

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET BIOLOGIE VÉGÉTALE

N°...../SNV/2018

THÈSE

Présentée par

KENOUDI Meriem

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ÈME} CYCLE

Filière: BIOLOGIE

**Spécialité: VALORISATION ET PROTECTION DE LA BIODIVERSITÉ
VÉGÉTALE**

THÈME

**Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et
activités biologiques de *Senecio giganteus* Desf et *S. jacobaea* L.**

Soutenue publiquement le **02/ 07/ 2018**

DEVANT LE JURY

Président	Ramdani Messouad	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	Lograda Takia	Pr. UFA Sétif 1
Co-directeur	Chalard Pierre	Pr. UCA, France
Examineurs	Dahamna Saliha	Pr. UFA Sétif 1
	Dahbi Aicha	Pr. Univ. Bejaia
	Sari Madani	MCA Univ. M'Sila

Laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles (VRBN)

ملخص

أظهرت الدراسة النسيجية لنبتة *Senecio giganteus* (نوع مستوطن في شمال أفريقيا) ونبتة *S. jacobaea* (نوع متوسطي) تنوع كبير في شكل وعدد الأنسجة المختلفة على مستوى المقاطع العرضية للجذور، السيقان والأوراق. وقد سمحت الدراسة الكريولوجية لنبتة *S. giganteus* ونبتة *S. jacobaea* بتحديد مجموعة صبغية رباعية $2N = 4X = 20 + 2B$ و $2N = 4X = 40$ على التوالي. سمح تحليل الزيوت الأساسية للنباتين بتقنية CG/ SM والتعرف على 84 مركبا مع اختلاف كبير في المكونات، كما أظهرت التحليل أن حمض hexadecanoic acid (17.80%) هو المركب الأساسي في زيت *S. giganteus* والكحول <3 methyl> Pentanol (25.70%) في زيت *S. jacobaea*. أظهرت الزيوت الأساسية لـ *S. giganteus* و *S. jacobaea* وجود نشاطية معتدلة ضد السلالات ATCC المستعملة، في حين أنها لا تمتلك أي نشاط ضد سلالة *Candida albicans*. أظهر التأثير السمي الخلوي للزيوت الأساسية نشاطا منخفضا مع تسجيل IC50 مساو لـ 251 ميكروغرام/مل لنبتة *S. giganteus* و 265 ميكروغرام/مل لنبتة *S. jacobaea* عند تركيز 0.04%.

الكلمات المفتاحية: *Senecio*, Anatomie, Caryologie, Chromosome, Huile essentielle, Activité biologique, Cytotoxicité.

Résumé

L'étude histologique de *Senecio giganteus* (endémique nord Afrique) et *Senecio jacobaea* (espèce méditerranéenne) a mis en évidence une importante diversité dans la forme et le nombre des différents tissus au niveau des racines, des tiges et des feuilles. Le dénombrement chromosomique a révélé la présence d'une tétraploïdie pour les deux espèces; *Senecio giganteus* à $2n= 4x= 20+ 2B$ et *S. jacobaea* à $2n= 4x= 40$. L'analyse des huiles essentielles de deux espèces par GC et GC/MS a permis d'identifier 84 composés avec une variabilité interspécifique importante, dont l'abondance de l'acide gras, l'acide hexadécanoïque (17,80%) dans l'HE de *S. giganteus* et L'alcool, Pentanol<3 methyl> (25.70%) dans l'HE de *S. jacobaea*. L'activité antibactérienne des deux HE est modérée sur les souches ATCC testés, alors qu'elle est nulle sur *Candida albicans*. L'effet cytotoxique des deux huiles essentielles est faible avec un IC50 de 251µg/ml pour *S. giganteus* et de 265µg/ml pour *S. jacobaea* à la concentration 0,04%.

Mots clefs: *Senecio*, Histologie, Caryologie, Chromosome, Huiles essentielles, Activité biologique, Cytotoxicité.

Abstract

The histological study of *Senecio giganteus* Desf (endemic North Africa) and *Senecio jacobaea* L. (Mediterranean species) showed an important diversity in the form and number of different tissues in the roots, the stems and the leaves. The karyological study of two species of *Senecio* revealed the presence of a tetraploid chromosomal number with $2n=4x=20+2B$ for *Senecio giganteus* and a tetraploid number with $2n=4x=40$ for *Senecio jacobaea*. The analysis of essential oils of two species by GC and GC/MS allowed to identify 84 compounds with an important interspecific variability, the fatty-acid, Hexadecanoic acid (17.80%), is the major compound in the essential oil of *S. giganteus*, and the alcohol, Pentanol<3 methyl> (25.70%), in the essential oil of *S. jacobaea*. The antibacterial activity of both essential oils is moderate against the ATCC strains tested, whereas it is nil against *Candida Albicans*. The cytotoxic effect of the two essential oils is low with an IC₅₀ of 251 µg/ml for *S. giganteus* and 265 µg / ml for *S. jacobaea* at a concentration of 0.04%.

Keywords : *Senecio*, Histologie, Karyology, Chromosome, Essential oil, Biological activity, Cytotoxicity.

Remerciement

Avant toute chose, Je Remercie Dieu Le Tout Puissant Pour Tout...

*Je tiens à remercier tout particulièrement Madame **Lograda Takia**, Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, pour tous ses efforts et pour le soutien qu'elle m'a témoigné tout au long de cette étude placée sous sa direction, ses compétences scientifiques, ses encouragements dans mes moments de doute et la confiance qu'elle m'a accordé m'ont permis de mener à bien ce travail*

*J'exprime ma vive et profonde gratitude à Monsieur le Professeur **Ramdani Messouad** de l'université Ferhat Abbas Sétif 1 pour avoir accepté de présider jury de ce thèse*

*Je remercie grandement Monsieur le Professeur **Chalard Pierre** de l'Université Clermont d'auvergne, France, pour avoir accepté la co-direction de ce travail et pour la confiance qu'il m'a toujours accordée. Ainsi je le remercie pour l'accueil qu'il m'a réservé dans le Laboratoire à l'école d'ingénieurs Sigma Clermont.*

*Mes remerciements vont à Madame **Dahamna Saliha**, Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, d'avoir accepté de juger ce travail et de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury.*

*Je souhaite exprimer également mes remerciements à Madame **Dahbi Aicha**, Professeur à l'Université de Bejaia qui m'a fait le grand honneur de juger mon travail.*

*J'adresse également mes remerciements à Monsieur **Sari Madani**, Maître de Conférences à l'Université de M'Sila, pour avoir accepté d'être parmi les jurys de ce travail. Je suis très heureux de bénéficier de leur observation et je tiens à leur exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt*

*J'aimerais également exprimer ma gratitude à Monsieur **Gilles Figueredo**
Directeur de LEXVA Analytique pour son aide dans la réalisation des
analyses phytochimiques*

*Je remercie Madame **Boukhebt habiba** pour son aide et sa gentillesse
Je tiens à remercier Madame **Decombat Caroline**, Maître de Conférences, et
Madame **Caldefie-Chezet Florence**, Professeur à l'Université Clermont
Auvergne, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire SVFp, Sciences
Végétales et Fongiques pharmaceutiques, Sa disponibilité, sa grande expérience
et ses précieux conseils malgré ses nombreuses responsabilités m'ont toujours
motivé et encouragé tout au long de ma thèse. et durant cette thèse.*

*Toute ma gratitude va à mes parents, mes frères, mon mari et ma petite fille
Miral pour leur soutien tout au long de mes études*

*Enfin, Je remercie toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à
la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.*

- PUBLICATIONS

Meriem Kenoufi, Takia Lograda, Messaoud Ramdani, Pierre Chalard, Gille Figueredo. 2017. Chemical Composition, Antimicrobial Activity of Essential oil and Chromosome Number of *Senecio jacobaea* L. from Algeria, *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*: 5 (2): 1578-1580.

Kenoufi M, Lograda T, Chalard P, Figueredo G, Ramdani M. 2016. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of *Senecio giganteus* Desf. from Algeria, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*: 8(11): 1772–1777.

Messaoud Ramdani, Ridha Bergoug, Pierre Chalard, Gilles Figueredo, Takia Lograda, Meriem Bouchaala, **Meriem Kenoufi**, 2015, Chemotype and antibacterial activity of Algerian population of *PISTACIA LENTISCUS* L., *International journal of phytopharmacy research*: 6 (3): 112-120.

Takia Lograda, Messaoud Ramdani, Pierre Chalard, Gilles Figuered, Hafsa Silini and **Meriem Kenoufi**, 2013, Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of Algerian populations of two *chrysanthemum* species, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*: 3 (09): S6 - S11.

- COMMUNICATIONS

Meriem Kenoufi, Takia Lograda, Messaoud Ramdani, Pierre Chalard, Gilles Figueredo., 2016, Chemical composition, Antibacterial activity and chromosome number of *Senecio giganteus* from Algeria., Quatrièmes Journées scientifiques de l'Agro-alimentaire (JSAA 2016), 20-23 Mars, Sousse, Tunisie.

Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G. et **Kenoufi M.**, 2014, Phytochimie, activité antibactérienne et nombre chromosomique de deux espèces de daphné., 3ème journées des sciences de la nature et de la vie, 11-12 novembre 2014, Bejaia, Algérie

Meriem Kenoufi, Takia Lograda, Messaoud Ramdani, Pierre Chalard, Gilles Figueredo and Meriem Bouchaala, 2014, Phyto-chemistry, antibacterial activity and chromosome number of *Centaurea solstitialis* L. grown in Algeria., 2ème Congrès international de biotechnologie et valorisation des bio-ressources (BVBR), 18-20 mars 2014, Tabarka, Tunisie.

Messaoud Ramdani, Takia Lograda, Pierre Chalard, Gilles Figueredo, Meriem Bouchaala and **Meriem Kenoufi**, 2014, Chemotype of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria., 2ème Congrès international de biotechnologie et valorisation des bio-ressources (BVBR), 18-20 mars 2014, Tabarka, Tunisie.

Takia Lograda, Messaoud Ramdani, Pierre Chalard, Gilles Figueredo, Meriem Bouchaala and **Meriem Kenoufi**, 2014, Essential oil and antibacterial activity of *Senecio perralderianus.*, 2ème Congrès international de biotechnologie et valorisation des bio-ressources (BVBR), 18-20 mars 2014, Tabarka, Tunisie.

Meriem Bouchaala, Messaoud Ramdani, Takia Lograda, **Meriem Kenoufi**, Gilles Figueredo and Pierre Chalard, 2014, Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria., 2ème Congrès international de biotechnologie et valorisation des bio-ressources (BVBR), 18-20 mars 2014, Tabarka, Tunisie.

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

B: Chromosome accessoire

CN: gentamicine

CG/MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse

CPG: Chromatographie en phase gazeuse.

CS: colistin sulfate

CTX: céfotaxime

DMSO: diméthylsulfoxyde

ESM: Ecart standard à la moyenne

Etc: et cetera

FID : détecteur à ionisation de flamme

Gln: Glutamine

HE: Huile essentielle.

HP: Hewlett-Packard

IC50: concentration inhibitrice médiane

IR: Indice de rétention

KI: Indice de Kovats.

MCF-7: Michigan Cancer Foundation-7,

Pas : Alcaloïdes de pyrrolizidine

PBS: phosphate buffered saline

Rpm: rotation per minute

RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium

SM: Spectrométrie de Masse (),

SVF: Sérum de Veau Fœtal

TR: temps de rétention

UPGMA : Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means

Liste des figures

Figure 1: La diversité générique de la tribu <i>Senecioneae</i>	11
Figure 2: Schéma tridimensionnel d'une racine jeune au niveau de la zone pilifère	19
Figure 3: Schéma d'une coupe transversale d'une jeune tige	21
Figure 4: Schéma d'une coupe transversale de feuille	23
Figure 5: Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles.....	27
Figure 6: Zone d'échantillonnage des deux espèces de <i>Senecio</i>	58
Figure 7: <i>Senecio giganteus</i> Desf.	60
Figure 8: <i>Senecio jacobaea</i> L.	62
Figure 9: Dispositif d'extraction de type Clevenger	67
Figure 10: Principe de la méthode de diffusion de disque	73
Figure 11: Réduction de la résazurine	76
Figure 12: Le Fluoroskan Acent FL.....	77
Figure 13: Schéma de la gamme de criblage des huiles essentielles	80
Figure 14: Coupe transversale au niveau de la racine de <i>S. giganteus</i>	83
Figure 15: Coupe transversale au niveau de la racine de <i>S. jacobaea</i>	83
Figure 16: Coupe transversale au niveau de la tige de <i>S. giganteus</i>	84
Figure 17: Coupe transversale au niveau de la tige de <i>S. jacobaea</i>	85
Figure 18: Coupe transversale de la feuille de <i>S. giganteus</i> (Grossissement 40X)	87
Figure 19: Coupe transversale de la feuille de <i>S. jacobaea</i> (Grossissement 40X).....	87
Figure 20: Différent type des trichomes glandulaires et non-glandulaires des feuilles de <i>S. giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i> (Grossissement 100X)	88
Figure 21: Plaques métaphasiques des cellules méristimatiques racinaires de <i>Senecio giganteus</i>	93
Figure 22: Plaques métaphasiques des cellules méristimatiques racinaires de <i>Senecio jacobaea</i>	95
Figure 23: Chromatogramme de Fid de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i>	103
Figure 24: Chromatogramme de Mass de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i>	104
Figure 25: Chromatogramme de Fid de l'huile essentielle de <i>Senecio jacobaea</i>	105
Figure 26: Chromatogramme de Mass de l'huile essentielle de <i>Senecio jacobaea</i>	106
Figure 27: UPGMA cluster des populations de <i>Senecio</i>	112

Figure 28: Graphe des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	115
Figure 29: Inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses MCF-7 par différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Senecio</i>	119
Figure 30: La plaque mesurant l'activité cytotoxique des huiles essentielles de <i>Senecio giganteus</i> après incubation pendant 72h	121
Figure 31: La plaque mesurant l'activité cytotoxique des huiles essentielles de <i>Senecio jacobaea</i> après incubation pendant 72h.....	121

Liste des tableaux

Tableau 1: nombre chromosomique de quelque espèce du genre <i>Senecio</i>	17
Tableau 02 : Composés majoritaires des huiles essentielles du genre <i>Senecio</i>	46
Tableau 3: Synthèse bibliographique des classes des familles chimiques des huiles essentielles du genre <i>Senecio</i>	48
Tableau 4: Protocole de préparation des coupes histologiques	63
Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	101
Tableau 6: Classe chimique et composé majoritaire de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	102
Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	115
Tableau 8: Inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses MCF-7 par différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Senecio</i>	120

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I- PARTIE BOTANIQUE	5
1- Famille des <i>Asteraceae</i>	5
1- 1- Généralités	5
1- 2- Description botanique des <i>Asteraceae</i>	5
1- 3- Historique de la classification des <i>Asteraceae</i>	6
1- 4- Caryologie de la famille des <i>Asteraceae</i>	7
2- Tribu des <i>Senecioneae</i>	9
2- 1- Généralités	9
2- 2- Description botanique des <i>Senecioneae</i>	9
2- 3- Biogéographie de la tribu	10
2- 4- Historique de la classification des <i>Senecioneae</i>	10
2- 5- Caryologie de la tribu de <i>Senecioneae</i>	12
3- Le genre <i>Senecio</i>	13
3-1- Généralité	13
3- 2- Description botanique de <i>Senecio</i>	13
3-3- Caryologie du genre <i>Senecio</i>	14
4- Anatomie des plantes	18
4-1- Généralités	18
4-2- Anatomie de la racine	18
4-2-1- L'écorce	18
4-2-2- Le Cylindre central	19
4-3- Anatomie de la tige	20
4-3-1- L'épiderme	20
4-3-2- L'écorce	20
4-3-3- Le cylindre central	21
4-4- Anatomie de la feuille	21
4-4-1- L'épiderme	22
4-4-2- Le parenchyme ou conjonctif	22
4-4-3- Les faisceaux libéroligneux	22

4-5- Anatomie du genre <i>Senecio</i>	22
II: PARTIE PHYTOCHIMIQUE	25
1- Les huiles essentielles	25
1- 1- Définition	25
1- 2- Répartition et localisation	25
1- 3- Facteurs de variabilités	26
1- 3- 1-Diversité selon l'organe végétal	25
1- 3- 2-Influence de la période de récolte, du climat et du sol	28
1- 3- 3- Influence du procédé d'obtention	28
1- 3- 4- Influence de la qualité du végétal	29
1- 3- 5- Existence de variétés chimiques ou chémotypes	29
1- 4- Méthodes d'extraction des huiles essentielles	29
1- 4- 1- Entraînement à la vapeur d'eau	30
1- 4- 1- 1- Hydrodistillation	30
1- 4- 1- 2- Distillation à vapeur saturée	31
1- 4- 1- 3- Hydrodiffusion	31
1- 4- 2- Expression à froid	32
1- 4- 3- Extraction par les solvants	32
1- 4- 4- Extraction au CO ₂	33
1- 5- Composition chimique des huiles essentielles et la notion de chémotype	33
1- 6- Méthodes d'analyse des huiles essentielles	34
1- 6- 1- La chromatographie en phase gazeuse	34
1- 6- 2- Indice de rétention	35
1- 7- Utilisation des huiles essentielles en aromathérapie	36
1- 7-1- Parfumerie et cosmétologie	36
1- 7-2- Industrie agro-alimentaire	37
1- 7- 3- Industrie chimique	37
1- 7- 4- Industrie pharmaceutique	37
1- 8- Activité biologique des huiles essentielles	38
2- Propriétés et activités biologique de la famille des <i>Asteraceae</i>	40
3- Propriétés et activités biologique de la tribu des <i>Senecioneae</i>	42
4- Propriétés et activités biologique du genre <i>Senecio</i>	44
4-1- - Composition chimique des huiles essentielles du genre <i>Senecio</i>	44
4- 2- Classes des familles chimiques des huiles essentielles du genre <i>Senecio</i>	45

4-3- Usages traditionnelles du genre <i>Senecio</i>	50
4-4- Activité biologique des huiles essentielles du genre <i>Senecio</i>	51
5- Propriétés des espèces étudiées	52
5-1- <i>Senecio giganteus</i> Desf	52
5-2- <i>Senecio jacobaea</i> L.	53
6- La cytotoxicité cellulaire	54
6-1- Cytotoxicité des huiles essentielles	56
6-2- Activités cytotoxiques du genre <i>Senecio</i>	57
CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES	59
1- Matériels végétales	59
1- 1- Description botanique des espèces étudiées	59
1- 1- 1- Description botanique de <i>Senecio giganteus</i> Desf.	59
1- 1- 2- Description botanique de <i>Senecio jacobaea</i> L.	61
2- Méthodes	63
2- 1- Etude anatomique des racines, tiges et feuilles de <i>S. giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	63
2- 2- Technique caryologique	64
2- 2- 1- Germination	64
2- 2- 2- Prétraitement	64
2- 2- 3- Fixation	65
2- 2- 4- Maturation	65
2- 2- 5- Coloration et Technique d'écrasement (Squash)	65
2- 2- 6- Observation et photographie	66
2- 3- Extraction des huiles essentielles	66
2- 4- Analyse chimique des huiles essentielles	68
2- 4- 1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	68
2- 4- 2- La spectrométrie de masse	69
2- 4- 3- Les indices de rétention	71
2- 4- 4- Calcul des indices de KOVATS	71
2- 4- 5- Technique statistique Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA)	72
2- 5- Activité antimicrobienne <i>in vitro</i> des huiles essentielles	72
2- 5- 1- Souches microbiennes	73
2- 5- 2- Milieu de culture	73

2- 5- 3- Préparation de l'inoculum	73
2- 5- 4- Ensemencement	73
2- 5- 5- Dépôt de disque	74
2- 5- 6- Lecture	74
2- 6- Cytotoxicité des huiles essentielles sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7	74
2- 6- 1- Cellules cancéreuses mammaires	75
2- 6- 2- Ensemencement et traitement	75
2- 6- 3- Intensité de fluorescence	77
2- 6- 4- Mode opératoire	78
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION	81
1- Etude histologique	81
1-1- Histologie de la racine	81
1-2- Coupe histologique au niveau de la tige	82
1-3- Coupe histologique au niveau de la feuille	86
2- Caryologie de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	94
3- Extraction des huiles essentielles de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	97
4- Analyses chimiques	99
4-1- Composition Chimique des huiles essentielles de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	99
4-2- Résultat de l'UPGMA	111
5- Résultats microbiologique des huiles essentielles de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i>	114
6- Résultat de la cytotoxicité de l'huile essentielle de <i>Senecio giganteus</i> et <i>S. jacobaea</i> sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7	118
CONCLUSION	125
Références bibliographiques	128

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'Algérie est considérée comme un pays riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmaceutique, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Grâce à sa position géographique, à la diversité pédoclimatique, et sa flore et faune méditerranéenne, il est considéré comme une zone disposant géographiquement d'un haut potentiel de variabilité génétique et d'une large gamme d'écosystèmes, ce qui enrichit la diversité en espèces spontanées et sub-spontanées, estimées à environ 1000 genres et 3300 espèces végétales (Amirouche et Misset, 2009 ; Véla et Benhouhou, 2007). En effet, 640 espèces sont considérées comme rares et menacées d'extinction, tandis que 168 espèces endémiques à l'Algérie sont absolument à protéger. D'où l'urgence à étudier ces ressources et de mettre au point un plan pour leur sauvegarde et leur préservation. Si les études floristiques sont relativement satisfaisantes, les recherches cytotaxonomiques et biosystématiques restent fragmentaires (Quézel et Bounaga, 1974). Alors que sans connaissance taxonomique et floristique d'une région, nous ne pouvons faire que peu de progrès.

