sesquiterpènes oxygénés (0 et 1.8% respectivement).

Les constituants majeurs identifiés dans l'huile de *C. phelypaea* sont le γ -eudesmol, (*E*)-nérolidyl acetate, le (*E,E*)- α -farnesal et le (*E,E*)-methyl farnesoate, ils sont des sesquiterpènes

oxygénés, ces constituants sont aussi corrélés significativement et positivement (voir tableau AN1 en annexe 1) avec l'activité obtenue sur la souche *E. coli* ATCC 25922.

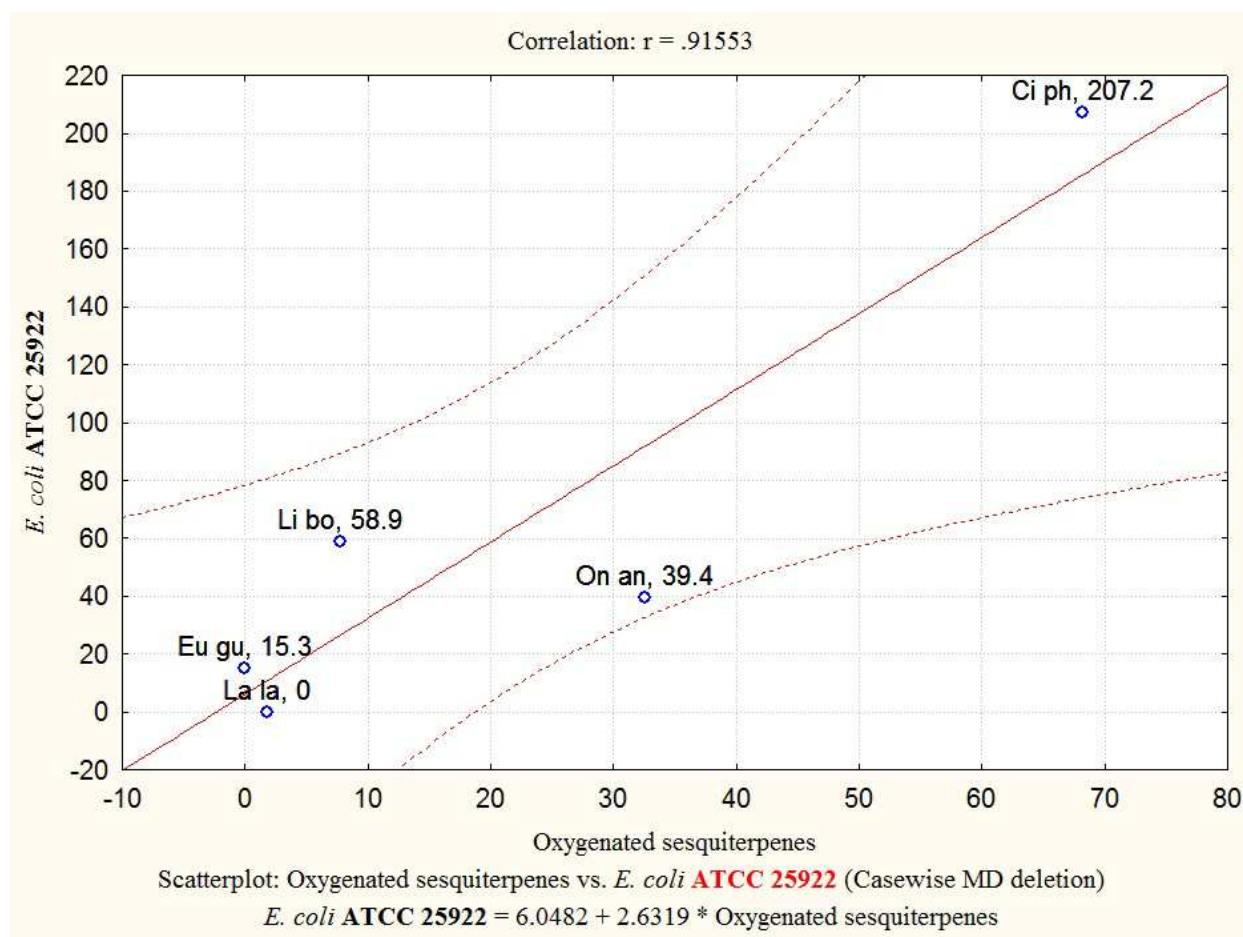


Figure 20. Courbe de corrélation linéaire entre la contenance en sesquitérpènes oxygénés et l'activité des 5 huiles sur la souche *E. coli* ATCC 25922

V.2.4. Synthèse et discussion générale de l'activité antibactérienne

Les résultats que nous avons présenté dans cette partie ont montré que certaines huiles essentielles n'ont pas montré d'activité sur les souches bactériennes testées, cela peut être du, d'une part à l'effet antagoniste de quelques composés présents dans les huiles essentielles (Calo *et al.*, 2015) qui peuvent influencer l'activité biologique de quelques substances actives. De l'autre part à l'absence des composés qui sont connus actifs *in vitro* sur les bactéries. Les

composés que nous avons identifié (92,6 % de la composition totale), surtout ceux à taux élevés, ne figurent pas dans la composition des huiles essentielles à forte activité antibactérienne (Tajkarimi *et al.*, 2010).

Dans cette étude nous avons utilisé des bactéries à Gram+ et d'autres à Gram -, et nous avons démontré que les souches à Gram + ont été les plus sensibles. Certains composés de nature phénolique, par exemple le carvacrol et le thymol, provoquent une perturbation de la couche externe lipopolysaccharidique des bactéries à Gram+ suivie d'une désintégration partielle de leur membrane externe (Helander *et al.*, 1999), le carvacrol provoque une diminution des taux de l'ATP par dysfonctionnement du flux protonique conduisant ainsi à un effet bactéricide (Ultee *et al.*, 2003).

Les effets des composés peuvent conduire à la perte et à la réduction du potentiel ionique, ce qui entraînera la mort des cellules par nécrose ou par apoptose. Les huiles essentielles peuvent contribuer aussi à la lyse de la paroi cellulaire, favorisant ainsi une fuite du contenu cellulaire. Elles peuvent inhiber également la synthèse ou la transcription des acides nucléiques, ce qui perturbe la synthèse de certaines protéines et des polysaccharides (Kalemba & Kunicka, 2003 ; Bakkali *et al.*, 2008).

Pour l'activité spécifique attribuée aux sesquiterpènes oxygénés sur la souche *E. coli*, il a été démontré dans plusieurs études que le pouvoir inhibiteur, sur *E. coli*, des huiles essentielles à faible pourcentage en sesquiterpènes oxygénés était faible (Bendiabdellah *et al.*, 2012; Joshi, 2014). Dans d'autres études sur les huiles à forte teneur en sesquiterpènes oxygénés, l'activité inhibitrice sur *E. coli* a été élevée également (Mirjalili & Yousefzadi, 2012 ; Ghribi *et al.*, 2016).

V.3. Activité antifongique

Dans cette partie nous allons présenter,

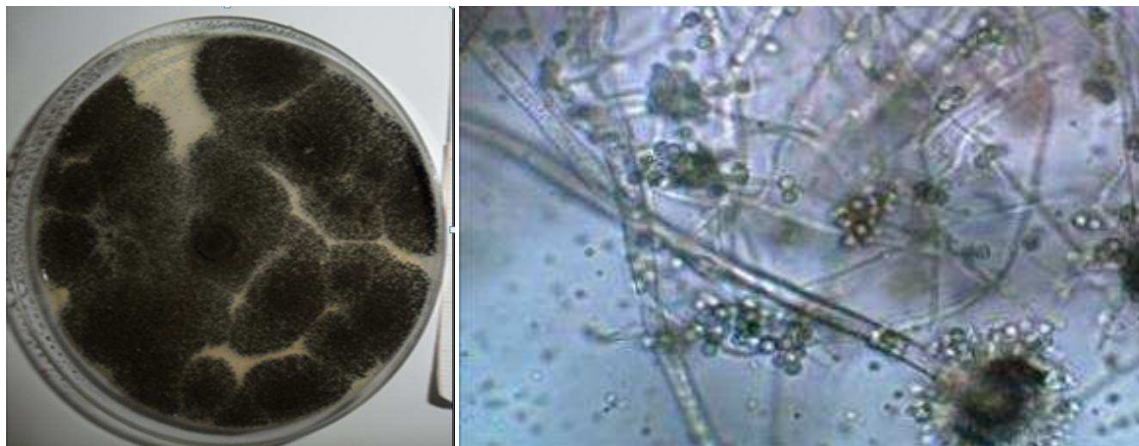
- les espèces fongiques identifiées
- les résultats de l'activité antifongique des huiles des 5 plantes sur chaque moisissure en comparaison avec le témoin.
- nous allons comparer aussi les effets de chaque huile (à deux dilutions) sur les 4 espèces de moisissures par l'utilisation de l'indice antifongique.

V.3.1. Les espèces de moisissures identifiées

Le protocole que nous avons suivi été basé sur l'observation des caractères culturaux des différentes espèces et sur l'observation microscopique, il nous a permis d'identifier 4 espèces différentes. Il est difficile de confirmer l'espèce exactement, l'identification est limitée au niveau du genre, il s'agit de :

a. *Aspergillus sp.* (Hyphomycètes) (Fig. 21)

Les colonies sont généralement brunes foncées au noir, principalement constituées d'un feutre dense de conidiophores dressées. Les hyphes sont hyalin (incolores). Les conidiophores se terminent avec une vésicule couverte avec une couche de cellules (metulae) qui portent de petits verticilles de phialides en forme de bouteilles. Les conidies (spores) sont unicellulaires et lisse, elles sont produites dans des chaînes réunies dans des colonnes serrées. La sporulation se produit avant 7 jours sur PDA (Potato Dextrose Agar) à 28°C.



A. **B.**
Figure 21. L'espèce *Aspergillus sp.* A. Colonie sur PDA après 6 jours d'incubation à 28 °C
B. Observée sous microscope X 400

b. *Cladosporium sp.* (Hyphomycètes) (Fig. 22)

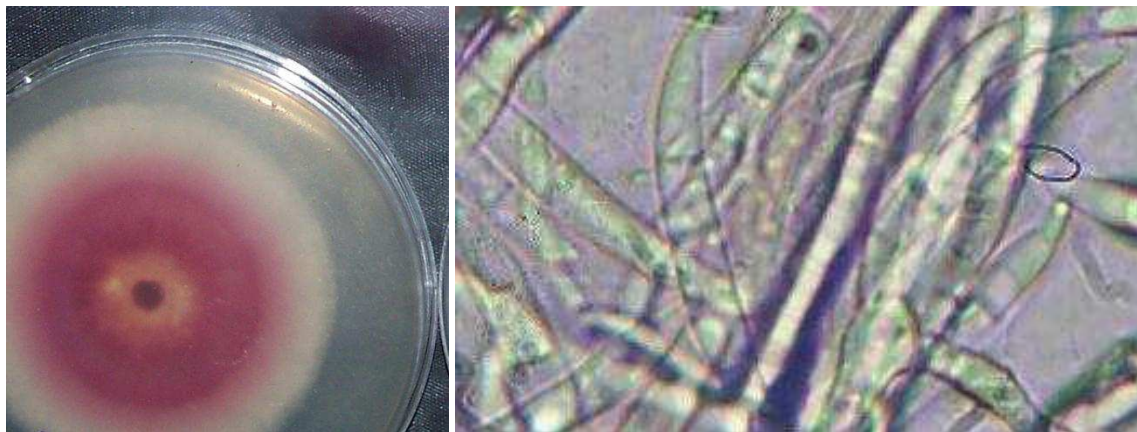
La caractéristique principale de cette moisissure est sa croissance très lente. La couleur des colonies est chamois, elles possèdent un aspect poudreux. Les hyphes végétatifs sont pigmentés, les conidiophores et les conidies sont pigmentés aussi. Les conidiophores se terminent par des ramifications. Les conidies sont produites en chaîne à l'extrémité des ramifications. Pour cette espèce nous n'avons pas vu les détails morphologiques des spores.



A. **B.**
Figure 22. L'espèce *Cladosporium sp.* A. Colonie sur PDA après 5 jours d'incubation à 28 °C
B. Observée sous microscope X 100

c. *Fusarium sp.* (Hyphomycètes) (Fig. 23)

Morphologiquement, les clones sont de couleur rose vive, le centre est foncé et les bords sont clairs avec mycélium aérien cotonneux, nous avons noté la présence des poils blanchâtres. Les colonies croissent rapidement. Cette espèce produit généralement des macroconidies, hyalines (transparente), pluricellulaires, fusiforme avec une cellule apicale allongée.



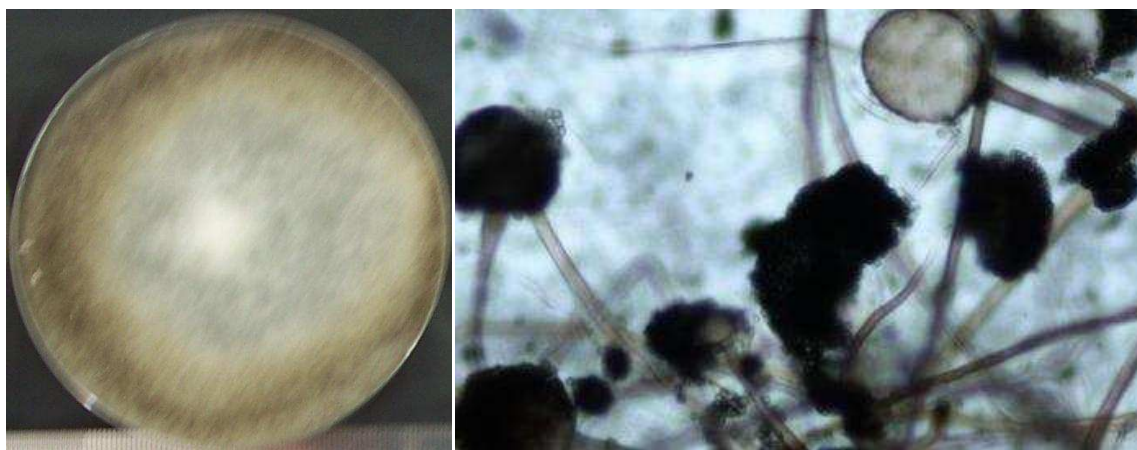
A.

B.

Figure 23. L'espèce *Fusarium sp.* A. Colonie sur PDA après 5 jours d'incubation à 28 °C
B. Observés sous microscope X 1000

d. *Rhizopus sp.* (Zygomycètes) (Fig. 24)

Cette espèce est caractérisée par la présence de stolons et de rhizoïdes pigmentés. Des sporanges sont portés par les stolons, ils contiennent un grand nombre des spores. La culture sur PDA donne des colonies cotonneuses, à croissance très rapide et couvrent la surface de la gélose avec un mycélium dense qui est d'abord blanc devenant brun jaunâtre.



A.

B.

Figure 24. L'espèce *Rhizopus sp.* A. Colonie sur PDA après 5 jours d'incubation à 28 °C
B. Observée sous microscope X 400

V.3.2. Effets antifongiques des huiles sur chaque espèce de moisissures

Chaque moisissure est traitée par deux dilutions de chaque huile essentielle (1/2000 et 1/4000). La croissance des mycéliums a été suivie pendant 7 jours d'incubation, les observations et les mesures ont été effectuées plusieurs fois; le deuxième jour, le quatrième, le cinquième et le dernier jour.

Les résultats sont représentés pour chaque moisissure et à chaque observation dans une figure séparée (total de 20 représentations graphiques successives).

Sur chaque figure (histogramme),

C1 : signifie la dilution 1/2000 ; C2 : signifie la dilution 1/4000

Les colonnes (qui représentent les moyennes de trois répétitions des taux de croissances) qui portent la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test Fischer LSD à $P < 0.01$.

Les barres verticales sur chaque colonne représentent l'écart-type (SD).

V.3.2.1. Après deux jours d'incubation

V.3.2.1.1. Effet sur *Aspergillus sp.*

Les résultats obtenus pour *Aspergillus sp.* au deuxième jour de l'expérience n'ont montré aucune différence significative entre les moyennes des traitements et celles du témoin (fig. 25). Nous avons calculé un taux de croissance de 0.8% dans le témoin et des taux qui varient de 0.7 à 0.9 % dans les boîtes traitées.

V.3.2.1.2. Effet sur *Cladosporium sp.*

Pour cette espèce, l'analyse de la variance montre que l'interaction des deux facteurs (type de l'huiles et la dilution) a affecté significativement ($p < 0.01$) la croissance du mycélium après 2 jour. Mais la comparaison des moyennes n'a pas montré de grandes différences significatives entre le témoin et les différents traitements. Les taux de croissances sont tous supérieurs à 0.8% et inférieurs à 1.3% (témoins) (fig. 26).

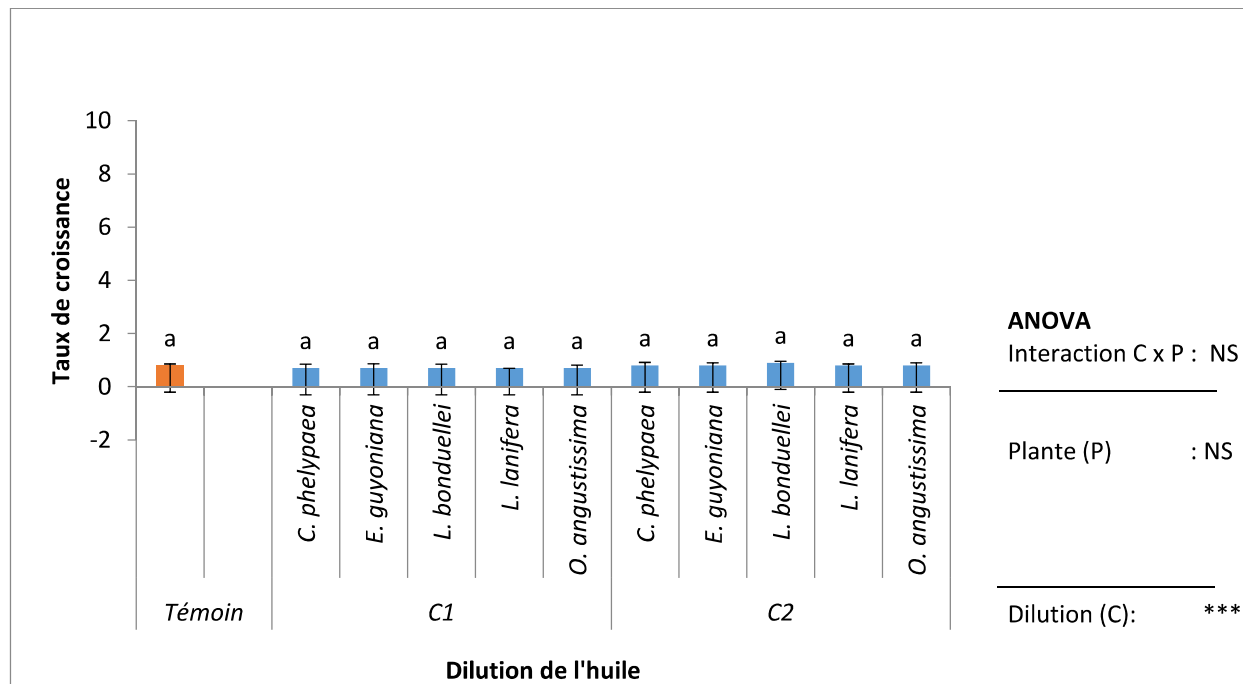


Figure 25. Taux de croissances d'*Aspergillus sp.* après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

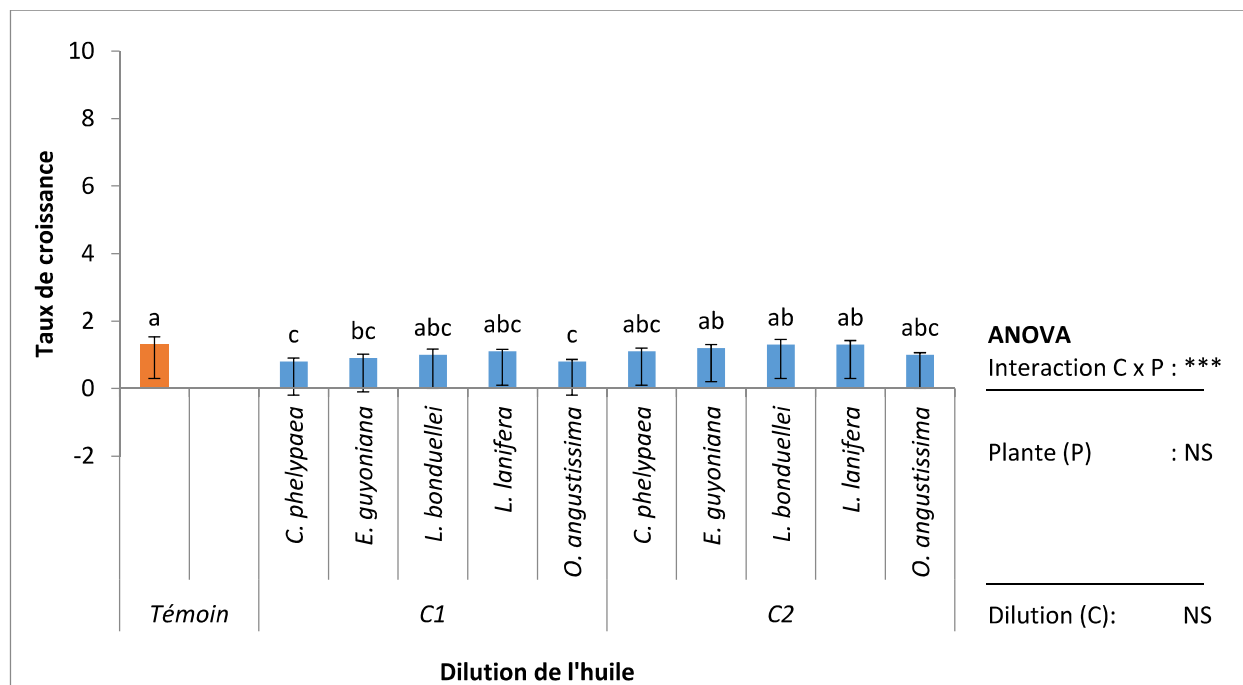


Figure 26. Taux de croissances de *Cladosporium sp.* après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

V.3.2.1.3. Effet sur *Fusarium sp.*

L'ANOVA montre que les taux de croissance de *Fusarium sp.* sont significativement affectés par les deux facteurs et par l'interaction. La comparaison des moyennes a montré des différences significatives entre le témoin (2.4%) et les boîtes traitées (fig. 27), surtout par la dilution faible (1/2000) des huiles, où les taux de croissances ne dépassent pas (1.6 %).

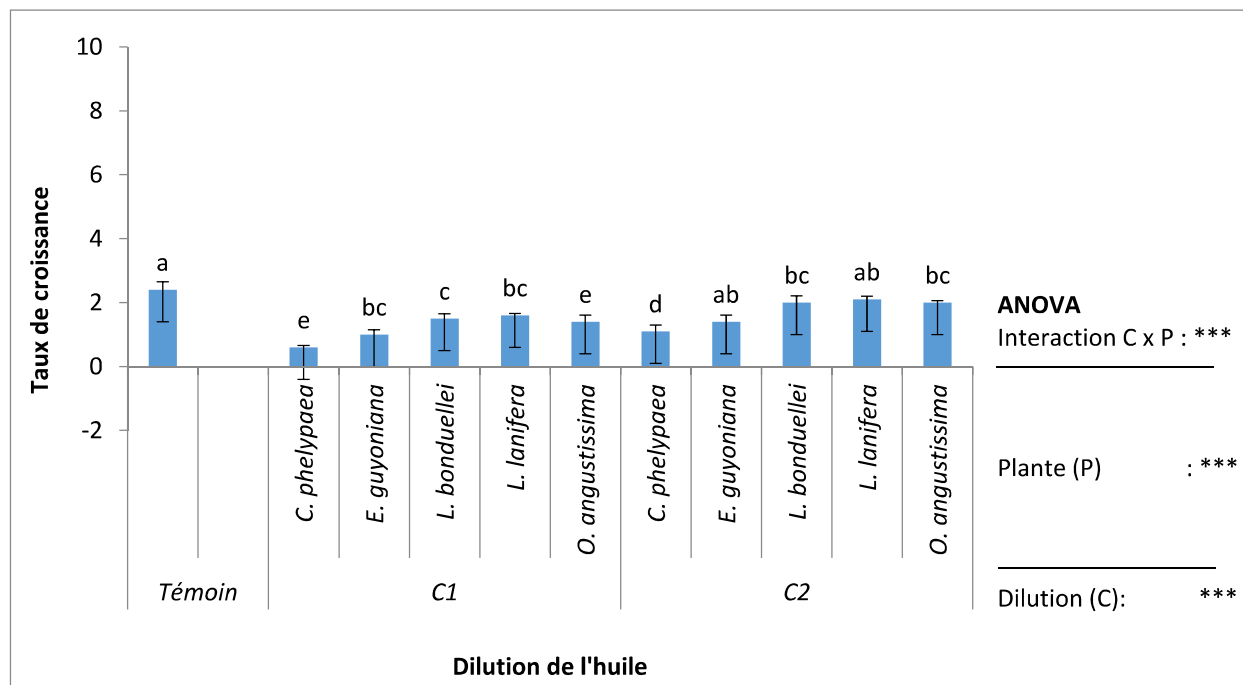


Figure 27. Taux de croissances de *Fusarium sp.* après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.2.1.4. Effet sur *Rhizopus sp.*

Statistiquement, la croissance mycélienne de ce champignon est affectés significativement à $p < 0.01$ par les différentes croissances des cinq types des huiles essentielles. La moyennes du taux de croissance dans les boîtes qui ne sont pas traitées (témoin) a été de 3%, ce taux est significativement différent des autres taux obtenus dans les différentes boîtes des traitements (fig. 28). Les taux de 1.4 % qui sont notés pour la dilution 1/2000 de *C. phelypaea* et *E. guyoniana* sont les plus faibles.