Les études caryologiques jouent un rôle principal dans les recherches biosystématiques en vue de la compréhension des relations phylogénétiques et des processus de spécialisation (Stebbins, 1971; Grant, 1986). Le comptage chromosomique consiste à déterminer le nombre de chromosomes, ce nombre peut varier d'une espèce à l'autre et peut permettre d'établir des relations phylogénétiques entre espèces d'un même genre ou entre genres d'une même famille. Mais, leur développement est étroitement lié à l'évolution des techniques de marquages des chromosomes. Les techniques classiques, qui permettent une vision morphologique de la cellule en métaphase, ont rendu possible le dénombrement des chromosomes et l'établissement des caryotypes (Darlington et LaCour, 1940). Cependant l'utilisation de ces techniques est limitée par la complexité de leurs protocoles d'application, la nécessité de les adapter à chaque espèce et le faible taux de la répétitivité qu'elles

présentent, quelquefois, pour un même taxon. Autant de causes d'erreurs dans le comptage des chromosomes et la composition des caryotypes (Sybenga, 1959).

Les caractères anatomiques des parties végétatives et florales des plantes à fleurs ont été utilisés avec succès pour résoudre les problèmes taxonomiques et pour élucider les relations phylogénétiques entre plusieurs groupes taxonomiques (Metcalf et Chalk, 1950). Les systématiciens font de plus en plus appel à la chimie afin de résoudre certains problèmes taxonomiques. En effet l'étude des composés chimiques des végétaux permet d'établir des différences intra et interspécifiques qui ne peuvent être mises en évidence par des méthodes classiques basées sur la morphologie, la cytologie ou même l'écologie (Misset, 1974).

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme (plantes médicinales, aromatique...). Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remède contre plusieurs maladies, connaissent aujourd'hui un regain d'intérêt partout dans le monde. Elles constituent une source naturelle et principale des molécules chimiques de plus en plus utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques ou agro-alimentaires, dans la recherche scientifique, la médecine et l'environnement, telles que les métabolites secondaires qui représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes (Combrinck, 2007).

Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites, elles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. Il plongeait, dans un même récipient rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle (Robert, 2000). Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les

civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuent avant tout un usage religieux. Puis progressivement, Ses huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles. En guise d'exemple, à l'époque des grandes épidémies dans la Grèce Antique, les principes odorants de certaines plantes aromatiques étaient répandus par fumigation dans les rues des villes pour combattre la propagation des maladies infectieuses. La fumigation des personnes malades est en effet l'une des plus anciennes techniques thérapeutiques. Plus tard en France, il a été remarqué que les ouvriers parfumeurs et tanneurs, qui étaient en contact quotidiennement avec des huiles essentielles, résistaient de manière quasi-absolue aux épidémies de toutes sortes (Vanier, 1994),

De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. Le thymol, par exemple, est employé en soins dentaires pour ses propriétés antiseptiques ou encore l'eugénol pour ses propriétés analgésiques (Pauli, 2001). Pour tenter de trouver de nouveaux remèdes aux fléaux actuels, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des huiles essentielles, car un nombre non négligeable de composés volatils, tels que les sesquiterpènes, ont montré des activités pharmacologiques remarquables contre les maladies comme le cancer (Modzelewska *et al.*, 2005). Les huiles essentielles constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives.

Dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, nous sommes intéressés à l'étude des deux espèces de la famille des *Asteraceae* ; *Senecio giganteus* Desf. et *Senecio jacobaea* L., dans ce contexte :

Des coupes histologiques transversales des différentes parties des deux espèces sont réalisées et une étude caryologique, vise à déterminer les nombres chromosomiques de nos espèces par la technique d'écrasement (Squash).

Une caractérisation phytochimique des différents composants des huiles essentielles de deux espèces obtenues par hydrodistillation et analyser par la Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/MS. Une

évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur cinq souches bactériennes et une levure par la méthode de diffusion de disque, ainsi, un test de l'effet cytotoxique des huiles essentielles a été effectuée, pour mesurer la prolifération sur une lignée des cellules cancéreuses mammaires appelée MCF-7, en suivant la technique de fluorescence.

Notre travail s'articule sur 3 chapitres:

Le premier chapitre sera consacré à une revue bibliographique, Il comprend deux parties bien distinctes : Dans la première partie, nous résumerons succinctement par une étude bibliographique les connaissances botaniques et caryologique de la famille des *Asteraceae*, la tribu de *Senecioneae* et le genre *Senecio*, nous donnons ainsi un aperçu sur les données anatomiques du genre *Senecio*.

La deuxième partie dresse une revue de littérature sur les huiles essentielles; les divers techniques d'extraction et d'analyse, la composition chimique, les activités biologique et la cytotoxicité, ainsi il résume les activités biologique de la famille des *Asteraceae*, la tribu de *Senecioneae* et le genre *Senecio*.

Le second chapitre regroupe le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.

Dans le troisième chapitre sont exposés les résultats obtenus de cette étude et la discussion, et à la fin, le manuscrit est achevé par une conclusion présentant une synthèse des meilleurs résultats obtenus avec les perspectives envisagées, la liste des références bibliographiques, et les publications scientifiques.

CHAPITRE I:
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I- PARTIE BOTANIQUE

1- Famille des *Asteraceae*

1- 1- Généralités

Les *Asteraceae* du latin "aster = étoile" se réfère à la forme de l'inflorescence, un mot créé par le botaniste Ivan Ivanovič Martinov en 1820, anciennement appelée *Compositae* (Gisek, 1792; Cronquist, 1981), constitue la plus grande famille des plantes à fleurs. Elle est constituée de plus de 1500 genres et 25000 espèces dont 750 endémiques (Funk *et al.*, 2009; Rahman *et al.*, 2011). En Algérie, cette famille est la plus importante, elle renferme 109 genres et 408 espèces (Quezel et Santa, 1962-1963).

Les *Asteraceae* est une famille cosmopolite, elles s'acclimatent bien dans les régions semi-arides, tropicales, subtropicales, à la toundra Alpine et Arctique et aux régions tempérées, à l'exception de l'Antarctique (Heywood, 1985; Guignard, 1994; Funk *et al.* 2009).

1- 2- Description botanique des *Asteraceae*

Les *Asteraceae* présentent des caractères morphologiques divers, ils sont principalement des herbes vivaces ou annuelles, des arbustes ou sous-arbrisseaux, rarement des plantes aquatiques ou grimpantes ou encore des épiphytes. L'aspect de l'appareil végétatif est très variable pour caractériser les *Asteraceae* sur un seul critère. En revanche, La famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques : le capitule (Gausсен *et al.*, 1982; Funk *et al.* 2009).

Les feuilles sont le plus souvent alternes, opposées ou verticillées, simples, parfois profondément lobées ou découpées, à nervation généralement pennée ou palmé (Gausсен *et al.*, 1982; Funk *et al.*, 2009).

Les fleurs sont agglomérées en capitules, terminales ou axillaires. L'organisation florale des capitules est très importante à connaître en systématique. Cependant, en certains cas, le nombre de fleurs est assez restreint, on dit qu'ils sont pauciflores quand il y a 8-15 fleurs (ou moins) (genre *Achillea*). Dans le cas extrême

on trouve même des capitules uniflores (*Xanthium*, *Echinops*) mais c'est l'exception (Bonnier, 1934 ; Funk *et al.*, 2009).

Les fleurs qui composent le capitule sont cyclique, hétérochlamyde, gamopétale, hermaphrodites ou unisexuées, parfois stérile, actinomorphes ou zygomorphes. Le Calice est absent ou réduit, se développant après fécondation en pappus. Et la Corolle peut être soit régulière et pentalobée, soit zygomorphe et bilabiée, soit unilatéralement développée en une longue ligule tri ou pentadentée. Le grain de pollen des *Asteraceae* est généralement tricolporés (Spichiger *et al.*, 2004; Judd *et al.*, 1999).

Suivants le types de fleur composant le capitule, on a les inflorescences suivantes: Tubuliflores: composées uniquement de fleurs actinomorphes, tubuleuses (*Centaureae*); dont la corolle est en forme de tube droit ou courbe et terminé, en général, par 5 dents ou lobes plus ou moins prononcés, égaux ou inégaux. Les liguliflores: composées uniquement de fleurs zygomorphes, ligulées à cinq dents (*Lactuca*), dont la corolle est déjetée en majeure partie, sur le côté en une lame aplatie qui se termine par 3 ou 5 dents. Labiatiflores: composées uniquement de fleurs zygomorphes bilabiées (*Mutisia*). Et radiées; composé par des fleurs zygomorphes ligulées à trois dents à la périphérie entouré des fleurs actinomorphes tubuleuses au centre (*Senecio*) (Spichiger *et al.*, 2004).

Le fruit est un akène, sa forme est variable : cylindrique, linéaire, obovale, tétraédrique, etc. La surface peut être : lisse, côtelée, rugueuse, tuberculée, aiguillonnée, glabre ou poilue, etc. Le sommet est parfois nu (l'akène est alors dit chauve) mais, très souvent, couronnée généralement d'une aigrette de soie appelée *Pappus* provenant du développement du calice après fécondation, dont le rôle est de favoriser la dissémination, La graine possède un embryon droit sans albumen: exalbuminées (Spichiger *et al.*, 2004).

1-3- Historique de la classification des *Asteraceae*

Les *Asteraceae* ont été décrits pour la première fois en 1792 par le botaniste allemand Paul Dietrich Giseke (Solbrig, 1963) et la classification initiale de la famille a été produite par Cassini (1819) qui a regroupé des genres en tribus. En 1873,

Bentham a mis en évidence 13 tribus, cette classification a été plus ou moins utilisée jusqu'aux années 1980. Cependant, certains concepts ont été changés, spécialement dans les tribus *Vernonieae*, *Liabeae*, *Senecioneae* et *Helenieae* (Bentham, 1873). Les travaux de Bentham ont été développés indépendamment de ceux de Cassini et les 13 tribus données par Bentham correspondent à plusieurs des 20 tribus données par Cassini. Le regroupement de ces tribus en sous-familles est relativement récent. Carlquist (1976) et Wagenitz (1976) ont divisé les *Compositae* en deux groupes : les *Asteroideae* et les *Cichorioideae*.

Les plus grands changements dans la systématique des *Asteraceae* ont pris place à la fin des années 1980, début des années 1990. Ils sont basés sur les travaux de biologie moléculaires de Jansen et Palmer (1987, 1988), Jansen *et al.* (1991) et Jansen et Kim (1996). Ils ont révolutionné complètement la phylogénie des *Compositae*. En même temps, les analyses de Bremer (1987), basées essentiellement sur des données morphologiques, sont pour la plupart en accord avec les conclusions moléculaires.

Avec l'avènement des études phylogénétiques moléculaires, la classification des *Asteraceae* a changé relativement rapidement, principalement grâce à la reconnaissance de groupes monophylétiques traditionnellement inclus dans les *Cichorioideae*. Les travaux de Jansen et Palmer (1987) et de Bremer (1994) ont montré que la famille des *Asteraceae* est subdivisée en trois groupes et 17 tribus avec un groupe monophylétique représenté par la sous-famille des *Barnadesioideae* qui comprend moins de 1% des espèces de composées.

Le groupe monophylétique de la sous-famille des *Asteroideae* comprend 65% des espèces de composées et le groupe de la sous-famille des *Cichorioideae* (positionnée entre les deux premières sous-familles) comprend 35% des espèces. Et les dernières données publiées par Funk *et al.* (2009) montrent que la famille des *Asteraceae* est divisée en 12 sous-familles et 43 tribus.

1-4- Caryologie de la famille des *Asteraceae*

Bien que la morphologie offre la plus importante source des caractères taxonomiques pour les *Asteraceae*, des informations supplémentaires à partir des

données cytologiques, en particulier l'étude des chromosomes est très importants pour comprendre l'origine et l'évolution des plantes (Huseyin *et al.*, 2007). Les caractères les plus utilisés dans la systématique sont le nombre chromosomique ; la taille et la forme des chromosomes.

Les chercheurs ce sont intéressés depuis longtemps à la cytologie des *Asteraceae*. Les premiers comptages chromosomiques ont été publiés en 1900 (Juel, 1900; Land, 1900; Merrell, 1900). Les études du nombres chromosomiques d'un grand nombre d'espèces de la famille a été augmenté radicalement avec les efforts importantes effectués dans la période 1960-1980 (Raven *et al.*, 1960; Anderson *et al.*, 1974).

Avant les analyses phylogénétiques basées sur des séquences d'ADN, l'hypothèse sur le nombre de bases chromosomiques pour les *Asteraceae* a été entravée par le manque de compréhension, par la suite Cronquist (1981) a rapporté que les *Asteraceae* avaient une gamme de nombres de base de $x = 2$ à $x = 19$, l'exemple du genre *Crepis* $x= 4$, *Emilia* $x= 5$ et *Senecio* $x= 10$ (Semple et Watanabe, 2009; Bala et Chand-Gupta, 2013), Solbrig (1977) et Bremer (1994) ont conclu que $x = 9$ est le nombre de base ancestrale de la famille des *Asteraceae*. Alors que Bremer (1994) a simplement noté que les données sur le nombre de chromosomes ont été bien résumées dans Solbrig (1977).

La polyploïdie est très répandue dans les *Asteraceae* et se produit dans la plupart des clades importants. Les niveaux de ploïdies engendrent dans les *Asteraceae* sont $2x$, $3x$, $4x$, $5x$, $6x$, $7x$, $8x$, $9x$, $10x$, $12x$, $14x$, $15x$, $16x$, $18x$, $20x$, $22x$, $24x$, $32x$, $36x$ et $48x$. (Semple et Watanabe, 2009). Les diploïdes sont les plus fréquents observées dans 270 genres, suivies par les tétraploïdes, les hexaploïdes et les triploïdes. Dans la famille, le taux globale de la polyploïdie est 25,64% dans les herbes annuelles, 100% dans les herbes bisannuelles, 46,42% dans les herbes vivaces et 50% dans les arbustes (Bala et Chand-Gupta, 2013).

2- Tribu des *Senecioneae*

2- 1- Généralités

Les *Senecioneae* est la plus grande tribu de la famille des *Asteraceae* comprenant cinq sous-tribu, environ 150 genres et 3000 espèces dans le monde, près d'un tiers des espèces de cette tribu sont inclus dans le genre *Senecio*, ce qui en fait l'un des plus grands genres de plantes à fleurs (Pelser *et al.*, 2007).

En l'Algérie, la tribu de *Senecioneae* est représentée par 23 espèces, dont 5 endémiques. Elle est répartie en cinq (5) genres; *Hertia*, *Dornicum*, *Tussilago*, *Petasites* et *Senecio*, Les quatre (4) premiers genres sont représentés par une seule espèce, alors que le genre *Senecio* est constitué de 18 espèces (Quezel et Santa, 1962-1963).

2- 2- Description botanique des *Senecioneae*

Les espèces de la tribu ont une grande variabilité morphologique. Elles peuvent être annuelles, vivaces, certaines espèces sont grimpantes, arbustes et arbres, et peuvent être xérophytes ou aquatiques (Pelser *et al.*, 2007).

La Tribu de *Senecioneae* est caractérisée par la forme et la position des bractées qui entourent le capitule. L'ensemble des bractées forme un involucre qui est généralement composé d'une seule rangée, égaux entre eux en taille et en forme. En revanche, la tribu présente une variation remarquable dans d'autres caractères morphologiques, comme la forme des feuilles et leurs arrangements, le type d'inflorescence et la couleur des fleurs (Barkley, 1978).

Les *Senecioneae* possèdent une tige herbacée ou ligneuse, les feuilles sont alternes ou opposées, souvent pennatifides, parfois combinés en rosettes, pétiolées ou sessiles, habituellement avec limbe simples ou profondément lobées.

L'involucre à bractées généralement sur un rang (rarement sur 2 ou 3), souvent accompagné à la base par des bractéoles plus au moins nombreuses (calicule).

Le réceptacle ordinairement inappendiculé, souvent alvéolé, quelques fois fimbrié et jamais garni de paillettes (Spach, 1834-1848; Quezel et Santa, 1962-1963).

La capitules soit hétérogames et radiés, soit homogames discoïdes. La corolle staminifère à tube lisse avec limbe pyriforme, à lobes semi-ovales, souvent calleux au sommet et bordés d'un bourrelet papilleux.

Les anthères sont obtuses ou aiguës à la base, mais non caudées, et les style des fleurs hermaphrodites à branches tronquées avec, souvent, une touffe de poils terminale. Les stigmates disposés en deux lignes marginales non confluentes (Spach, 1834-1848).

Les fruits sont des akènes cylindriques, de forme oblongue à ellipsoïde, parfois aplatie, nervurée ou lisse, glabre ou poilue. Généralement surmontés par une aigrette de soies fines. Habituellement, l'aigrette est composé de quelques à plusieurs filament, blanches ou colorées (Quezel et Santa., 1962-1963).

2- 3- Biogéographie de la tribu

La tribu de *Senecioneae* a une distribution cosmopolite avec ses principaux centres de diversité en Afrique australe (environ 700 espèces) et en Amérique du Sud (environ 1 300 espèces) (Figure 1) (Nordenstam, 2009). Les espèces de la tribu des *Senecioneae* colonisent presque tous les environnements. Ils poussent aussi bien dans des milieux aquatiques que dans des milieux désertiques, de faibles à hautes altitudes, et des régions arctiques aux régions tropicales. (Bremer, 1994; Kadereit et Jeffrey, 1996; Pelsner *et al.*, 2005.). Bien que la tribu à une distribution mondiale, il y a des centres marqués de la diversité générique et la spéciation. Ces zones comprennent les régions tempérées et subtropicales arides ou montagneuses, continentales ainsi que les insulaires. Ces centres coïncident avec certains points chauds «hotspot» de la biodiversité, même si les forêts tropicales ne sont pas représentés (Nordenstam, 2009).

2- 4- Historique de la classification des *Senecioneae*

L'histoire taxonomique de la tribu *Senecioneae* a commencé quand Henri Cassini (1816) a posé les bases pour la classification tribale de la famille des *Compositae* (*Asteraceae*), et en 1819, il a distingué 20 tribus et pour la première fois utilisé leurs dénominations latines telles que *Senecioneae*.

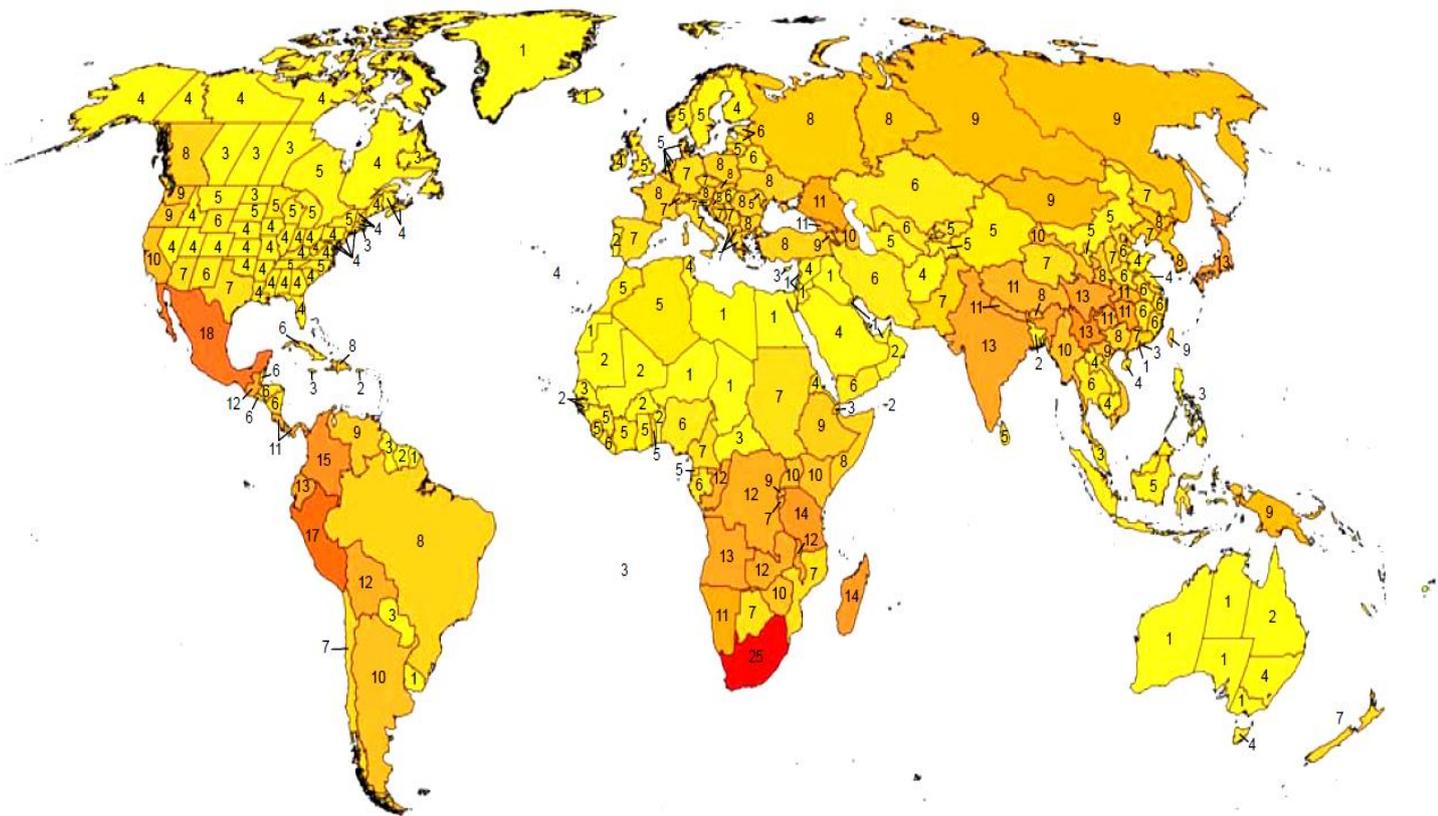


Figure 1: La diversité générique de la tribu *Senecioneae* selon Nordenstam (2009)

Les chiffres indiquent le nombre de genres dans chacune des zones géographiques définies. Le codage de couleur de ces régions varie du jaune clair (1 genre) au rouge foncé (25 genres). Le principal centre de la diversité générique est l'Afrique du Sud (25 genres), suivi par le Mexique (18), le Pérou (17) et la Colombie (15).

La tribu *Senecioneae* a été à l'origine composée de *Cacalia*, *Cineraria*, *Othonna*, et *Senecio* (Cassini, 1816). Cependant Cassini (1829) a inclus un total de 35 genres dans la tribu. Lessing (1832) et de Candolle (1836-1838) ont améliorés dans la classification tribale. Bentham (1873) a divisé les *Senecioneae* en quatre sous-tribus basée sur les caractères du style et involucre.

Les années 1970 ont été non seulement le point de départ pour une nouvelle notion beaucoup plus étroite pour la tribu et des développements qui ont abouti à une nouvelle délimitation de ses sous-tribus, mais aussi marqué le début d'un regain d'intérêt pour la délimitation générique de *Senecioneae* et en particulier de *Senecio*, le

plus grand genre de la tribu traditionnellement composé de 3000 espèces (Jeffrey *et al.*, 1977).

En 1977, Nordenstam a énuméré 18 caractères comme morphologique, anatomique, embryologique, cytologique et chimique utilisée pour la classification des *Senecioneae*. À ce jour, ce concept tribal étroit de *Senecioneae* a été largement suivi.

Après des études morphologiques et caryologiques détaillées, de nombreuses espèces traditionnellement assignés à *Senecio* ont été jugé pour être plus étroitement liée aux d'autres genres (Jeffrey et Chen, 1984; Jeffrey, 1992; Nordenstam, 2003, 2006; Nordenstam et Lundin, 2002).

À la fin des années 1980 les données morphologiques pour la tribu ont été complétées par des données provenant des séquences de l'ADN chloroplastiques (In Nordenstam, 2007). La phylogénie moléculaire fourni une stimulation additionnelle pour redéfinir la délimitation générique de *Senecioneae*. Par exemple le genre *Senecio* est devenu progressivement plus défini et déclinant un nombre estimatif d'environ 1000 espèces en 2007 (Pelser *et al.*, 2007), le nombre de genres de la tribu augmente régulièrement de 110 pour Jeffrey (1992), 120 pour Bremer (1994) et 150 genres dans la liste la plus récente (Nordenstam, 2007).

Malgré les efforts et les progrès considérables réalisés dans la redéfinition de la délimitation générique de *Senecioneae*, un nombre limité de nouveaux genres restent à définir, et certains genres reconnus et autre généralement acceptées doivent être transférés dans *Senecio* pour arriver à un concept générique monophylétique (Pelser *et al.*, 2007).

2- 5- Caryologie de la tribu de *Senecioneae*

Le nombre chromosomique de base d'origine des *Senecioneae* qui a été proposée est $x = 10$ (Ornduff *et al.*, 1963; Nordenstam., 1977; Robinson *et al.*, 1997). A partir de ce nombre de base, des niveaux supérieurs, ainsi que des niveaux inférieurs ont été obtenu par polyploïdisation. La stabilisation du nombre de base secondaire, par perte des chromosomes, et par haploïdisation est de $x = 5$. Ce dernier nombre a été suggéré comme le nombre de base dans la tribu (Turner et Lewis, 1965; Dematteis et

Fernandez, 1998; Lopez *et al.*, 2005). Mais le nombre de base $x=5$ a probablement dérivé de $x=10$ et il se produit uniquement dans certains genres, tels que dans les *Crassocephalum* et *Gynura*, et chez certaines espèces annuelles de l'*Emilie*. La polyploïdie est répandue dans toute la tribu de *Senecioneae* (*Othonna*, *Senecio*, *Tephrosieris*, etc.). L'exemple du genre *Werneria* qui possède une caryologie particulièrement complexe avec des niveaux de polyploïdes et aneuploïdes élevés dans la gamme $n=21$ à 111 , mais le niveau de polyploïdie dans la tribu est souvent autour de 50 à 58 (Nordenstam, 2009).

3- Le genre *Senecio*

3-1- Généralité

Le genre *Senecio*, vient de *senex*= sénile signifiant littéralement en latin « vieillard », en référence aux aigrettes blanches surmontant les akènes lors de la fructification, est l'un des genres les plus importants en termes d'espèces de la famille des *Asteraceae*. Il compterait plus de 1500 espèces (Ozenda, 1958; Jeanmonod *et al.*, 2004). Le genre est décrit comme un genre cosmopolite possédant un grand nombre de taxons distribués dans le monde entier, à titre d'exemple *Senecio vulgaris* est une espèce que l'on retrouve quasiment sur les cinq continents et dans toutes les latitudes (Pelser, 2007; Jeanmonod et Gamisans, 2007). Ce genre est représenté en Algérie par 18 espèces, dont 5 espèces endémiques (Quezel et Santa, 1962-1963).

3-2- Description botanique de *Senecio*

Les espèces du genre *Senecio* sont des plantes annuelles ou vivaces, des arbustes, des petits arbres, des aquatiques ou des grimpeurs et rarement des arbres, l'exemple des espèces appartenant autrefois à *Robinsonia* sur les îles Juan Fernández (Pelser *et al.*, 2010).

Le genre possède des feuilles alternes, et des capitules groupés en corymbes hétérogames ou homogames. Les fleurs du rayon sont ligulées ou non, femelles, fertiles ou stériles ; et celles du disque sont hermaphrodites, toutes ou en majeure partie fertiles.

L'involucre est cylindrique, campanulé ou sub-hémisphérique ; à bractées unisériées ou parfois sub-bisériées, égales, souvent accompagnées à la base par des petites bractéoles (calicule) accessoires. Le réceptacle est plan ou plan-convexe, nu, alvéolé ou fimbrié.

Les fruits sont des akènes de 5-10 costés (muni de côtes), pourvus d'une aigrette, souvent caduque, de poils entiers, scabres ou plumeux. Les akènes du rayon sont rarement sans poils (Quezel et Santa, 1962- 1963).

3-3- Caryologie du genre *Senecio*

Les espèces du genre *Senecio* ont montré une grande diversité caryologique (Lawrence, 1980). Le nombre chromosomique de base de *Senecio*, est un sujet controversé, avec $x = 5$ et $x = 10$ (Ornduff *et al.*, 1963 ; Turner et Lewis, 1965 ; Lawrence, 1985, Lopez *et al.*, 2002; Lopez *et al.*, 2008).

Turner et Lewis (1965) admettent le nombre chromosomique de base $x = 5$, surtout avec le manque d'espèces avec $n = 6, 7, 8$ et 9 , et l'existence d'espèces avec $n = 5$ ainsi, un nombre de base de $x = 5$ pour le genre *Emilia*, un genre étroitement apparenté au genre *Senecio*. Inversement, pour Ornduff *et al.* (1963), la fréquence des nombres multiples de 10 au lieu de 5 a été prise pour soutenir que le nombre de base soit $x = 10$. Cependant, Lopez *et al.*, (2008), dans une étude récente sur le nombre de chromosomes de base et les processus méiotiques de *Senecio*, a soutenu que $x = 5$ est le nombre chromosomique de base pour ce genre.

Dans le genre *Senecio*, le comportement cytogénétique chez les polyploïdes et les conséquences du réarrangement génomique des chromosomes sont moins compris. Dans ce sens, des études antérieures ont révélé un excès de chiasma (l'entrecroisement de chromatides) dans les espèces de ce genre et ont suggéré un échange de chromosomes placé préférentiellement en position terminale (Lopez *et al.*, 2005).

Le genre *Senecio* est largement polyploïde et montre une série de ploidie de $2x$ à $18x$ et les nombres haploïdes variant de $n = 5$ à 92 , avec un nombre de base $x = 5$, la polyploïdie pourrait être considérée comme l'une de ses caractéristiques les plus

distinctives, étant fortement liée à son succès, sa persévérance et sa diversification (Lawrence, 1980, Lopez *et al.*, 2008).

Au niveau cytogénétique, le nombre de chromosomes modal du genre *Senecio* est $2n= 40$ et $2n = 80$ (Bolkhovskikh *et al.*, 1974). Le nombre de chromosome le plus élevé est observé chez l'espèce *Senecio roberti-friesii* à avec $2n= 36x = 180$ chromosomes (Darlington et Wylie, 1955; Lopez *et al.*, 2013)

La polyploidie est l'une des caractéristiques les plus notoires du genre (Lawrence, 1980; 1985) et $x = 5$ est le nombre de chromosomes de base accepté (Lopez *et al.*, 2008). Mais la connaissance cytogénétique de *Senecio* dans le monde est encore rare et ancienne. Ainsi, l'existence d'un complexe de polyploïde dans le genre *Senecio* pourrait expliquer certaines des difficultés d'identification des espèces. En ce sens, les études chromosomiques contribueraient à élargir la compréhension des modèles évolutifs de ce genre (Lopez *et al.*, 2002).

Les chromosomes B (Bs) sont des chromosomes accessoires rapportés dans plus de 1300 espèces de plantes et près de 500 espèces d'animaux. Les études des caryotypes végétaux qui suivi le nombre de chromosomes réguliers (A) et qui compté le nombre de chromosomes B, a été estimé à environ 10-15% des espèces de plantes à fleurs (Jones, 1995). Leur répartition chez les familles d'angiospermes est assez hétérogène. Ils ont été décrits dans plus de 150 espèces d'*Asteraceae* et *Poaceae* et dans environ 30 à 50 espèces de plusieurs familles, y compris *Fabaceae*, *Liliaceae*, *Orchidaceae*, *Campanulaceae* et *Ranunculaceae* (Jones, 1995; Camacho *et al.*, 2000).

Les chromosomes B sont souvent plus petits que les chromosomes A, ne se recombinent pas avec les As et varient en nombre de copies chez les membres de la même espèce (Jones et Rees, 1982; Jones, 1995). Dans l'ensemble, ces chromosomes manquent de séquences codantes, mais peuvent néanmoins avoir un impact physiologique (principalement négatif, rarement positif) sur leurs porteurs (Bougourd et Jones, 1997). Même si elles réduisent souvent la condition physique, elles sont souvent maintenues par leur transmission préférentielle à travers la ligne germinale (Jones, 1991). Les chromosomes B montrent un polymorphisme numérique et, lorsqu'ils sont présents en nombre élevé, ils affectent négativement la croissance et la

vigueur des plantes, alors qu'en faible nombre peuvent être bénéfique à la plante qui les possède (Camacho *et al.*, 2000).

La répartition irrégulière des chromosomes B chez les familles d'angiospermes suggère que les espèces de certaines familles sont plus susceptibles de les supporter que des espèces d'autres familles. La présence ou l'absence de chromosomes B à travers les espèces est affectée par des facteurs autres que la taille du génome, tels que le nombre basique et le pourcentage d'acrocentrique chez les chromosomes A (Burt et Trivers, 1998, Trivers *et al.*, 2004, Palestis *et al.*, 2004). Il est probable que cette corrélation résulte d'espèces avec de grands génomes pouvant mieux tolérer du matériel génétique supplémentaire ; la fréquence du chromosome B et la taille du génome entre les familles peut aider à expliquer certaines des variations observées dans la prévalence des chromosomes B à travers les taxons (Trivers *et al.*, 2004).

Les chromosomes B sont fréquemment observés chez les espèces de *Senecio*, comme dans toute la famille des *Asteraceae* (Jones et Puertas, 1995) (Tableau 1). Le nombre de chromosomes B est variable dans le genre *Senecio* entre 0 et 9, et ils peuvent être différents dans les mêmes espèces. Ainsi qu'il y a des espèces avec des chromosomes B présentant des quadrivalents, tandis que d'autres sans chromosomes B montrent seulement des bivalents. Et cela pourrait suggérer que l'influence de chromosome B sur l'appariement diffère entre les espèces ou peut-être dépend du génotype (Lopez *et al.*, 2005). Plusieurs auteurs ont suggéré que les chromosomes B favorisent l'homologue contre l'appariement homéologue (qui sont partiellement homologues) observé dans autres espèces du genre *Senecio* (Sybenga, 1992; Lopez *et al.*, 2002).

Les études sur le genre *Senecio* indiquent que les chromosomes B ne présentent pas de des aptitudes méiotiques, Alors que le mécanisme de maintien, de propagation et de rétention est encore inconnu (Lopez *et al.*, 2005).

Tableau 1: nombre chromosomique de quelque espèce du genre *Senecio*

Espèces	Nombre chromosomique	Auteurs
<i>S. debilis</i>	23	Bain, 1985
<i>S. crocatus</i>	23	
<i>S. pogonias</i>	40+1B	Lopez <i>et al.</i> , 2002
<i>S. sectilis</i>	40+1B	
<i>S. viridis</i>	40	
<i>S. subulatus</i>	80+ 2B	
<i>S. uspallatensis</i>	80+4B	
<i>S. bracteolatus</i>	40	Lopez <i>et al.</i> , 2005
<i>S. chrysolepis</i>	80+ 0-8B	
<i>S. crepidifolius</i>	40	
<i>S. deferens</i>	40+ 0-4B	
<i>S. filaginoide</i>	40	
<i>S. hieronymi</i>	40+ 0-7B	Lopez <i>et al.</i> , 2013
<i>S. viridis</i>	40+0- 1B	
<i>S. crepidifolius</i>	40	
<i>S. subulatus</i>	40, 80, 80+ 0-9B	
<i>S. microphyllus</i>	80+ 0-6B	
<i>S. brasiliensis</i>	40	
<i>S. uspallatensis</i>	80+ 5B	Diaz Lifante <i>et al.</i> , 1992
<i>S. joppensis</i>	20	
<i>S. vernalis</i>	20	
<i>S. glaucus</i>	18	Keil et Stuessy, 1977
<i>S. arizonicus</i>	20	
<i>S. flaccidus</i>	20	
<i>S. Ivootonii</i>	20	

4- Anatomie des plantes

4-1- Généralités

L'anatomie végétale ou la phytotomie est une branche de la botanique, c'est le terme général pour l'étude de la structure interne des plantes. Bien que l'origine comprenait la morphologie végétale, qui est la description de la forme physique et la structure externe des plantes, depuis le milieu du 20^{ème} siècle, les recherches sur l'anatomie végétale sont considérées comme un champ distinct, et l'anatomie végétale se réfère uniquement à la structure interne des plantes (Arthur, 1947; Esau, 1965). L'anatomie végétale est fréquemment étudiée au niveau cellulaire, et implique souvent la section des tissus et de la microscopie.

Les études anatomiques représentent un outil efficace aussi bien dans les identifications des fragments d'échantillons que dans l'étude des relations entre taxa au sein d'un genre ou d'un rang taxinomique plus élevé (Metcalf et Chalk, 1950). L'étude des appareils végétatifs des angiospermes est très utile pour la taxonomie. Les caractères anatomiques ont été utilisés depuis plus d'un siècle à des fins systématiques et c'est un outil efficace quand il est combiné avec d'autres disciplines. Les caractères anatomiques combinés aux données moléculaires ont contribué à caractériser beaucoup de sous-groupes des familles (Piesschaert *et al.*, 2000 ; Dessein *et al.*, 2001). Vèsque fut le premier, en 1885, Vèsque à examiner un assez grand nombre de *Rubiaceae* pour en étudier les caractères anatomiques en particulier les feuilles.

4-2- Anatomie de la racine

Une section transversal d'une racine au niveau de la région pilifère offre à considérer deux régions principales; un manchon extérieur (l'écorce) et un cordon axile, la stèle ou le cylindre central (Figure 2) (Belzung, 1900 ; Laberche, 2001) :

4-2-1- L'écorce

Elle est formée uniquement de parenchyme incolore (parenchyme cortical) dans les racines terrestres, vert dans diverses racines éclairées (racines aériennes de *vanilla*), elle commence par l'assise pilifère dont les cellules sont en majorité allongées en poils

absorbant, au-dessous vient une assise de cellules plus grandes allongées radialement et dont le contenu se résorbe de bonne heure, tandis que les membranes se subérifient pour protéger la racine; c'est l'assise subéreuse. L'endoderme, est la dernière assise du parenchyme cortical interne offre des caractères spéciaux, qui marquent nettement la limite séparatrice de l'écorce et du cylindre central (Belzung, 1900).

rh, rhizoderme

Pc, parenchyme cortical

En, endoderme

Pe, péricycle

Xy, xylème

Ph, phloème

Pm, parenchyme médullaire.