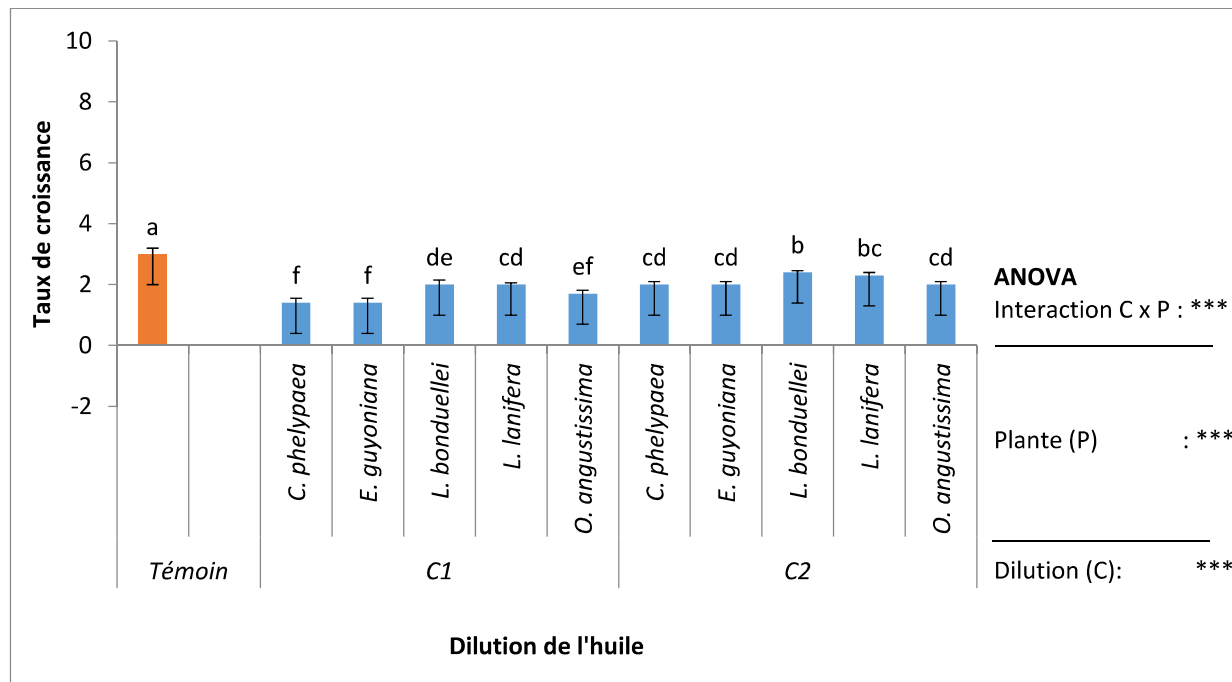


Figure 28. Taux de croissances de *Rhizopus sp.* après 2 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.2.2. Après quatre jours d'incubation

La croissance des mycéliums des différentes moisissures après 4 jours d'incubation été plus visible, à l'exception de *Cladosporium sp.* qui est caractérisé par une croissance lente. La majorité des moisissures commencent la production des spores, ce phénomène s'observe par des changements de la couleur des colonies.

Les analyse de la variance effectuées après 4 jours, pour chaque moisissures, a montré en générale que les taux des croissances sont affectés significativement par les deux facteurs considérés (la plante et la dilution) et par l'interaction plante \times dilution.

V.3.2.2.1. Effet sur *Aspergillus sp.*

La figure 29 montre que les taux de croissances calculés dans les boîtes traitées par les huiles de *L. lanifera* ne sont pas significativement différents de ceux du témoin. Alors que toutes les autres boîtes des traitements ont donné des taux qui sont significativement différents selon le test Fisher LSD à $p < 0.01$.

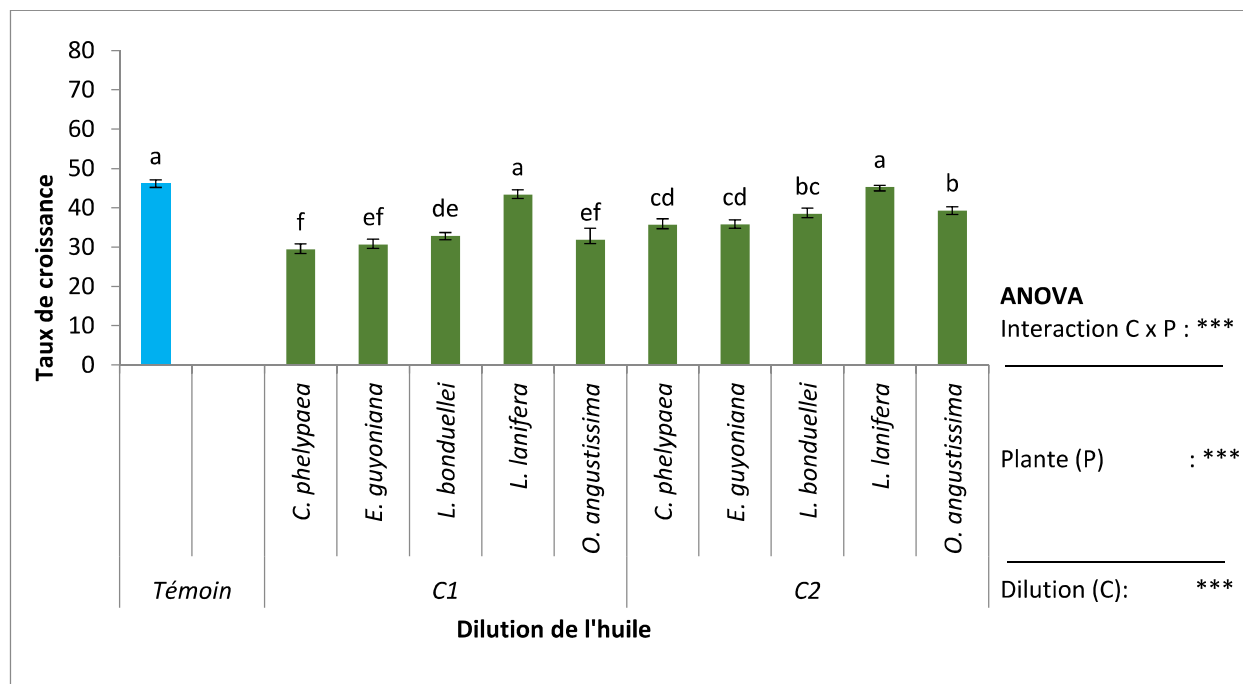


Figure 29. Taux de croissances d'*Aspergillus sp.* après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.2.2.2. Effet sur *Cladosporium sp.*

Pour cette espèce, qui a fait l'exception, les mêmes observations des différences du deuxième jour ont été notées après 4 jours. Les taux de croissance calculés après cette période sont de 14.9% en moyennes dans les boîtes du témoin et ils varient de 10.7% à 15% dans les boîtes traitées par les huiles (fig. 30). Ceci est bien expliqué par le résultat de la comparaison des moyennes.

V.3.2.2.3. Effet sur *Fusarium sp.*

La figure 31 montre, d'une part, que les taux obtenus suite aux traitements par les huiles de *L. lanifera* (46%) et *E. guyoniana* (46.1%) à la dilution élevée ne sont pas significativement différents par rapport au témoin (49.7%). De l'autre part, à la dilution faible des huiles, *C. phelypaea* et *O. angustissima* ont donné des taux de croissance faibles (34.2% et 41.9% respectivement).

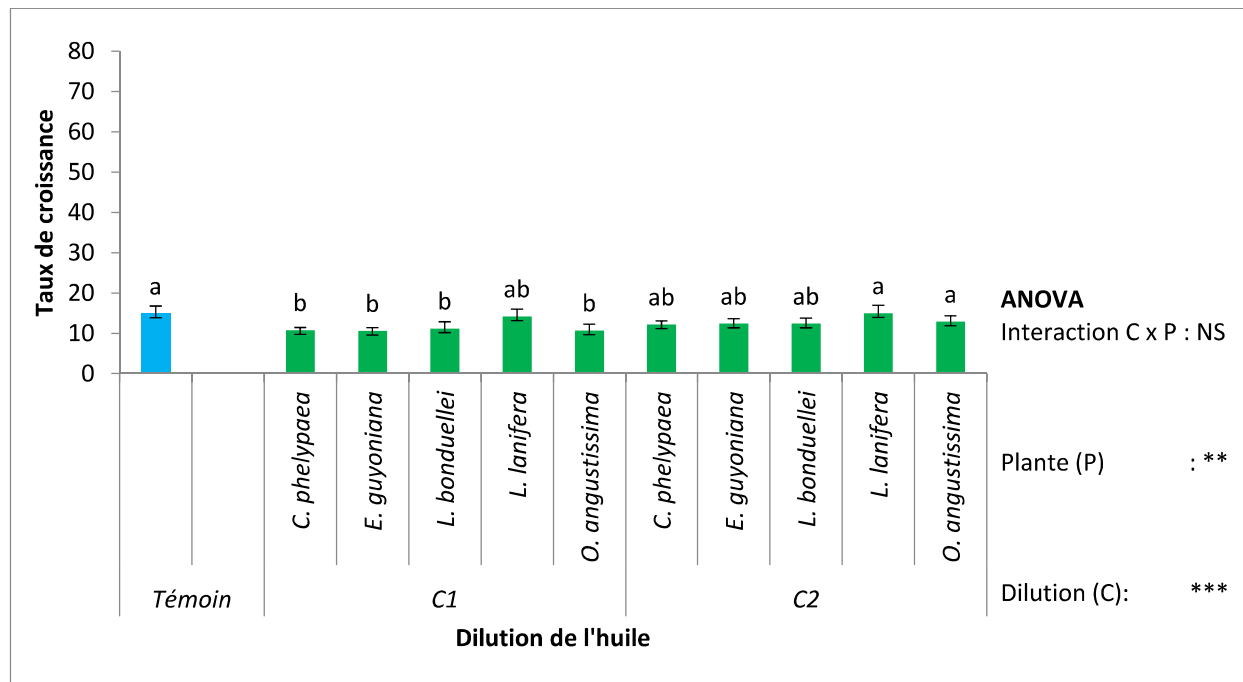


Figure 30. Taux de croissances de *Cladosporium sp.* après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

** Signification à $P < 0.05$
*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

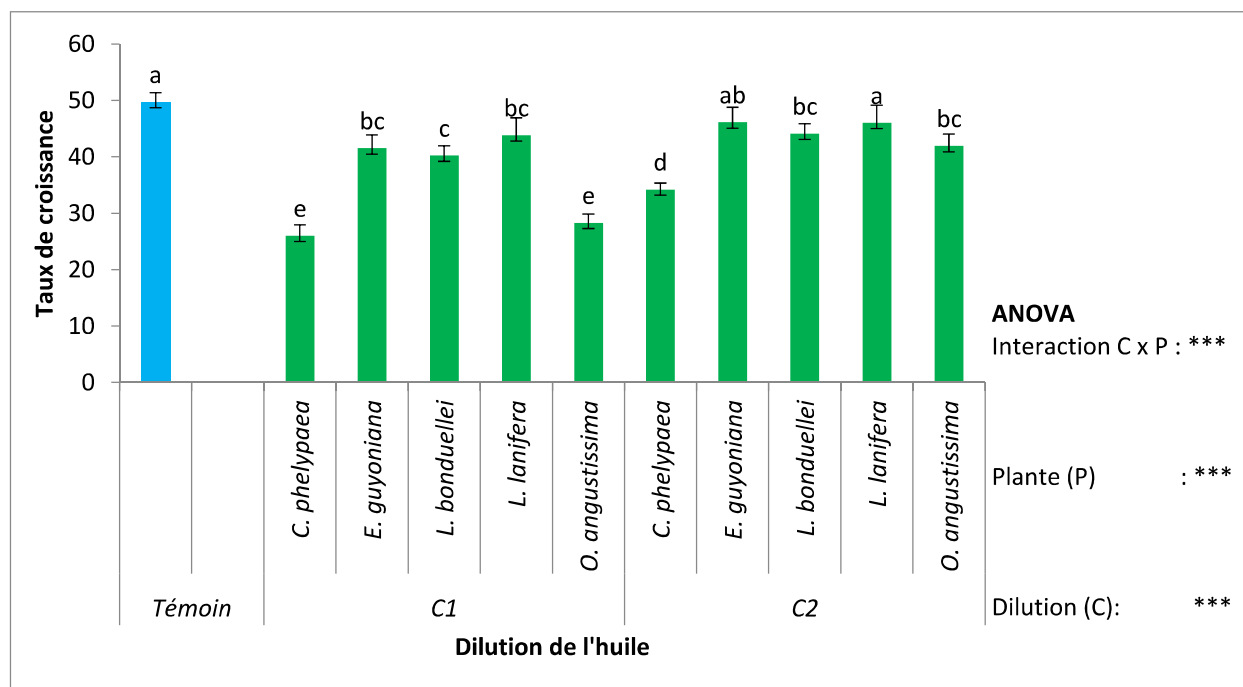


Figure 31. Taux de croissances de *Fusarium sp.* après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.2.2.4. Effet sur *Rhizopus sp.*

Nous remarquons que les huiles des différentes plantes testées à la dilution élevée (1/4000) ont donné des taux d'inhibition (55–63%) qui ne sont pas significativement différents de celui du témoin (63.6%). A la dilution 1/2000, à l'exception de la plante *L. lanifera*, les huiles des autres plantes ont inhibé significativement la croissance de *rhizopus sp.* avec des taux inférieurs à 48.3% (fig. 32).

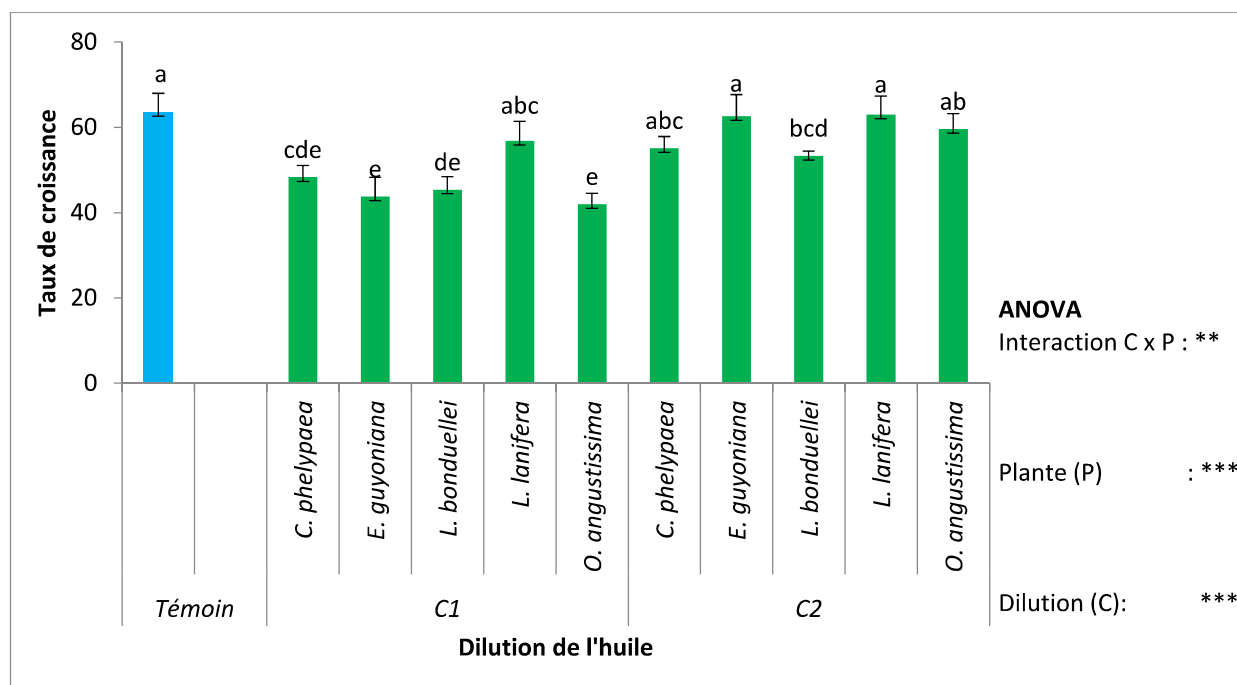


Figure 32. Taux de croissances de *Rhizopus sp.* après 4 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

** Signification à $P < 0.05$
*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

V.3.2.3. Après cinq jours d'incubation

Les analyses de la variance effectuées après le cinquième jour, pour chaque moisissure, a montré en générale que les taux des croissances sont affectés significativement par les deux facteurs considérés (la plante et la dilution) et par l'interaction plante \times dilution.

V.3.2.3.1. Effet sur *Aspergillus sp.*

Nous avons noté pour cette espèce de moisissures, que la croissance été rapide et les taux de croissance dépassent 69 %, les différences entre les moyennes entre le témoin et les différents traitements est significative. Cette signification est très visible à la dilution 1/2000, les moyennes de traitement sont inférieurs à 77.2%, et elle est peu visible à la dilution 1/4000 où les moyennes atteignent 84.9%, la moyenne du témoin est de 88.3% (fig. 33).

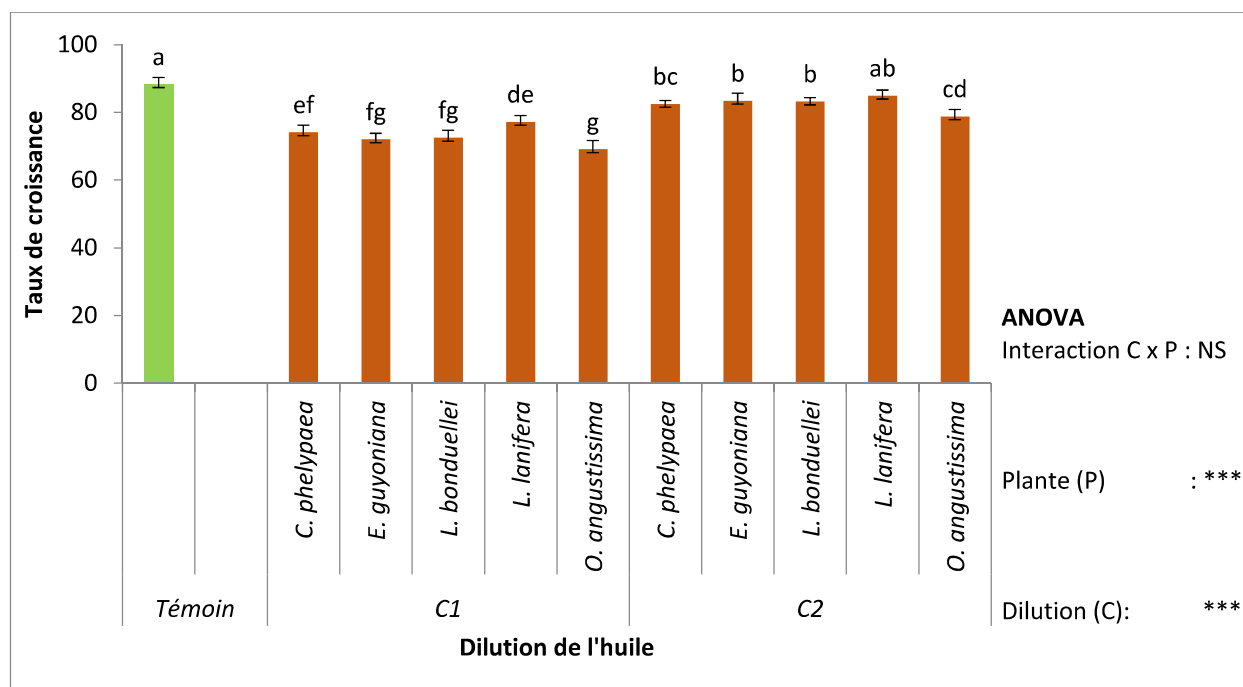


Figure 33. Taux de croissances d'*Aspergillus sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

V.3.2.3.2. Effet sur *Cladosporium sp.*

Pour *Cladosporium sp.*, en comparaison avec le témoin, nous avons noté que les taux de croissances calculés dans les boîtes traitées par les huiles (aux deux dilutions) de *L. lanifera* et *L. bonduellei* (varient de 23.8% à 26.7%) ne se diffèrent pas significativement par rapport aux témoin (26.5%). La différence la plus importante est notée pour les huiles d'*O. angustissima* (13.9–18.1%) (fig. 34).

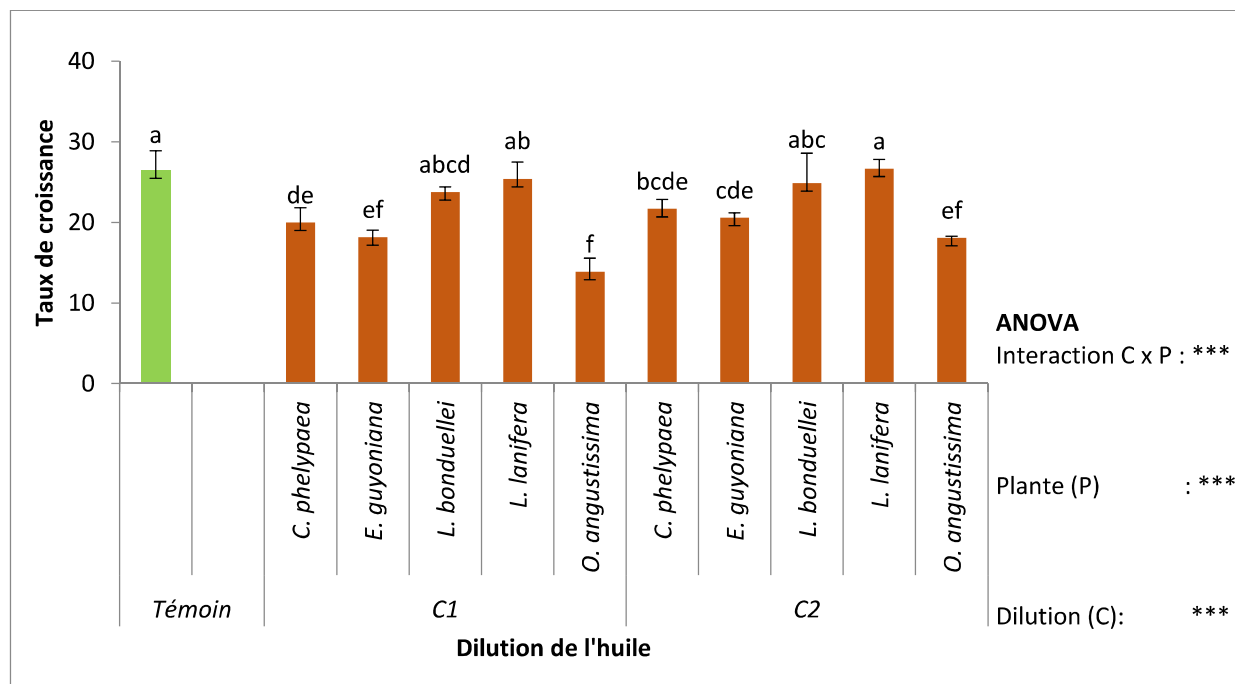


Figure 34. Taux de croissances de *Cladosporium sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.2.3.3. Effet sur *Fusarium sp.*

Le fusarium est caractérisée aussi par une croissance rapide, la moyennes des taux de croissance est de 89.3% pour le témoin et atteint 87% pour les traitements par les huiles. Le résultat du cinquième jour montre une absence de signification dans les différences entre le témoin et tous les traitements par la dilution 1/4000 ainsi que les traitements par *L. lanifera* et *L. bonduellei* à la dilution 1/2000 (fig .35).

V.3.2.3.4. Effet sur *Rhizopus sp.*

La croissance de *Rhizopus sp.* est totale après 5 jours d'incubation, ce taux est noté pour le témoin et pour *L. lanifera* à la dilution élevée (fig 36). Le reste des traitements ont donné des taux de croissances totalement différents significativement par rapport aux témoins, les taux varient de 55.3% jusqu'à 88.8%.