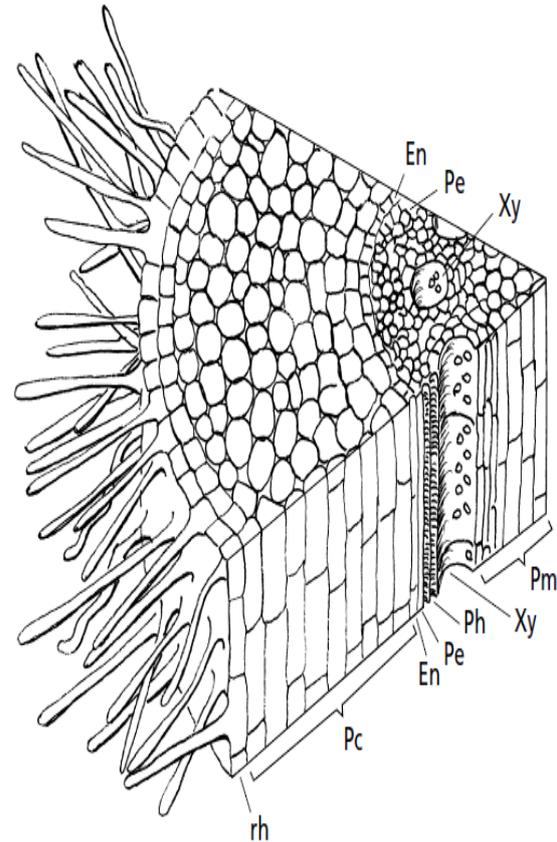


Figure 2: Schéma tridimensionnel d'une racine jeune au niveau de la zone pilifère (Laberche, 2001)

4-2-2- Le Cylindre central

Où la stèle, est limité par une couche mince de parenchyme, aux cellules jointives et aux parois minces, le péricycle ce qui ajoute encore à la distinction de l'écorce et du cylindre central. Plus au centre, des vaisseaux de xylème, facilement reconnaissables par leur épaisse paroi. Ils alternent régulièrement et sur un seul cercle, avec les tubes criblés du phloème. Les uns et les autres représentent le tissu conducteur de la racine. C'est dans ce tissu que circulent la sève brute (dans le xylème) et la sève

élaborée (dans le phloème). La partie centrale est un parenchyme médullaire en partie remplacé par des cellules mortes de sclérenchyme. Les cellules du xylème ont des tailles différentes selon leur emplacement dans le cylindre central. Près du péricycle, elles sont jeunes et petites. Vers le centre, elles sont grandes et âgées. La différenciation du xylème est centripète. Les cellules formées le plus tôt sont repoussées vers l'intérieur de la racine. Même si ceci est moins visible, il en est de même pour le phloème (Laberche, 2001).

Le Conjonctif du cylindre central est un parenchyme incolore des cellules polyédriques, qui se décompose en trois zones; le péricycle, le rayons médullaires et la moelle: Le péricycle est l'assise périphérique, dont les cellules alternant avec celles de l'endoderme; et les rayons médullaires; représentent la portion de conjonctif interpose aux faisceaux; dans la structure primaire, ils n'offrent, sur la coupe, qu'une faible profondeur et sont par suite peu marqués à cet âge, comme rayons. Et enfin la moelle qui est la portion central du conjonctif stélique. (Belzung, 1900; Laberche, 2001).

4-3- Anatomie de la tige

La coupe transversale d'une pousse jeune offre 3 parties: l'épiderme, l'écorce et le cylindre central (Belzung, 1900 ; Laberche, 2001) (Figure 3).

4-3-1- L'épiderme

L'épiderme ou l'assise superficielle de la tige, est formé essentiellement de tissu cutineux et de stomates, les cellules épidermiques sont d'ordinaire aplaties tangentiellement, leur coupe transversal est rectangulaire (Belzung, 1900).

4-3-2- L'écorce

L'écorce de la tige est un parenchyme vert (parenchyme cortical), à cellule polyédrique, parfois presque arrondies, qui laissent entre elles de petits méats aérifères. Les assises externes sont fréquemment transformées en collenchyme ou en sclérenchyme Les cellules de la périphérie renferment des chloroplastes, mais leur nombre diminue au fur et à mesure qu'on s'enfonce vers l'intérieur (Laberche, 2001)

4-3-3- Le cylindre central

C'est la stèle de la tige, est, comme celle de la racine, le lieu d'élection des éléments conducteurs, elle se décompose en faisceaux libéroligneux et en parenchyme conjonctif. Les faisceaux libéroligneux comprennent chacun, comme leur nom l'indique, un faisceau ligneux (xylème) et un faisceau libérien (phloème), rassemblés en amas superposés : Le xylème, vers le centre de la tige, est coiffé, vers l'extérieur, par le phloème. Ce sont les faisceaux criblovasculaires, dans la racine, au contraire, ces mêmes faisceaux alternant régulièrement (Laberche, 2001).

Le Conjonctif se décompose, comme celle de la racine, en péricycle, rayons médullaires et moelle. Le péricycle comprend d'ordinaire plusieurs assises de cellules et non une seule, comme il est de règle dans la racine (Belzung, 1900).

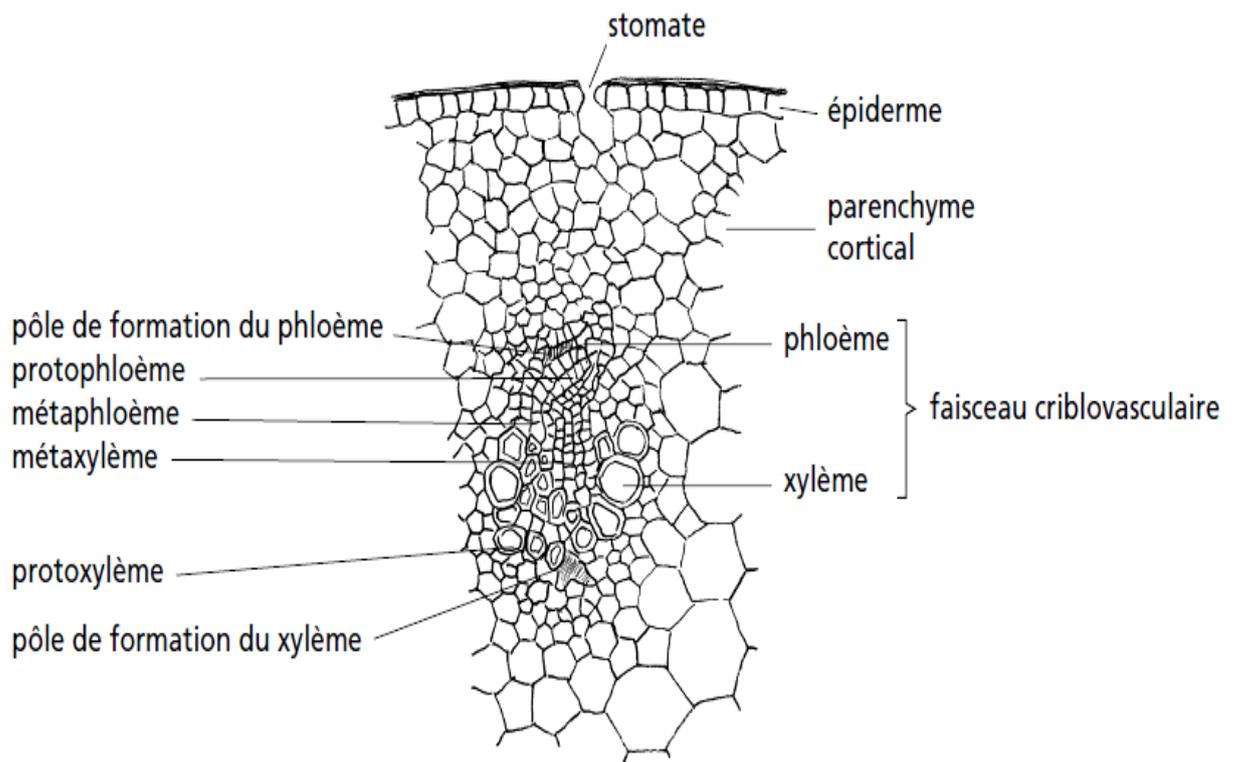


Figure 3: Schéma d'une coupe transversale d'une jeune tige (Laberche, 2001)

4-4- Anatomie de la feuille

La feuille consistant essentiellement en une expansion latérale d'un secteur de tige, on doit s'attendre à y trouver les mêmes régions que dans la tige elle-même; seulement la symétrie y devient bilatérale, et non plus axile (Belzung, 1900 ; Laberche, 2001) (Figure 4):

4-4-1- L'épiderme

Les cellules épidermiques offrent une forme à peu près rectangulaire, sauf les cellules stomatiques, plutôt ovoïdes et d'ailleurs plus riche en chlorophylle. La cuticule y est très développée et incrustée de silice, de cire, etc.

4-4-2- Le parenchyme ou conjonctif

Une couche d'une ou plusieurs rangées de hautes cellules, abondamment remplies de chloroplastes. Les anatomistes, lui ont donné le nom de parenchyme palissadique. Et une couche de parenchyme lacuneux, constitué de cellules moins régulières, peu jointives et laissant entre elles d'importantes lacunes. Ces cellules sont plus pauvres en chloroplastes, surtout vers le centre de la feuille.

4-4-3- Les faisceaux libéroligneux

Forme avec le parenchyme qui leur correspond supérieurement et inférieurement, les nervures de la feuille. Ce sont des tissus conducteurs superposés, les faisceaux criblovasculaires, sont identiques à ceux observés dans la tige. Ils sont en réalité, la suite de ceux de la tige et du pétiole et correspondent aux nervures du limbe. Des formations secondaires apparaîtront rapidement. Quand les faisceaux sont compris sous un endoderme unique, ils forment tous ensemble, avec le parenchyme une symétrie par rapport à un plan ; La feuille est alors dite monoméristique. Quand, au contraire, les faisceaux sont pourvus chacun d'un endoderme propre la feuille est dite schizoméristélique (Belzung, 1900).

4-5- Anatomie du genre *Senecio*

Les caractéristiques générales de l'anatomie du genre *Senecio* ont été décrites par Metcalfe et Chalk (1979); Pyykkö (1966), Feijóo *et al.*, (2005) et Arce *et al.*, (2010) en se basant sur l'étude l'anatomie de différentes espèces du genre .

L'étude anatomique de *Senecio grandidentatus* poussant en Roumanie montre une structure secondaire au niveau racinaire, en raison de l'activité de phellogène et du

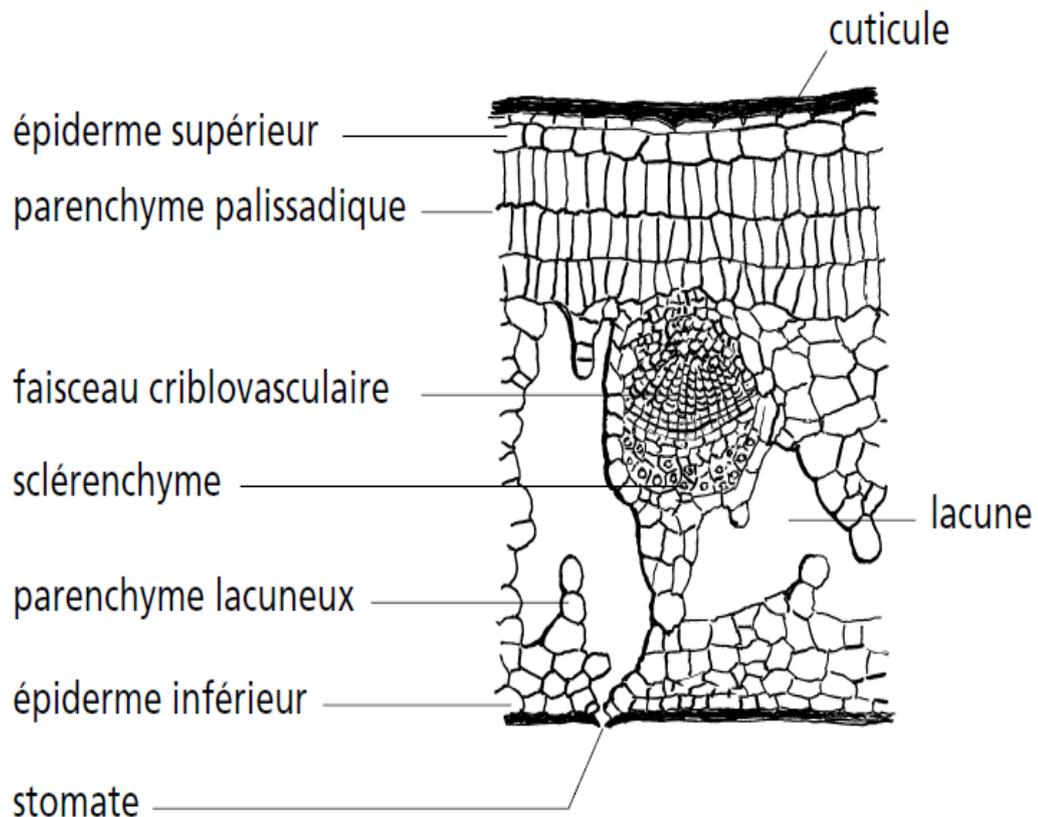


Figure 4: Schéma d'une coupe transversale de feuille (Laberche, 2001)

cambium. Alors que la tige possède un épiderme à une seule couche (monocouche), recouvert par une cuticule, un cortex différencié et un grand nombre de faisceaux vasculaires collatéraux (Loreley *et al.*, 2013). La feuille de *S. grandidentatus*, de *Senecio jacobsenii* et *S. rowleyanus* révèle la présence d'un mésophile homogène alors

que *S. kleiniformis* possède un mésophile hétérogène. Des poils longs non glandulaires sont présents dans la tige et la feuille (Cristescu *et al.*, 2011 et Loreley *et al.*, 2013).

L'étude anatomique des feuilles glabres de *S. subpanduratus* ont montré un épaississement de la cuticule et des parois tangentielles extérieures et des stomates sur l'épiderme, légèrement enfoncées, avec un rebord cuticulaire. Des canaux de sécrétion sont observés associés au phloème des faisceaux vasculaires supérieurs (Gratti *et al.*, 2014).

Des poils épidermiques multicellulaires sur les surfaces de feuilles sont observés chez *S. gibbosus*, *S. boissieri*, *S. hypochioneus*, *S. congestus*, *S. spathulifolius*, *S. tournefortii*, *S. artemisiaefolius*, *S. erucifolius* et *S. doronicum*. Ces trichomes dont les types morphologiques distincts, peuvent être entièrement, complètement ou partiellement lisses et granulaire. Certains espèces présentent des appendices terminaux, et dans certains cas, ceux-ci sont constitués de cellules simples qui peuvent être très épaisses ou à paroi mince et la manière de leur attachement est également caractéristique. Dans autre cas, l'appendice est multicellulaire et ayant un appendice avec des parois transversales très obliques; glandulaire; Ou à une structure terminale qui semble représenter une cellule avortée (Drury and Watson., 1964).

L'étude histologique des feuilles de *S. jacobaea* de la Turquie montre la présence d'un mésophile hétérogène, constitué par des cellules de parenchyme palissadiques sous l'épiderme supérieur, et des cellules de parenchyme épongé. Les cellules parenchymateuses de la palissade sont ovales et de forme circulaire et celles de parenchyme éponge possèdent de grands espaces intercellulaires. Les feuilles de *S. jacobaea* sont amphistomatiques ; les stomates sont placés au même niveau que les cellules épidermiques. Ainsi que plusieurs couches de cellules collenchymateuses sont trouvées dans la nervure médiane (Büyükkartal, 2017).

La tige de *S. jacobaea* présente des faisceaux vasculaires de type collatéral, le xylème vers le centre et le phloème vers l'épiderme, elle présente environ 4-5 couches de cellules de collenchyme lamellaires sous l'épiderme dans les parties ondulées. Au-dessus des faisceaux vasculaires, environ 5-7 couches de faisceaux de sclérenchyme à parois épaisses sont observées (Büyükkartal, 2017).

II- PARTIE PHYTOCHIMIQUE

1- Les huiles essentielles

1- 1- Définition

Le terme huiles essentielle dérive de « quinta essentia », nom donné par le médecin suisse PARACELsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (Hart *et al.*, 2008).

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les différentes parties des plantes. L'AFNOR (1996) définit une huile essentielle comme: "*produit obtenu à partir d'une matière végétale soit par entraînement à la vapeur soit par expression, procédé mécanique mis en œuvre à partir de l'épicarpe des Citrus*". L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Certains traitements physiques (par ex: redistillation, aération, déterpénation) pourraient entraîner des changements significatifs de sa composition. Cette définition par procédé d'obtention est restrictive, elle exclut les produits obtenus par tout autre procédé d'extraction (solvants organiques, fluides à l'état supercritique, corps gras, etc.)

Les huiles essentielles sont la fraction odorante volatile extraite des végétaux, c'est le parfum concrétisé de la plante, un véritable concentrée. Elles sont liquides, huileuses mais contrairement aux huiles végétales elles ne sont pas grasses puisqu'elles s'évaporent. Chaque huile essentielle est unique, possède son odeur et ses caractéristiques spécifiques, certaines sont particulièrement épaisses (visqueuses), en générale, elles sont d'une couleur jaune mais certaines se distinguent: les huiles essentielles de Camomille allemande et de tanaïsie sont bleues, celles de sarriette, rouge, la bergamote est d'une très jolie vert pâle (Festy, 2008).

1- 2- Répartition et localisation

Dans le règne végétal, les huiles essentielles se retrouvent généralement chez les végétaux supérieurs, elles sont présentes chez 17 500 espèces végétales. Les genres riches en huile essentielle appartiennent aux familles de *Myrtaceae*, *Lauraceae*,

Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Zingiberaceae, etc. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), les feuilles (menthe poivrée), l'écorce (cannelier), le bois (bois de rose, santal blanc), les racines (angélique), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (anis, badiane) et dans les graines (muscade), et en fonction de l'organe producteur employé, le nom de l'huile essentielle est diffère.

Sur le plan quantitatif, les teneurs en huiles essentielles des plantes pouvant les contenir sont très faibles, souvent inférieures à 1 %. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral du giroflier (15 %) sont rares et exceptionnelles (Lawrence, 1995; Festy, 2008). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se fait généralement au niveau des structures histologiques spécialisées souvent localisées à la surface de la plante (Figure 5) (Bruneton, 1987). Elles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires. La forme et le nombre des structures histologiques sécrétrices varient selon les familles. Néanmoins, plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce (Karray-Bouraoui *et al.*, 2009).

1- 3- Facteurs de variabilités

Les travaux de nombreux auteurs ont montré que les plantes réagissaient au milieu environnant et qu'au cours de leur vie, la composition chimique de leurs métabolites pouvait évoluer. les huiles essentielles sont donc très fluctuantes dans leur composition, qui peut varier en fonction des conditions géographiques et climatiques, (température, salinité, pluviosité...) du terrain de culture de la plante, de l'année de culture (ensoleillement, hygrométrie, etc.), du mode cultural, de la période de récolte, de l'individu ou l'organe considéré (fraiche ou séchée), de la méthode d'extraction, etc. Ces variations sont aussi observées entre les huiles essentielles extraites des différentes parties de la même plante (feuilles, fleurs, tiges, graines et racines). Ainsi, une espèce végétale parfaitement définie botaniquement peut donner des huiles dont la composition chimique est différente suivant les individus (Dorman et Deans, 2000; Dudareva *et al.*, 2004).

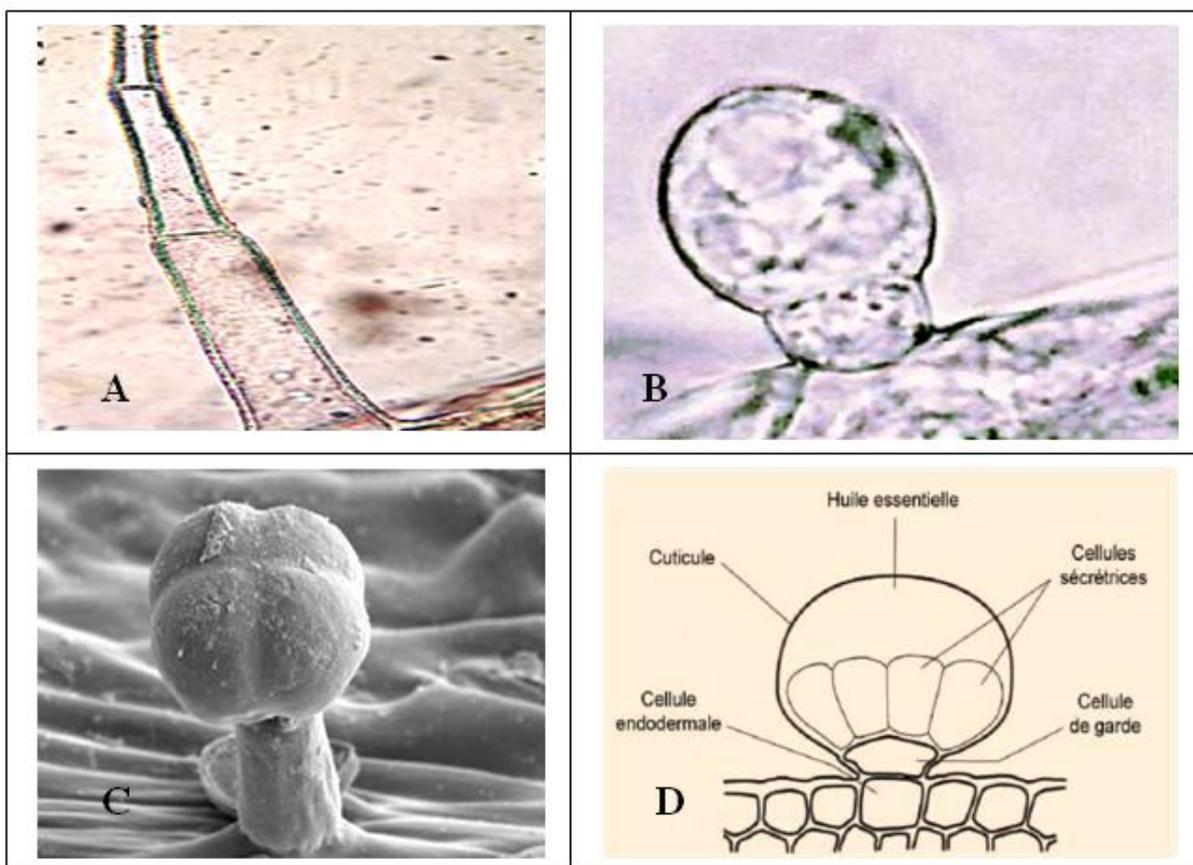


Figure 5: Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles

(A) : poil sécréteur de *Mentha pulegium* (B) : trichome glandulaire de *Mentha pulegium*, (C) : trichome glandulaire de *Lippia scaberrima* et (D) : structure de trichome glandulaire de *Thymus vulgaris* (Combrinck *et al.*, 2007, Karray-Bouraoui *et al.*, 2009).

1- 3- 1- Diversité selon l'organe végétal

Pour une espèce dont différents organes peuvent renfermer une huile essentielle, la composition chimique de celle-ci peut varier d'un organe à un autre. C'est le cas de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), l'écorce donne une essence riche en aldéhyde cinnamique, la racine fournit un extrait volatil où le camphre est majoritaire tandis que dans l'huile essentielle obtenue à partir de feuilles, l'eugénol prédomine (Guignard, 1983).

1- 3- 2- Influence de la période de récolte, du climat et du sol

La proportion des différents constituants de l'huile essentielle d'une espèce donnée peut varier d'une manière considérable au cours de son développement. Chez la coriandre (*Coriandrum sativum* L.), la teneur en linalol est 50% plus élevée dans le fruit mûr que dans le fruit vert. Chez la sauge (*Salvia officinalis* L.), la diminution de la teneur en camphre qui est observée lorsque les feuilles ont atteint leur taille maximale, qui correspond à la formation d'une lactone et à sa solubilisation par glycosylation (Bruneton, 1993). La maturité ou l'état phénologique de la plante au moment de la récolte sont difficiles à vérifier et à contrôler. Une menthe récoltée quelques jours avant ou après la floraison va voir son taux d'isomenthone, de menthone, de menthofurane et d'acétate de menthyle fortement évoluer par rapport à sa teneur en menthol (Bruneton, 1987).

Le problème de la hauteur de prélèvement relève du même phénomène, En effet, sur une même tige, les feuilles ou les fleurs n'apparaissent pas simultanément et suivant leur âge, n'ont pas la même composition. Ceci a été démontré notamment sur la menthe où des différences de composition chimique ont été observées entre les bords et le centre de la feuille (Touche, 1997). Le climat et le sol ont une influence plus importante pour les espèces végétales dont l'organe sécréteur d'huile essentielle se situe au niveau des poils glandulaires (*Lamiaceae*, *Verbenaceae*, *Geraniaceae*, *Rutaceae*) que pour celles dont l'huile est produite dans les formations schizogènes des feuilles, calices ou tiges (*Lauraceae*, *Asteraceae*) (Fluck, 1963).

1- 3- 3- Influence du procédé d'obtention.

Le procédé d'obtention d'une huile essentielle peut également intervenir sur sa composition chimique. Il existe une abondante littérature sur les modifications de la composition au cours de l'extraction de l'huile essentielle d'une plante. Sous l'action de la chaleur, du pH, de la teneur en oxygène, de l'état d'hydratation et de la pression du milieu d'extraction, de nombreuses réactions sont susceptibles de se produire: réactions d'hydrolyse, de réarrangement photochimique ou, en milieu acide, de racémisation,

d'oxydo-réduction, d'élimination (déshydratation, rétroaldolisation, etc.), d'addition (hydratation, estérification, etc.), de cyclisation, etc. (Richard et Etievant, 1997).

1- 3- 4- Influence de la qualité du végétal

L'extraction des huiles essentielles ne s'effectue pas toujours avec de très bons rendements. De plus la qualité des huiles obtenues dépend dans une large mesure de l'état de fraîcheur du végétal et du temps écoulé entre la récolte et l'extraction de l'huile. Un stockage de la plante pendant 24 heures suffit pour induire des changements sensibles de composition, lesquels peuvent d'ailleurs être souhaités. Ainsi Tucarov (1964) note la disparition de 15% de produits volatils dans le végétal après trois (3) mois de stockage. Il observe également une différence entre les feuilles jeunes, plus riches en huile, et les feuilles âgées.

1- 3- 5- Existence de variétés chimiques ou chémotypes

Au sein d'une même espèce la composition chimique de l'huile essentielle peut être différente : on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique, une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes. Le cas des thyms avec ses 7 chémotypes, et le cas d'*Ocimum gratissimum* L., qui peut présenter cinq chémotypes : eugénol, méthyl-eugénol, linalol, β -caryophyllène et géraniol (Garnero, 1978, 1985; Charles et Simon, 1992).

1- 4- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont contenues dans les plantes aromatiques et sont responsables des différentes senteurs qu'elles dégagent. Il existe plusieurs méthodes d'extraction, chacune ayant plusieurs variantes, que l'on utilise en fonction du matériel végétal à traiter. Les principales méthodes d'extraction sont basées sur l'entraînement à la vapeur d'eau, l'expression, la solubilité et la volatilité. Chacune d'elles donne une image différente de la composition de l'arôme du produit. L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales (Burt, 2004).

L'extrait volatil obtenu n'est jamais identique au mélange de constituants initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au mieux, il s'en rapproche. De nos jours, il n'existe pas de méthode présentant le même degré d'efficacité à l'égard d'une part de molécules très volatiles ou peu polaires et d'autre part de molécules peu volatiles ou très polaires (Richard et Etievant, 1997).

Le choix de la méthode la mieux adaptée à l'extraction des huiles essentielles d'un végétal se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'huile à extraire, de l'usage de l'extrait, de manière à pouvoir minimiser les distorsions inévitables entre l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (Richard et Etievant, 1997).

1- 4- 1- Entraînement à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaibles par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans le vase d'entraînement, l'huile aromatique contenue dans la plante est chauffée, disloquée du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation. En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux : au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ou, au niveau inférieur du distillat, si elle est plus dense que l'eau. Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont: l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

1- 4- 1- 1- Hydrodistillation

Elle se produit dans l'appareil de Clevenger et consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide. Les vapeurs ascendantes provenant de l'alambic ou du réacteur progressent, puis se condensent par refroidissement. Le condensat est récupéré, puis l'huile est séparée de

la phase aqueuse. L'hydrodistillation est une technique qui permet d'obtenir des huiles essentielles difficilement entraînaibles à la vapeur d'eau; la pression permet d'économiser de la vapeur d'eau et elle augmente la production pour un même volume d'appareillage). L'hydrodistillation est une méthode simple dans son principe et qui ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, en dépit de sa simplicité, elle peut apporter de nombreux artéfacts. En effet, l'eau, l'acidité et la température du milieu peuvent induire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation, etc. (Lahlou, 2004).

1- 4- 1- 2- Distillation à vapeur saturée

La distillation à vapeur saturée produite avec l'appareillage de Kaiser Lang, le végétal n'est pas en contact avec l'eau: la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition de l'eau. Elle présente l'avantage de minimiser les altérations de l'huile essentielle recueillie. Le volume d'huile essentielle récupéré dépend du rendement de distillation, qui est variable, chez une même plante, en fonction de la saison (Gonny *et al.*, 2004).

1- 4- 1- 3- Hydrodiffusion

Cette technique, développée par la firme Suisse Schmidt SA (1981), consiste en l'expulsion de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas. Ainsi, le flux de vapeur traversant la masse végétale n'est pas ascendant, comme dans les techniques classiques de distillation, mais descendant. Le principe est de dégager et de condenser en utilisant la pesanteur, l'azéotrope produit par la vapeur d'eau et dispersé dans la masse végétale.

La composition des produits extraits est sensiblement identique à celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie et évite un grand nombre d'artéfacts liés à une température excessive. En fait ce procédé correspond à la percolation en phase vapeur.

1- 4- 2- Expression à froid

Le principe de l'extraction consiste à rompre les poches à huile par un moyen mécanique, pression, incision ou abrasion à froid. L'huile essentielle mélangée à l'eau cellulaire est séparée par décantation ou centrifugation. C'est une technique physique qui consiste à écraser les zestes pour en extraire les huiles. Dans la pratique, seules les essences d'agrumes sont préparées selon cette méthode; il s'agit donc d'une technique simple, pratique, peu coûteuse mais d'emploi limité, Les zestes sont lacérés et le contenu des poches sécrétrices, qui ont été rompues, est récupéré par un procédé physique. Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation (Bruneton, 1993).

1- 4- 3- Extraction par les solvants

Elles sont basées sur le fait que les huiles sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée. Cette méthode permet de tripler la quantité d'huile essentielle récupérée, elle consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition, qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite; l'évaporation du solvant ne donne pas une huile essentielle, mais une concrète (dans le cas du traitement du matériel végétal frais), mélange odorant de consistance pâteuse ou solide due à la présence de cires et des tanins extraits par le solvant. Après traitement à l'alcool à 95°GL à froid, la concrète est débarrassée des cires par précipitation et filtration, pour conduire à l'absolue. Lorsque l'extraction au solvant est réalisée sur du matériel sec, notamment des épices (gingembre, poivre), il s'agit d'oléosine.

Le choix du solvant est effectué en tenant compte des paramètres techniques, économiques et des propriétés physico-chimiques des solvants, telles que: la température d'ébullition, la constante diélectrique, la miscibilité avec d'autres solvants, etc.

L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation de solvants, un autre inconvénient majeur de l'extraction

par les solvants est leur manque de sélectivité: de ce fait, de nombreuses substances lipophiles peuvent se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) et imposer une purification ultérieure (Bruneton, 1993).

1- 4- 4- Extraction au CO₂

L'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression est une nouvelles techniques, permettant d'augmenter le rendement de production (Lahlou, 2004; Santoyo *et al.*, 2005).

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Ensuite, il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après, le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Ribeiro *et al.*, 2001; Marongiu *et al.*, 2004).

1-5- Composition chimique des huiles essentielles et la notion de chémotype

Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structures extrêmement variables et complexes de différents composés chimiques formant des solutions homogènes; Plus de 300 composés différents peuvent être identifiés dans les huiles essentielles. Trois groupes de composés ont été décrits (Pichersky *et al.*, 2006). Le principal groupe est composé de terpènes et terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (Ruberto et Baratta, 2000), les autres groupes comprennent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcane et alcènes) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (Bakkali *et al.*, 2008).

Selon les conditions environnementales et de vie, les mêmes espèces peuvent présenter des différences chimiques intra-spécifiques dans leurs compositions d'huiles essentielles (Lahlou et Berrada, 2003; Lahlou, 2004). Ces différences intra-spécifiques sont définies comme chémotypes. Il est important de noter que les huiles essentielles à

chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005). Pour certains auteurs, les chémotypes constituent, à l'intérieur de l'espèce, des variétés chimiques possédant chacune un équipement enzymatique particulier, déterminé génétiquement et qui oriente la biosynthèse vers la formation préférentielle d'un constituant précis (Pellecuer, 1982).

1- 6- Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Les méthodes d'analyses des huiles essentielles peuvent être classées en deux groupes distincts: des analyses qui ont pour but de définir les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, indice d'acide, indice d'ester, etc.). Ces caractéristiques propres à chaque huile servent de critère de qualité dans les transactions commerciales entre producteurs et acheteurs. Les méthodes de détermination à utiliser sont décrites dans le recueil de normes françaises "huiles essentielles" édité par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et dans le recueil de normes de l'International Standard Organisation (ISO). Et celles qui ont pour objet l'identification qualitative et quantitative, des différents constituants d'une huile essentielle (CPG, CG/SM, CG/FTIR, HPLC, RMN, IR, etc.).

La chromatographie en phase gazeuse est la technique la plus utilisée pour ce type d'analyse. Le chromatographe peut être couplé à différents types de détecteurs, les plus utilisés sont: le détecteur à ionisation de flamme (FID), le détecteur de masse (SM) et de plus en plus le détecteur infrarouge à transformé de Fourier (FTIR), Récemment la CPG a été couplée à des détecteurs de type ICP (inductively coupled plasma) qui permettent l'analyse des constituants d'une molécule par choix d'un atome particulier.

1- 6- 1- La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la technique la mieux adaptée à l'analyse des huiles essentielles. C'est une méthode basée sur le principe de la chromatographie de partage (Tranchant, 1964) qui permet la séparation de composés à l'état gazeux suivant leur coefficient de partage entre une phase stationnaire liquide

imprégnée sur un support solide inerte (colonne de chromatographie) et parcouru par une phase mobile gazeuse (le gaz vecteur).

La phase stationnaire étant un liquide non volatil réparti ou greffé sur un support inerte. La phase mobile est constituée de gaz inerte (H_2 , N_2 , He). La solution est injectée au moyen d'une seringue soit manuellement, soit avec un injecteur automatique qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité. La chambre d'injection est maintenue à une température telle que la vaporisation de l'échantillon se fasse dans un temps le plus court possible. La séparation des composés dépend du type de colonne utilisée et de la polarité de la phase stationnaire

Après avoir choisi le type de colonne appropriée et un programme de température adéquat, la détection des composés élués est obtenue par un détecteur FID (détecteur par ionisation à flamme). Dans le cas des huiles essentielles, le FID est le détecteur le plus cité dans la littérature.

La CPG permet à la fois une analyse qualitative et quantitative. L'inconvénient majeur de cette méthode provient de la nécessité de vaporiser les produits, ce qui peut entraîner des modifications structurales.

1- 6- 2- Indice de rétention

Pour un même composé, l'indice de rétention, qui est une grandeur "caractéristique" du composé, est différent suivant le type de colonne utilisé. Sur une colonne apolaire l'éluion est approximativement fonction de la température d'ébullition du composé; sur une colonne polaire, les composés sont retenus plus longtemps sur la phase stationnaire. Ils auront donc un temps de rétention relativement plus élevé. Quel que soit le type de colonne, les constituants d'une même famille sont élués dans le même ordre, Les renseignements sur les deux colonnes sont donc complémentaires.

La valeur de rétention absolue, d'un composé inconnu A dans un mélange, dépend des conditions opératoires dans lesquelles elle est mesurée et n'est pas forcément reproductible d'une colonne à une autre. L'une des solutions permettant de remédier au non reproductibilité est l'utilisation de plusieurs étalons régulièrement

espacés sur un chromatogramme, par exemple les alcanes (nonane, décane, undécane, dodécane, etc.). On localisera tous les pics du chromatogramme par rapport à cette échelle ainsi constituée. Dans le cas d'une analyse en programmation de température, on utilise un indice de rétention linéaire défini par la formule suivante:

$$\text{IR} = C_n \times 100 + \frac{\text{TR (A)} - \text{TR (C}_n\text{)}}{\text{TR (C}_{n+1}\text{)} - \text{TR (C}_n\text{)}} \times 100$$

IR: indice de rétention

TR (A): temps de rétention du composé inconnu A

TR (C_n): temps de rétention de l'hydrocarbure à n atomes de carbone

TR (C_{n+1}): temps de rétention de l'hydrocarbure à n +1 atomes de carbonnes

Les indices de rétention des différents constituants sont calculés après co-injection de l'huile essentielle avec un mélange d'alcanes linéaires.

1- 7- Utilisation des huiles essentielles en aromathérapie

Les applications des huiles essentielles sont nombreuses, les plus importantes sont leurs utilisations en parfumerie, en cosmétologie, dans l'agro-alimentaire, dans l'industrie chimique et pharmaceutique.

1- 7-1- Parfumerie et cosmétologie

La parfumerie est le débouché principal des huiles essentielles, concrètes, absolues, et résinoïdes. Dans la réalisation de ces transformations, l'industrie de la parfumerie utilise à côté des constituants issus de la synthèse chimique, des extraits naturels sélectionnés pour leurs qualités olfactives quelquefois jugées irremplaçables pour leur originalité ou leur puissance. A titre d'exemple, l'huile de vétiver, grâce à son odeur agréable, est recherchée en cosmétologie et en parfumerie haut de gamme associée à d'autres huiles telles que le santal, le patchouli ou la rose pour lesquelles elle joue le rôle de fixateur naturel (Jouhanneau, 1991). L'huile essentielle d'ylang-ylang est très employée en cosmétologie, en parfumerie et en savonnerie de luxe. Les huiles essentielles servent aussi en hygiène, en esthétique corporelle sous forme de lotions, d'eaux florales, de crèmes, de gels, de pommades.

1- 7-2- Industrie agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en agro-alimentaire comme aromates dans les préparations culinaires. Plusieurs secteurs alimentaires sont consommateurs: de nombreux arômes de fruits sont utilisés dans les laitages, les boissons non alcoolisées font appel aux huiles essentielles d'agrumes, de menthes, etc. Les plats cuisinés utilisent les plantes aromatiques sous toutes leurs formes: oléorésines et huiles essentielles mais aussi sous formes fraîche, sèche ou surgelée (Onippam, 1997). Les huiles essentielles sont des concentrés à odeur et saveur très agréables qui présentent une alternative à l'usage des plantes entières, qu'il s'agisse de la menthe, du citron, du thym, du basilic, etc.

1- 7- 3- Industrie chimique

Elle utilise des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles), comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc. A titre d'exemple nous pouvons citer l'exploitation industrielle des pinènes à partir de l'huile de térébenthine et de l'eugénol à partir de l'huile de giroflier.

Les pinènes constituent un produit industriel de première importance, leur réactivité marquée autorisant la synthèse de très nombreux produits. Parmi les principales voies synthétiques mises en œuvre, il y a les réactions de pyrolyse: la thermolyse du seul bêta-pinène conduit, via des réactions radicalaires, à des carbures tels que le myrcène qui est lui-même une matière première permettant d'accéder à un grand nombre de composés intéressant la parfumerie (Les actualités économiques, 1996)

1- 7- 4- Industrie pharmaceutique

L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles dans le domaine des antiseptiques externes; elle tire partie des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, etc., des essences naturelles. A titre d'exemple, l'huile essentielle d'eucalyptus est largement utilisée en pharmacie pour ses propriétés antiinfectieuses, cicatrisantes, et pour la réparation des tissus (Holzner, 1977). L'eucalyptol, l'un des principaux constituants de certaines huiles essentielles

d'eucalyptus, est utilisé dans les préparations pharmaceutiques où il joue le rôle d'antiseptique, de stimulant de l'expectoration dans les bronchiques chroniques, dans le traitement des inflammations du nez et de la gorge.

Les huiles essentielles sont également utilisées pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale (Bruneton, 1993). Elles constituent également le support d'une thérapeutique particulière: l'aromathérapie (thérapie par les huiles essentielles des plantes aromatiques).