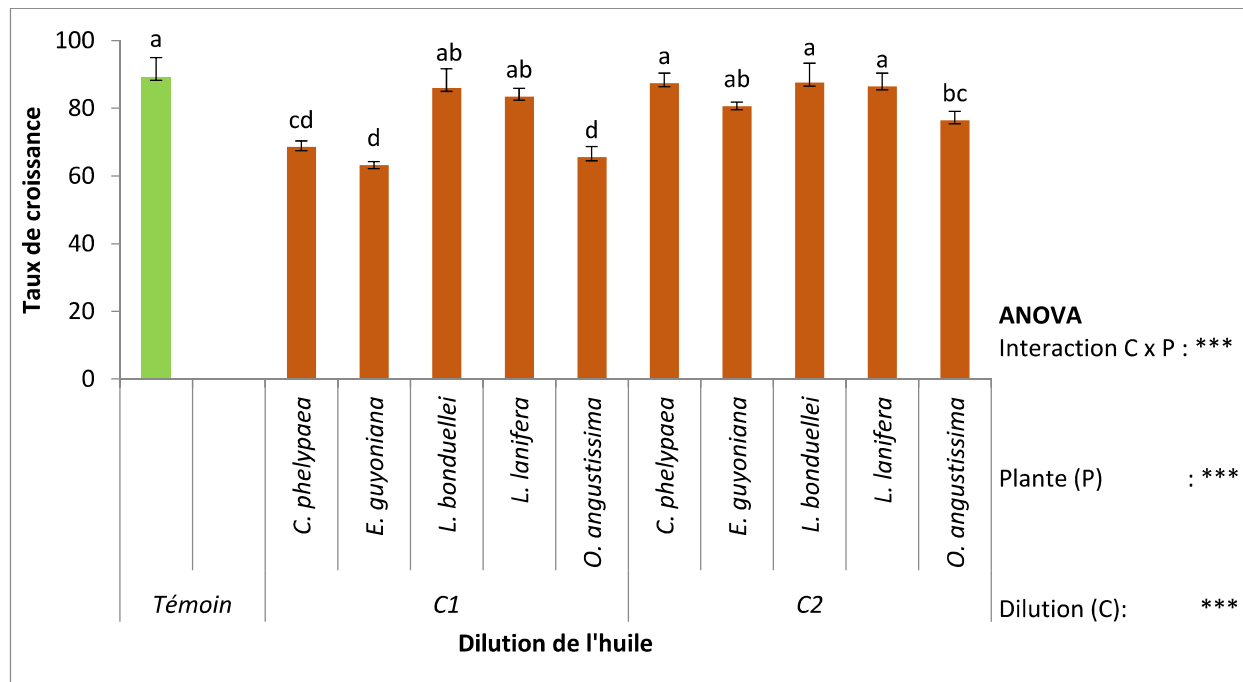


Figure 35. Taux de croissances de *Fusarium sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

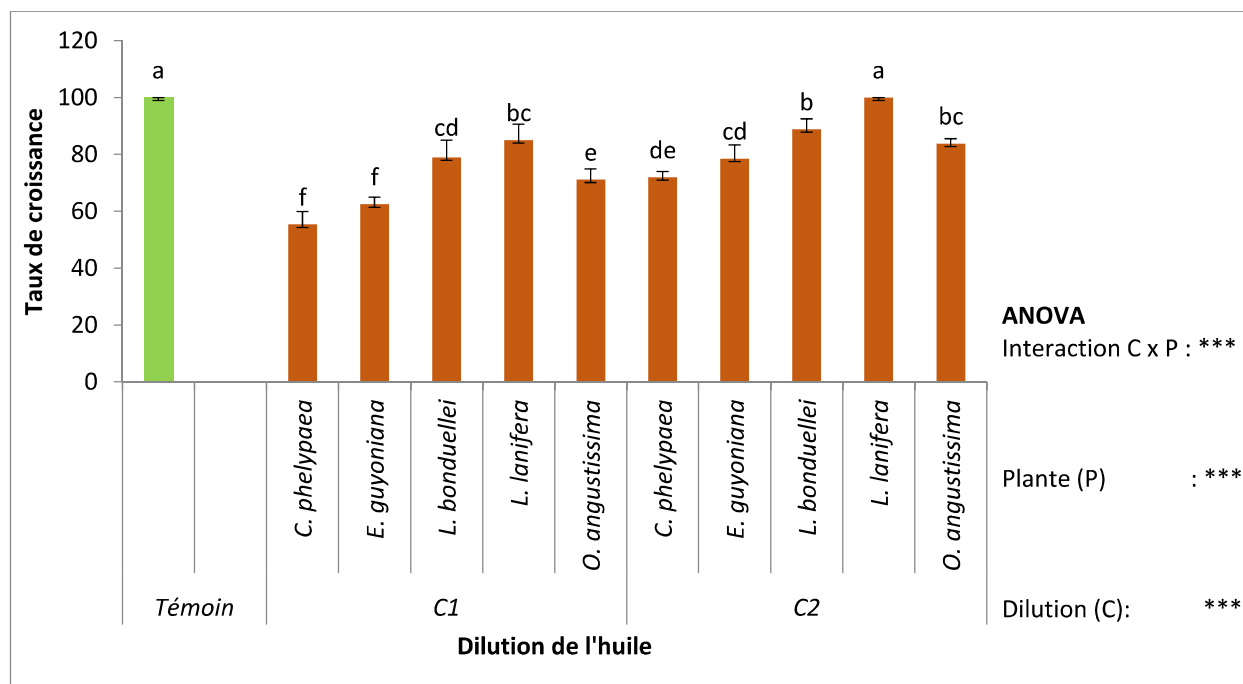


Figure 36. Taux de croissances de *Rhizopus sp.* après 5 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.2.4. Après 7 jours d'incubation (dernier jour)

A la fin de l'incubation (7 jours), les ANOVA effectuée pour chaque espèce de moisissure ont montré que les taux de croissances sont significativement affectés par les deux facteurs et par leurs interactions, à m'exception de l'interaction pour *Cladosporium sp.*

V.3.2.4.1. Effet sur *Aspergillus sp.*

Les huiles de *L. lanifera* et *C. phelypaea* à la dilution élevée n'ont pas affecté significativement le taux de croissance (92%) par rapport au témoin (95.6%). Pour les autres traitements, il existe des différences significatives, les moyennes des taux de croissance varient de 73.% à 88.9% (fig. 37).

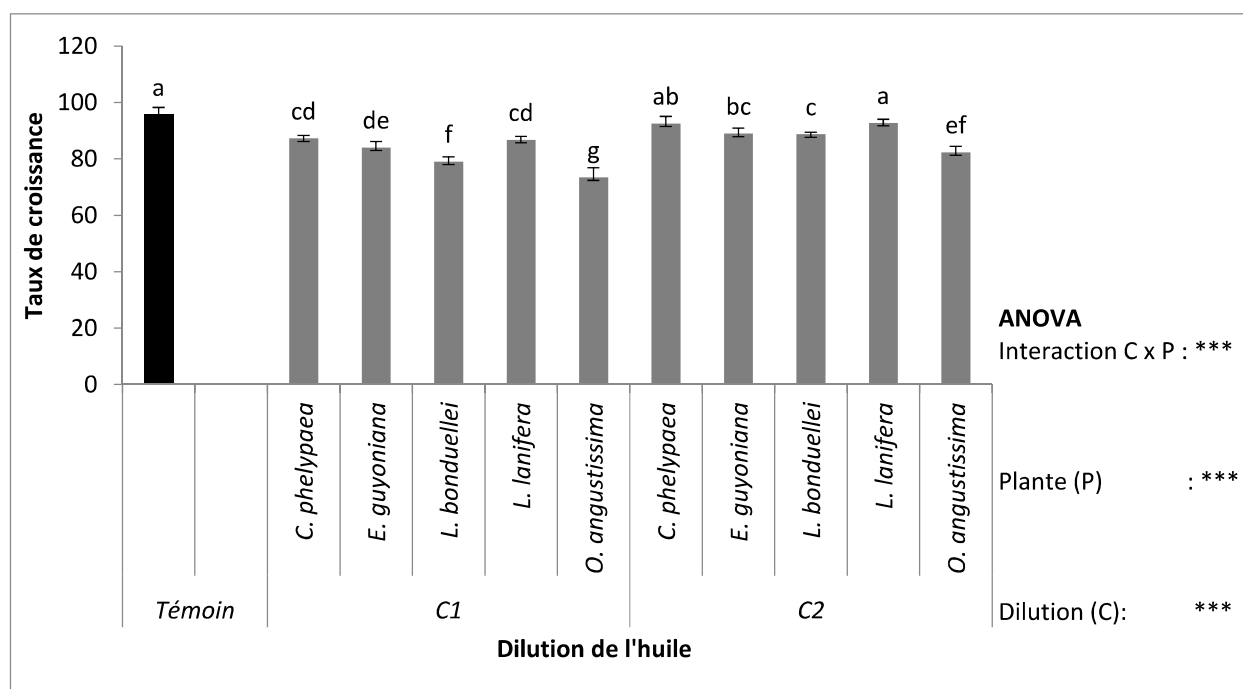


Figure 37. Taux de croissances d'*Aspergillus sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

V.3.2.4.2. Effet sur *Cladosporium sp.*

Dans le cas de *Cladosporium sp.*, la majorité des taux de croissances ne sont pas significativement différents en comparaison avec le témoin (28.2%). Nous avons noté un taux de croissance supérieur (32.5%) dans les boîtes traitées par *L. lanifera* à une dilution de 1/4000 (fig. 38).

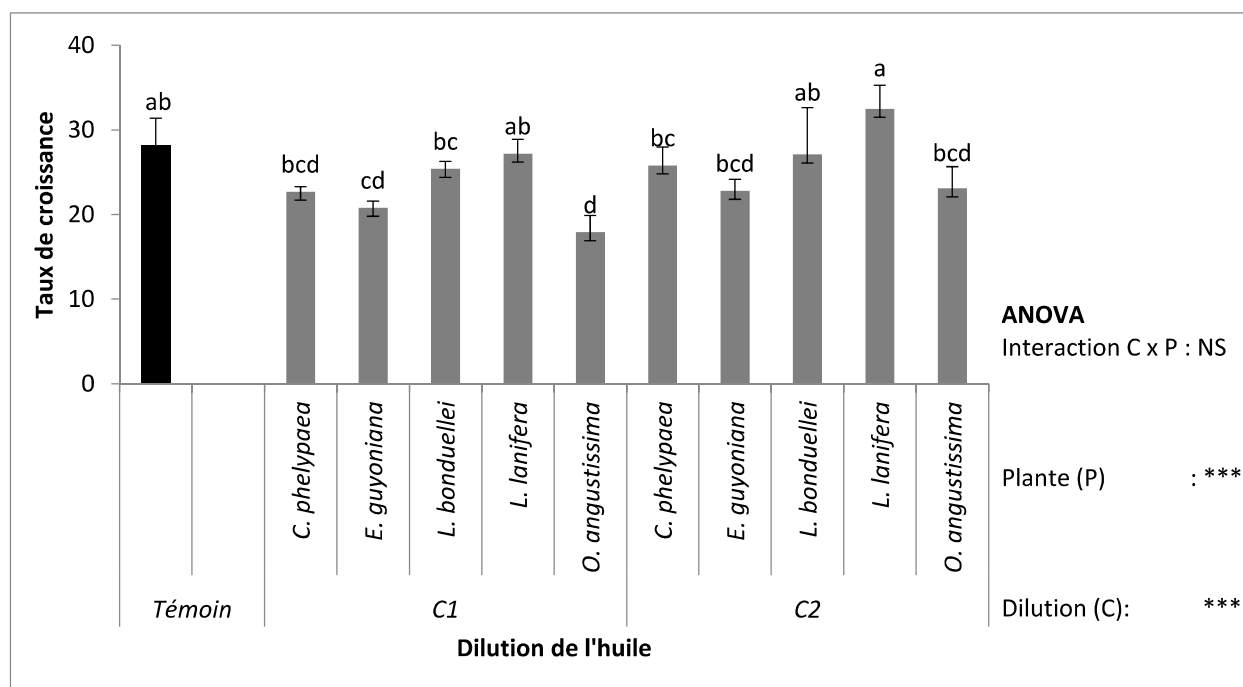


Figure 38. Taux de croissances de *Cladosporium sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$
NS. Non significatif.

V.3.2.4.3. Effet sur *Fusarium sp.*

Les différences significatives notées après 7 jours de croissance pour cette espèce concernent 4 traitements sur 10 (fig. 39). C'est les huiles de *C. phelypaea*, *E. guyoniana* et *O. angustissima* qui ont donné des taux de croissance (72–83.9%) significativement faibles par rapport au témoin (92.9 %).

V.3.2.4.4. Effet sur *Rhizopus sp.*

Après 7 jours, la croissance de *Rhizopus sp.* est totale dans le témoin, le mycélium couvre toute la boîte (100%). Cette croissance est totale aussi dans toutes les boîtes traitées par *L. lanifera*, elle est de 96.5% pour *L. bonduellei*. Ceci explique la non signification des différences entre ces taux. Le taux de 63.7% est le plus faible, il est noté pour *C. phelypaea* à la dilution, 1/2000 (fig. 40).

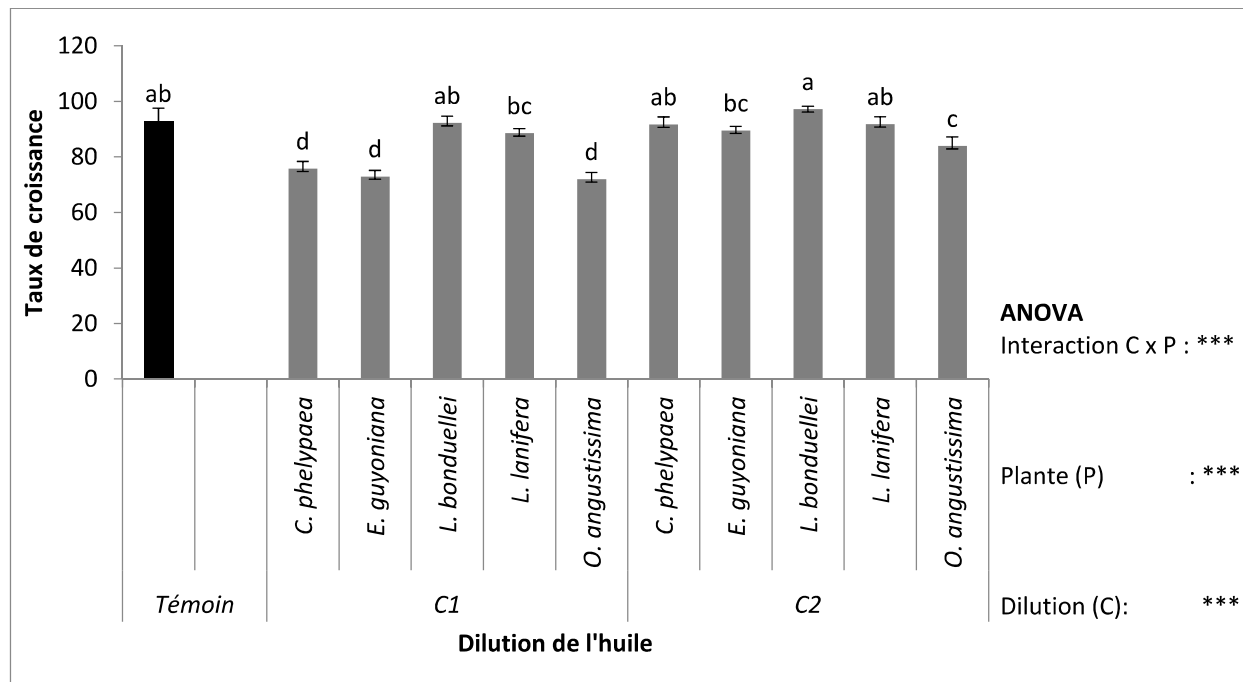


Figure 39. Taux de croissances de *Fusarium sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

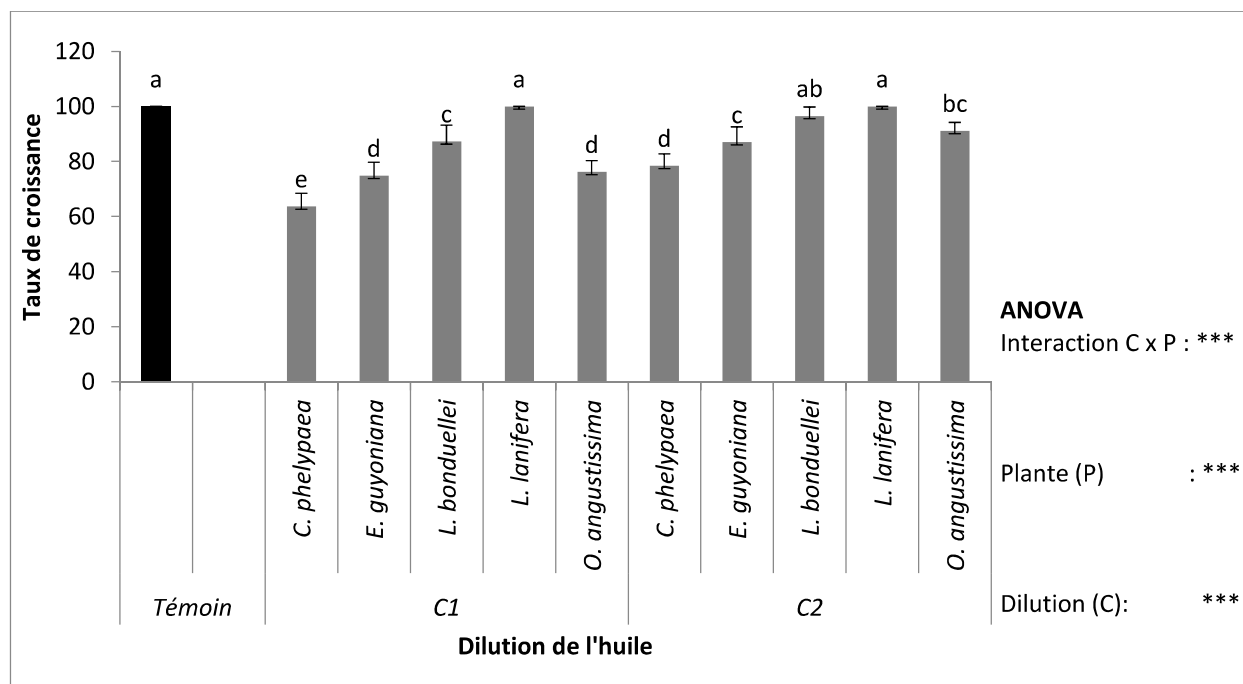


Figure 40. Taux de croissances de *Rhizopus sp.* après 7 jours de traitement par les deux dilutions des huiles des cinq plantes

*** Signification à $P < 0.01$

V.3.3. Comparaison entre les effets de chaque huile sur les espèces de champignons

Cette partie comporte une comparaison de l'effet obtenu de chaque huile essentielle (à deux dilutions) sur les quatre champignons isolés. Cette comparaison est basée sur les indices antifongiques calculés chaque jour de l'observation. Ils ont été calculés pour deux dilutions de chaque huile.

L'effet des huiles sur les moisissures se traduit, macroscopiquement, par un retardement de la croissance des mycéliums, ce qui donne des indices antifongiques supérieurs à 0. Nous avons observé aussi dans certains cas (effet de *L. lanifera* sur *Cladosporium sp.* au 7^{ème} jour, fig. 41) un effet stimulateur où l'indice antifongique est inférieur à 0.

Nous avons constaté qu'il existe de grandes différences entre les croissances des quatre moisissures testées sous l'effet des différents traitements.

En générale, l'effet des huiles est proportionnel à la dilution. Dans tous les tests, les indices antifongiques calculés à la dilution faible (1/2000) sont nettement supérieurs à celles obtenues à la dilution élevée (1/4000). Les résultats nous ont montré aussi que l'effet inhibiteur des huiles se manifeste mieux après une période courte d'incubation, c'est au deuxième et au quatrième jour que nous avons noté l'inhibition importante des mycéliums.

V.3.3.1. Effet de l'huile de *Cistanche phelypaea*

Les indices antifongiques des deux dilutions de l'huile de *C. phelypaea* montrent de grandes différences entre les quatre moisissures testées.

L'effet est élevé aux premiers jours de l'expériences (fig. 41), nous avons noté, pour la dilution C1 (1/2000) un indice de 76.7 % au 2^{ème} jour de croissance de *Fusarium sp.*, alors que l'indice calculé aux derniers jour (j7) est de 18.4%. À la deuxième dilution (1/4000), les indices calculés sont 54.8% et 1.23% au 2^{ème} jour et au 7^{ème} jour respectivement.

Ces différences ne sont pas similaires pour les autres espèces de moisissures testées. A la dilution faible (1/2000), l'augmentation de l'effet inhibiteur n'était pas importante pour *Rhizopus sp.*, l'indice antifongique passe de 54.43% au 2^{ème} jour à 36.3% au dernier jour et elle passe de 33.33% à 21.6% à la dilution élevée (1/4000) pour la même période. L'observation de l'effet de

l'huile de *C. phelypaea* sur les différentes moisissures montre que *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* ont été les plus inhibées, l'inhibition la plus faible à été notée sur *Aspergillus sp.*

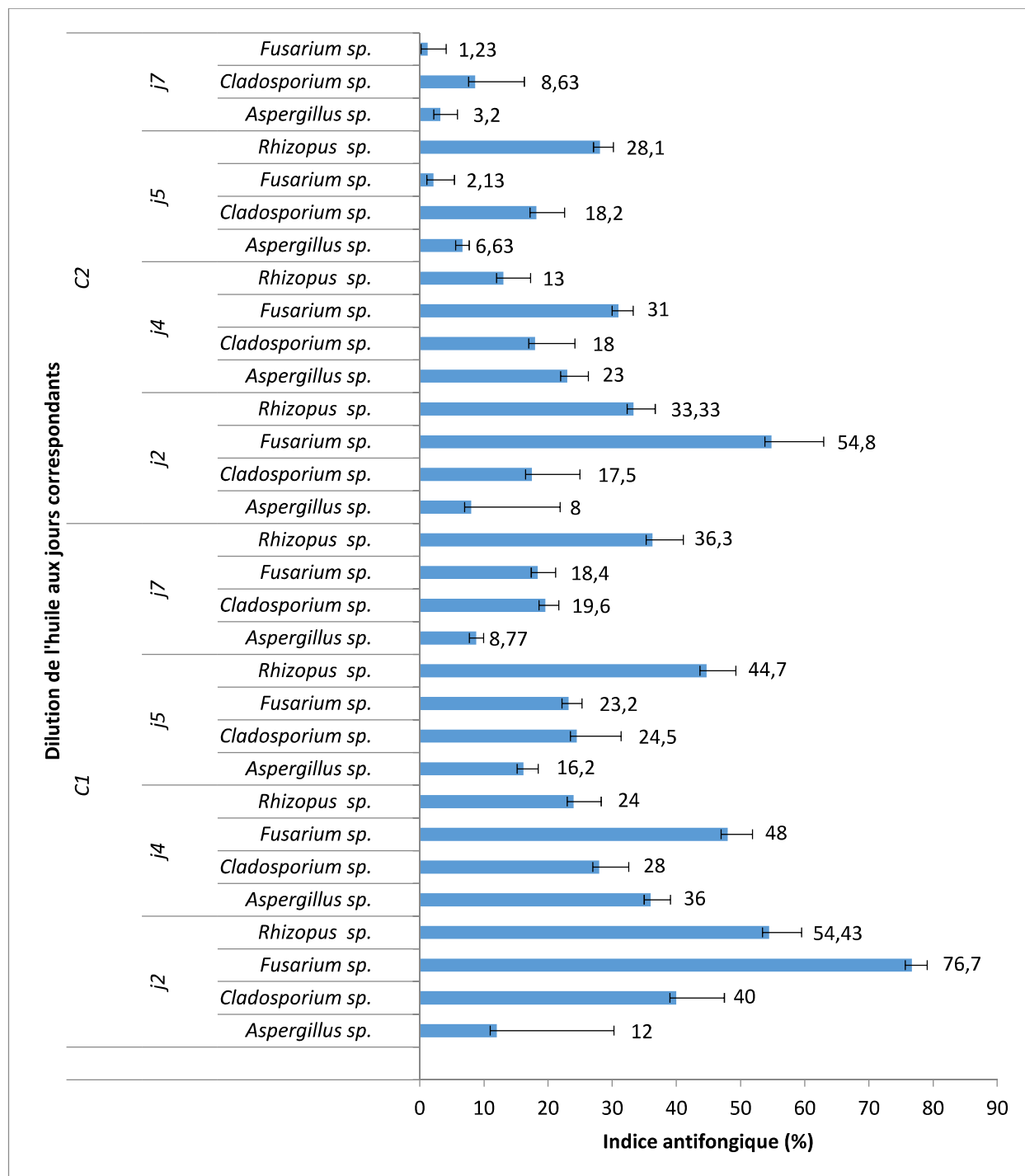


Figure 41. Effets de l'huile de *Cistanche phelypaea* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*

Les barres sur chaque colonne représentent l'erreur standard (N = 3).

La nature des substances chimiques qui sont responsables de l'activité biologique est différente d'un type d'extrait à un autre, nous avons testé dans cette recherche l'activité antifongique des huiles volatiles de *C. phelypaea*. Cependant, les extraits hydroalcooliques d'autres espèce, comme *C. tubulosa*, montrent une activité élevée sur *Aspergillus niger* et *A. fumigatus* et une activité faible sur *Fusarium oxysporum* (Keymanesh *et al.*, 2009). En revanche, une faible activité a été trouvée sur le champignon levuriforme (*Candida albicans*) (Nostro *et al.*, 2012).

V.3.3.2. Effet de l'huile d'*Euphorbia guyoniana*

L'activité la plus importante de l'huile d'*Euphorbia guyoniana* est observée sur *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*, l'indice varie de 60.27% et 54.4% respectivement au J2 et de 21.4% et 25.2% respectivement au 7^{ème} jours (fig. 42).

L'espèce *Aspergillus sp.* a été la moins inhibée, les indices varient entre 12 et 16% (fig. 40).

Les extraits acétonique d'*Euphorbia golondrina* n'ont pas d'effet sur la croissance des champignons *Candida albicans*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger* (Ndam *et al.*, 2016).

V.3.3.3. Effet de l'huile de *Launaea lanifera*

Nous avons démontré pour l'activité antibactérienne que cette espèce ne possèdent pas d'effet significatives sur les souches bactériennes, les huiles de cette plante n'ont pas présenté également d'effet important sur les moisissures testées.

L'effet le plus élevé à été noté sur *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*, avec des indices de 35.6% et 32.2% calculés aux 2^{ème} jour respectivement. Pour le reste des tests, les indices sont en générale inférieurs à 15% à la dilution 1/2000, et inférieurs à 8% à la dilution 1/4000. L'huile de *L. lanifera* à stimuler aussi la croissance du mycélium de *Cladosporium sp* (fig. 43).