1- 8- Activité biologique des huiles essentielles

La recherche de molécules naturelles aux propriétés antimicrobiennes et antioxydantes est d'une grande importance aussi bien dans le domaine médicale que dans le domaine de l'industrie alimentaire. Dans ce contexte, les huiles essentielles constituent des sources potentielles pour ce type de molécules (Bruneton, 1993).

Les huiles essentielles reconnues depuis l'Antiquité pour leur valeur médicinale, mais souvent considérées comme une survivance moyenâgeuse de la pratique médicale par les représentants de la médecine moderne, les huiles essentielles suscitent aujourd'hui un intérêt thérapeutique totalement renouvelé (Duquénois et Anton, 1968).

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanalaies (Pellecuer *et al.*, 1980) ou au niveau de la microflore vaginale d'origine fongique (Viollon *et al.*, 1993), contre les dermatophytes, les moisissures allergisantes (Chaumont et Leger, 1989; Kishore *et al.*, 1993 et Lima *et al.*, 1993) ou les champignons opportunistes (Viollon *et al.*, 1993). Elles présentent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (Sivropoulou *et al.*, 1996).

Lens-Lisbonne *et al.*, (1987) ont déterminé les activités antimicrobiennes de trois chémotypes de l'huile de thym, et de cannelle et de leurs principaux constituants vis-à-vis *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus jaecillm*.

L'huile essentielle de pin (*Pinus sylvestris* L.) est utilisée pour ses propriétés analeptiques, antispasmodiques, antiseptiques, dans le traitement de nombreuses maladies respiratoires en l'occurrence la toux, la bronchite, les angines, etc. (khetouta, 1978). Et l'huile essentielle de cyprès est utilisée pour le traitement de la toux spasmodique, celle d'estragon dans le traitement de hoquet (Jouhanneau, 1991).

Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (Zambonelli *et al.*, 2004), et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Mangena et Muyima, 1999).

Les huiles essentielles sont volatiles, cette caractéristique permet de l'utiliser en tant qu'agents de préservation pour le contrôle de l'hygiène de l'air des systèmes de climatisation, notamment en milieu hospitalier, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air des locaux. Ils sont utilisées aussi comme préservateur du bois d'œuvres. Le développement de nouveaux produits de protections du bois d'œuvres ayant pour principes actifs des biomolécules présentes dans les plantes aromatiques et médicinales peut s'inscrire comme une solution écologique à un coût moindre (Haluk et Roussel, 1998, 2000; El Ajjouri *et al.*, 2008).

Certaines huiles essentielles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001; Fabian *et al.*, 2006).

D'autres familles de composés des huiles essentielles présentent aussi des propriétés antibactériennes intéressantes: certains alcools, aldéhydes et cétones monoterpéniques (géraniol, linalol, menthol, terpinéol, thujanol, myrcénol, camphre, carvone, etc.), des phénylpropanes (cinnamaldéhyde) et des monoterpènes (y-

terpinène, p-cymène). Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il s'agit d'aromatizants naturels. De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (Burt, 2004). Un grand nombre de composés volatils ont été des très bons agents antifongiques et sont testés contre une large gamme de champignons: *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum*. (Kalemba *et al.*, 2003).

L'activité d'une huile essentielle peut être différente de celle de la plante dont elle est issue. Ainsi l'huile essentielle de romarin (*Romarinus officinalis* L.) est antibactérienne alors que l'infusé de la même espèce est traditionnellement utilisé pour le traitement symptomatique de troubles digestifs divers, sur la base de propriétés antispasmodiques et cholérétiques vraisemblablement liées à la présence de composés phénoliques (Bruneton, 1993).

Ces huiles doivent être parfaitement définies quant à l'origine botanique des plantes mères (famille, genre, espèce, variété) et quant à leurs biotopes afin que leurs constituants moléculaires et leur composition, donc leurs propriétés, soient également bien définis et scientifiquement utilisables sans risques d'échec, d'inconvénient, voire de toxicité. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plantes (Assiniwi, 1988; Beccera *et al.*, 2002).

2- Propriétés et activités biologique de la famille des *Asteraceae*

La famille des *Asteraceae* est économiquement importante, elle fournissant des plantes alimentaires: La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol. Et de nombreuses autres espèces sont utilisés dans l'ornementation (Chrysanthème, marguerite, le dahlia, etc.). Elle compte aussi un nombre important de plantes adventices, causant des pertes économiques pour de nombreuses cultures (Gausson *et al.*, 1982; Heywood, 1985).

Les profils biologiques et chimiques des plantes appartenant aux *Asteraceae*, avec près de 1700 genres et environ 24 000 espèces, sont caractérisés par la complexité et la diversité (Hegnauer *et al.*, 1977; Funk *et al.*, 2009). Selon Zdero et Bohlmann (1990), environ 7000 composés différents ont été isolés et identifiés à partir de 5000 espèces des *Asteraceae* jusqu'aux années 1990. Et ensuite, de nombreux, di- et triterpénoïdes, flavonoïdes, polyacétylènes, alcaloïdes, benzofuranes, benzopyrannes et phénylpropanes sont identifiés (Alvarenga *et al.*, 2001), ils sont des constituants communs de nombreuses espèces; ils se produisent probablement dans toutes les tribus et forment la composition chimique de la famille. Les huiles essentielles et les diterpénoïdes sont également largement distribués. Les alcaloïdes, les glycosides cyanogéniques, les amides, les coumarines et plusieurs types de constituants phénoliques présentent une distribution beaucoup plus limitée (Hegnauer *et al.*, 1977).

Cette extraordinaire diversité des métabolites secondaires s'accompagne d'une bioactivité importante. ces plantes possèdent de multiples activités pharmacologiques telles que des effets antioxydants, antiprotozoaires, antimicrobiens, cytotoxiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques, hépatoprotecteurs et antipasmodiques, des activités sur les systèmes nerveux central et cardiovasculaire, etc. composés trouvés dans les espèces de la famille des Astéracées, par exemple les alcaloïdes pyrrolizidiniques, sont toxiques et sont parfois impliqués dans des empoisonnements humains et vétérinaires (Wagner, 1977; Dewick, 2002).

Les sesquiterpène lactone de la famille des *Asteraceae* sont une cause importante de dermatite de contact allergique. L'allergie à ces composés est la principale cause de dermatite de contact allergique chez les fleuristes aux États-Unis (Odom *et al.*, 2000). D'après ces auteurs, cette activité est liée aux mêmes facteurs structuraux conditionnant l'activité cytotoxique de ces sesquiterpène lactone. D'autres études d'activité biologique ont montré que certaines lactones sesquiterpéniques sont antibactériennes à l'encontre des germes Gram positif, c'est le cas de l'hénélanine de l'aunée (*Inula helenium L.*) et de la cnicine du chardon béni (*Cnicus beniductus L.*) (Bruneton, 1993).

Plusieurs espèces de la famille sont connues pour leurs propriétés médicinales et pharmacologiques. Parmi, les espèces utilisées comme remède en médecine traditionnelle et en cosmétiques on cite *Artemisia vulgaris*, *Arnica montana*, *Chamomilla recutita*, *Matricaria chamomilla*, *Anthemis nobilis* et *Tussilago farfara* (Gaussen *et al.*, 1982).

Les *Asteraceae* sont également utilisées à certaines fins industrielles. *Tagetes patula* est commun dans les aliments pour volailles commerciales et son huile est extraite pour des utilisations dans le cola et l'industrie de la cigarette. Les genres *Chrysanthemum*, *Pulicaria*, *Tagetes* et *Tanacetum* contiennent des espèces ayant des propriétés insecticides utiles (Singh *et al.*, 2015).

D'autres espèces de la famille sont des producteurs de nectar et sont utiles pour évaluer les populations de pollinisateurs pendant leur floraison, l'exemple de *Centaurea* (centaurée), *Helianthus annuus* (tournesol domestique), et certaines espèces de *Solidago* (verge d'or) sont des plantes à miel pour les apiculteurs. *Solidago* produit un pollen relativement riche en protéines qui aide les abeilles à se développer (Singh *et al.*, 2015).

3- Propriétés et activité biologique de la tribu de *Senecioneae*

Les usages économiques de la tribu de *Senecioneae* sont principalement d'ordre horticulturnal. Les espèces de *Senecio*, *Brachyglottis*, *Doronicum*, *Ligularia*, *Petasites*, *Pseudogynoxys*, et d'autres genres sont utilisés comme plantes d'ornementations des jardins, *Pericallis hybrida* est devenue une plante populaire en pot. Les espèces de *Curio* et *Kleinia* et les espèces succulentes de *Senecio* sont souvent cultivées dans des serres (Nordenstam, 2009). Les espèces de *Crassocephalum*, *Emilia*, *Farfugium*, *Gynura*, *Ligularia*, *Petasites* et *Tussilago* sont utilisés dans certains pays comme légume, et le grand Pétasite est cultivée expérimentalement en Russie comme une culture potentielle pour les fourrages (Hanelt, 2001).

Certaines espèces de la tribu ont un usage en médecine traditionnelle, par exemple, en Chine, les espèces du genre *Emilia* et *Ligularia* sont utilisées pour le traitement de toux, de lésion traumatique, de douleur osseuse rhumatismale et de

coqueluche (Roder, 2000), ainsi le genre *Packera* dans le Nord et le centre d'Amérique, et *Psacalium* et *Roldana* en Amérique centrale (Nordenstam, 2009)

Tussilago farfara L. est une plante médicinale bien connue en Chine et en Europe depuis l'Antiquité. L'espèce est utilisée comme traitement pour la toux et l'asthme, mais en raison de la présence des alcaloïdes des prudences dans son utilisation sont recommandée dans plusieurs pays.

L'utilisation de l'extrait des racines de *Petasites hybridus* est très répandue et a été testé comme un remède efficace pour les migraines (Nordenstam, 2009). Deux espèces de *Caucasalia* productrices d'alcaloïdes sont cultivées en Russie à des fins médicinales mais l'exemple des médicaments enregistrés ou reconnus à base de *Senecioneae* sont rare ou inexistant (Nordenstam, 2009).

La tribu est caractérisé par la présence des alcaloïdes de pyrrolizidine (PAs) de type sénécionine macrocyclique (Hartmann et Witte, 1995; Pelsler *et al.*, 2005), qui, contrairement à la plupart des alcaloïdes des végétaux, sont dérivés de l'acides aminés ornithine. Ces PAs sont un moyen de dissuasion et sont toxiques pour la plupart des vertébrés et d'insectes (Boppre, 1986 ; Schneider, 1987 ; Macel, 2003).

Les PAs fournissent aux plantes une défense chimique contre les herbivores, qui provoquant ainsi la perte de bétail dans certaines régions ; l'exemple de l'espèce *Jacobaea vulgaris* Gaertn., une mauvaise herbe importante dans de nombreux pays (Watt et Breyer-Brandwijk, 1962).

Les lactones sesquiterpéniques sont d'excellents marqueurs phytochimiques de la tribu (Hegnauer, 1989). Ils sont très diverses et la variation de leur structure chimique peut se révéler utile dans la classification subtribal et générique. Autres sesquiterpènes qui peuvent être caractéristique de la tribu se sont des dérivés des oplopanone, qui ont été signalés chez *Senecio*, *Acrisione*, *Arnoglossum*, *Euryops*, *Kleinia* et *Rugelia*, (Abdel Aal *et al.*, 1988; Hegnauer, 1989).

4- Propriétés et activités biologique du genre *Senecio*

4- 1- Composition chimique des huiles essentielles du genre *Senecio*

Les huiles essentielles du genre *Senecio* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études phytochimiques, les composants majoritaires des huiles essentielles de 16 espèces du genre *Senecio* de différentes localités sont classés dans le tableau 2:

La comparaison des huiles essentielles des espèces du genre *Senecio* permet de mettre en évidence une variabilité chimique interspécifique tant au niveau qualitatif que quantitatif traduisant la grande variation des composants majoritaires.

Les composants ayant les pourcentages les plus élevés dans la composition chimique des différents espèces du genre *Senecio* sont le, α -humulene (57.3%) dans l'espèce *S. vulgaris* (Andrani, 2015), le 1,10-epoxy furano eremophilane (55.30%) trouvés dans l'huile essentielle de l'espèce *S. aegyptius* (El-Shazly *et al.*, 2002), le Curcumene (42.8%) dans l'huile de *S. nemorensis* (Uçüncü *et al.*, 2010) et l' α -pinene (33.97%) dans l'huile de *S. graciliflorus* (Lone *et al.*, 2014).

D'autres composants sont présents dans la composition chimique de plusieurs huiles essentielles avec des proportions différentes et dévoilent la présence d'une grande variabilité quantitative, l'exemple de, l' α -pinène qui présente dans les huiles essentielles de *S. angulatus*, *S. perralderianus*, *S. flammeus*, etc. avec des pourcentages différents allant de 2,3% jusqu'à 33,97% (Andrani, 2014; Lograda *et al.*; 2012; Xiao, 2014), le β -caryophyllène est présent dans 9 espèces du genre *Senecio*, l'exemple de *Senecio othonnae*, *S. racemosus*, *S. nudicaulis* et *S. vulgaris* avec des pourcentage différents de 3,1% à 20% (Uçüncü *et al.*, 2010; Sharma et Shah, 2015; Andrani, 2015). Et le α -humulene qui domine l'huile essentielle de *S. vulgaris* avec un pourcentage de 57.3% alors qu'il présente dans d'autres espèces avec des pourcentages relativement faibles, tels que *S. cineraria* (2,4%) (Andrani, 2014; 2015).

La différence entre la composition chimique des huiles essentielles a été signalée par la présence et l'absence de certains composés de part et d'autre, Le 1,10-epoxy furanoeremophilane est le composé majoritaire de l'huile essentielle de *Senecio aegyptius* avec un pourcentage élevé (55.30%) (El-Shazly *et al.*, 2002), ce composé est absent complètement dans les huiles essentielles des autres espèces, le même cas pour

le p-cymène qui présent seulement dans l'huile essentielle de *S. lividus* avec un pourcentage de 23,9% (Andrani, 2014), ainsi, pour le γ -amorphe (19,1%) et le 1-undécanol (19,5%) qui sont présent seulement dans *S. racemosus* et *S. belgaumensis* respectivement (Uçüncü *et al.*, 2010 ; Joshi, 2011)

L'étude de la variabilité chimique de plusieurs huiles essentielles du genre *Senecio* en utilisant une analyse statistique confirme qu'il existe une relation entre la nature du sol, la composition chimique des huiles essentielles et les caractéristiques morphologiques de la plante, ils sont d'un intérêt pour les producteurs commerciaux d'huile essentielle dans le choix des plantes les plus appropriées (Andreani, 2015).

4- 2- Classes des familles chimiques des huiles essentielles du genre *Senecio*

L'étude bibliographique récente effectuée par Andreani, (2014) sur la composition chimique des huiles essentielles du genre *Senecio*, montre qu'il y a 39 travaux qui traitent la composition chimique des huiles essentielles des différentes espèces du genre *Senecio*; 82 échantillons d'huiles essentielles obtenues à partir des différents organes de 48 espèces originaires de 17 pays ont été étudiés. Le tableau 3 présenté la composition chimique des huiles essentielles de quelque espèce du genre *Senecio* des différentes régions classé en cinq groupes en fonction des pourcentages relatifs des principales familles chimique de composés.

Les huiles essentielles des espèces étudiées sont classés en cinq groupes en fonction des pourcentages relatifs des principales familles chimique de composés. Au total, 63 échantillons des huiles essentielles de *Senecio* (soit 82 %) sont dominés par des composés hydrocarbonés dont 34 échantillons par des monoterpènes (tels que l' α -pinène, le β -pinène, et l' α -phellandrène), 19 par des sesquiterpènes (le germacrène-D et le (*E*)- β -caryophyllène) et 10 par des composés aliphatiques (tels que le nonène, l'undécène, le tridécène et le pentadécène). Les 19 autres échantillons sont riches en monoterpènes oxygénés tels que la β -thujone, l' α -terpinéol et le carvomenthol (3 échantillons) et des sesquiterpènes oxygénés tels que le spathuléol, l'oxyde de caryophyllène, l' α -cadinol, l'anhydroplépénone et le 1,10 époxyfuranoérémophilane (16 échantillons).

Tableau 2 : Composés majoritaires des huiles essentielles du genre *Senecio*

Espèces	<i>S. othonnae</i>	<i>S. racemosus</i>	<i>S. nemorensis</i>	<i>S. flammeus</i>	<i>S. nudicaulis</i>	<i>S. belgaumensis</i>	<i>S. cineraria</i>	<i>S. angulatus</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>S. lividus</i>	<i>S. graciliflorus</i>	<i>S. giganteus</i>	<i>S. perralderianus</i>	<i>S. aegyptius</i>	<i>S. polyanthemoides</i>	<i>S. coincyi</i>
Localité	Turquie	Turquie	Turquie	Chine	Inde	Inde	France (Corse)	France (Corse)	France (Corse)	France (Corse)	Inde	Algérie	Algérie	Egypte	Afrique du sud	Espagne
Auteurs	Uçüncü <i>et al.</i> , 2010	Uçüncü <i>et al.</i> , 2010	Uçüncü <i>et al.</i> , 2010	Xiao, 2014	Sharma et Shah, 2015	Joshi, 2011	Andrani, 2014	Andrani, 2014	Andrani, 2015	Andrani, 2014	Lone <i>et al.</i> , 2014	Chibani <i>et al.</i> , 2013	Lograda <i>et al.</i> , 2012	El-Shazly <i>et al.</i> , 2002	Lawal <i>et al.</i> , 2009	Arrabal, 2011
composant	Pourcentage %															
nonene	0	0	0	0	0	0	8.3	2.6	0	7.3	0	0	0	0	0	0
nonane	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0
α -pinene	0	0	0	6.36	0	0	6.4	13.4	0	2.3	33.97	19.4	8.8	0	7.4	0
camphène	0	0	0	0	0	0	0	6.1	0	0	0	0	0	0	0	0
sabinene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.24	0	0	0	0	0
β -pinene	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	11.9	0	0	0	7.6	0
Myrcène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.9	15.7	0
α -phellandrène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	3.43	0	0	0	2.7	0
p-cymène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23.9	0	0	0	0	0	0
Cymène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24.7	0
limonène	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.5	0	0	0	0	18.3	0
(E)- β -ocimène	0	0	0	0	0	0	12.7	0	0	0	0	0	0	0	8.3	0
γ -terpinène	0	0	0	0	0	9.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
terpinolène	0	0	0	0	0	0	0	0	5.2	12.9	0	0	0	0	0	0
1, undecène	6.8	11.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
p-cymèn-8-ol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.3	0	0	0	0	0	0
iso-ascaridole	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5	0	0	0	0	0	0

Suite de tableau 2

1- tridecene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13.9
1-undécanol	0	0	0	0	0	19.5		0	0	0	0	0	0	0	0	0
hexanoate d' hexyle	0	0	0	0	0	0	14.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β-Cubebène	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	5.50	0	0	0
β-caryophyllène	13.7	20	4.6	8.69	9.67	18.9	3.7	3.1	5.3	0	0	0	0	0	0	0
α-humulene	0	0	0	0	18.75	0	2.4	0	57.3	0	0	0	0	0	0	0
germacrène-D	5.1	0	0	0	0	0	11.2	5,5	0	3.2	0	0	5.8	0	0	0
γ-amorphe	0	19.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ar-curcumène	0	0	0	0	0	0	0	0	4.3	0	0	0	0	0	0	0
Bicyclogermacene	3.1	4.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α-farnesene	3.6	0	0	11,26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
γ-Cadinène	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15.30	0	0	0
Curcumene	0	0	42.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
l'oxyde de caryophyllene	18.6	3	0	0	24.99	10.4	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
humulene époxyde II	0	0	0	0	21.25	0	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
γ-Eudesmol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.90	0	0	0
α-cadinol	7.4	0	0	0	0	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
intermédiol	0	0	0	0	0	0	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β-Bisabolene	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.6
1- Pentadecanone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.5
viridiflorol	0	0	0	0	0	0	0	11.3	0	0	1.21	0	0	0	0	0
1,10-epoxy furanoeremophilane	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	55.30	0	0
6,10,14-trimethyl-2- pentadecanone	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19.10	0	0	0	0
hexadecanoic acid	0	0	0	7.23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
géranyl linalol	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5	0	0	0	0	0	0	0
Eicosane	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.00	0	0	0	0
(E)-phytol	0	0	0	0	0	0	0	0	2.9	0	0	0	0	0	0	0
tricosane	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.90	0	0	0	0
pentacosane	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16.90	0	0	0	0
Nombre de composants identifiés	56	38	37	48	30	48	114	64	54	64	17	18	50	37	13	21
% d'identification	83.1	97.7	86.8	98.41	95.3	91.5	92.9	94.2	95.2	99.9	99.9	82.8	96.9	99.2	97.0	81.2

Tableau 3: Synthèse bibliographique des classes des familles chimiques des huiles essentielles du genre *Senecio* d'après Andreani, 2014 (modifié).