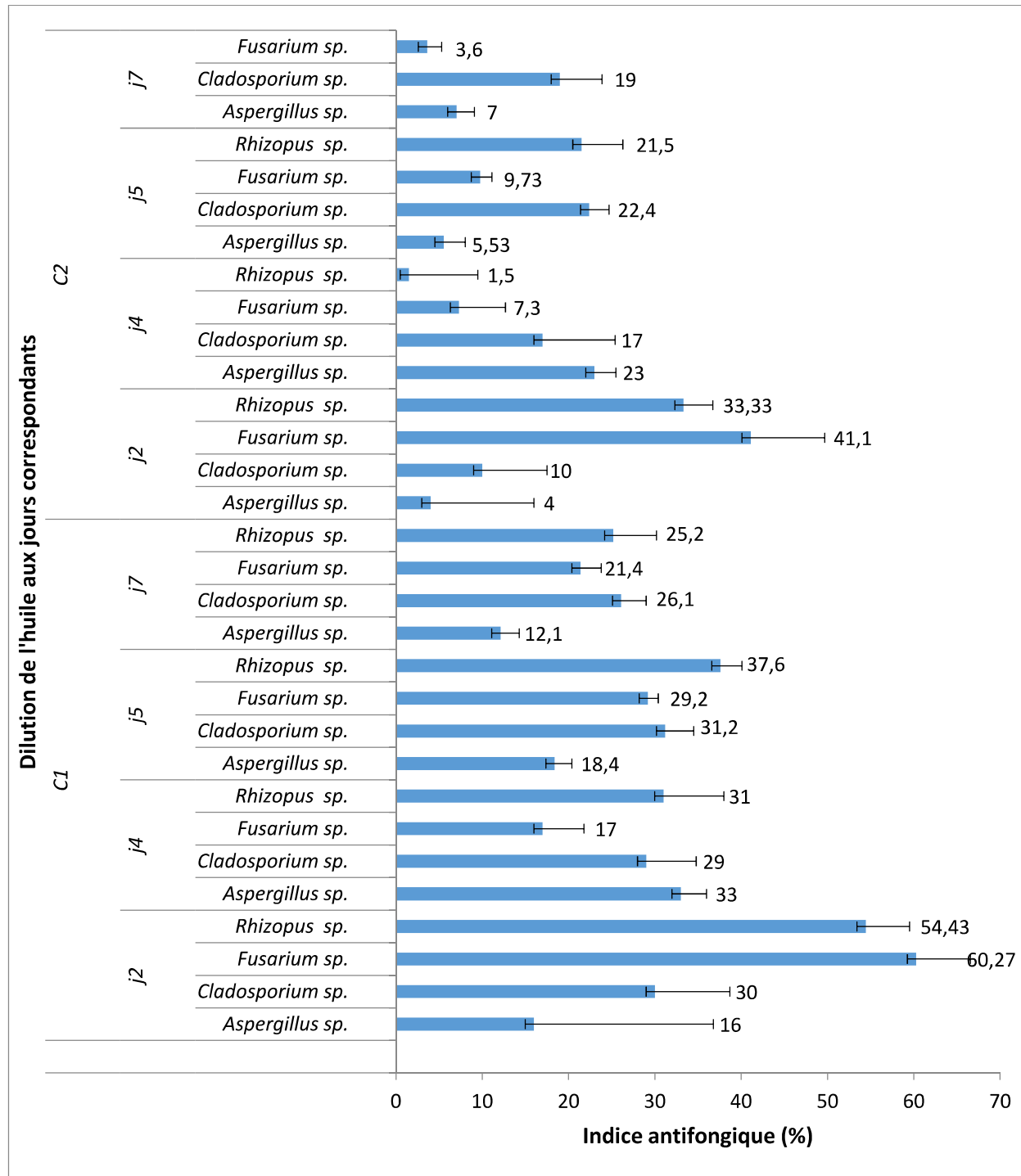


Figure 42. Effets de l'huile d'*Euphorbia guyoniana* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*

Les barres sur chaque colonne représentent l'erreur standard (N = 3).

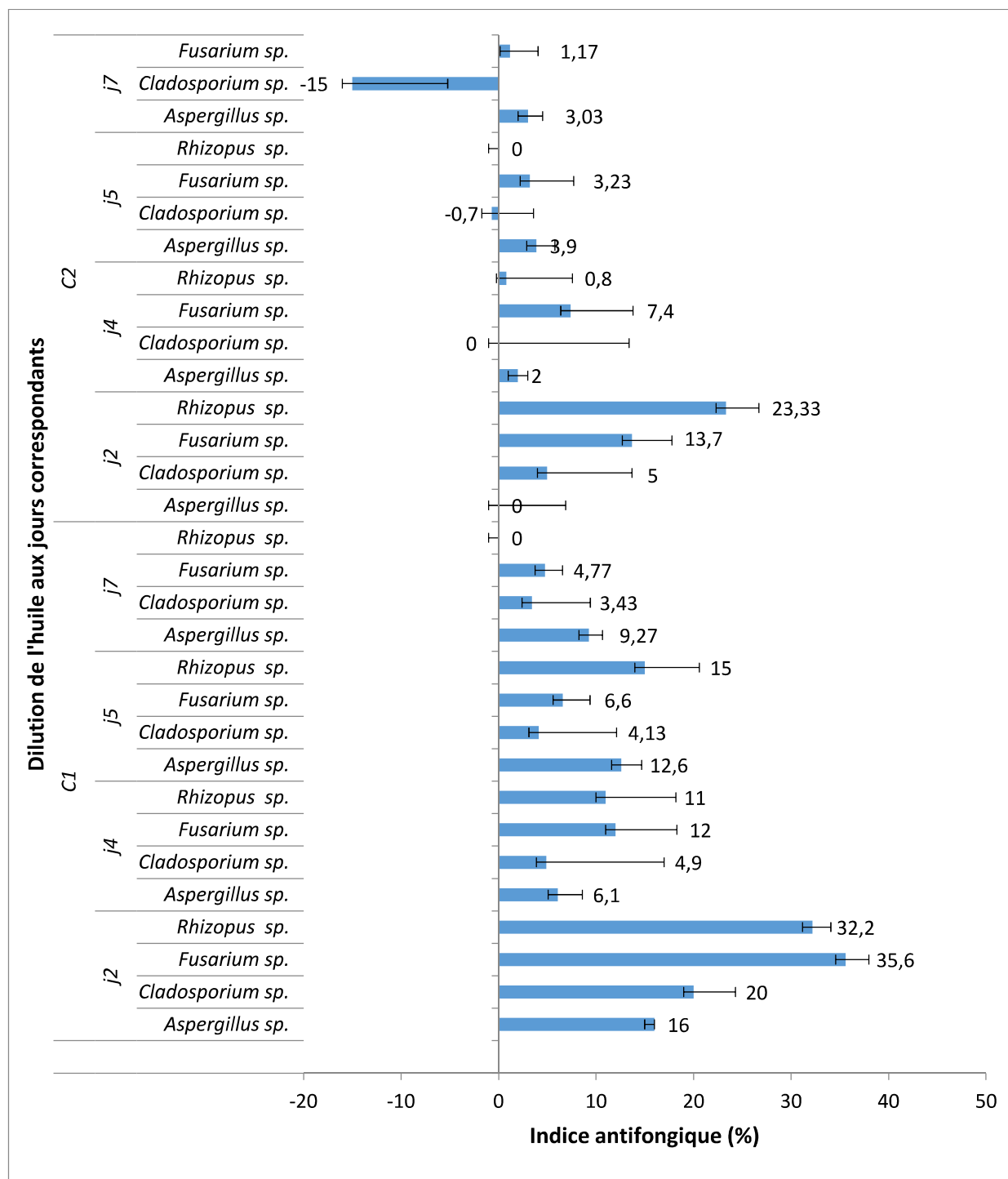


Figure 43. Effets de l'huile de *Launaea lanifera* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*

Les barres sur chaque colonne représentent l'erreur standard (N = 3).

Nous rappelons ici que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *L. lanifera* n'a pas été étudiée auparavant. Cependant les extraits bruts (par des solvants organiques) d'autres espèces du même genre ont été testés pour leurs effets antifongiques.

Les différents extraits méthanolique, éthyl acétatique, dichlorométhanique et hexanique de *launaea arborescence* ont été testés *in vitro* sur *Fusarium oxysporum*, l'agent causal de la maladie de Beyoudh du palmier dattier (Boulenouar *et al.*, 2012), tous les extraits n'ont pas d'effet inhibiteur sur ce champignon.

Les extraits méthanoliques et éthanoliques de *Launaea resedifolia* et *Launaea nudicaulis* ont été testés sur *Aspergillus spp.*, une inhibition d'environ 50% a été observée sur la croissance linéaire du mycélium après 4 jours d'incubation (Rashid *et al.*, 2000).

Moussaoui *et al.* (2010) ont démontré que l'extrait n-butanolique de *Launaea resedifolia* n'a pas d'effet sur l'ascomycète unicellulaire *Candida albicans*.

V.3.3.4. Effet de l'huile de *Limonium bonduellei*

Nous avons constaté que l'huile de cette plante halophyte a également une activité antifongique élevée sur les deux champignons *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*, cette activité est observée aussi au 2^{ème} jour de l'expérience et des indices de 39.73% et 34.43% ont été enregistrés respectivement (fig. 44).

Les huiles essentielles des espèces appartiennent au même genre sont aussi connues par leurs faible activité antifongique. La plante halophyte *Limonium echioides* ne possède pas une activité antifongique sur quatre champignons mycéliens phytopathogènes (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.* et *Alternaria sp.*) (Saïdana *et al.*, 2008) et une faible activité des extraits éthanoliques des inflorescences de *Limonium Avei* a été rapportée par Nostro *et al.*, (2012) sur le champignon levuriforme *Candida albicans*.

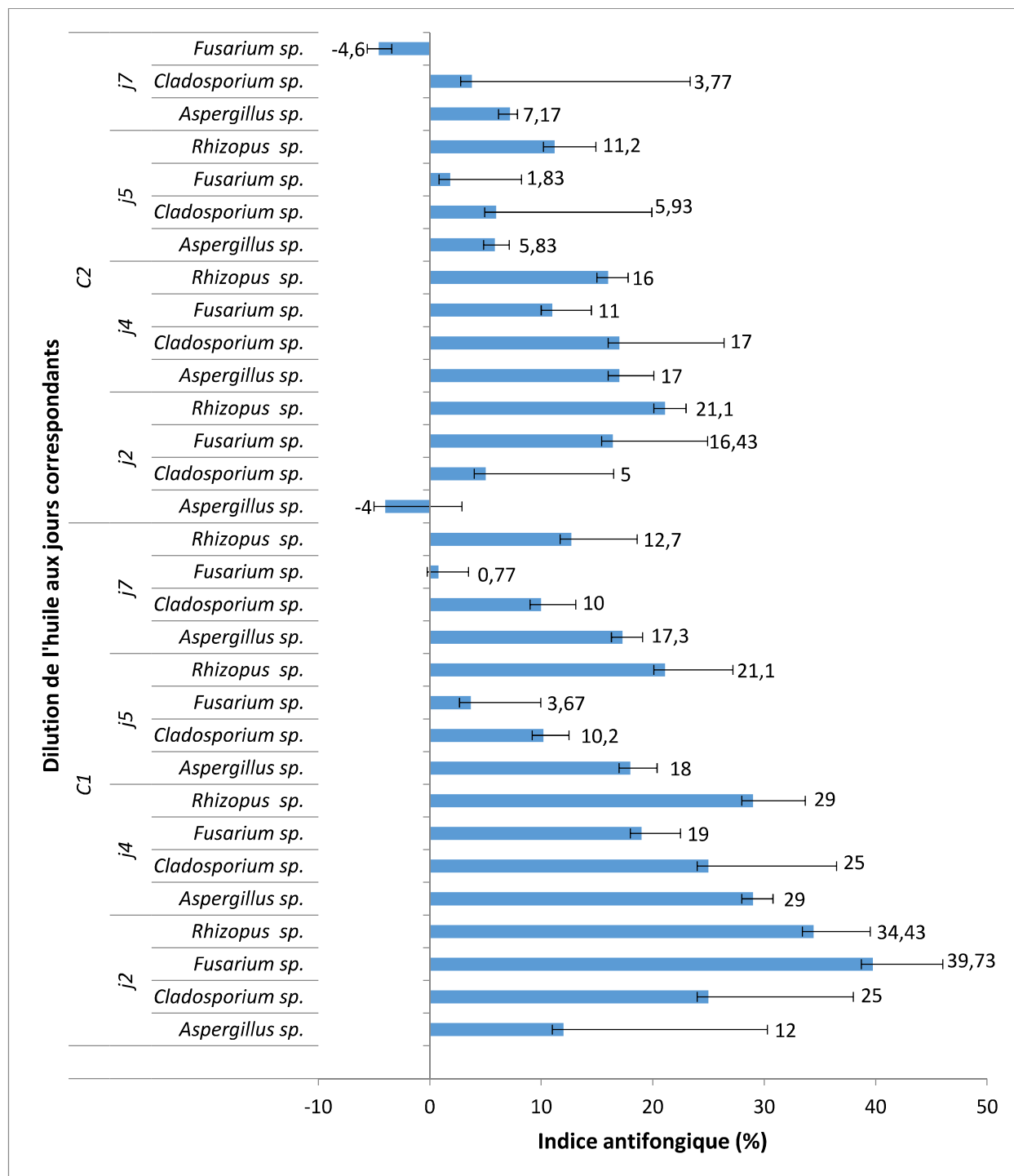


Figure 44. Effets de l'huile de *Limonium bonduellei* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*

Les barres sur chaque colonne représentent l'erreur standard (N = 3).

V.3.3.5. Effet de l'huile d'*Ononis angustissima*

Parmi les 5 plantes que nous avons choisies, *Ononis angustissima* possède avec *Cistanche phelypaea* une activité antifongique importante. Tel qu'il est montré sur la figure 45, les indices antifongiques calculés à la dilution 1/2000 sont supérieurs à 20%.

En plus de l'effet élevé sur *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*, l'huile de cette plante a montré une inhibition importante du mycélium de *Cladosporium sp.*, cette inhibition est observée aux 5^{ème} et au 7^{ème} jour avec des indices de 47.5% et 36.4% respectivement.

L'activité la plus faible de cette sous espèce du genre *Ononis* été noté sur *Aspergillus sp.* avec des indices qui varient de 4% à 23.2%. Talibi *et al.* (2012) ont également trouvé une faible activité d'*Ononis natrix* (une autre sous espèce qui se développe au Maroc) sur *Geotrichum candidum*, l'agent causal de la pourriture des agrumes.

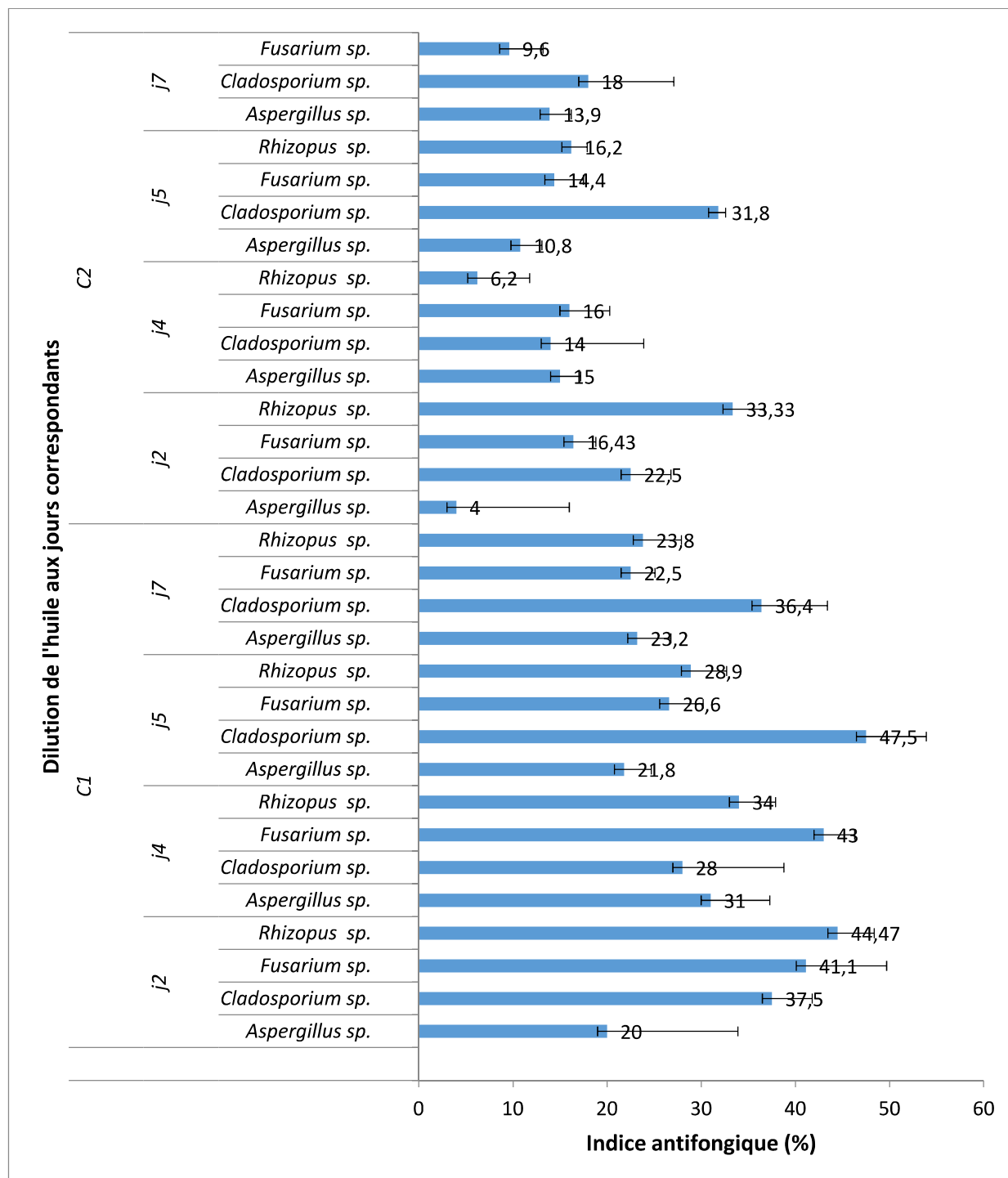


Figure 45. Effets de l'huile d'*Ononis angustissima* à deux dilutions (C1 : dilution 1/2000; C2 : dilution 1/4000) sur les moisissures; *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.*

Les barres sur chaque colonne représentent l'erreur standard (N = 3).

V.3.4. Corrélation entre les composés chimiques et l'activité antifongique

Les coefficients de corrélation linéaire (tab. 8) entre les pourcentages des classes chimiques constituant les différentes huiles essentielles et l'activité antifongique ont montré les cas suivants:

- une corrélation positive entre les sesquiterpènes oxygénés et l'activité sur *Fusarium sp.* Elle est observée au quatrième jour de l'expérience avec des coefficients de corrélation de 0.93 à la dilution 1/2000 et de 0.97 à la dilution 1/4000.

Les résultats que nous avons présentés au quatrième jour de l'incubation (section V.3.2.2.3) ont montré l'effet inhibiteur élevé des deux plantes; *C. phelypaea* et *O. angustissima*. Effectivement, l'analyse de la composition chimique de ces plantes a mis en évidence des taux élevés des sesquiterpènes oxygénés, cette classe chimique est représentée par un pourcentage de 68.2% dans l'huile essentielle de *C. phelypaea* et de 32.6% dans l'huile d'*O. angustissima* (section V.1.6).

Le coefficient de corrélation (0.97) à la dilution 2 (1/4000) est plus élevé que celui obtenu à la dilution 1 (1/2000), cette différence est confirmée par les indices antifongiques élevés (48%, 54.8% et 76.7 %) que nous avons obtenus dans le test de *Fusarium sp.* avec l'huile de *C. phelypaea* (voir section V.3.3.1) par rapport aux indices obtenus avec l'huile d'*O. angustissima* (26.6%, 41.1% et 43%) (voir section V.3.3.5).

Certains composés oxygénés des huiles essentielles ont été considérés, selon Aleu *et al.* (1999), comme des agents potentiels antifongiques pour lutter contre les champignons phytopathogènes. Ben Marzoug *et al.* (2011) ont trouvé que les huiles essentielles des différentes parties d'*Eucalyptus oleosa* sont dominées par les sesquiterpènes oxygénés et elles possèdent une activité inhibitrice élevée sur *Fusarium culmorum*. Boussaada *et al.* (2008), au contraire, ont montré l'absence d'effet des huiles de *Rhaponticum acaule* riches en sesquiterpènes oxygénés sur *Fusarium oxysporum*.

Tableau 14. Coefficients de corrélations linéaires entre les famille chimiques et l'activité antifongique des huiles essentielles sur les 4 champignons (n=5)

	Hydrocarbures monoterpéniques	Monoterpènes oxygénés	Hydrocarbures sesquiterpéniques	Sesquiterpènes oxygénés	Phenylpropanoïdes	Apocaroténoïdes	Autres
<i>Aspergillus sp. C1 J2</i>	0.22	0.77	0.87	-0.22	0.80	-0.11	-0.16
<i>Cladosporium sp. C1 J2</i>	0.35	0.66	0.36	0.84	0.47	-0.88*	-0.44
<i>Fusarium sp. C1 J2</i>	0.58	0.11	-0.39	0.67	-0.31	-0.85	0.15
<i>Rhizopus sp. C1 J2</i>	0.60	0.52	0.00	0.52	0.03	-0.96*	0.22
<i>Aspergillus sp. C1 J4</i>	-0.04	0.49	0.15	0.52	0.19	-0.70	-0.04
<i>Cladosporium sp. C1 J4</i>	-0.10	0.57	0.26	0.41	0.27	-0.65	-0.02
<i>Fusarium sp. C1 J4</i>	0.27	0.52	0.36	0.93*	0.52	-0.72	-0.70
<i>Rhizopus sp. C1 J4</i>	-0.31	0.70	0.54	0.14	0.51	-0.42	-0.04
<i>Aspergillus sp. C1 J5</i>	-0.30	0.81	0.75	0.15	0.73	-0.37	-0.23
<i>Cladosporium sp. C1 J5</i>	0.24	0.98*	0.77	0.36	0.78	-0.71	-0.24
<i>Fusarium sp. C1 J5</i>	0.60	0.83	0.41	0.38	0.41	-0.91*	0.10
<i>Rhizopus sp. C1 J5</i>	0.52	0.41	-0.09	0.67	-0.03	-0.95*	0.08
<i>Aspergillus sp. C1 J7</i>	-0.57	0.62	0.86	-0.08	0.83	0.11	-0.45
<i>Cladosporium sp. C1 J7</i>	0.21	0.97*	0.75	0.33	0.74	-0.71	-0.19
<i>Fusarium sp. C1 J7</i>	0.62	0.86	0.48	0.43	0.50	-0.91*	-0.02
<i>Rhizopus sp. C1 J7</i>	0.36	0.52	0.09	0.74	0.17	-0.92*	-0.12
<i>Aspergillus sp. C2 J2</i>	0.83	0.53	0.11	0.72	0.20	-0.95*	-0.13
<i>Cladosporium sp. C2 J2</i>	0.36	0.82	0.66	0.72	0.75	-0.76	-0.59
<i>Fusarium sp. C2 J2</i>	0.60	0.08	-0.43	0.60	-0.37	-0.83	0.24
<i>Rhizopus sp. C2 J2</i>	0.67	0.79	0.37	0.53	0.40	-0.96*	-0.03
<i>Aspergillus sp. C2 J4</i>	0.06	0.34	-0.09	0.43	-0.06	-0.71	0.20
<i>Cladosporium sp. C2 J4</i>	-0.20	0.34	0.03	0.41	0.06	-0.56	0.03
<i>Fusarium sp. C2 J4</i>	0.33	0.11	-0.10	0.99*	0.08	-0.65	-0.57
<i>Rhizopus sp. C2 J4</i>	-0.57	-0.28	-0.22	0.49	-0.11	0.03	-0.44
<i>Aspergillus sp. C2 J5</i>	-0.08	0.84	0.87	0.45	0.92*	-0.43	-0.64
<i>Cladosporium sp. C2 J5</i>	0.26	0.95*	0.69	0.41	0.70	-0.77	-0.19
<i>Fusarium sp. C2 J5</i>	0.16	0.95*	0.89	-0.09	0.82	-0.38	-0.07
<i>Rhizopus sp. C2 J5</i>	0.34	0.43	-0.03	0.68	0.04	-0.90	0.01
<i>Aspergillus sp. C2 J7</i>	-0.33	0.81	0.93*	-0.05	0.89*	-0.11	-0.34
<i>Cladosporium sp. C2 J7</i>	0.05	0.79	0.47	0.26	0.45	-0.70	0.07
<i>Fusarium sp. C2 J7</i>	0.50	0.91*	0.81	0.20	0.81	-0.54	-0.26
<i>Rhizopus sp. C2 J7</i>	0.54	0.35	-0.13	0.77	-0.03	-0.94*	-0.04

* Signification à $P < 0.05$

- Une corrélation négative entre les apocaroténoïdes et l'effet des huiles sur *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* (les coefficients des corrélations significatives sont inférieurs à -0.90) (tab. 8). Cela signifie que l'activité antifongique des huiles diminue lorsque le taux des apocaroténoïdes est élevé et vice versa.

Le pourcentage des apocaroténoïdes révélé est élevé dans les huiles de *Launaea lanifera* et *Limonium bonduellei* (56.1% et 60.1% respectivement) (section V.1.6).

Les indices antifongiques que nous avons présentés dans la section V.3.3.3. montrent que le pouvoir inhibiteur des huiles de *L. lanifera* est faible en général et l'indice le plus élevé est de 35.6% (pour *Cladosporium sp.*) à la dilution 1/2000.

Nous avons montré également que les huiles de *L. bonduellei* (section V.3.3.4) ne possèdent pas une activité inhibitrice importante, deux indices seulement sur les 32 tests effectués ont été supérieurs à 30%.

Nous avons même observé des effets stimulateurs de la croissance engendrés par les huiles de ces 2 plantes, un indice de -15% a été obtenu au septième jour pour *Cladosporium sp.* traité par l'huile de *L. lanifera*, et des indices de -4.6% et -4% ont été obtenus pour *Fusarium sp.* et *Aspergillus sp.* respectivement, traitées par l'huile de *L. bonduellei*.

Les apocaroténoïdes peuvent jouer un rôle d'antagonistes des autres composés actifs (Calo *et al.*, 2015) comme les sesquiterpènes oxygénés. Ceci peut être expliqué par l'existence des sesquiterpènes oxygénés dans l'huile de *L. bonduellei* à un taux de 7.8%, il peut être expliqué également par l'absence d'un composé uniquement, qui peut être à l'origine de l'activité inhibitrice ou qui peut même amplifier l'effet par synergie (Burt, 2004).

Nous avons trouvé que le 3,4-dehydro- β -ionone et l'hexahydrofarnésylacetone, les composés majeurs des apocaroténoïdes, sont corrélé négativement avec l'activité antifongique exercée sur quelques moisissures (Annexe 3).

Cette théorie d'antagonisme est parfaitement expliquée par les corrélations de certains composés majeurs qui représentent les autres classes chimiques non spécifiées dans notre travail (nommée "autres" dans les tableaux 2–6, section V.1). Ces composés sont majoritairement des

hydrocarbures non-terpéniques. Des coefficients négatifs élevés de corrélation ont été trouvés pour certains composés tel que le pentadecanal (avec 7 coefficients significatifs de -0.88 à -0.94), le *n*-octadecane (avec 4 coefficients significatifs de -0.88, à -0.99), le benzyl benzoate (avec 3 coefficients de -0.92 à -0.98) (Annexe 3).

- Le dernier cas des corrélations entre les classes chimiques et l'activité antifongiques est celui des monoterpènes oxygénés, qui sont corrélés positivement avec l'effet sur *Cladosporium sp.*

Les teneurs de ces composés sont relativement élevées dans les huiles d'*Ononis angustissima* (17.3%) et d'*Euphorbia guyoniana* (10%) (section V.1.6), effectivement, une inhibition importante de *Cladosporium sp.* a été observée pour les huiles de ces deux plantes, les indices antifongiques calculés à la dilution faible de l'huile d'*O. angustissima* sont 28, 36.4, 37.5 et 47.5 %, et à la même dilution de l'huile d'*E. guyoniana* sont 29, 29.1, 30 et 31.2 %. Ces indices sont élevés en comparaison avec les autres effets de ces deux huiles (sections V.3.3.1 et V.3.3.5).

V.3.5. Synthèse et discussion générale de l'activité antifongique

L'effet des huiles essentielles sur les différentes espèces de moisissures se manifeste par un retard dans la croissance, les taux de croissances notés dans les boîtes sans traitements (témoins) sont supérieurs aux taux notés dans les boîtes qui contiennent des milieux de culture additionnés par les différentes dilutions des huiles.

Ce retard signifie que la croissance du mycélium se produit lentement, et cela est certainement dû à l'existence d'une ou de plusieurs substances dans le milieu.

Certaines études ont conclu que les huiles essentielles entières ont une plus grande activité antimicrobienne qui résulte de l'effet de ces différents constituants surtout les composés majeurs, et même les composés mineurs pourraient être essentiels pour l'activité biologique et peuvent avoir un effet de synergie ou de potentialisation de l'influence (Burt, 2004).

Dans notre travail nous n'avons pas vérifié d'éventuelle variation sur la morphologie et la physiologie qui peuvent se manifester sur l'appareil végétatif (les hyphes) ou sur les structures reproductrices ou encore sur les conidies (spores), les variations métaboliques de ces microorganismes n'ont été pas contrôlées également.

Selon Kalemba & Kunicka (2003), les effets des huiles essentielles, chez les cellules eucaryotes, peuvent cibler le plus souvent les membranes intracellulaires, surtout la membrane mitochondriale interne, où se produisent les étapes clés de la chaîne respiratoire.

Les mécanismes de l'activité antifongique de carvacrol, qui ressemble à celle du thymol, se produit par une rupture de Ca^{2+} et H^+ , et bloque la régulation de la transcription du gène associé à ce processus. D'autres composés engendrent le stress de la privation de nutriments, perturbent l'intégrité de la membrane et altèrent la biosynthèse de quelques substances vitales pour le champignon (Ahmed *et al.*, 2011).

Quelle que soit le mécanisme d'action inhibitrice des huiles essentielles, elle dépend toujours de leurs compositions chimiques et de la dilution utilisée. Elle dépend aussi des microorganismes (Bakkali *et al.*, 2008).

La résistance observée pour certains moisissures peut être due à l'action du champignon. Un certain nombre de composés appartenant à différentes classes chimiques peuvent être métabolisés et bio transformés par diverses espèces de champignons pour donner de nombreux métabolites, dont plusieurs possèdent des effets cytotoxique, antimicrobien et antifongique. C'est l'activité enzymatique des champignons qui peut introduire un atome d'oxygène pour donner des groupes hydroxyle et cétone secondaires, elle peut également oxyder une double liaison pour donner un époxyde, suivie d'une hydrolyse pour obtenir un diol. Certains champignons comme *Aspergillus Niger* et *Aspergillus cellulosa* produisent des métabolites totalement différents de ceux provenant du substrat (Baser & Buchbauer, 2009).

Conclusion

Dans cette étude nous avons choisie quelques plantes spontanées de la région du nord de Sahara de l'est algérien. L'objectif était de valoriser ces ressources végétales par extraction, analyses chimiques et test de l'activité biologique de leurs huiles essentielles. Nous avons testé ces huiles sur quatre souches bactériennes pathogènes pour l'homme et sur quatre espèces de moisissures contaminants des laboratoires de microbiologie.

Les plantes ont été choisies sur la base de l'absence ou la rareté des études antérieures sur leurs huiles essentielles. Les espèces choisies sont de différentes familles botaniques, il s'agit de quatre plantes à fleurs, endémiques de l'Afrique du Nord, (*Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut., *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb, *Launaea lanifera* Pau, *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze) et une plante parasite (*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.).

Les rendements obtenus par extraction par distillation ont montré que les plantes choisies sont pauvres en huiles essentielles. Cependant, il est possible aujourd'hui d'isoler, purifier et caractériser des quantités aussi petites que plusieurs nanogrammes de métabolites secondaires par l'application des innovations technologiques (Li *et al.*, 2014).

L'analyse des huiles de ces plantes par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse par impact électronique (GC et GC-EIMS) a permis l'identification de plus de 91% des composés volatiles. Cette analyse a montré que les huiles sont riches en apocaroténoïdes, qui sont issus du métabolisme des caroténoïdes, avec des pourcentages allant de 15.2% jusqu'à 60.1% à l'exception de l'huile de *Cistanche phelypaea* (1.6%). Les composés majeurs de ces apocaroténoïdes varient, selon le nombre du carbone, de C11 (dihydroactinidiolide) à C18 (hexahydro farnésyl acétone).

Cette ressemblance dans la composition peut être expliquée par la couleur des fleurs, toutes les plantes possèdent des fleurs jaunes. Les apocaroténoïdes trouvés à des taux élevés sont des dérivés des caroténoïdes responsables de la coloration jaune des fleurs (Glover, 2014).

En plus, l'absence d'une odeur caractéristique des différentes huiles obtenues est dû à l'absence de certains constituants aromatiques (Pavia *et al.*, 2015) et à la teneur élevée en apocaroténoïdes qui sont caractérisés par leur faible odeur.

La faible contenance de l'huile essentielle de *C. phelypaea* en apocaroténoïdes peut être expliquée par la biologie de cette plante parasite. Leurs métabolites secondaires peuvent être, en partie ou en totalité, puisés directement de leur hôte (Aber *et al.*, 1983 ; Hibberd *et al.*, 1999).

Concernant l'activité antimicrobienne,

L'effet antibactérien des huiles essentielles est généralement faible, en particulier celle de *Launaea lanifera*. L'huile essentielle de la plante parasite *Cistanche phelypaea* est la seule qui a été bioactive sur les 4 souches bactériennes testées, *Escherichia coli* c'est la bactérie la plus sensible. La majorité des composés identifiés à des taux élevés dans les huiles, comme les apocaroténoïdes, ne figurent pas dans la composition des huiles habituellement reportées à avoir des propriétés antibactériennes *in vitro* (Calo *et al.*, 2015, Tajkarimi *et al.*, 2010).

Pour l'activité antifongique, elle a été évaluée pour deux dilutions des huiles et pendant 7 jours, elle a montré de grandes différences entre les effets des plantes et entre la sensibilité des espèces de moisissures testées. Nous avons constaté que l'inhibition de la croissance des mycéliums a été élevée aux premiers jours du développement sur la gélose. Les huiles moins diluées possèdent un pouvoir inhibiteur élevé par rapport à la dilution élevée. Parmi les quatre moisissures que nous avons isolées, les deux espèces *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* ont été les plus sensibles à l'effet des huiles alors que l'espèce *Aspergillus sp.* a été la plus résistante.

Cette activité antimicrobienne a démontré un effet sélectif des huiles sur les microorganismes eucaryotes (moisissures) et une résistance des procaryotes (bactéries). Les deux types de microorganismes sont de morphologies extrêmement différentes. Sur le plan métabolique, les moisissures sont caractérisées par leurs enzymes extracellulaires comme les protéases, qui sont impliquées surtout dans l'exploitation de substrat (milieu de culture), l'inhibition de ces enzymes (Iwalokun *et al.*, 2003) peut être à l'origine du retard observé dans leur croissance. Les voies impliquées dans la morphogénèse des hyphes des champignons semblent être arrêtées sous l'action des composés volatiles (Raut & Karuppaiyil 2014).

Les cellules eucaryotes, à l'inverse des procaryotes, contiennent plusieurs organites membranaires (mitochondries, réticulum endoplasmiques, complexe de Golgi...etc.). Les huiles essentielles ont un caractère lipophile. Cela leur permettra de franchir la membrane cytoplasmique. Les huiles essentielles peuvent alors perméabiliser d'autres membranes dans la

cellule et engendrent la destruction de la plupart des organites intracellulaires (Kalemba & Kunicka, 2003 ; Bakkali *et al.*, 2008). Les différences dans les mécanismes d'expression du matériel génétique peuvent aussi être à l'origine de cet effet.

La présente étude a fourni, pour la première fois, des données importantes sur la composition chimique des huiles essentielles de *C. phelypaea*, *L. lanifera*, *L. bonduellei* et *O. angustissima* subsp. *filifolia*, des espèces végétales de la flore algérienne et nord africaine.

La majorité des huiles essentielles étudiées ne possèdent pas une activité antibactérienne significative contre les bactéries testées. Cependant, d'autres études doivent être effectuées sur d'autres espèces bactériennes et sur d'autres activités biologiques, telles que les propriétés anti-oxydantes et allélopathiques. En outre, les effets antagonistes des composés connus et / ou inconnus présents dans les fractions volatiles doit également être vérifiés.

En ce qui concerne le faible rendement obtenu dans cette analyse, il serait préférable d'essayer d'autres procédés d'extraction comme l'extraction assistée par ultrasons (Asfaw *et al.*, 2005) pour améliorer le résultat.

D'autres études sur les huiles essentielles obtenues à partir des différents organes des plantes et à différentes saisons de l'année sont également recommandées pour mettre en évidence une variabilité possible du rendement et de la composition chimique.

Dans les essais de l'activité antifongique, l'effet a été évalué uniquement par le suivi des taux de croissances. Cependant, les effets des huiles qui peuvent être observés au niveau morphologique et physiologique et même métabolique doivent être vérifiés d'avantage.

La falsification des produits à base d'huiles essentielles est survenue fréquente dans le monde entier en raison de la demande élevée, de l'intérêt commercial et surtout par manque de connaissances. Il est donc d'une grande importance de normaliser les marchés algériens et mondiaux des huiles essentielles par l'organisation internationale de normalisation (ISO), par l'exploitation des connaissances approfondies issues des résultats de recherches scientifiques sur l'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles et leurs activités biologiques. Il est important aussi de maîtriser les pratiques liées à la commercialisation et l'utilisation des produits à base de plantes en Algérie par la formation des gents spécialisés.

Références

A

- Abayomi, S. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Paris : Karthala.
- Aber, M., Fer A., & Salle' G. (1983). Etude du transfert des substances organiques de l'hôte (*Vicia faba*) vers le parasite (*Orobanche crenata* Forsk.). *Z Pflanzenphysiol*, 112, 297–308.
- Adams, R. P. (1995). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Carol Stream, Illinois : Allured Publishing Corporation.
- Ahmad, A., Khan, A., Akhtar, F., Yousuf, S., Xess, I., Khan, L., & Manzoor, N. (2011). Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 30, 41–50.
- Ahmad, I., Aqil, F., & Owais, M. (Eds.). (2006). *Modern phytomedicine: Turning medicinal plants into drugs*. Weinheim : Wiley-VCH Verlag.
- Ahmed, A. A., Gherraf, N., El-Bassuony, A. A., Rhouati, S., Gad, M. H., Ohta, S., & Hirata, T. (2006). Guyonianin A and B, two polyester diterpenes from Algerian *Euphorbia guyoniana*. *Natural Product Communications*, 1(4), 273–279.
- Ainsworth, C. (Ed.). (2008). *Annual Plant Reviews, Flowering and its Manipulation* (Vol. 20). Oxford : Blackwell Publishing.
- 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(1), 313–319.
- Akhgar, M. R., Rajaei, P., & Aieen, S. (2014). Constituents of the essential oil of *Euphorbia hebecarpa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(5), 929–930.
- Al-Aboudi, A., & Afifi, F. U. (2011). Plants used for the treatment of diabetes in Jordan: A review of scientific evidence. *Pharmaceutical Biology*, 49(3), 221–239.
- Aleu, J., Hernandez-Galan, R., Hanson, JR., Hitchcock, P. B., & Collado, I. G. (1999). Biotransformation of the fungistatic sesquiterpenoid ginsenosol by *Botrytis cinerea*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 727–730.
- Al-Mahrezi, J. A., Al-Sabahi J. N., Akhtar M. S., Selim D., & Weli A. M. (2011). Essential oil composition and antimicrobial screening of *Launaea nudicaulis* grown in Oman. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(12), 3166–3169.
- Al-Mazroa, S. A., Al-Wahaibi L. H., Mousa A. A., Alkhathlan H. Z. (2006). Essential oils of *A. factorovskyi*, *K. linearis*, *C. arvensis*, *P. babylonica*, *P. cyanocarpa*, *L. nudicaulis* and *R. epapposum*. *Journal of Saudi Chemical Society*, 9, 693–698.
- Al-Qudah, M. A., Al-Ghoul, A. M., Trawenh, I. N., Al-Jaber, H. I., Al Shboul, T. M., Abu Zarga, M. H., & Abu orabi, S. T. (2014). Antioxidant activity and chemical composition of essential oils from Jordanian *Ononis Natrix* L. and *Ononis Sicula* Guss. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4(1), 52–61.

- Ameneh, M., Morteza, B. R., Zeinab, M., & Naser, M. S. (2015). Effects of hydro-alcoholic extract of *Launaea acanthodes* on serum gonadotropin and testosterone levels and the structure of seminiferous tubules in hyperglycemic rats. *Chinese journal of integrative medicine*, 1–7.
- Amigues, S. (2002). Végétaux étranges ou remarquables du Maroc antique d'après Strabon et Pline l'Ancien. *Antiquités Africaines*, 38(1), 39–54.
- Aniya, Y., Miyagi, C., Nakandakari, A., Kamiya, S., Imaizumi, N., & Ichiba, T. (2002). Free radical scavenging action of the medicinal herb *Limonium wrightii* from the Okinawa islands. *Phytomedicine*, 9, 239–244.
- Asfaw, N., Licence, P., Novitskii, A. A., & Poliakoff, M. (2005). Green chemistry in Ethiopia: the cleaner extraction of essential oils from *Artemisia afra*: a comparison of clean technology with conventional methodology. *Green Chemistry*, 7, 352–356.
- Auzi, A. R. A., Hawisa, N. T., Sherif, F. M., & Sarker, S. D. (2007). Neuropharmacological properties of *Launaea resedifolia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(2), 160–165.

B

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2009). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton : CRC Press.
- Başer, K. H. C., & Demirci, F. (2007). Chemistry of essential oils. In: Berger, R. G. (Ed.), *Flavours and fragrances chemistry, bioprocessing and sustainability*. Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag. Pp. 43–86.
- Bellakhdar, J. (2006). *Hommes et plantes au Maghreb: éléments pour une méthode en ethnobotanique*. Metz : Plurimondes.
- Ben Marzoug, H. N., Romdhane, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., Couderc, F., Abderraba, M., Khouja M. L., & Bouajila, J. (2011). *Eucalyptus oleosa* essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). *Molecules*, 16(2), 1695–1709.
- Benaissa, O., Amrani, A., Bicha, S., Zama, D., Benayache, F., Marchioni, E., & Benayache, S. (2013). Free radical scavenging action of phenolic compounds from *Limonium bondueli* (Plumbaginaceae). *Der Pharmacia Lettre*, 5(5), 234–240.
- Bendiabdellah, A., Dib, M. E. A., Meliani, N., Muselli, A., Nassim, D., Tabti, B., & Costa, J. (2012). Antibacterial activity of *Daucus crinitus* essential oils along the vegetative life of the plant. *Journal of Chemistry*, 2013.
- Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, 12(12), 1259–1266.

- Besombes, C., Berka-Zougali, B., & Allaf, K. (2010). Instant controlled pressure drop extraction of lavandin essential oils: fundamentals and experimental studies. *Journal of Chromatography A*, 1217, 6807–6815.
- Bitam, F. (2011). *Phytochemical study of Launaea Arborescens and Halophila Stipulacea: Extraction and identification of the isolated compounds from the two species*. Sarrebruck : Editions universitaires europeennes.
- Board, N. (2003). *The complete technology book of essential oils (aromatic chemicals)*. Delhi : Asia Pacific Business Press.
- Bohm, B. A., & Stuessy, T. F. (2001). *Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae)*. Wein : Springer-Verlag.
- Boissier, P. E. (1866). *Icones Euphorbiarum ou figures de 122 espèces du genre Euphorbia*. Paris : Victor Masson et fils.
- Boudiar, T., Hichem, L., Khalfallah, A., Kabouche, A., Kabouche, Z., Brouard, I., Bermejo J., & Bruneau, C. (2010). A new alkaloid and flavonoids from the aerial parts of *Euphorbia guyoniana*. *Natural product communications*, 5(1), 35–37.
- Bougandoura, A., D'Abrosca, B., Ameddah, S., Scognamiglio, M., Mekkiou, R., Fiorentino, A., Benayache, S. & Benayache, F. (2016). Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (Orobanchaceae) extract. *Fitoterapia*, 108, 248–253.
- Bouheroum, M., Zaiter, L., Benayache, S., Benayache, F., Bermejo, J. B., Leon, F., & Garcia, V. (2009). Four flavonoids from the aerial part of *Ononis angustissima* species. *Chemistry of natural compounds*, 45(6), 874–875.
- Boulenouar, N., Marouf, A., Cheriti, A., & Belboukhari, N. (2012). Medicinal plants extracts as source of antifungal agents against *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(3), 659–669.
- Boussaada, O., Ammar, S., Saidana, D., Chriaa, J., Chraif, I., Daami, M., Helal, A. N., & Mighri, Z. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from capitula and aerial parts of *Rhaponticum acaule* DC growing wild in Tunisia. *Microbiological research*, 163(1), 87–95.
- Brackman, G., Defoirdt, T., Miyamoto, C., Bossier, P., Van Calenbergh, S., Nelis, H., & Coenye, T. (2008). Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio* spp. by decreasing the DNA-binding activity of the quorum sensing response regulator LuxR. *BMC microbiology*, 8(1), 149.
- Breitmaier, E. (2006). *Terpenes, flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*. Weinheim : Wiley-VCH Verlag.
- Brongnaert, A. D. & Decaisne, J. (1851). *Annales des sciences naturelles. Botanique*. Série 3, vol. 16. Paris : Victor Masson.
- Brown, G. W. (Ed.). (1974). *Desert biology: special topics on the physical and biological aspects of arid regions*. New York : Academic press.

- Brullo, S., & Erben, M. (1989). The genus *Limonium* (Plumbaginaceae) in Tunisia. *Mitteilungen Botanischen Staatssammlung München*, 28, 419–500.
- Bruyns, P. V., Mapaya, R. J., & Hedderson, T. (2006). A new subgeneric classification for *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in southern Africa based on ITS and psbA-trnH sequence data. *Taxon*, 397–420.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Burt, S. A., Van Der Zee, R., Koets, A. P., De Graaff, A. M., Van Knapen, F., Gaastra, W., Haagsman, H. P., & Veldhuizen, E. J. (2007). Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157: H7. *Applied and environmental microbiology*, 73(14), 4484–4490.

C

- Cai, R. L., Yang, M. H., Shi, Y., Chen, J., Li, Y. C., & Qi, Y. (2010). Antifatigue activity of phenylethanoid-rich extract from *Cistanche deserticola*. *Phytotherapy research*, 24(2), 313–315.
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., & Ricke, S. C. (2015). Essential Oils as Antimicrobials in Food Systems—A review. *Food Control*, 54, 111–119.
- Campbell, C. K., & Johnson, E. M. (2013). *Identification of pathogenic fungi*. New Jersey : Wiley-Blackwell.
- Chabasse, D., Guiguen, C., & Contet-Audonnoeu, N. (1999). *Mycologie médicale*. New York : Elsevier Masson.
- Chehma, A., & Djebar, M. R. (2008). Les espèces médicinales spontanées du sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 17, 36–45.
- Chemat, F. (2010). Techniques for oil extraction. In: Sawamura, M. (Ed.). *Citrus essential oils: flavor and fragrance*. Hoboken : John Wiley & Sons. Pp. 9–28.
- Chemat, F. (2012). Green extraction of natural products: concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 8615–8627.
- Cheriti, A., Belboukhari, M., Belboukhari, N., Djeradi, H. (2012). Phytochemical and Biological Studies on *Launaea* Cass. genus (Asteraceae) from Algerian Sahara. *Current Topics in Phytochemistry*, 11, 67–80.
- Cheriti, A., Saad, A., Belboukhari, N., & Ghezali, S. (2006). Chemical Composition of the essential oil of *Launaea arborescens* from Algerian Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 42(3), 360–361.
- Chikhi, I., Allali, H., Dib, M. E. A., Medjdoub, H., & Tabti, B. (2014). Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(3), 181–184.

- Clarke, S. (2009). *Essential chemistry for aromatherapy*. London : Churchill Livingstone Elsevier.
- Clauser, M., Dall'Acqua, S., Loi, M. C., & Innocenti, G. (2013). Phytochemical investigation on *Atriplex halimus* L. from Sardinia. *Natural product research*, 27(20), 1940–1944.
- Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2007). *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. Boca Raton : CRC press.
- Cooper, C., Davies, N. W., & Menary, R. C. (2003). C-27 apocarotenoids in the flowers of *Boronia megastigma* (Nees), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2384.
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of applied microbiology*, 88(1), 170–175.
- Croteau, R., Kutchan, T. M. & Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites), in *Biochemistry and molecular biology of plants* (eds B. Buchanan, W. Gruissem, & R. Jones), West Sussex : John Wiley & Sons. Pp. 1250–1268.
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S., Duke, J. A., & Brielmann, H. L. (2006). *Natural products from plants*. Boca Raton : CRC press.
- Cui, J., Yang, X., Dong, A. J., Cheng, D. Y., Wang, J., Zhao, H. T., Xu, R. B., Wang, P. & Li, W. J. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Euphorbia fischeriana* essential oil from China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 4794–4797.

D

- Daruházi, Á. E., Szarka, S., Héthelyi, É., Simándi, B., Gyurján, I., László, M., Szőke, É. & Lemberkovics, É. (2008). GC-MS identification and GC-FID quantitation of terpenoids in *Ononidis spinosae Radix*. *Chromatographia*, 68(1), 71–76.
- Davies, N. W. (1990). Gas chromatographic retention indexes of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography A*, 503, 1–24.
- Desanges, J. (1980). *Pline l'ancien, histoire naturelle*, Livre V, 1–46. Paris : Les Belles Lettres.
- Deyama, T., Kobayashi, H., Nishibe, S., & Tu, P. (2006). Isolation, structure elucidation and bioactivities of phenylethanoid glycosides from *Cistanche*, *Forsythia* and **Plantago** plants. *Studies in Natural Products Chemistry*, 33, 645–674.
- Deyama, T., Rizk, A. M., Al-Easa, H. S., & Yahikozawa, K. (1995). Constituents of plants growing in Qatar: part XXVIII. Constituents of *Cistanche phelypaea*. *Qatar University Science Journal*, 15(1), 51–55.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., & Stocker, P. (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2599–2606.

- Dubey, V. S., Bhalla, R. & Luthra, R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal of Biosciences*, 28, 637–646.
- Dudareva, N., & Pichersky, E. (2000). Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant physiology*, 122(3), 627–634.
- Dudareva, N., & Pichersky, E. (2006). Floral scent metabolic pathways: their regulation and evolution. In: Dudareva N., Pichersky, E. (Eds.). *Biology of Floral Scent*. Boca Raton : CRC Press. Pp. 55–78.
- Dudareva, N., Pichersky, E. & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*, 135(4), 1893–1902.
- Dugo, G., & Di Giacomo, A. (Eds.). (2003). *Citrus: the genus citrus*. Boca Raton : CRC Press.

E

- Ebringerová, A., Hromádková, Z., Machová, E., Naran, R., & Hribalova, V. (1997). Isolation and characterization of mitogenic pectic polysaccharides from *Cistanche deserticola* C. Ma. *Chemical Papers*, 51(5), 289–294.
- El Rhaffari, L., & Zaid, A. (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet): Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. In: Fleurentin, J., Pelt, J. M., & Mazars, G. (Eds.). *Des sources du savoir aux médicaments du futur, From the sources of knowledge to the medicines of the future*. Paris : IRD éditions. Pp. 293–318.
- Elamrani, A., & Benaissa, M. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ononis natrix* from Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(4), 477–488.
- El-Bassuony, A. A. (2007). Antibacterial activity of new polyester diterpenes from *Euphorbia guyoniana*. *Asian Journal of Chemistry*, 19(6), 4553.
- Engelkirk, P. G., Duben-Engelkirk, J. L., & Burton, G. R. W. (2011). *Burton's microbiology for the health sciences*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins.
- Erben, M. (1979). Karyotype differentiation and its consequences in Mediterranean «*Limonium*». *Webbia*, 34(1), 409–417.
- Erben, M. (2012). Contributions to the taxonomy of the genus *Limonium* IX. *Flora Mediterranea*, 22, 63–66.
- Erdemgil, F. Z., Kurkcuoglu, M., & Baser, K. H. C. (2002). Composition of the essential oil of *Ononis viscosa* subsp. *breviflora*. *Chemistry of natural compounds*, 38(6), 565–567.