Espèce	Localité	Parties étudiées	Familles chimiques									Auteurs
			Hc	Oc	Hm	Hs	Oh	Om	Os	Od	Oo	
			Monoterpènes hydrocarbonés									
<i>S. argophylloides</i>	RA	Pa	96,9	2,9	95,1	0,9	0,9	2,9	-	-	-	Dambolena <i>et al.</i> , 2008
<i>S. atacamensis</i>	CH	Fl	89,6	6,4	87,2	2,4	-	0,9	5,5	-	-	Benites <i>et al.</i> , 2011
<i>S. atacamensis</i>	CH	Ti	91,9	6,7	88,3	3,6	-	0,7	6,1	-	-	
<i>S. farfarifolius</i>	TR	Pa	69,2	25,7	60,6	7,9	0,7	19,6	5,4	-	0,7	Baser et Demerci, 2004
<i>S. gallicus</i>	IR	Pa	92,9	3,3	63,8	29,1	-	0,3	1,7	-	1,3	Mohammad hosseini <i>et al.</i> , 2010
<i>S. graveolens</i>	RA	Pa	mc	np	mc	np	np	np	np	np	np	Perez <i>et al.</i> , 1999
<i>S. leucostachys</i>	IR	Pa	88,2	10,4	50,6	37,6	-	4,1	2,4	-	3,9	Mirza et Nik, 2008
<i>S. longipenicillatus</i>	VE	Pa	94,2	-	57,3	36,0	0,9	-	-	-	-	Rondon <i>et al.</i> , 2006
<i>S. mutersii</i>	PE	Pa	86,1	10,1	79,9	8,8	-	5,5	2,6	0,1	4,5	Belaunde <i>et al.</i> , 2007
<i>S. polyanthemoides</i>	SA	Ti	85,3	23,6	85,3	-	-	3	14,4	-	-	Lawal <i>et al.</i> , 2009
<i>S. polyanthemoides</i>	SA	Fl	94,6	4,5	92,6	2,3	-	4,4	0,1	-	-	
<i>S. pterophorus</i>	SA	Pa	98	1,5	95,7	7,3	-	1,5	0,2	-	-	Lawal <i>et al.</i> , 2010
<i>S. scandens</i>	PRC	Fl	68,7	30,4	42,4	22,6	3,6	1,6	7,9		21,0	Chen <i>et al.</i> , 2009
<i>S. tephrosioides</i>	TR	Pa	72,2	18,3	53,3	18,5	0,4	13,4	3,8	0,1	2,8	Usta <i>et al.</i> , 2009
<i>S. vernalis</i>	TR	Pa	65,3	26,2	36,1	26,3	2,9	9,6	13,2	-	3,4	Bagci et Kilic, 2012
<i>S. viridis</i>	RA	Pa	94,2	0,6	93,2	0,5	0,5	0,6	-	-	-	Dambolena <i>et al.</i> , 2008
<i>S. zoellniri</i>	CH	Pa	92,5	4,3	91,9	0,6	-	4,3	-	-	-	Niemeyer, 2007
Sesquiterpènes hydrocarbonés												
<i>S. jacobaea</i>	NL	Pa	mc	np	np	mc	np	np	np	np	np	Van Dooren <i>et al.</i> , 1981
<i>S. nemorensis</i>	TR	Fl	83,0	3,8	0,6	81,1	0,8	0,1	2,4	0,2	1,1	Üçüncü <i>et al.</i> , 2010
<i>S. othonnae</i>	TR	Fl	48,7	34,4	2,2	34,6	11,9	0,5	30,8	0,1	3,0	
<i>S. perralderianus</i>	AL	Pa	67,5	25,2	18,2	48,9	3,4	1,4	17,8	0,4	5,6	Lograda <i>et al.</i> , 2012
<i>S. racemosus</i>	TR	Fl	88,9	8,8	0,5	73,2	15,2	0,2	6,2	-	2,4	Üçüncü <i>et al.</i> , 2010
<i>S. rufinervis</i>	IND	Fl	68,6	23,1	3,5	58,8	6,3	0,2	19,5	0,2	3,2	Takuri <i>et al.</i> , 2008

Suite de tableau 3

<i>S. trapezuntinus</i>	TR	Ti	57,4	28,8	1,5	55,3	0,6	-	24,6	1,5	2,7	Üçüncü <i>et al.</i> , 2008
autre composés hydrocarbonés												
<i>S. coinnyi</i>	ES	Pa	68,7	2,3	1,1	-15,3	52,3	-	-	-	2,3	Arrabal <i>et al.</i> , 2011
<i>S. giganteus</i>	Algerie	PA	58,9	23,9	19,4	1	38,5	1	3,2	0	19,7	Chibani <i>et al.</i> , 2013
Monoterpènes oxygénés												
<i>S. chrysanthemoides</i>	IR	Pa	8,3	87,29	5,19	3,11	-	86,4	0,45	-	-	Mengi <i>et al.</i> , 1995
<i>S. dianthus</i>	PRC	Fl	14,01	75,69	3,79	10,22	-	47,31	2,32	-	26,06	Li <i>et al.</i> , 2006
<i>S. leucanthemifolius</i>	MA	Pa	16,4	83,6	-	16,4	-	70,8	4,1	-	8,7	Ouchbani <i>et al.</i> , 2011
Sesquiterpènes oxygénés												
<i>S. adenotrichius</i>	CH	Pa	19,2	72,1	12,8	6,4	-	-	72,1	-	-	Niemeyer, 2007
<i>S. belgaumensis</i>	IND	Fl	41,1	50,4	16,4	24,70	-	5,4	25	-	20	Joshi, 2011
<i>S. crassifolius</i>	BR	Fl	14,37	84,53	-	14,37	-	-	84,53	-	-	Murari <i>et al.</i> , 2008
<i>S. royelanus</i>	IND	Fl	43,3	53,8	34,8	8,3	0,2	1,6	50,9	-	1,3	Bisht <i>et al.</i> , 2011
<i>S. rowleyanus</i>	ET	Pa	54,44	45,51	26,44	28	-	-	45,51	-	-	El-Hawary <i>et al.</i> , 2008
<i>S. vernalis</i>	IR	Pa	25,1	73,8	20,8	4,3	-	21,5	52,3	-	-	Nori-Shargh <i>et al.</i> , 2008

Famille chimique : **Hc:** Composés hydrocarbonés; **Oc:** Composés oxygénés; **Hm:** Monoterpènes hydrocarbonés; **Hs:** Sesquiterpènes hydrocarbonés; **Oh:** Autres composés hydrocarbonés; **Om:** Monoterpènes oxygénés; **Os:** Sesquiterpènes oxygénés; **Od:** Diterpènes oxygénés; **Oo:** Autres composés oxygénés; **mc:** composés majoritaires dont la proportion n'est pas précisée; **np:** valeurs non précisées

Lieux d'origine: **AL:** Algerie; **BR:** Brésil; **ET:** Egypte; **IND:** Inde; **IR:** Iran; **NL:** Pays Bas; **PE:** Perou; **PRC:** Chine; **MA:** Maroc; **RA:** Argentine; **CH:** Chili; **SA:** Afrique du Sud; **ES:** Espagne;; **TR:**Turquie; **VE:** Venezuela.

Partie étudiées : **Pa:** parties aériennes; **Fl:** capitules ;**Ti:** tiges.

4-3- Usages traditionnelles du genre *Senecio*

De nombreuses espèces du genre *Senecio* ont été utilisées dans la médecine traditionnelle, et leurs activités pharmacologiques ont été mises en évidence. Dans les populations andines au Chili, les espèces du genre sont utilisées comme remèdes traditionnels pour le mal l'altitude (Villagrán *et al.*, 1998), pour le traitement de l'asthme, la toux, la bronchite, l'eczéma et la cicatrisation des plaies (Uzun, 2004; El-Shazly, 2002). Les espèces de ce genre ont été utilisées comme nourriture en Méditerranée et aussi pour le traitement des plaies et pour les préparations antiémétiques, anti-inflammatoires et vasodilatatrices (Rose, 1972).

Ce groupe de plantes est d'une grande importance aussi bien sur le plan économique que médicinale. Sur le plan économique, les feuilles de séchées au soleil acquièrent un parfum agréable (Samyn, 1999) et la tisane des feuilles *S. faujasioide* et racines soignent de la syphilis (Heckel, 1910). *Senecio minutis* et *S. boissieri* sont utilisés comme anti-inflammatoires et vasodilatateurs (Bautista *et al.*, 1991). En Afrique du Sud, *S. adscendens* est utilisé pour soigner la gale et les plaies syphilitiques et l'infusion des feuilles fraîches de *S. gossypinus* traite les coliques et son jus est vulnérable sur les plaies (Humbert, 1962). A Madagascar la Tisane de *S. erectitoides* est réputée pectorale et efficace dans le traitement de la rougeole (Heckel, 1910). Elle est aussi utilisé dans le traitement la phtisie et l'asthme et sur les plaies (Pernet et Meyer, 1957).

Les feuilles de *S. longiscapus* sont conseillées pour toute dermatose, eczéma et gale (Samyn, 1999). Des usages traditionnels de *S. vulgaris* en infusion pour calmer les menstruations douloureuses et de *S. cineraria* pour soulager des problèmes ophtalmiques ont été rapportés (Paumes, 2009). Certaines espèces du genre *Senecio* ont une activité anti-viral pour l'hépatite B (Lih *et al.*, 2005). Ainsi des effets bénéfiques sur la toux, l'eczéma, la bronchite, la cicatrisation des plaies et la facilitation de l'accouchement (Hammond *et al.*, 1998). Alors que d'autres sont très toxiques et cette toxicité des alcaloïdes pyrrolizidinique est utilisé comme préventif contre l'ulcère gastrique (Toma *et al.*, 2004).

De nombreuses molécules terpéniques ont été identifiées à partir des extraits du genre *Senecio* obtenus à l'aide de solvants, ainsi que des sesquiterpènes possédant les

squelettes érémodiolane, bisabolane, eudesmane, germacrane et caryophyllane, des diterpènes kauréniques et des triterpènes de type stéroïde (De Vivar *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2011).

La scopolétine, une coumarine isolé et identifié de *Senecio nutans* Sch. Bip provenant des hautes terres du nord du Chili, elle est responsable de l'activité antioxydant de la plante ainsi, qu'elle fournit les premières analyses nutritionnelles de cette plante. Ce composé pourrait être pertinent pour les propriétés biologiques des espèces liées aux utilisations médicales ancestrales (Parra *et al.*, 2017).

L'empoisonnement par des plantes du genre *Senecio* est l'une des causes principales des pertes des bétails, moutons et chevaux à travers le monde, principalement au sud-américain (Tokarnia et Döbereiner., 1984). La toxicité de certaines espèces telle que, *S. brasiliensis*, *S. cisplatinus*, *S. heterotrichus*, *S. leptolobus*, *S. selloi* et *S. oxiphyllus* a suscité des recherches phytochimiques intensives ont montré une activité cytotoxique notamment l'hépatotoxicité des alcaloïdes pyrrolizidiniques, principaux métabolites secondaires du genre (Habermehl *et al.*, 1988; Driemeier et Barros., 1992 et Tundis *et al.*, 2009). En plus, les métabolites secondaires les plus caractéristiques mentionnés dans la littérature sont les benzofuranes et les phénylpropanoïdes (Liddell, 1997).

4- 4- Activité biologique des huiles essentielles du genre *Senecio*

Les huiles essentielles du genre *Senecio* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études phytochimique et plusieurs activités biologiques ont été mises en évidence :

Les huiles de *S. othonnae*, et *S. nemorensis* ont montré une activité antimicrobienne contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, et *Candida tropicalis*, alors que celle de *S. racemosus* a montré un activité antifongique contre *Candida tropicalis* (Uçuncu *et al.*, 2010). L'huile essentielle des fleurs et de feuilles de *S. aegyptius* possède une activité antifongique contre *Candidat. albicans*, et contre les bactéries à Gram positif (El-Shazly *et al.*, 2002).

L'huile essentielle de *S. flammeus* étaient efficaces dans le traitement inflammatoires aiguës et chroniques et ce résultat supportant l'utilisation traditionnelle de cette plante (Xiao *et al.*, 2014). Et l'huile essentielle de *S. nudicaulis* a un pouvoir

anti-antioxydant significative. (Sharma et Shah, 2015). Ainsi que l'huile essentielle de *S. rufinervis* présentait une activité analgésique significative (Mishra *et al.*, 2010).

Selon Lone *et al.*, (2014) l'huile essentielle des fleurs de *S. graciliflorus* présentait un potentiel antioxydant puissant et l'huile de fleur et de racine présentait une cytotoxicité élevée contre des lignées cellulaires du cancer de poumons ces résultats peuvent être une nouvelle source d'activité cytotoxique et antioxydant. Les travaux de Perez *et al.*, (1999) de l'huile essentielles de *S. graveolens* montre des effets antibactériennes sur *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus*, ainsi que des effets antifongiques sur *Candida albicans*

L'huile essentielle des racines de *Senecio amplexicaulis*, plante médicinale importante dominée par les d'hydrocarbures monoterpéniques (α -phellandène (48,57%), o-cymène (16,80%) et β -ocimène (7,61%)), présente une activité antifongique significative contre cinq champignons phytopathogènes, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium debaryanum* et *Fusarium oxysporum*. elle a démontré une activité phytotoxique remarquable et une réduction significative du pourcentage de germination des graines de *Phalaris minor* et de *Triticum aestivum* à des concentrations plus élevées (Singh, 2016).

Le profil chimique de l'huile essentielle de *Senecio polyanthemoides* montre l'abondance de limonène, un des monoterpènes cycliques les plus importants, En raison de son odeur de citron, il a été administré dans l'industrie des parfums. Il joue également différents rôles en médecine tels que les effets thérapeutiques contre le cancer, les infections, le diabète, l'allergie et asthme. Ses activités biologiques comprennent les propriétés antioxydants et chimio-préventives (Bagheri *et al.*, 2017).

5- Propriétés des espèces étudiées

5-1- *Senecio giganteus* Desf

Peu de travaux ont été effectués sur *Senecio giganteus*. L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* de la région de Constantine (Algérie) permet de caractériser 18 composants qui représentent un pourcentage de 82.8%, avec l' α -Pinène comme composé majoritaire (19.4 %) suivi par le 6,10,14-triméthyl-2-

pentadecanone (19.1 %), le pentacosane (16.9 %), et le tricosane (11.9 %) (Chibani *et al.*, 2013).

Les flavonoïdes séparés de l'extrait butanolique des fleurs de *S. giganteus* (l'hyperoside, la quercétine-3-*O*- glucuronide, la quercétine-3-*O*- robinobioside) ont présenté un pouvoir antioxydant très important et ils peuvent être de très bons anti-AGEs (Mezache *et al.*, 2009).

5-2- *Senecio jacobaea* L.

Senecio jacobaea L. est l'une des plantes médicinales, nouvellement connues. Ses premières découvertes datent d'il y a seulement quelques années. Selon les expériences menées sur cette plante herbacée, elle se révèle être une excellente sédative, emménagogue et hémostatique. Ses feuilles sont très utilisées pour soulager les douleurs liées à la menstruation et appliquées topiquement aux piqûres et aux ulcères cutanés, les rhumatismes, la sciatique et la goutte. Ses substances emménagogues agissent efficacement sur la dysménorrhée et l'aménorrhée, en équilibrant le cycle menstruel. La jacobée présente également des bienfaits thérapeutiques impressionnants sur les congestions utérines, les troubles de la digestion ainsi que sur les douleurs lombaires et pelviennes. En homéopathie, cette plante aux vertus multiples permet de traiter les régulations hémorragiques et les diverses affections touchant la vessie (Jonas, 2005 ; Poiret, 2011).

D'après l'étude effectuée par Dooren (1981), les composants majoritaires de l'huile essentielle de *senecio jacobaea* sont le germacrene-D et l'undecene-1. Elle peut contenir plus d'une dizaine d'alcaloïdes pyrrolizidiniques, liés de la sénécionine. (Witte *et al.*, 1992). Chez l'homme, on considère que les alcaloïdes peuvent provoquer des lésions du foie et produire des effets mutagènes et cancérigènes, et pour cela l'utilisation de la jacobée sur une longue période doit être impérativement réalisée sous surveillance médicale. Consommée à forte dose, cette plante médicinale peut s'avérer toxique. Cette toxicité s'explique entre autres par la présence d'alcaloïdes dans sa composition (Poiret, 2011).

Les feuilles de jacobée sont utilisées sous forme de tisane, au cours du traitement. Cette médication naturelle est contre-indiquée chez les sujets souffrant de

problèmes de foie, pour les femmes enceintes et qui allaitent ainsi que chez les enfants. Les personnes, qui présentent des réactions allergiques à l'un de ses principes actifs, doivent éviter de la consommer (Poiret, 2011).

6- La cytotoxicité cellulaire

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde. En effet, sur un total de 58 millions de décès enregistrés en 2005 au niveau mondial, 13 % (soit 7.6 millions) étaient dû au cancer, soit plus que la proportion de décès causés par le VIH/SIDA, la tuberculose et le paludisme réunis. Dans les pays industrialisés, il constitue la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaires (OMS, 2006). ET selon des projections de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), d'ici à 2020 le nombre de décès dû au cancer va connaître une augmentation considérable dans les pays en développement, aussi bien en Asie, en Afrique qu'en Amérique Latine et ce, principalement en raison du vieillissement constant de la population humaine et de l'augmentation de la pollution (Rastogi *et al.*, 2004).

En Algérie, l'incidence du cancer constitue actuellement un des problèmes majeurs de santé publique avec une nette augmentation des taux d'incidences des cancers liés au tabagisme chez l'homme et au cancer du sein chez la femme, on compte environ 40.000 nouveaux cas par an. Dans la wilaya de Sétif, selon le registre du cancer de la wilaya, environ 5000 nouveaux cas par an de cancer sont enregistrés dans la région de Sétif (Hamdi cherif *et al.*, 2010). Il est à noter qu'en Algérie la situation est alarmante, les adolescents et les jeunes adultes âgés entre 15 et 39 ans sont de plus en plus affectés par le cancer dont la consanguinité, l'alimentation et l'environnement sont les facteurs les plus incriminés. Les localisations les plus importantes de ces cancers sont le nasopharynx, le sang, le côlon, le rectum et le sein chez la femme (Hamdi Cherif *et al.*, 2010).

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent dans le monde, c'est la deuxième cause de décès par cancer après celle de la prostate. C'est une tumeur maligne, il prend naissance des cellules épithéliales qui tapissent l'unité terminale ductulo-lobulaire. Certaines tumeurs montrent des aspects de proliférations et des morphologies cellulaires différentes et elles sont classées en se basant sur ces

caractéristiques comme par exemple le tubulaire, le mucineux, le médullaire, le papillaire et le cribriforme (Boyle, 2005).

A Sétif, les taux d'incidence du cancer du sein chez la femme sont en nette augmentation, occupant la première place, avec des taux passant de 10,4 à 19,6 pour 100 000 femmes par an. Le nombre de nouveaux cas a pratiquement doublé en 20 ans, il est passé de 187 cas en 1986 à 391 cas en 2005 (Hamdi cherif *et al.*, 2010).

De nos jours, plusieurs traitements sont disponibles pour les carcinomes mammaires dont la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et l'hormonothérapie (Yurek *et al.*, 2000; Bunn *et al.*, 2012).