F

- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 213–226.
- Filgueiras, C. T., & Vanetti, M. C. D. (2006). Effect of eugenol on growth and listeriolysin O production by *Listeria monocytogenes*. *Brazilian archives of biology and technology*, 49(3), 405–409.

Fleurentin, J. (2004). Guérisseurs et plantes médicinales du Yémen. Au pays de l'encens, de l'aloès et du café. Paris, Karthala.

Förther, H., & Podlech, D. (1991). Revision der *Ononis natrix* - Gruppe (Leguminosae) von Makaronesien, NordAfrika und dem angrenzenden WestAsien. *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München*, 30, 197–296. (English: Revision of *Ononis natrix* - group (Leguminosae) of Macaronesia, North Africa and the adjacent Western Asia. Releases the Botanical Bavarian State Collection).

G

Ghribi, L., Nejma, A. B., Besbes, M., Harzalla-Skhiri, F., Flamini, G., & Jannet, H. B. (2016). Chemical composition, cytotoxic and antibacterial activities of the essential oil from the Tunisian *Ononis angustissima* L. (Fabaceae). *Journal of oleo science*, 65(4):339–45.

Gilbert, J., & Woods, S. M. (2006). Strategies and considerations for multi-location FHB screening nurseries. In: Ban T., Lewis J. M., Phipps E. E. (Eds.). 2006. The global *Fusarium* initiative for international collaboration: A strategic planning workshop, March 14 - 17, 2006, CIMMYT, *El Batán*, Mexico. Pp. 93–102.

Giner, R. M., Díaz, J., Máñez, S., Recio, M. C., Soriano, C., & Ríos, J. (1992). Phenolics of Spanish *Launaea* species. *Biochemical systematics and ecology*, 20(2), 187–188.

Gleason, F., & Chollet R. (2012). Plant biochemistry. Sudbury : Jones and Bartlett Learning.

Glover, B. (2014). *Understanding flowers and flowering: an integrated approach*. Oxford : Oxford University Press.

Goldman, E., & Green, L. H. (2008). *Practical handbook of microbiology*. Boca Raton : CRC Press.

Griffin, S. G., Wyllie, S. G., Markham, J. L., & Leach, D. N. (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 322–332.

Grigore, M. N., Ivanescu, L., & Toma, C. (2014). *Halophytes: An Integrative Anatomical Study*. Cham : Springer International Publishing. Pp. 269–296.

Guillot, G. (2010). *La planète fleurs*. Versailles : Editions Quae.

H

Haba, H., Lavaud, C., Harkat, H., Magid, A. A., Marcourt, L., & Benkhaled, M. (2007). Diterpenoids and triterpenoids from *Euphorbia guyoniana*. *Phytochemistry*, 68(9), 1255–1260.

Haba, H., Lavaud, C., Marcourt, L., Long, C., Harkat, H., & Benkhaled, M. (2009). Ent-abietane diterpenoids from *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(4), 504–508.

Haba, H., Marcourt, L., Benkhaled, M., & Long, C. (2013). Minor ent-abietane diterpenoids from *Euphorbia guyoniana*. *Natural product communications*, 8(11), 1519–1522.

- Hacker, M., Bachmann, K., & Messer, W. (2009). *Pharmacology: principles and practice*. Burlington, California, London : Academic Press.
- Hamdan, I. I., & Afifi, F. U. (2008). Screening of Jordanian flora for α -amylase inhibitory activity. *Pharmaceutical Biology*, 46(10–11), 746–750.
- Hammer, K. A., & Carson, C. F. (2011). Antibacterial and antifungal activities of essential oils. In : Thormar, H. (Ed.). *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*. West Sussex : John Wiley & Sons. Pp. 255–295.
- Hanson, J. R. (2003). *Natural products: the secondary metabolites* (Vol. 17). London : Royal Society of Chemistry.
- Harborne, J. B. (1976). Functions of flavonoids in plants. In: Goodwin, T. W. (Ed.). *Chemistry and biochemistry of plant pigments, Vol I*. London, New York, San Francisco : Academic Press.
- Hassane, S. O. S., Farah, A., Satrani, B., Ghanmi, M., Chahmi, N., Soidrou, S. H., & Chaouch, A. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of comorian *Ocimum canum* essential oil harvested in the region of Maweni Dimani-Grande Comoros. In: Bhowon M. G., Jhaumeer-Laulloo, S., Wah, H. L. K., & Ramasam, P. (Eds.). *Chemistry for Sustainable Development*. Dordrecht : Springer Science+Business Media. Pp. 443–452.
- Hatil, E. K., & Hamed, S. E. (2015). Antioxidant potential of some Sudanese medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Scientific World*, 3(2), 192–198.
- Hegazy, M. E. F., Mohamed, A. E. H. H., Aoki, N., Ikeuchi, T., Ohta, E., & Ohta, S. (2010). Bioactive jatropane diterpenes from *Euphorbia guyoniana*. *Phytochemistry*, 71(2), 249–253.
- Heid-Jørgensen, H. (2008). *Parasitic flowering plant*. BRILL, Leiden.
- Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Corris L. G. M., & von Wright, A. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(9), 3590–3595.
- Heong, K. L. (2011). *Research methods in toxicology and insecticide resistance monitoring of rice planthoppers*. Laguna, Philippines : International Rice Research Institute.
- Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 473–503.
- Hibberd, J. M., Bungard, R. A., Press, M. C., Jeschke, W. D., Scholes, J. D., & Quick, W. P. (1998). Localization of photosynthetic metabolism in the parasitic angiosperm *Cuscuta reflexa*. *Planta*, 205, 506–513.
- Hibberd, J. M., Quick, W. P., Press, M. C., Scholes, J. D., & Jeschke, W. D. (1999). Solute fluxes from tobacco to the parasitic angiosperm *Orobancha cernua* and the influence of infection on host carbon and nitrogen relations. *Plant Cell and Environment*, 22, 937–947.
- Hirschberg, J. (2001). Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 210–218.

Horn, J. W., van Ee, B. W., Morawetz, J. J., Riina, R., Steinmann, V. W., Berry, P. E., & Wurdack, K. J. (2012). Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(2), 305–326.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 12.

I

Inderjit & J. Weiner. (2001). Plant allelochemical interference or soil chemical ecology? *Perspectives in plant ecology. Evolution and Systematic*, 4(1), 3–12.

Iwalokun, B. A., Gbenle, G. O., Adewole, T. A., Smith, S. I., Akinsinde, K. A., & Omonigbehin, E. O. (2003). Effects of *Ocimum gratissimum* L. essential oil at subinhibitory concentrations on virulent and multidrug-resistant *Shigella* strains from Lagos, Nigeria. *Apmis*, 111(4), 477–482.

J

Janardhanan, M. & Thoppil, J. E. (2004). *Herb and spice essential oils*. New Delhi : Discovery Publishing House.

Jennings, W, Shibamoto, T. (1980). *Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary chromatography*. New York : Academic Press.

Jiang, Y., & Tu, P. F. (2009). Analysis of chemical constituents in *Cistanche* species. *Journal of Chromatography A*, 1216(11), 1970–1979.

Joel, D. M., Gressel, J., & Musselman, L. J. (Eds.). (2013). *Parasitic Orobanchaceae: parasitic mechanisms and control strategies*. Berlin : Springer-Verlag.

Joshi, R. K. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Plectranthus mollis* (Lamiaceae) from Western Ghats region, Karnataka, India. *Revista de Biología Tropical*, 62(2), 423–431.

K

Kabbash, A., & Shoeib, N. (2012). Chemical and biological investigation of some secondary metabolites in *Atriplex halimus* growing in Egypt. *Natural product communications*, 7(11), 1465–1468.

Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813–829.

Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2013). *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Paris : Springer-Verlag.

Kar, A. (2003). *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. New delhi : New Age International Publishers.

- Karis, P. O. (2004). Taxonomy, phylogeny and biogeography of *Limonium* sect. *Pteroclados* (Plumbaginaceae), based on morphological data. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 144(4), 461–482.
- Kemassi, A., Boukhari, K., Cherif, R., Ghada, K., Bendaken, N., Bouziane, N., Boual, Z., Bouras, N., Ould Elhadj-Khelil, A., & Ould Elhadj, M.D. (2015). Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae). *El Wahat pour les Recherches et les Etudes*, 8(1), 44–61.
- Kemassi, A., Bouziane, N., Boual, Z., Mesbahi, Z., Ghenabzia, M., Kafi, M., Benbrahim, F., Hadjseyd, A., Gharib, T., Ould Elhadj-Khelil, A., & Ould Elhadj, M. D. (2013). Study of the toxicity of the crude acetone leaf extract of *Euphorbia guyoniana* Boiss. and Reut. (Euphorbiaceae) in *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Acrididea). *Phytochem and Biosub Journal*, 7(1):2–13.
- Keszei, A., Brubaker, C. L. & Foley, W. J. (2008). A molecular perspective on terpene variation in Australian Myrtaceae. *Australian Journal of Botany*, 56, 197–213.
- Keymanesh, K., Hamedi, J., Moradi, S., Mohammadipanah, F., & Sardari, S. (2009). Antibacterial, antifungal and toxicity of rare Iranian plants. *International Journal of Pharmacology*, 5(1), 81–85.
- Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., & Bessiere, J. M. (2002). Chemical composition of the essential oil of *Ononis natrix* L. Fabaceae. *Journal of Essential Oil Research*, 14(6), 431–432.
- Khan, R. A., Khan, M. R., Sahreen, S., Bokhari, J., Rashid, U., & Jan, S. (2011). Phytotoxic Characterization of Various Fractions of *Launaea procumbens*. *African Journal of Biotechnology*, 10(27), 5377–5380.
- Khan, R. A., Khan, M. R., Sahreen, S., Shah, N. A., Khan, A. M., Bokhari, J., Rashid, U., Ahmed, B., Shabbir, M., Saeed, N., Jan, S., & Afsar, T. (2012a). Protective Effect of *Launaea procumbens* against KBrO₃ Induced Nephrotoxicity in Rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(5), 317–321.
- Khan, R. A., Khan, M. R., Sahreen, S., & Ahmed, M. (2012b). Assessment of flavonoids contents and *in vitro* antioxidant activity of *Launaea procumbens*. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 43.
- Kilian, N. (1988). Die Lactuceae (Compositae) der Kapverdischen Inseln (W-Afrika). *Willdenowia*, 18, 113–216.
- Kilian, N. (1997). Revision of *Launaea* Cass. (Compositae, Lactuceae, Sonchinae). *Englera*, 17, 1–478.
- Kilian, N., Oberprieler, C., & Vogt, R. (1995). Chromosome numbers of North African Phanerogams. V. Some counts in *Launaea* (Compositae, Lactuceae). *Willdenowia*, 25, 273–281.
- Kläui, H., Bauernfeind, J. C. (1981). Carotenoids as food colors. In: Bauernfeind, J. C. (Ed.). Carotenoids as colorants and vitamin A precursors. Technological and nutritional applications. New York : Academic Press, Pp. 47–317.

- Knudsen, J. T., Eriksson, R., Gershenzon, J., & Ståhl, B. (2006). Diversity and distribution of floral scent. *The Botanical Review*, 72(1), 1–120.
- Kreutz, C. A. J. 1995. *Orobanche*. Boca Raton : CRC Press.
- Ksouri, R., Ksouri, W. M., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I., & Abdelly, C. (2012). Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Critical reviews in biotechnology*, 32(4), 289–326.
- Kubinyi, H., & Müller G. (Eds). (2004). Chemogenomics in drug discovery: a medicinal chemistry perspective. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, vol. 22. Weinheim : Wiley-VCH Verlag.
- Kuete, V., Wiench, B., Alsaid, M. S., Alyahya, M. A., Fankam, A. G., Shahat, A. A., & Efferth, T. (2013). Cytotoxicity, mode of action and antibacterial activities of selected Saudi Arabian medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 354.

L

- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*, 18(6), 435–448.
- Langenheim, J. H. (1994). Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 1223–1280.
- Langenheim, J. H. (2003). *Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany*. Portland : Timber Press.
- Le Houérou, H. N. (1995). Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique : diversité biologique, développement durable et désertisation. In : Le Houérou H.-N. (ed.). *Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique : diversité biologique, développement durable et désertisation*. Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches, n. 10. Montpellier : CIHEAM.
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2014). *Essential oils as reagents in green chemistry*. Cham : Springer International Publishing.
- Linskens, H. F., & Jackson, J. F. (Eds.). (1991). *Essential oils and waxes*. Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag.
- Lis-Balchin, M. (Ed.). (2003). *Lavender : the genus Lavandula*. Boca Raton : CRC press.
- Liu, X. M., Li, J., Jiang, Y., Zhao, M. B., & Tu, P. F. (2013). Chemical constituents from *Cistanche sinensis* (Orobanchaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 47, 21–24.
- Lledó, M. D., Crespo, M. B., Fay, M. F., & Chase, M. W. (2005). Molecular phylogenetics of *Limonium* and related genera (Plumbaginaceae): biogeographical and systematic implications. *American Journal of Botany*, 92(7), 1189–1198.
- Lorian, V. (2005). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins.

M

- Maia, A. C., Gibernau, M., Dötterl, S., Navarro, D. M., Seifert, K., Müller, T., & Schlindwein, C. (2013). The floral scent of *Taccarum ulei* (Araceae): attraction of scarab beetle pollinators to an unusual aliphatic acyloin. *Phytochemistry*, *93*, 71–78.
- Makasana, A., Ranpariya, V., Desai, D., Mendpara, J., & Parekh, V. (2014). Evaluation for the anti-urolithiatic activity of *Launaea procumbens* against ethylene glycol-induced renal calculi in rats. *Toxicology Reports*, *1*, 46–52.
- Mallet, D. (1981). *Moulds: their isolation, cultivation and indentification*. Toronto : University of Toronto Press.
- Mandal, S. C., Mandal, V., & Das, A. K. (2015). *Essentials of botanical extraction: principles and applications*. New York : Academic Press.
- Mandaville, J. P. (2011). *Bedouin ethnobotany: plant concepts and uses in a desert pastoral world*. Tucson : University of Arizona Press.
- Marco, D. (Ed.). (2010). *Metagenomics: theory, methods and applications*. Norfolk : Horizon Scientific Press.
- Martinez, J. L. (Ed.). (2007). *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*. Boca Raton : CRC Press.
- Mason, T., Chemat, F., & Vinatoru, M. (2011). The extraction of natural products using ultrasound and microwaves. *Current Organic Chemistry*, *15*, 237–247.
- Massada, Y. (1976). *Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry*. New York : John Wiley & Sons.
- Mechehoud, Y., Chalard, P., Figuéredo, G., Marchioni, E., Benayache, F., & Benayache, S. (2014). Chemical composition of the essential oil of *Ononis angustissima* (Lam.) Batt. et Trab. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, *5*, 1307–1310.
- Media Cybernetics, Inc. (2004). Image-Pro Plus, version 5.1. www.mediacy.com.
- Medini, F., Bourgou, S., Lalancette, K., Snoussi, M., Mkadmini, K., Côté, I., Abdelly C., Legault J. & Ksouri, R. (2015). Phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of the halophyte *Limonium densiflorum* extracts on human cell lines and murine macrophages. *South African Journal of Botany*, *99*, 158–164.
- Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R., & Abdelly, C. (2014a). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, *8*(3), 216–224.
- Medini, F., Legault, J., Pichette, A., Abdelly, C., & Ksouri, R. (2014b). Antiviral efficacy of *Limonium densiflorum* against HSV-1 and influenza viruses. *South African Journal of Botany*, *92*, 65–72.

- Mejias, J. A. (1994): Biología reproductiva del género *Launaea* (Asteraceae: Lactuceae) en la Península Ibérica. *Candollea*, 49, 335–342.
- Melek, F. R., El-Shabrawy, O. A., El-Gindy, M., & Miyase, T. (1993). Pharmacological activity and composition of ethyl acetate extract of *Cistanche phelypaea*. *Fitoterapia*, 64(1): 11–11.
- Mezrag, A., Bouheroum, M., Beghidja, N., Khalfaoui, A., Zaiter, L., Benayache, S., & Benayache, F. (2013). More flavonoids from the ethyl acetate extract of *Ononis angustissima* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 49(4), 749–750.
- Mhamdi, B., Abbassi, F., & Abdelly, C. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal *Ononis natrix* growing wild in Tunisia. *Natural product research*, 29(12), 1157–1160.
- Mirjalili, M. H., & Yousefzadi, Y. M. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ligularia pesica* Boiss. (Asteraceae). *Acta Biologica Szegediensis*, 56, 151–4.
- Montero, M. J., Morán, A., Martín, M. L., & Román, L. S. (1988). Pharmacological screening of *Ononis pubescens* L. *International Journal of Crude Drug Research*, 26(4), 215–219.
- Moussaoui, F., Zellagui, A., Segueni, N., Touil, A., & Rhouati, S. (2010). Flavonoid constituents from Algerian *Launaea resedifolia* (OK) and their antimicrobial activity. *Records of Natural Products*, 4(1), 91–95.
- Mulder-Krieger, T., & Verpoorte, R. (1994). *Anthocyanins as flower pigments: feasibilities for flower colour modification*. Dordrecht : Springer Science + Business Media.
- Murray, A. P., Rodriguez, S., Frontera, M. A., Tomas, M. A., & Mulet, M. C. (2004). Antioxidant metabolites from *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(7–8), 477–480.

N

- Nasrine, S., El-Darier, S. M., & El-Taher, H. M. (2013). Allelopathic effect of *Euphorbia guyoniana* aqueous extract and their potential uses as natural herbicides. *Sains Malaysiana*, 42(10), 1501–1504.
- Nassif, F., & Tanji A. (2013). Floristic analysis of Marmoucha's plant diversity (Middle Atlas, Morocco). *Lazaroa*, 34, 117–140.
- Nath, P., Bouzayen, M., Mattoo, A. K., & Claude Pech, J. (Eds.). (2014). *Fruit ripening: physiology, signalling and genomics*. Oxfordshire : CABI.
- Naves, Y. R. (1974). *Technologie et chimie des parfums naturels. Essences concretes, resinoides, huiles et pommades aux fleurs*. Paris, Masson.
- Ndam, L. M., Mih, A. M., Tening, A. S., Fongod, A. G. N., Temenu, N. A., & Fujii, Y. (2016). Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activities of *Euphorbia golondrina* L. C. Wheeler (Euphorbiaceae Juss.): an unexplored medicinal herb reported from Cameroon. *Springer Plus*, 5, 264. DOI 10.1186/s40064-016-1928-8.

- Nostro, A., Filocamo, A., Giovannini, A., Catania, S., Costa, C., Marino, A., & Bisignano, G. (2012). Antimicrobial activity and phenolic content of natural site and micropropagated *Limonium avei* (De Not.) Brullo & Erben plant extracts. *Natural product research*, 26(22), 2132–2136.
- Noumi, Z., Dhaou, S. O., Derbel, S., & Chaieb, M. (2010). The status of Asteraceae in the arid and Saharan flora of North African region: Case of Tunisia. *Pakistan Journal of Botany*, 42(3), 1417–1422.

O

- Osbourn, A. E., & Lanzotti, V. (Eds.). (2009). *Plant-derived natural products synthesis, function, and application*. New York : Springer Science+Business Media LLC.
- Ozenda, P. (1958). *Flore du Sahara septentrional et central*. Paris : Éditions du Centre national de la Recherche scientifique.
- Öztürk, M., Altay, V., Guçel, S., & Guvensen, A. (2014). Halophytes in the East Mediterranean—their medicinal and other economical values. In : Khan, M. A., Böer, B., Öztürk, M., Al Abdessalaam, T. Z., Clüsener-Godt, M., & Gul, B. (Eds.). *Sabkha ecosystems: volume IV: cash crop halophyte and biodiversity conservation* (Vol. 47). Dordrecht : Springer Science+Business Media. Pp. 247–272.

P

- Paiva, J., Sales, F., Hedge, I. C., Aedo, C., Aldasoro, J. J., Castroviejo, S., Herrero, A., & Velayos, M. (Eds.). (2001). *Flora Iberica, Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Vol. XIV. *Myoporaceae-Campanulaceae*. Madrid : Real Jardín Botánico, Csic.
- Palici, I. F., Liktör-Busa, E., Zupkó, I., Touzard, B., Chaieb, M., Urbán, E., & Hohmann, J. (2015). Study of in vitro antimicrobial and antiproliferative activities of selected Saharan plants. *Acta Biologica Hungarica*, 66(4), 385–394.
- Paré, P. & Tumlinson, J. H. (1997). De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiology*, 114, 1161–1167.
- Parekh, J., & Chanda, S. (2006). Screening of aqueous and alcoholic extracts of some Indian medicinal plants for antibacterial activity. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 68(6), 835–838.
- Parry, E. J., (1922). *The chemistry of essential oils and artificial perfumes*, Volume 2. London : Scott, Greenwood and son.
- Pavia, D., Kriz, G., Lampman, G., & Engel, R. (2015). *A small scale approach to organic laboratory techniques*. Boston : Cengage Learning.
- Pengelly, A. (2004). *The constituents of medicinal plants*. New South Wales : Allen & Unwin.
- Périno-Issartier, S., Abert-Vian, M., Petitcolas, E., & Chemat, F. (2010). Microwave turbo hydrodistillation for rapid extraction of the essential oil from *Schinus terebinthifolius* Raddi Berries. *Chromatographia*, 72, 347–350.

- Petrini, L. E., & Petrini, O. (2013). *Identifying moulds: a practical guide*. J. Stuttgart : Cramer in Der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung.
- Pfander, H., Lanz, M., & Traber, B. (1998). Synthesis of carotenoids. In: atta-ur-Rahman.. *Studies in natural products chemistry bioactive natural products*, vol. 20, *Structure and Chemistry* (Part F). Amsterdam : Elsevier. Pp. 561–612.
- Polese, J. M. (2007). *Encyclopédie visuelle des plantes sauvages*. Chamalières : Editions Artemis.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 36:679–684.
- Porto, C., Decorti, D., & Kikic, I. (2009). Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 112, 1072–1078.

Q

- Qiao, H. L., Lu, P. F., Xu, R., Chen, J., Wang, X., Ma, W. S., & Liu, T. N. (2012). Analysis of volatile compounds of inflorescence by GC-MS from *Cistanche deserticola*. *Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials*, 35(4), 573–577.
- Quézel, P. (1978). Analysis of the flora of Mediterranean and Saharan Africa. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 479–534.
- Quézel, P., & Gast, M. (1997). Euphorbes. *Encyclopédie berbère*, 18, 2707–2710.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* - v. 1-2. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.

R

- Raguso, R. A. (2001). Floral scent, olfaction, and scent driven foraging behavior. In: Chittka, L. & Thomson, J. D. (Eds.), *Cognitive ecology of pollination; Animal behavior and floral evolution*. Cambridge : Cambridge University Press. Pp. 83–105.
- Ramadan, M. F., Hefnawy, H. T. M., & Gomaa, A. M. (2011). Bioactive lipids and fatty acids profile of *Cistanche phelypaea*. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(3), 333–338.
- Rashid, S., Ashraf, M., Bibi, S., & Anjum, R. (2000). Antibacterial and antifungal activities of *Launaea nudicaulis* (Roxb.) and *Launaea resedifolia* (Linn.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(4), 630–632.
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264.
- Reddy, M. N., & Mishra, G. J. (2012). Preliminary phytochemical screening and antibacterial analysis of the leaf extracts of *Launaea procumbens* Roxb. *International Journal of Phytopharmacology*, 3(2), 147–151.

- Rhind, J. P., & Pirie, D. (2012). *Essential oils: a handbook for aromatherapy practice*. London and Philadelphia : Singing Dragon.
- Riddhi, M. P., Jasrai, Y., & Chavda N. (2013). Hptlc Based phyto-chemical fingerprinting of certain Indian plants. Sarrebruck : Lap Lambert Academic Publishing.
- Ríos, J. L. (2015). Essential oils: what they are and how the terms are used and defined. In: Preedy, V. R. (Ed.). (2015). *Essential oils in food preservation, Flavor and safety*. New York : Academic Press. Pp. 3–10.
- Rojas, J., Baldovino, S., Vizcaya, M., Rojas, L. B., & Morales, A. (2009). The chemical composition of the essential oils of *Euphorbia caracasana* and *E. cotinifolia* (Euphorbiaceae) from Venezuela. *Natural product communications*, 4(4), 571–572.

S

- Saïdana, D., Mahjoub, S., Boussaada, O., Chriaa, J., Mahjoub, M. A., Chéraif, I., Daami, M., Mighri, Z., & Helal, A. N. (2008). Antibacterial and antifungal activities of the essential oils of two saltcedar species from Tunisia. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(9), 817–826.
- Sakkir, S., Kabshawi, M., & Mehairbi, M. (2012). Medicinal plants diversity and their conservation status in the United Arab Emirates (UAE). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(7), 1304–1322.
- Sánchez-Gómez, P., Jiménez, J. F., & Vera, J. B. (2011). *Helianthemum motae* (Cistaceae), a New Species from Southeastern Spain. *Annales Botanici Fennici*, 48(1), 49–56.
- Sassi, A. B., Harzallah-Skhiri, F., & Aouni, M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical Biology*, 45(5), 421–428.
- Sauvion, N., Calatayud, P. A., Thiéry, D., & Marion-Poll, F. (2013). *Interactions insectes-plantes*. Versailles : Editions Quae.
- Schaefer, H. M., & Ruxton, G. D. (2011). *Plant-animal communication*. Oxford : Oxford University Press.
- Schwab, W., Fuchs, C., & Huang, F. C. (2013). Transformation of terpenes into fine chemicals. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(1), 3–8.
- Schwartz, S. H., Qin, X., & Zeevaart, J. A. (2001). Characterization of a novel carotenoid cleavage dioxygenase from plants. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 25208–25211.
- Scott, P. (2013). *Physiology and Behaviour of Plants*. West Sussex : John Wiley & Sons.
- Segall, R. S. (Ed.). (2015). *Research and applications in global supercomputing*. Hershey : Information science reference (an imprint of IGI Global).
- Seigler, D. S. (1998). *Plant secondary metabolism*. New York : Springer Science+Business Media LLC.
- Sekkoum, K., Belboukhari, N., & Cheriti, A., (2014). New flavonoids from bioactive extract of Algerian medicinal plant *Launaea arborescens*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(4), 267–271.

- Sirjaev, G. (1932). Generis *Ononis* L., revisio critica. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt.*, 49, 381–665.
- Soriano, Cano, M. C., Plaza, E. G., Muñoz, R. G., & Benavente, A. G. (1998). Volatile compounds of three *Limonium* species: *L. latifolia*, *L. x altaica* and *L. perezii*. *Journal of Essential Oil Research*, 10(1), 67–69.
- StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com.
- Steinmann, V. W. (2003). *Euphorbia nocens*, formerly a variety of *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Mexicana*, (64), 37–44.
- Stenhagen, E., Abrahamsson, S., & McLafferty, F. W. (1974). *Registry of mass spectral data*. New York : John Wiley & Sons.
- Stermitz, F. (1998). Plant parasites. In: Roberts, M. F. & Wink, M. (Eds). *Alkaloids: biochemistry, ecology, & medical applications*. New York : Springer Science+Business Media LLC. Pp. 327–336.
- Swigar, A. A., & Silverstein, R. M. (1981). *Monoterpenes: Infrared, Mass, 1H NMR, and 13C NMR Spectra, and Kováts Indices*. Milwaukee : Aldrich Chemical Company.
- Sykes, W. R. (1981). Checklist of dicotyledons naturalised in New Zealand 11. Apocynales, Campanulales, Ericales, Gentianales, Loganiales, Plantaginales, Primulales, and Rubiales. *New Zealand journal of botany*, 19(3), 319–325.

T

- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food– A review. *Food Control*, 21, 1199–1218.
- Talibi, I., Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E. H., Msanda, F., Saadi, B., & Aoumar, A. A. B. (2012). Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. *Crop Protection*, 35, 41–46.
- Tang, X. H., Yan, L. F., Gao, J., Yang, X. L., Xu, Y. X., Ge, H. Y., & Yang, H. D. (2012). Antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from the root of *Limonium sinense* Kuntze. *International journal of biological macromolecules*, 51(5), 1134–1139.
- Tang, X. H., Yu, F., Liu, J., Gao, J., Yan, L. F., & Dong, M. M. (2014). Isolation and identification of anti-tumor polysaccharide LSP21 from *Limonium sinense* (Girard) Kuntze. *International journal of biological macromolecules*, 70, 138–142.
- Tassou, C., Koutsoumanis, K., & Nychas, G. J. (2000). Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research International*, 33(3), 273–280.
- Teani, A., Antonetti, M., & Burchi, G. (2012). Characterization of a *Limonium* sp. collection by molecular and biometrical markers. In : *XXIV International Eucarpia Symposium proceeding, Section Ornamentals: Ornamental Breeding Worldwide*. Madison : International Society for Horticultural Science. Pp. 91–96

- Telli, A., Esnault, M. A., & Khelil, A. O. E. H. (2016). An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of Arid Environments*, 127, 82–92.
- Thormar, H. (2011). *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*. West Sussex : John Wiley & Sons.
- Turini, F. G., Bräuchler, C., & Heubl, G. (2010). Phylogenetic relationships and evolution of morphological characters in *Ononis* L. (Fabaceae). *Taxon*, 59(4), 1077–1090.
- Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., & Webb, D. A. (1976). *Flora Europaea: Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*, Vol. 4. Cambridge : Cambridge University Press.

U

- Ultee, A., Bennik, M. H. J. & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1561–1568.

V

- Van Griensven, L. J. (Ed.). (2000). *Science and cultivation of edible fungi 2000* (Vol. 1). Rotterdam : AA Belkima Publishers.
- Vanden Berghen, D. (1978). Observations sur la végétation de l'île de Djerba (Tunisie méridionale), Note 2: Les dunes fixées. L'association à *Imperata cylindrica* et *Ononis angustissima*. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique / Bulletin van de Koninklijke Belgische Botanische Vereniging*, 111(2), 227–236.
- Voet, D., & Voet J. G. (2005). *Biochimie*. Paris : De Boeck Supérieur.
- Vogt, R., & Oberprieler C. (2012). Chromosome numbers of North African Phanerogams. X. Plants collected during iter Mediterranean V of OPTIMA in Morocco. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien Serie B Botanik und Zoologie*, 113, 193–221.

W

- Wang, S. Y., Chen, P. F., & Chang, S. T. (2005). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource technology*, 96(7), 813–818.
- Washington, J. A. (1985). *Laboratory procedures in clinical microbiology*. New York : Springer-Verlag.
- Watanabe, T. (2010). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. Boca Raton : CRC press.
- Webster, G. L. (1994). Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 81, 33–144.
- Weidenhamer, J. D., Macias, F. A., Fischer, N. H. & Williamson, G. B. (1993). Just how insoluble are monoterpenes? *Journal of Chemical Ecology*, 19, 1799–1807.

Winterhalter, P. & R. Rouseff. (2002). Carotenoid-derived aroma compounds: an introduction. Pp. 1-17 in P. Winterhalter & R. Rouseff (eds.), Carotenoid-derived Aroma Compounds. ACS Symposium Series No. 802, Washington : American Chemical Society.

Y

Youcef, M., Chalard, P., Figuéredo, G., Marchioni, E., Benayache, F., & Benayache, S. (2014). Chemical composition of the essential oil of *Ononis angustissima* (Lam.) Batt. et Trab. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 5, 1307–1310.

Z

Zellagui, A., Derouiche, K., Gherraf, N., & Rhouati, S. (2012a). Characterisation of secondary metabolites and evaluation of antibacterial activity of two Algerian species: *Launaea glomerata* (Cass.) Hook. F. and *Cynara cardunculus* var. *silvestris* (Lamk.). *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(5), 736–740.

Zellagui, A., Gherraf, N., Ladjel, S., & Hameurlaine, S. (2012b). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from *Launaea resedifolia* L. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2, 2.

Zellagui, A., Said Noamane, L., Gherraf, N., & Rhouati, S. (2012c). Phytochemical screening of five Algerian plants and the assessment of the antibacterial activity of two *Euphorbia guyoniana* extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 4(5), 1438–1444.

Zohary, M. (1973). *Geobotanical Foundations of the Middle East*. Vol. 1-2. Stuttgart : Gustav Fischer Verlag.

Annexe 1. coefficients de corrélation linéaire entre la composition chimique (classes et composés identifiés) et l'activité antibactérienne des huiles essentielles (à la concentration 1/2) sur les 4 souches testées (n=5)

Composé, classes chimiques	Souche bactérienne			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (1/2)	<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (1/2)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 (1/2)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (1/2)
limonene	-0.06	0.45	-0.18	0.24
fenchone	0.24	0.11	-0.29	0.36
linalool	0.28	-0.04	-0.44	-0.07
nonanal	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43
<i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol	0.65	0.76	0.50	-0.33
<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	0.65	0.76	0.50	-0.33
4-terpineol	0.25	0.09	-0.31	0.31
naphthalene	0.01	-0.35	0.39	-0.04
α -terpineol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17
decanal	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43
<i>trans</i> -piperitol	0.65	0.76	0.50	-0.33
1-octyl acetate	0.65	0.76	0.50	-0.33
<i>endo</i> -fenchyl acetate	0.10	0.27	0.01	0.83
piperitone	0.65	0.76	0.50	-0.33
geraniol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17
undecanal	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43
4-vinylguaiacol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17
<i>trans</i> -piperitol acetate	0.65	0.76	0.50	-0.33
piperitenone oxide	-0.07	0.33	0.30	0.96*
(<i>E</i>)- β -damascenone	-0.52	-0.29	-0.61	-0.63
cyperene	0.65	0.76	0.50	-0.33
<i>n</i> -tetradecane	0.65	0.76	0.50	-0.33
tetrahydrogeranylacetone	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43
dodecanal	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43
β -caryophyllene	-0.90*	-0.76	-0.67	-0.45
β -cedrene	0.65	0.76	0.50	-0.33
4-(2,4-	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43

trimethylcyclohexa-1,5-dienyl)-but-3-en-2-one								
<i>(E)</i> -geranylacetone	0.22	0.43	-0.05	-0.56				
2-methyltetradecane	-0.42	-0.68	0.03	-0.25				
γ -muurolene	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
3,4-dehydro- β -ionone	-0.65	-0.67	-0.81	-0.75				
<i>(E)</i> - β -ionone	-0.68	-0.53	-0.68	-0.65				
valencene	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
2-tridecanone	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
α -muurolene	0.29	-0.24	-0.29	-0.18				
<i>n</i> -pentadecane	0.63	0.77	0.51	-0.29				
tridecanal	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43				
<i>trans</i> - γ -cadinene	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
δ -cadinene	0.29	-0.19	-0.28	-0.06				
dihydroactinidiolide	-0.08	-0.17	-0.24	-0.93*				
α -calacorene	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
<i>(E)</i> -nerolidol	0.25	0.08	-0.33	0.26				
caryophyllene oxide	-0.90*	-0.74	-0.69	-0.45				
<i>n</i> -hexadecane	-0.45	-0.24	-0.33	-0.66				
tetradecanal	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43				
1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
1- <i>epi</i> -cubenol	0.29	-0.11	-0.43	-0.17				
γ -eudesmol	-0.07	0.33	0.30	0.96*				
T-cadinol	0.28	-0.26	-0.25	-0.18				
α -muurolol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
β -eudesmol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
α -cadinol	0.29	-0.23	-0.30	-0.18				
1-tetradecanol	-0.07	0.26	0.41	0.99*				
<i>cis</i> - α -santalol	0.28	-0.07	-0.46	-0.17				
<i>n</i> -heptadecane	0.38	0.53	0.31	-0.50				
<i>(E)</i> -2-heptadecene	-0.07	0.33	0.30	0.96*				
pentadecanal	-0.85	-0.84	-0.51	-0.45				
<i>(E)</i> -nerolidyl acetate	-0.07	0.33	0.30	0.96*				
<i>(E,E)</i> - α -farnesal	-0.07	0.33	0.30	0.96*				

benzyl benzoate	-0.86	-0.66	-0.73	-0.43
(E,E)-methyl farnesoate	-0.07	0.33	0.30	0.96*
<i>n</i> -octadecane	-0.90*	-0.80	-0.63	-0.46
hexadecanal	0.01	-0.35	0.39	-0.04
hexahydrofarnesylacetone	-0.39	-0.75	-0.12	-0.38
Monoterpene hydrocarbons	-0.06	0.45	-0.18	0.24
Oxygenated monoterpenes	0.67	0.48	-0.09	-0.09
Sesquiterpene hydrocarbons	0.35	-0.04	-0.44	-0.33
Oxygenated sesquiterpenes	0.04	0.25	0.11	0.92*
Phenylpropanoids	0.28	-0.07	-0.46	-0.17
Apocarotenoids	-0.56	-0.83	-0.34	-0.58
Others	0.29	0.46	0.47	-0.40

* Signification à $P < 0.05$

1.2. Groupe homogène pour les tests sur *Cladosporium sp.*

1.2.a. au 2ème jour

LSD test: variable % croissance (j2. cladosporium 2 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = .02578, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3
2	C. phelypaea	C1	0.80000	****		
14	O. angustissima	C1	0.83333	****		
5	E. guyonana	C1	0.93333	****	****	
8	L. bondullei	C1	1.00000	****	****	****
15	O. angustissima	C2	1.03333	****	****	****
11	L. lanifera	C1	1.06667	****	****	****
3	C. phelypaea	C2	1.10000	****	****	****
6	E. guyonana	C2	1.20000	****	****	****
12	L. lanifera	C2	1.26667	****	****	****
9	L. bondullei	C2	1.26667	****	****	****
4	E. guyonana	T	1.33333	****		****
13	O. angustissima	T	1.33333	****		****
7	L. bondullei	T	1.33333	****		****
1	C. phelypaea	T	1.33333	****		****
10	L. lanifera	T	1.33333	****		****

1.2.c. au 5 ème jour

LSD test: variable % croissance (j5. Cladosporium 5 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = 3.8058, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5	6
14	O. angustissima	C1	13.90000	****					
15	O. angustissima	C2	18.06667	****	****				
5	E. guyonana	C1	18.23333	****	****				
2	C. phelypaea	C1	20.00000	****	****	****			
6	E. guyonana	C2	20.56667	****	****	****			
3	C. phelypaea	C2	21.66667	****	****	****			
8	L. bondullei	C1	23.80000	****	****	****	****		
9	L. bondullei	C2	24.93333	****	****	****	****		
11	L. lanifera	C1	25.40000	****	****	****	****		
10	L. lanifera	T	26.50000	****				****	
1	C. phelypaea	T	26.50000	****				****	
13	O. angustissima	T	26.50000	****				****	
4	E. guyonana	T	26.50000	****				****	
7	L. bondullei	T	26.50000	****				****	
12	L. lanifera	C2	26.70000	****				****	

1.2.b. au 4ème jour

LSD test: variable % croissance (j4. Cladosporium 4 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = 2.5751, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2
5	E. guyonana	C1	10.60000	****	
14	O. angustissima	C1	10.70000	****	
2	C. phelypaea	C1	10.76667	****	
8	L. bondullei	C1	11.20000	****	
3	C. phelypaea	C2	12.20000	****	****
9	L. bondullei	C2	12.43333	****	****
6	E. guyonana	C2	12.43333	****	****
15	O. angustissima	C2	12.90000	****	****
11	L. lanifera	C1	14.20000	****	****
10	L. lanifera	T	14.93333	****	
1	C. phelypaea	T	14.93333	****	
13	O. angustissima	T	14.93333	****	
4	E. guyonana	T	14.93333	****	
7	L. bondullei	T	14.93333	****	
12	L. lanifera	C2	15.00000	****	

1.2.d. au 7ème jour

LSD test: variable % croissance (j7. Cladosporium 7 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = 7.4016, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4
14	O. angustissima	C1	17.93333	****			
5	E. guyonana	C1	20.83333	****	****		
2	C. phelypaea	C1	22.66667	****	****	****	
6	E. guyonana	C2	22.83333	****	****	****	
15	O. angustissima	C2	23.13333	****	****	****	
8	L. bondullei	C1	25.36667	****	****	****	
3	C. phelypaea	C2	25.76667	****	****	****	
9	L. bondullei	C2	27.13333	****	****	****	
11	L. lanifera	C1	27.23333	****	****	****	
7	L. bondullei	T	28.20000	****			****
10	L. lanifera	T	28.20000	****			****
4	E. guyonana	T	28.20000	****			****
13	O. angustissima	T	28.20000	****			****
1	C. phelypaea	T	28.20000	****			****
12	L. lanifera	C2	32.46667	****			****

1.3. Groupe homogène pour les tests sur *Fusarium sp.*

1.3.a. au 2ème jour

LSD test: variable % croissance (j2 fusarium 2 jour sta)
 Homogenous Groups. alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
 Error: Between MS = 4.3544, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5
2	C. phelypaea	C1	25.96667	****				
14	O. angustissima	C1	28.33333	****				
3	C. phelypaea	C2	34.16667	****				
8	L. bondullei	C1	40.16667	****	****			
5	E. guyonana	C1	41.50000	****	****	****		
15	O. angustissima	C2	41.90000	****	****	****		
11	L. lanifera	C1	43.76667	****	****	****		
9	L. bondullei	C2	44.13333	****	****	****		
12	L. lanifera	C2	46.03333	****	****	****		
6	E. guyonana	C2	46.06667	****	****	****		
7	L. bondullei	T	49.70000	****	****	****		
10	L. lanifera	T	49.70000	****	****	****		
13	O. angustissima	T	49.70000	****	****	****		
4	E. guyonana	T	49.70000	****	****	****		
1	C. phelypaea	T	49.70000	****	****	****		

1.3.c. au 5ème jour

1.3.b. au 4ème jour

LSD test: variable % croissance (j4 fusarium 4 jour sta)
 Homogenous Groups. alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
 Error: Between MS = 4.3544, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5
2	C. phelypaea	C1	25.96667	****				
14	O. angustissima	C1	28.33333	****				
3	C. phelypaea	C2	34.16667	****				
8	L. bondullei	C1	40.16667	****	****			
5	E. guyonana	C1	41.50000	****	****	****		
15	O. angustissima	C2	41.90000	****	****	****		
11	L. lanifera	C1	43.76667	****	****	****		
9	L. bondullei	C2	44.13333	****	****	****		
12	L. lanifera	C2	46.03333	****	****	****		
6	E. guyonana	C2	46.06667	****	****	****		
7	L. bondullei	T	49.70000	****	****	****		
10	L. lanifera	T	49.70000	****	****	****		
13	O. angustissima	T	49.70000	****	****	****		
4	E. guyonana	T	49.70000	****	****	****		
1	C. phelypaea	T	49.70000	****	****	****		

1.3.d. au 7ème jour

LSD test, variable % croissance (j5.fusarium 5 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = 18.621, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4
5	E. guyonana	C1	63.16667	****			
14	O. angustissima	C1	65.50000	****			
2	C. phelypaea	C1	68.53333	****	****		
15	O. angustissima	C2	76.40000	****	****		
6	E. guyonana	C2	80.56667	****	****	****	
11	L. lanifera	C1	83.40000	****	****	****	
8	L. bondullei	C1	86.00000	****	****	****	
12	L. lanifera	C2	86.40000	****	****	****	
3	C. phelypaea	C2	87.36667	****	****	****	
9	L. bondullei	C2	87.60000	****	****	****	
4	E. guyonana	T	89.26667	****	****	****	
13	O. angustissima	T	89.26667	****	****	****	
10	L. lanifera	T	89.26667	****	****	****	
1	C. phelypaea	T	89.26667	****	****	****	
7	L. bondullei	T	89.26667	****	****	****	

1.4. Groupe homogène pour les tests sur *Rhizopus sp.*

1.4.a. au 2ème jour

LSD test, variable % croissance (j2.Rhizopus 2 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = .02200, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5	6
2	C. phelypaea	C1	1.366667	****					
5	E. guyonana	C1	1.366667	****					
14	O. angustissima	C1	1.666667	****	****				
8	L. bondullei	C1	1.966667	****	****	****			
3	C. phelypaea	C2	2.000000	****	****	****			
6	E. guyonana	C2	2.000000	****	****	****			
15	O. angustissima	C2	2.000000	****	****	****			
11	L. lanifera	C1	2.033333	****	****	****			
12	L. lanifera	C2	2.300000	****	****	****			
9	L. bondullei	C2	2.366667	****	****	****			
10	L. lanifera	T	3.000000	****	****	****	****		
13	O. angustissima	T	3.000000	****	****	****	****	****	
4	E. guyonana	T	3.000000	****	****	****	****	****	
1	C. phelypaea	T	3.000000	****	****	****	****	****	
7	L. bondullei	T	3.000000	****	****	****	****	****	****

1.4.c. au 5ème jour

LSD test, variable % croissance (j7.Fusarium 7 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = 11.168, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4
14	O. angustissima	C1	71.96667	****			
5	E. guyonana	C1	73.00000	****			
2	C. phelypaea	C1	75.76667	****	****		
15	O. angustissima	C2	83.93333	****	****		
11	L. lanifera	C1	88.46667	****	****	****	
6	E. guyonana	C2	89.50000	****	****	****	
3	C. phelypaea	C2	91.70000	****	****	****	
12	L. lanifera	C2	91.80000	****	****	****	
8	L. bondullei	C1	92.16667	****	****	****	
1	C. phelypaea	T	92.86667	****	****	****	
7	L. bondullei	T	92.86667	****	****	****	
13	O. angustissima	T	92.86667	****	****	****	
4	E. guyonana	T	92.86667	****	****	****	
10	L. lanifera	T	92.86667	****	****	****	
9	L. bondullei	C2	97.16667	****	****	****	****

1.4.b. au 4ème jour

LSD test, variable % croissance (j4.Rhizopus 4 jour.sta)
Homogenous Groups, alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
Error: Between MS = 14.892, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5
14	O. angustissima	C1	42.03333	****				
5	E. guyonana	C1	43.83333	****				
8	L. bondullei	C1	45.43333	****	****			
2	C. phelypaea	C1	48.26667	****	****	****		
9	L. bondullei	C2	53.30000	****	****	****		
3	C. phelypaea	C2	55.10000	****	****	****		
11	L. lanifera	C1	56.80000	****	****	****		
15	O. angustissima	C2	59.63333	****	****	****		
6	E. guyonana	C2	62.60000	****	****	****		
12	L. lanifera	C2	63.03333	****	****	****		
10	L. lanifera	T	63.56667	****	****	****		
13	O. angustissima	T	63.56667	****	****	****		
4	E. guyonana	T	63.56667	****	****	****		
1	C. phelypaea	T	63.56667	****	****	****		
7	L. bondullei	T	63.56667	****	****	****	****	

1.4.d. au 7ème jour

LSD test: variable % croissance (j5.Rhizopus 5 jour.sta)
 Homogenous Groups. alpha = .01000 (Non-Exhaustive Search)
 Error: Between MS = 10.323, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5	6
2	C. phelypaea	C1	55.2667	****					
5	E. guyonana	C1	62.3667	****					
14	O. angustissima	C1	71.1000	****	****				
3	C. phelypaea	C2	71.9333	****	****	****			
6	E. guyonana	C2	78.5000	****	****	****			
8	L. bondullei	C1	78.8667	****	****	****			
15	O. angustissima	C2	83.7667	****	****	****			
11	L. lanifera	C1	85.0333	****	****	****			
9	L. bondullei	C2	88.8000	****	****	****			
10	L. lanifera	T	100.0000	****	****	****			
12	L. lanifera	C2	100.0000	****	****	****			
13	O. angustissima	T	100.0000	****	****	****			
4	E. guyonana	T	100.0000	****	****	****			
1	C. phelypaea	T	100.0000	****	****	****			
7	L. bondullei	T	100.0000	****	****	****			

LSD test: variable % croissance (j7.rhizopus 7 jour.sta)
 Homogenous Groups. alpha = .05000 (Non-Exhaustive Search)
 Error: Between MS = 11.312, df = 30.000

Cell No.	plante	concentration	% croissance Mean	1	2	3	4	5
2	C. phelypaea	C1	63.6667	****				
5	E. guyonana	C1	74.8333	****				
14	O. angustissima	C1	76.2000	****	****			
3	C. phelypaea	C2	78.3667	****	****	****		
6	E. guyonana	C2	86.9667	****	****	****		
8	L. bondullei	C1	87.3000	****	****	****		
15	O. angustissima	C2	91.0667	****	****	****		
9	L. bondullei	C2	96.4667	****	****	****		
10	L. lanifera	T	100.0000	****	****	****		
11	L. lanifera	C1	100.0000	****	****	****		
12	L. lanifera	C2	100.0000	****	****	****		
13	O. angustissima	T	100.0000	****	****	****		
4	E. guyonana	T	100.0000	****	****	****		
1	C. phelypaea	T	100.0000	****	****	****		
7	L. bondullei	T	100.0000	****	****	****		

Annexe 3. coefficients de corrélation linéaire entre les composés identifiés et l'activité antifongique des huiles essentielles (à la concentration C1 : 1/2000) sur les 4 moisissures testées (n=5)

Composés, familles chimiques	Jour 2				Jour 2				Jour 5				Jour 7			
	<i>Aspergillus</i> sp. C1 J2	<i>Cladosporium</i> sp. C1 J2	<i>Fusarium</i> sp. C1 J2	<i>Rhizopus</i> sp. C1 J2	<i>Aspergillus</i> sp. C1 J4	<i>Cladosporium</i> sp. C1 J4	<i>Fusarium</i> sp. C1 J4	<i>Rhizopus</i> sp. C1 J4	<i>Aspergillus</i> sp. C1 J5	<i>Cladosporium</i> sp. C1 J5	<i>Fusarium</i> sp. C1 J5	<i>Rhizopus</i> sp. C1 J5	<i>Aspergillus</i> sp. C1 J7	<i>Cladosporium</i> sp. C1 J7	<i>Fusarium</i> sp. C1 J7	<i>Rhizopus</i> sp. C1 J7
limonene	0.22	0.35	0.58	0.60	-0.04	-0.10	0.27	-0.31	-0.30	0.24	0.60	0.52	-0.57	0.21	0.62	0.36
fenchone	0.50	0.81	0.15	0.33	0.41	0.42	0.88*	0.44	0.61	0.78	0.54	0.36	0.55	0.74	0.64	0.54
linalool	0.77	0.54	-0.23	0.08	0.23	0.31	0.59	0.51	0.73	0.80	0.45	0.04	0.80	0.76	0.53	0.24
nonanal	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
<i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
4-terpineol	0.53	0.79	0.11	0.30	0.40	0.41	0.86	0.45	0.63	0.79	0.54	0.33	0.59	0.75	0.63	0.51
naphthalene	-0.53	-0.37	-0.35	-0.50	0.09	0.11	-0.30	0.20	0.10	-0.43	-0.67	-0.39	0.29	-0.39	-0.71	-0.28
α -terpineol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
decanal	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
<i>trans</i> -piperitol	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
1-octyl acetate	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
<i>endo</i> -fenchyl acetate	-0.03	0.89*	0.62	0.55	0.52	0.43	0.97*	0.20	0.25	0.50	0.49	0.67	0.03	0.47	0.56	0.75
piperitone	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
geraniol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
undecanal	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
4-vinylguaiaol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
<i>trans</i> -piperitol acetate	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
piperitenone oxide	-0.53	0.63	0.84	0.55	0.42	0.27	0.69	-0.11	-0.20	0.03	0.25	0.71	-0.49	0.02	0.27	0.68
(<i>E</i>)- β -damascenone	0.38	-0.62	-0.37	-0.32	-0.84	-0.81	-0.61	-0.70	-0.61	-0.35	-0.16	-0.48	-0.42	-0.38	-0.15	-0.65
cyperene	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
<i>n</i> -tetradecane	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23

tetrahydrogeranylacetone	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
dodecanal	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
β -caryophyllene	0.02	-0.81	-0.58	-0.75	-0.99*	-1.00*	-0.62	-0.90*	-0.80	-0.74	-0.70	-0.78	-0.40	-0.78	-0.66	-0.88*
β -cedrene	0.13	-0.03	0.31	0.55	0.28	0.33	-0.37	0.32	0.17	0.25	0.54	0.38	-0.19	0.30	0.43	0.23
4-(2,4,4-trimethylcyclohexa-1,5-dienyl)-but-3-en-2-one	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
(E)-geranylacetone	0.43	-0.25	0.05	0.29	-0.22	-0.17	-0.49	-0.12	-0.15	0.12	0.42	0.07	-0.31	0.13	0.37	-0.12
2-methyltetradecane	-0.47	-0.71	-0.59	-0.81	-0.39	-0.38	-0.56	-0.25	-0.29	-0.74	-0.93*	-0.72	0.07	-0.72	-0.95*	-0.67
γ -muurolene	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
3,4-dehydro- β -ionone	0.46	-0.74	-0.76	-0.71	-0.95*	-0.89*	-0.62	-0.65	-0.48	-0.40	-0.45	-0.82	-0.07	-0.44	-0.41	-0.88*
(E)- β -ionone	0.29	-0.76	-0.54	-0.56	-0.95*	-0.93*	-0.68	-0.79	-0.68	-0.52	-0.41	-0.68	-0.37	-0.55	-0.39	-0.82
valencene	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
2-tridecanone	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
α -muurolene	0.56	0.30	-0.47	-0.21	0.23	0.33	0.38	0.60	0.78	0.58	0.10	-0.21	0.97*	0.57	0.17	0.04
n-pentadecane	0.11	-0.02	0.35	0.58	0.28	0.32	-0.35	0.29	0.13	0.23	0.54	0.41	-0.24	0.28	0.44	0.25
tridecanal	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
trans- γ -cadinene	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
δ -cadinene	0.55	0.42	-0.37	-0.12	0.29	0.38	0.51	0.61	0.79	0.64	0.18	-0.10	0.94*	0.62	0.25	0.15
dihydroactinidiolide	0.36	-0.79	-0.59	-0.40	-0.59	-0.49	-0.90*	-0.23	-0.22	-0.28	-0.22	-0.59	-0.04	-0.27	-0.27	-0.71
α -calacorene	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
(E)-nerolidol	0.57	0.76	0.06	0.27	0.38	0.40	0.83	0.46	0.65	0.80	0.53	0.29	0.62	0.76	0.62	0.48
caryophyllene oxide	0.05	-0.78	-0.56	-0.73	-0.99*	-1.00*	-0.60	-0.91*	-0.80	-0.72	-0.66	-0.76	-0.41	-0.76	-0.62	-0.87
n-hexadecane	0.12	-0.81	-0.36	-0.37	-0.79	-0.76	-0.85	-0.68	-0.68	-0.56	-0.32	-0.51	-0.52	-0.56	-0.35	-0.71
tetradecanal	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
1- <i>epi</i> -cubenol	0.76	0.44	-0.35	-0.03	0.20	0.29	0.50	0.54	0.76	0.75	0.35	-0.07	0.88*	0.72	0.43	0.14
γ -eudesmol	-0.53	0.63	0.84	0.55	0.42	0.27	0.69	-0.11	-0.20	0.03	0.25	0.71	-0.49	0.02	0.27	0.68
T-cadinol	0.51	0.27	-0.49	-0.25	0.23	0.33	0.35	0.61	0.78	0.54	0.05	-0.23	0.98*	0.53	0.11	0.02
α -muurolol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
β -eudesmol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
α -cadinol	0.58	0.31	-0.47	-0.20	0.23	0.33	0.39	0.60	0.79	0.60	0.12	-0.20	0.97*	0.58	0.19	0.05
1-tetradecanol	-0.68	0.57	0.78	0.45	0.46	0.31	0.64	-0.07	-0.18	-0.07	0.10	0.64	-0.44	-0.07	0.10	0.63
cis- α -santalol	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17

<i>n</i> -heptadecane	0.14	-0.32	0.12	0.31	-0.04	0.01	-0.61	0.03	-0.10	0.00	0.31	0.12	-0.33	0.04	0.22	-0.07
(<i>E</i>)-2-heptadecene	-0.53	0.63	0.84	0.55	0.42	0.27	0.69	-0.11	-0.20	0.03	0.25	0.71	-0.49	0.02	0.27	0.68
pentadecanal	-0.16	-0.89*	-0.67	-0.89*	-0.91*	-0.92*	-0.69	-0.80	-0.73	-0.85	-0.89*	-0.87	-0.28	-0.88*	-0.87	-0.94*
(<i>E</i>)-nerolidyl acetate	-0.53	0.63	0.84	0.55	0.42	0.27	0.69	-0.11	-0.20	0.03	0.25	0.71	-0.49	0.02	0.27	0.68
(<i>E,E</i>)- α -farnesal	-0.53	0.63	0.84	0.55	0.42	0.27	0.69	-0.11	-0.20	0.03	0.25	0.71	-0.49	0.02	0.27	0.68
benzyl benzoate	0.13	-0.70	-0.49	-0.62	-0.98*	-0.99*	-0.54	-0.92*	-0.80	-0.63	-0.53	-0.67	-0.45	-0.67	-0.49	-0.80
(<i>E,E</i>)-methyl farnesoate	-0.53	0.63	0.84	0.55	0.42	0.27	0.69	-0.11	-0.20	0.03	0.25	0.71	-0.49	0.02	0.27	0.68
<i>n</i> -octadecane	-0.04	-0.84	-0.62	-0.81	-0.98*	-0.98*	-0.65	-0.88*	-0.79	-0.79	-0.77	-0.82	-0.36	-0.82	-0.74	-0.91*
hexadecanal	-0.53	-0.37	-0.35	-0.50	0.09	0.11	-0.30	0.20	0.10	-0.43	-0.67	-0.39	0.29	-0.39	-0.71	-0.28
hexahydrofarnesylacetone	-0.26	-0.70	-0.75	-0.88*	-0.42	-0.38	-0.54	-0.17	-0.16	-0.61	-0.90*	-0.81	0.27	-0.60	-0.90*	-0.73
Monoterpene hydrocarbons	0.22	0.35	0.58	0.60	-0.04	-0.10	0.27	-0.31	-0.30	0.24	0.60	0.52	-0.57	0.21	0.62	0.36
Oxygenated monoterpenes	0.77	0.66	0.11	0.52	0.49	0.57	0.52	0.70	0.81	0.98*	0.83	0.41	0.62	0.97*	0.86	0.52
Sesquiterpene hydrocarbons	0.87	0.36	-0.39	0.00	0.15	0.26	0.36	0.54	0.75	0.77	0.41	-0.09	0.86	0.75	0.48	0.09
Oxygenated sesquiterpenes	-0.22	0.84	0.67	0.52	0.52	0.41	0.93*	0.14	0.15	0.36	0.38	0.67	-0.08	0.33	0.43	0.74
Phenylpropanoids	0.80	0.47	-0.31	0.03	0.19	0.27	0.52	0.51	0.73	0.78	0.41	-0.03	0.83	0.74	0.50	0.17
Apocarotenoids	-0.11	-0.88*	-0.85	-0.96*	-0.70	-0.65	-0.72	-0.42	-0.37	-0.71	-0.91*	-0.95*	0.11	-0.71	-0.91*	-0.92*
Others	-0.16	-0.44	0.15	0.22	-0.04	-0.02	-0.70	-0.04	-0.23	-0.24	0.10	0.08	-0.45	-0.19	-0.02	-0.12

* Signification à $P < 0.05$

Annexe 4. coefficients de corrélation linéaire entre la composition chimique (classes et composés identifiés) et l'activité antifongique des huiles essentielles (à la concentration C2 : 1/4000) sur les 4 moisissures testées (n=5)

Composés et familles chimiques	Jour 2				Jour 2				Jour 5				Jour 7			
	Aspergillus sp. C2 J2	Cladosporium sp. C2 J2	Fusarium sp. C2 J2	Rhizopus sp. C2 J2	Aspergillus sp. C2 J4	Cladosporium sp. C2 J4	Fusarium sp. C2 J4	Rhizopus sp. C2 J4	Aspergillus sp. C2 J5	Cladosporium sp. C2 J5	Fusarium sp. C2 J5	Rhizopus sp. C2 J5	Aspergillus sp. C2 J7	Cladosporium sp. C2 J7	Fusarium sp. C2 J7	Rhizopus sp. C2 J7
limonene	0.83	0.36	0.60	0.67	0.06	-0.20	0.33	-0.57	-0.08	0.26	0.16	0.34	-0.33	0.05	0.50	0.54
fenchone	0.57	0.96*	0.08	0.62	0.18	0.25	0.59	0.14	0.92*	0.75	0.58	0.41	0.63	0.48	0.74	0.41
linalool	0.27	0.81	-0.29	0.45	-0.02	0.10	0.18	-0.06	0.94*	0.73	0.79	0.11	0.86	0.47	0.81	0.05
nonanal	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
cis-p-menth-2-en-1-ol	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
trans-p-menth-2-en-1-ol	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
4-terpineol	0.54	0.95*	0.03	0.61	0.16	0.24	0.55	0.12	0.93*	0.76	0.61	0.38	0.66	0.49	0.75	0.37
naphthalene	-0.78	-0.50	-0.37	-0.71	0.06	0.28	-0.20	0.70	-0.15	-0.41	-0.44	-0.22	0.04	-0.13	-0.74	-0.39
α-terpineol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
decanal	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
trans-piperitol	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
1-octyl acetate	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
endo-fenchyl acetate	0.78	0.83	0.55	0.63	0.40	0.38	0.95*	0.37	0.57	0.53	0.09	0.67	0.09	0.34	0.38	0.76
piperitone	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
geraniol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
undecanal	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
4-vinylguaiaacol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
trans-piperitol acetate	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
piperitenone oxide	0.69	0.39	0.80	0.40	0.45	0.36	0.93*	0.45	0.02	0.12	-0.41	0.67	-0.46	0.07	-0.11	0.81
(E)-β-damascenone	-0.11	-0.41	-0.31	-0.19	-0.72	-0.87	-0.58	-0.87	-0.52	-0.41	0.03	-0.64	-0.34	-0.58	0.16	-0.50

cyperene	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
<i>n</i> -tetradecane	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
tetrahydrogeranylacetone	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
dodecanal	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
β -caryophyllene	-0.48	-0.63	-0.54	-0.68	-0.92*	-0.95*	-0.46	-0.41	-0.62	-0.81	-0.41	-0.88*	-0.49	-0.94*	-0.28	-0.73
β -cedrene	0.20	-0.14	0.38	0.40	0.45	0.28	-0.41	-0.49	-0.22	0.30	0.35	0.32	0.02	0.49	0.15	0.24
4-(2,4,4-trimethylcyclohexa-1,5-dienyl)-but-3-en-2-one	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
(<i>E</i>)-geranylacetone	0.20	-0.18	0.13	0.31	-0.06	-0.28	-0.55	-0.89*	-0.32	0.11	0.39	-0.07	-0.09	0.11	0.35	-0.04
2-methyltetradecane	-0.93*	-0.75	-0.59	-0.96*	-0.38	-0.20	-0.40	0.43	-0.44	-0.76	-0.60	-0.62	-0.20	-0.56	-0.80	-0.70
γ -muurolene	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
3,4-dehydro- β -ionone	-0.45	-0.44	-0.72	-0.49	-0.94*	-0.95*	-0.67	-0.67	-0.34	-0.50	0.04	-0.91*	-0.10	-0.69	0.10	-0.82
(<i>E</i>)- β -ionone	-0.32	-0.54	-0.49	-0.43	-0.86	-0.95*	-0.62	-0.73	-0.56	-0.59	-0.11	-0.82	-0.36	-0.75	-0.01	-0.67
valencene	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
2-tridecanone	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
α -muurolene	-0.17	0.53	-0.54	0.08	-0.04	0.19	-0.01	0.22	0.86	0.51	0.62	-0.06	0.92*	0.40	0.47	-0.21
<i>n</i> -pentadecane	0.24	-0.14	0.43	0.42	0.46	0.28	-0.37	-0.50	-0.24	0.28	0.32	0.34	-0.03	0.47	0.15	0.27
tridecanal	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
<i>trans</i> - γ -cadinene	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
δ -cadinene	-0.04	0.63	-0.44	0.18	0.02	0.23	0.13	0.25	0.91*	0.58	0.62	0.04	0.90*	0.43	0.52	-0.09
dihydroactinidiolide	-0.53	-0.63	-0.52	-0.37	-0.48	-0.53	-0.97*	-0.71	-0.46	-0.33	0.19	-0.65	0.00	-0.27	-0.02	-0.70
α -calacorene	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
(<i>E</i>)-nerolidol	0.51	0.94*	-0.01	0.59	0.14	0.22	0.50	0.10	0.94*	0.76	0.64	0.34	0.70	0.49	0.77	0.33
caryophyllene oxide	-0.44	-0.60	-0.52	-0.64	-0.93*	-0.96*	-0.45	-0.45	-0.61	-0.79	-0.39	-0.87	-0.49	-0.93*	-0.24	-0.71
<i>n</i> -hexadecane	-0.33	-0.71	-0.28	-0.39	-0.61	-0.75	-0.72	-0.74	-0.75	-0.60	-0.17	-0.65	-0.47	-0.60	-0.16	-0.55
tetradecanal	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
1- <i>epi</i> -cubenol	0.12	0.72	-0.41	0.34	-0.06	0.09	0.06	-0.03	0.93*	0.67	0.79	0.02	0.92*	0.45	0.75	-0.07
γ -eudesmol	0.69	0.39	0.80	0.40	0.45	0.36	0.93*	0.45	0.02	0.12	-0.41	0.67	-0.46	0.07	-0.11	0.81
T-cadinol	-0.23	0.48	-0.56	0.02	-0.03	0.21	-0.03	0.27	0.83	0.47	0.57	-0.08	0.90*	0.38	0.40	-0.24
α -muurolol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
β -eudesmol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
α -cadinol	-0.15	0.54	-0.53	0.10	-0.04	0.19	-0.01	0.20	0.87	0.53	0.63	-0.06	0.92*	0.40	0.49	-0.21

1-tetradecanol	0.52	0.29	0.73	0.25	0.49	0.44	0.91*	0.64	-0.02	0.02	-0.54	0.63	-0.47	0.04	-0.29	0.74
<i>cis</i> - α -santalol	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
<i>n</i> -heptadecane	0.03	-0.38	0.21	0.18	0.16	-0.02	-0.60	-0.65	-0.45	0.03	0.22	0.03	-0.15	0.19	0.05	-0.01
(<i>E</i>)-2-heptadecene	0.69	0.39	0.80	0.40	0.45	0.36	0.93*	0.45	0.02	0.12	-0.41	0.67	-0.46	0.07	-0.11	0.81
pentadecanal	-0.72	-0.77	-0.64	-0.88*	-0.86	-0.81	-0.51	-0.16	-0.65	-0.91*	-0.54	-0.92*	-0.46	-0.94*	-0.51	-0.83
(<i>E</i>)-nerolidyl acetate	0.69	0.39	0.80	0.40	0.45	0.36	0.93*	0.45	0.02	0.12	-0.41	0.67	-0.46	0.07	-0.11	0.81
(<i>E,E</i>)- α -farnesal	0.69	0.39	0.80	0.40	0.45	0.36	0.93*	0.45	0.02	0.12	-0.41	0.67	-0.46	0.07	-0.11	0.81
benzyl benzoate	-0.29	-0.50	-0.45	-0.51	-0.91*	-0.98*	-0.40	-0.55	-0.57	-0.70	-0.30	-0.81	-0.49	-0.89*	-0.11	-0.62
(<i>E,E</i>)-methyl farnesoate	0.69	0.39	0.80	0.40	0.45	0.36	0.93*	0.45	0.02	0.12	-0.41	0.67	-0.46	0.07	-0.11	0.81
<i>n</i> -octadecane	-0.56	-0.68	-0.58	-0.75	-0.92*	-0.92*	-0.48	-0.34	-0.64	-0.86	-0.46	-0.91*	-0.49	-0.95*	-0.36	-0.77
hexadecanal	-0.78	-0.50	-0.37	-0.71	0.06	0.28	-0.20	0.70	-0.15	-0.41	-0.44	-0.22	0.04	-0.13	-0.74	-0.39
hexahydrofarnesylacetone	-0.97*	-0.65	-0.75	-0.94*	-0.47	-0.25	-0.48	0.36	-0.27	-0.66	-0.41	-0.70	0.00	-0.51	-0.64	-0.80
Monoterpene hydrocarbons	0.83	0.36	0.60	0.67	0.06	-0.20	0.33	-0.57	-0.08	0.26	0.16	0.34	-0.33	0.05	0.50	0.54
Oxygenated monoterpenes	0.53	0.82	0.08	0.79	0.34	0.34	0.11	-0.28	0.84	0.95*	0.95*	0.43	0.81	0.79	0.91*	0.35
Sesquiterpene hydrocarbons	0.11	0.66	-0.43	0.37	-0.09	0.03	-0.10	-0.22	0.87	0.69	0.89*	-0.03	0.93*	0.47	0.81	-0.13
Oxygenated sesquiterpenes	0.72	0.72	0.60	0.53	0.43	0.41	0.99*	0.49	0.45	0.41	-0.09	0.68	-0.05	0.26	0.20	0.77
Phenylpropanoids	0.20	0.75	-0.37	0.40	-0.06	0.06	0.08	-0.11	0.92*	0.70	0.82	0.04	0.89*	0.45	0.81	-0.03
Apocarotenoids	-0.95*	-0.76	-0.83	-0.96*	-0.71	-0.56	-0.65	0.03	-0.43	-0.77	-0.38	-0.90*	-0.11	-0.70	-0.54	-0.94*
Others	-0.13	-0.59	0.24	-0.03	0.20	0.03	-0.57	-0.44	-0.64	-0.19	-0.07	0.01	-0.34	0.07	-0.26	-0.04

* Signification à $P < 0.05$

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد التركيب الكيميائي واختبار النشاط البيولوجي للزيوت الأساسية المستخلصة من أربعة أنواع من النباتات المزهرة المستوطنة في شمال أفريقيا، وهي :

Euphorbia guyoniana Boiss. Reut. ; *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb; *Launaea lanifera* Pau; *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze
(*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.) نبات متطفل
لتحليل التركيب الكيميائي للزيوت استعملت طريقة

Gas chromatography-flame ionization detector and gas chromatography coupled to electron impact mass spectrometry (GC and GC-EIMS)

أما اختبار النشاط الحيوي فقد تم بواسطة طريقة الانتشار في وسط مغذي صلب، تم تجريب الزيوت على أربع سلالات من البكتيريا وأربع أنواع من الفطريات. أظهرت النتائج أن جميع النباتات تحتوي على كميات ضئيلة جدا من الزيوت الأساسية (عوائد منخفضة جدا).

سمح تحليل الزيوت كيميائيا بتحديد مركبات بنسبة تفوق 91 % من إجمالي المواد الطيارة. وأظهر هذا التحليل أن معظم الزيوت غنية بمركبات apocarotenoids ، التي تعتبر من نواتج أيض الكاروتينات ، بنسب تتراوح بين 15.2% إلى 60.1% باستثناء النبات الطفيلي *Cistanche phelypaea* الذي أعطى نسبة 1.6 % ، المكونات الرئيسية لهذه apocarotenoids تختلف تبعا لعدد ذرات الكربون ، من C11 بالنسبة لـ dihydroactinidiolide إلى C18 بالنسبة لـ hexahydro farnesyl acetone ، هذا التشابه يمكن تفسيره بلون الأزهار ، فجميع النباتات أزهارها صفراء ، كما أن apocarotenoids التي عثر عليها بمستويات عالية هي من مشتقات الكاروتينات المسؤولة عن اللون الأصفر في الأزهار .

كان التأثير المضاد للجراثيم بالزيوت الأساسية منخفض عموما ، خصوصا زيت *Launaea lanifera*. النبات الطفيلي *Cistanche phelypaea* هو الوحيد الذي أعطى نشاط مضاد على السلالات البكتيرية الأربعة التي تم اختبارها، *Escherichia coli* هي البكتيريا الأكثر حساسية .

بالنسبة لنتيجة اختبار النشاط المضاد للفطريات، وجد أن تثبيط نموها كان عاليا في الأيام الأولى من تطورها في الوسط المغذي. الزيوت منخفضة التخفيف لها القدرة الأكبر على التثبيط والعكس بالنسبة للتخفيف العالي

من بين أنواع العفن الأربعة المدروسة في هذا العمل، *Fusarium sp.* و *Rhizopus sp.* كانت هي الأكثر حساسية لتأثير الزيوت في حين وجد أن نوع *Aspergillus sp.* كان الأكثر مقاومة.

Euphorbia guyoniana, *Ononis angustissima*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei*, *Cistanche phelypaea*, **الكلمات الدلالية**
essential oil antibacterial activity, antifungal activity

Abstract

The objective of this work is to evaluate the chemical composition and biological activity of essential oils of four flowering endemic plants to North Africa, namely *Euphorbia guyoniana* Boiss. and Reut. ; *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb; *Launaea lanifera* Pau; *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze and a parasitic plant (*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.).

Chemical composition of essential oils was evaluated by gas chromatography-flame ionization detector and gas chromatography coupled to electron impact mass spectrometry (GC and GC-EIMS). While, the antimicrobial activity is tested by the agar diffusion method on 4 bacterial strains and four fungi. The results show that all the plants were poor in essential oils (very low yields). The analysis of oils has allowed the identification of more than 91% of volatile compounds. This analysis showed that the oils are rich in apocarotenoids, which are carotenoid breakdown products, with percentages ranging from 15.2% to 60.1% with the exception of *Cistanche phelypaea* oil (1.6%). The major components of these apocarotenoids vary depending on the number of carbon, from C11 (dihydroactinidiolide) to C18 (hexahydro farnesyl acetone). This similarity can be explained by the color of flowers, all plants are yellow flowered. The apocarotenoids found at high levels are derivatives of carotenoids, which are mostly responsible for yellow floral pigmentation. The antibacterial effect of essential oils is generally low, especially that of *Launaea lanifera*. The essential oil of the parasitic plant *Cistanche phelypaea* is the only one that possess activity on four bacterial strains tested, *Escherichia coli* is the most sensitive bacteria. Regarding the antifungal activity, it was found that the inhibition of mycelia growth is high in the early days of development on agar. Low oils dilution have a high inhibitory effect with respect to the high dilution. Of the four molds studied in this work, *Fusarium sp.* species and *Rhizopus sp.* were the most sensitive to the effect of oils while the species *Aspergillus sp.* was the most resistant.

Keywords

Euphorbia guyoniana, *Ononis angustissima*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei*, *Cistanche phelypaea*, essential oil antibacterial activity, antifungal activity

Résumé :

L'objectif du présent travail est d'étudier la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles de quatre plantes à fleurs, endémiques du Nord d'Afrique, à savoir *Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut. ; *Ononis angustissima* Lam. subsp. *filifolia* Murb ; *Launaea lanifera* Pau ; *Limonium bonduellei* (Lestib.) Kuntze et une plante parasite (*Cistanche phelypaea* (L.) P. Cout.). L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles est réalisée par une méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse par impact électronique (GC et GC-EIMS). Tandis que, l'activité antimicrobienne est réalisée par le test de diffusion en gélose pour 4 souches bactériennes et quatre champignons. Les résultats montrent que toutes les plantes ont été pauvres en huiles essentielles (rendements très faibles). L'analyse des huiles a permis l'identification de plus de 91% des composés volatiles. Cette analyse a montré que les huiles sont riches en apocaroténoïdes, qui sont issus du métabolisme des caroténoïdes, avec des pourcentages allant de 15.2% jusqu'à 60.1% à l'exception de l'huile de *Cistanche phelypaea* (1.6%). Les composés majeurs de ces apocaroténoïdes varient, selon le nombre du carbone, de C11 (dihydroactinidiolide) à C18 (hexahydro farnésyl acétone). Cette ressemblance peut être expliquée par la couleur des fleurs, toutes les plantes possèdent des fleurs jaunes. Les apocaroténoïdes trouvés à des taux élevés sont des dérivés des caroténoïdes responsables de la coloration jaune des fleurs. L'effet antibactérien des huiles essentielles est généralement faible, en particulier celui de *Launaea lanifera*. L'huile essentielle de la plante parasite *Cistanche phelypaea* est la seule qui possède une activité sur les 4 souches bactériennes testées, *Escherichia coli* est la bactérie la plus sensible. Pour l'activité antifongique, nous avons constaté que l'inhibition de la croissance des mycéliums est élevée aux premiers jours du développement sur la gélose. Les huiles à faible dilution possèdent un pouvoir inhibiteur élevé par rapport à la dilution forte. Parmi les quatre moisissures étudiées dans ce travail, les espèces *Fusarium sp.* et *Rhizopus sp.* ont été les plus sensibles à l'effet des huiles alors que l'espèce *Aspergillus sp.* a été la plus résistante.

Mots clé

Euphorbia guyoniana, *Ononis angustissima*, *Launaea lanifera*, *Limonium bonduellei*, *Cistanche phelypaea*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antifongique.