Malheureusement, malgré l'efficacité relative de ces traitements, plusieurs patientes voient éventuellement leur cancer récidiver, et/ou la maladie évoluer vers le stade métastatique (Bunn *et al.*, 2012). La chimiothérapie anticancéreuse est basée sur l'administration de médicaments ayant le pouvoir d'entraver la prolifération des cellules tumorales, mais malheureusement, la plupart de ces agents chimiothérapeutiques sont aussi cytotoxiques pour les tissus sains. Ceci explique les nombreux effets secondaires de la chimiothérapie, qui sont pour la plupart du temps tardifs et qui touchent certains organes en particulier, le sang, le cœur, le foie et les reins (Zelnak, 2007; Gerber, 2008). Plusieurs études ont montré que la toxicité et l'échec de la chimiothérapie anticancéreuse s'expriment par la génération des radicaux libres et la peroxydation des lipides membranaires ce qui provoque une toxicité hématologique très sévère d'où la nécessité de chercher de nouvelles molécules à faible effets secondaires.

Le retour à la médecine traditionnelle, de la plupart des scientifiques s'est intensifié ces dernières années. Cette médecine populaire, pratiquée par l'homme depuis l'antiquité, et qui s'appelle à nos jours la phytothérapie, est basée sur l'utilisation des plantes dites médicinales, des légumes et des fruits comme sources de substances naturelles actives dans le traitement de la plupart des maladies. Selon l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour traiter les divers problèmes de santé (Farnsworth et Kass, 1986). Plusieurs études scientifiques ont confirmés les biens faits des plantes médicinales dans la guérison ou le soulagement de plusieurs maladies y compris le cancer. En effet, un nombre

importants d'études *in vitro* ont montré que les extraits bruts, aqueux ou hydro-alcooliques, de quelques plantes médicinales exercent un effet cytotoxique sur différentes lignées de cellules cancéreuses (Rakhi *et al.*, 2011). Les huiles essentielles sont considérées parmi les substances bioactives les plus importantes.

6-1- Cytotoxicité des huiles essentielles

Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007). Les huiles essentielles agissent au niveau de la prévention du cancer ainsi qu'au niveau de sa suppression. Il est bien connu que certains aliments, comme l'ail ou le curcuma, sont de bonnes sources d'agents anticancéreux utiles pour prévenir l'apparition de cancer (Béliveau *et al.*, 2005).

Il existe d'autres composés volatils qui ont montré une activité cytotoxique contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (gliomes, cancer du côlon, du poumon, du foie, du sein, etc.) (Edris, 2007). Le géraniol, un alcool monoterpénique très fréquent dans les huiles essentielles, diminue la résistance des cellules cancéreuses du côlon (Carnesecchia *et al.*, 2002; Carnesecchia *et al.*, 2004). L'huile essentielle de sapin baumier et un de ses composés, l' α -humulène, ont montré une activité anticancéreuse significative sur plusieurs lignées cellulaires ainsi qu'une faible toxicité envers les cellules saines (Legault *et al.*, 2003).

L'activité anticancéreuse du limonène, le composé principal des huiles essentielles de *Citrus* a été prouvée à plusieurs reprises, en particulier au niveau du cancer de l'estomac et du foie (Uedo *et al.*, 1999). Un autre exemple est l' α -bisabolol, L'activité antigliomale de cet alcool sesquiterpénique présent en grande majorité dans l'huile essentielle de camomille (*Matricaria*) a récemment été mise en évidence (Cavaliere *et al.*, 2004).

Certaines études ont mis en évidence l'activité cytotoxique d'huiles essentielles dans leur ensemble l'exemples des huiles essentielles de *Comptonia peregrina* (Sylvestre *et al.*, 2007), *Myrica gale* (Sylvestre *et al.*, 2005), *Melissa officinalis* (De

Sousa *et al.*, 2004), *Malaleuca alemifolia* (Calcabrini *et al.*, 2004), *Crotons flavens* (Sylvestre *et al.*, 2005) et *Artemisia annua* (Li *et al.*, 2004).

6-2- Activités cytotoxiques du genre *Senecio*

L'huile essentielle de *Senecio leucanthemifolius* possède une activité cytotoxique importante sur les cellules cancéreuses du col de l'utérus humain, avec un $IC_{50} = 1.158 \mu\text{l/ml}$ (Ouchbani *et al.*, 2011).

L'huile essentielle de diverses parties de *Senecio graciliflorus* a été étudiée dans un essai contre un panel de 4 lignées cellulaires cancéreuses humaines, du poumon, de la leucémie, de la prostate et du colon. L'huile essentielle de feuilles de *Senecio graciliflorus* s'est révélée être la plus puissante contre les cellules cancéreuses du poumon ($IC_{50} = 19,1 \pm 0,9 \mu\text{g} / \text{ml}$) suivie d'huile de racine contre la même lignée cellulaire avec IC_{50} de $21,3 \pm 1,1 \mu\text{g} / \text{ml}$ (Lone *et al.*, 2014).

S. gravesolens est couramment utilisé pour ses propriétés médicinales, l'effet cytotoxique de l'extrait alcoolique de *S. graveolens*, ainsi que son composé le plus abondant 4-hydroxy-3- (3-méthyl-2-butényl) acétophénone, a été testé sur les lignées cellulaires de cancer du sein ZR-75-1, MCF-7 et MDA-MB-231 et des cellules MCF-10F non tumorigènes, ces extraits éthanolique possèdent une activité anticancéreuse et un effet cytotoxique spécifique sur les cellules cancéreuses, servant ainsi de source potentielle pour le traitement du cancer (Echiburu-Chau *et al.*, 2014).

L'extrait de n-hexane de *Senecio stabianus* Lacaïta (*Asteraceae*) possède une activité intéressante avec des valeurs IC_{50} de 62,7 et 71,1 $\mu\text{g} / \text{ml}$ contre le mélanome amélanotique et le carcinome de la prostate, respectivement. Deux composés sont identifiés dans l'extrait de n-hexane, le linalol et le β -caryophyllène, ont été trouvés actifs contre les cellules cancéreuses avec des valeurs de IC_{50} : 23,2 et 20,1 $\mu\text{g} / \text{ml}$, respectivement (Tundi *et al.*, 2009)

L'huile essentielle de *Senecio graciliflorus* possède un puissant effet cytotoxique due à l'effet synergique de ces principaux constituants de l' α -pinène, de l'ocimène et du caryophyllène. En plus des constituants majeurs, mais certains constituants mineurs peuvent également contribuer à la bioactivité observée (Wang *et al.*, 2008).

L'activité cytotoxique de l'huile essentielle de *S. pterophorus* de la région de Tongaat et de Gingindlovu, (Afrique de sud) a été testée contre les oeufs de crevettes (*Artemia salina*), Cette huile essentielle est présentée une cytotoxicité significative avec un IC50 varie de 12,15-13,23 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (Lawal *et al.*, 2016).

CHAPITRE II:

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

1- Matériels végétales

Les échantillons de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* ont été récoltés au mois de juin 2015 à Ain Roua (Sétif) et Souk Lethenine (Bejaia) respectivement (Figure 6).

Pour l'extraction des huiles essentielles et l'étude anatomique nous avons récolté les différentes parties des plantes en plein stade de floraison (racine, tige, feuille et inflorescence) et pour l'étude caryologique nous avons prélevé des méristèmes racinaires à partir des graines germés. La détermination des espèces a été facilitée par l'utilisation de la flore de Quezel et Santa (1962-1963).

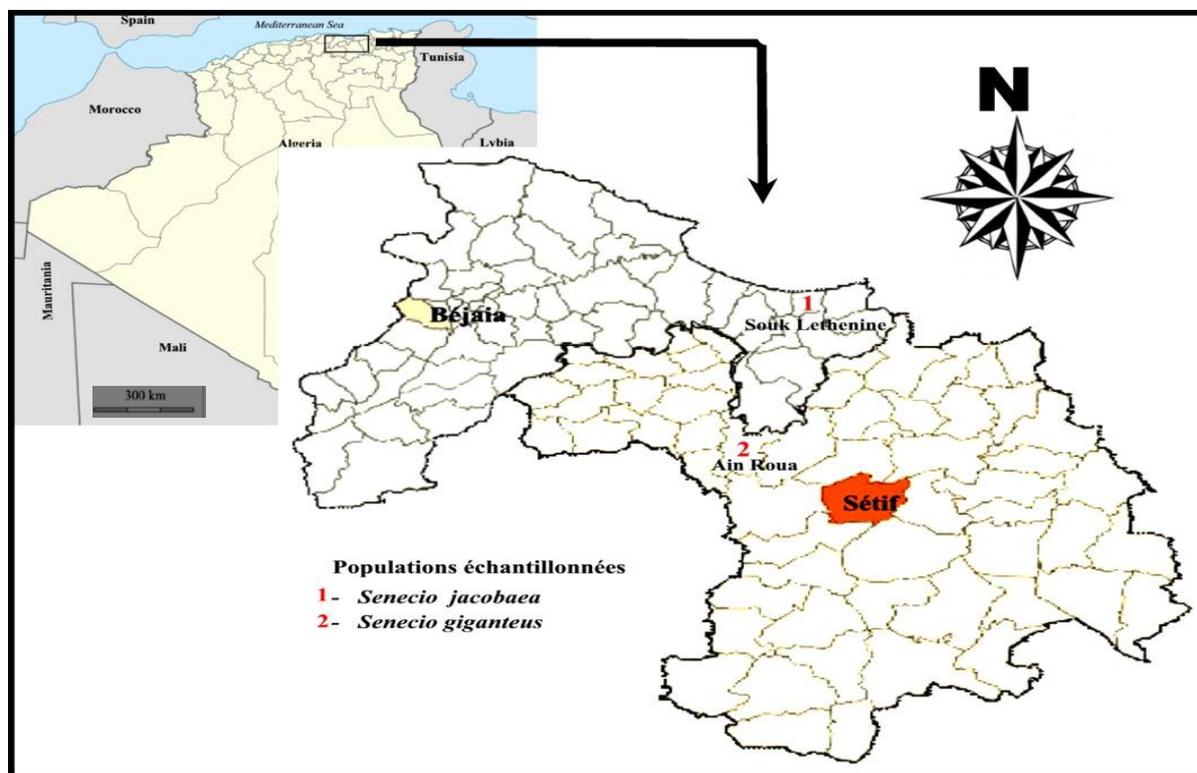


Figure 6: Zone d'échantillonnage des deux espèces de *Senecio*

1- 1- Description botanique des espèces étudiées

1- 1- 1- Description botanique de *Senecio giganteus* Desf.

Nom commun: le séneçon géant

Synonyme: *Jacobaea gigantea* (Desf.) Pelser

Senecio giganteus est une plante endémique Nord-Africaine de 1 à 2 m, ses tiges sont cannelées et atteignent 2 cm de diamètre à feuille blanchâtres en dessous, Les feuilles inférieures diffèrent des feuilles supérieures, les inférieures sont très grandes (atteignant 30-40cm), lyrées pinnatifides, à lobe terminal très grand. Tandis que les supérieures sont lancéolées et oblongs. Les folioles du calice sont linéaires et la corolle est jaune. Elle possède de nombreuses fleurs, réunies en un corymbe très ample et étalé, avec des capitules médiocres pour la taille, le calicule est presque nul et les akènes sont très petits, glabres ou papilleux. (Figure 7) (Quézel et Santa, 1962-1963).



Figure 7: *Senecio giganteus* Desf. De la région Ain Roua, Sétif

Cette espèce est une endémique Nord-Africaine, elle pousse aux bords des eaux, lieux humides des plaines et surtout des montagnes du Nord-Africain (Algérie, Tunisie), jusqu'à 2000m d'altitude durant les saisons de Mai- juillet, Elle est commune dans les ruisseaux du Tell algérien.

1- 1- 2- Description botanique de *Senecio jacobaea* L.

Nom commun: séneçon jacobée, séneçon de Jacob, Herbe de Saint-Jacques

Nom vernaculaire: Debbouz El-Arab

Synonyme: *Jacobaea vulgaris* Gaertn

Senecio flosculosus Jord.

Senecio foliosus Salzm.

Senecio jacobaeoides Willk.

Senecio nemorosus Jord.

Senecio praealtus subsp. foliosus

C'est une plante glabre ou pubescente d'une hauteur de 0,50-1,20m, possède des tiges striées, ne dépassant pas 5-7 mm de diamètre, ces feuilles sont vert foncé; les inférieures sont pétiolées et profondément lyrées à lobe terminal très grand et arrondi et les supérieures sont sessiles et irrégulièrement laciniées (Figure 8).

L'inflorescence est constituée de capitules. Les capitules sont jaunes, médiocres et regroupés en corymbes au sommet des tiges fleuries à rameaux divariqués-horizontaux, les capitules comptent les plus souvent 13 ligules, bien que ce chiffre puisse varier de 10 à 13.

Le calicule est presque nul et les fruits sont des akènes en extérieurs glabres et ceux du disque glabres ou finement pubescents. Ils ont une forme cylindrique linéaire et possèdent une aigrette sessile à soies filiformes (Quezel et Santa, 1962- 1963).

C'est une plante herbacée originaire d'Europe, d'Asie et de la Sibérie, elle est largement répandue, de la Scandinavie à la Méditerranée, elle est abondante dans les terrains vagues, bords de chemins et de pâturages. En Algérie, elle est commune dans les marais du Tell (Quezel et Santa, 1962-1963; Roder, 1995).



Figure 8: *Senecio jacobaea* L. de la région de Souk Elthenine, Bejaia

Position systématique de *S. giganteus* et *S. jacobaea* selon APG III (Chase et Reveal 2009) :

Clade	Angiospermes
Clade	Eudicotylédones
Clade	Astéridées
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Senecio</i> L
Espèce 1	<i>Senecio giganteus</i> Desf
Espèce 2	<i>Senecio jacobaea</i> L.

2- Méthodes

2- 1- Etude histologique des racines, tiges et feuilles de *S. giganteus* et *S. jacobaea*

Les coupes histologique transversales sont réalisées sur les racines, tiges et feuilles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* à main levée (c'est à dire sans appareillage compliqué), cette opération consiste à inclure l'organe mou dans un cylindre de moelle de sureau. Ensuite, on coupera des tranches fines de l'ensemble (moelle + organe), et on jettera les coupes de moelle pour garder les coupes d'organes. La moelle doit être tranchée en deux, puis faire éventuellement une rainure avec l'ongle pour placer l'organe, afin d'éviter de l'écraser. Il faut faire de nombreuses coupes, et les traiter ensemble jusqu'à la coloration selon le tableau 4.

Tableau 4: Protocole de préparation des coupes histologiques

liquide	Fonction	Durée conseillée
Eau de Javel	destruction du contenu cellulaire	15 minutes
eau	Rinçage	5 minutes
solution d'acide acétique	mordantage (aide à la fixation des colorants)	5 minutes
vert d'iode	coloration en vert de la lignine, de la subérine, de la cutine ; si l'action du vert d'iode est trop prolongée, toutes les parois sont colorées.	7 minutes
Eau	Rinçage	30 secondes
carmin aluné	coloration en rose de la cellulose des parois	5 minutes
Eau	rinçage pour arrêter la fixation du colorant	30 secondes

Certaines coupes auront l'ensemble de l'organe, mais seront trop épaisses pour une observation au fort grossissement, on les utilise pour le faible grossissement. Certaines coupes seront assez fines pour l'observation au fort grossissement, mais n'auront pas la totalité de l'organe. La coupe doit être faite avec une lame de rasoir, si possible neuve et bien tranchante. Pour bien couper, il faut que le mouvement de la lame soit oblique par rapport à l'objet et surtout ne pas diriger la lame vers le centre de l'objet, car on l'écraserait au lieu de le couper.

Les observations des coupes transversales des racines, tiges et feuilles sont effectuées au microscope de recherche Zeiss; sous différents grossissements selon le type de tissu ou la partie étudiée.

2- 2- Technique caryologique

L'étude caryologique est effectuée sur des méristèmes racinaires prélevés à partir des graines germés de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*; dont l'analyse cellulaire révélerait le plus grand nombre de mitoses possibles selon la technique d'écrasement (Squash):

2- 2- 1- Germination

Les semences sont mises à germer sur du papier filtre saturé d'eau distillée dans des boîtes de pétri. Le but des cultures est de permettre le prélèvement de pointes de racine dont l'analyse cellulaire révélerait le plus grand nombre de mitose possibles. Des essais comparatifs sont réalisés en fonction des différents paramètres, de température (22°C, 27°C), de lumière du jour et d'obscurité totale.

Nous avons remarqué que la totalité des germinations des graines de l'espèce *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* se font au 4^{ème} jour de la mise en germination. La capacité germinative de ces espèces est de 90 à 100% à des températures variant de 22°C à 27°C, alors que le taux de germination est faible et ne dépasse pas 20% à des températures inférieures à 22°C. Les graines de toutes les espèces étudiées présentent un bon pourcentage de germination aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité.

2- 2- 2- Prétraitement

Le prétraitement consiste à prélever des pointes de racines avec les zones méristématiques et les mettre dans une solution antimitotique saturée.

Nous avons utilisé la colchicine à une concentration de 0,05% qui inhibent la formation du fuseau achromatique et retardent la division du centromère, ce qui entraînera l'éparpillement des chromosomes dans la cellule.

Les pointes de racines de 1cm sont immergées dans la colchicine à 0,05% pendant une 1h 30 mn, à température ambiante et à l'obscurité (la colchicine est la substance la moins toxique parmi les substances antimitotiques).

2- 2- 3- Fixation

Le but de fixation est d'empêcher toute activité cellulaire ultérieure en tuant les cellules sans les altérer. De plus, la fixation améliore le contraste entre les chromosomes et le fond cytoplasmique (Jahier *et al.*, 1992).

Il y'a plusieurs fixateurs, certains assurent en même temps que la fixation un mordantage de la préparation et peuvent être suivis d'un traitement de maturation approprié.

Dans cette étude nous avons utilisé le fixateur de Farmer et Moore (1905), Ethanol-acide acétique glacial (3v :1v), ce fixateur assure en même temps que la fixation un mordantage de la préparation. On peut accroître la proportion d'alcool au-delà de 3 jusqu'à 9, dans ce cas la fixation est plus rapide et les images de métaphase deviennent plus nombreuses. Les racines sont maintenues dans le fixateur au moins 24h à une température de -4°C.

2- 2- 4- Maturation

Pour les racines destinées à être colorées par l'orcéine-acétique, la maturation se fait dans l'acide acétique à 45% pendant 10 à 15 minutes et à température ambiante, la maturation a pour effet de faciliter la pénétration du colorant et l'écrasement des racines (Squash).

2- 2- 5- Coloration et Technique d'écrasement (Squash)

Nous avons coloré à l'orcéine acétique, L'orcéine a l'avantage de ne pas colorer les nucléoles, ni les membranes nucléaires, ni le cytoplasme; seuls les chromosomes en mitose prennent la coloration et ils n'ont pas tendance à se "surcolorer" comme c'est fréquemment le cas avec le Carmin.

*- Préparation de l'orcéine acétique (Jahier *et al.*, 1992)

Dissoudre 2,2 g. d'orcéine dans 100ml d'acide acétique pur cristallisable à chaud, faire bouillir doucement, laisser refroidir et filtrer (solution I). Conserver à l'abri de la lumière. Au moment de l'emploi, on prend 4,5ml d'orcéine acétique (solution I) on y ajoute 5,5ml d'eau distillée (Solution II). Pour la coloration on prend 9ml de la solution II et on ajoute 1ml d'HCl normal (Solution III), le montage se fait dans la solution II.

*- Technique d'écrasement (Squash)

On place les pointes des racines dans un verre de montre en pyrex contenant de l'orcéine acétique (Solution III), et on chauffe au bec Bunsen jusqu'à émission de vapeurs blanches, puis prolonger le chauffage pendant une minute, laisser refroidir puis on place le méristème radiculaire dans une goutte d'orcéine (solution II) et on écrase fortement avec le pouce (Squash) perpendiculairement à la lamelle en faisant attention de ne pas la déplacer latéralement. Les préparations sont conservées au réfrigérateur jusqu'au moment de l'observation.

2- 2- 6- Observation et photographie

Les observations sont effectuées au microscope de recherche Zeiss; objectifs 10X, 40X et HI 100X et oculaire 10X. Le comptage des chromosomes est fait sur des plaques métaphasiques les mieux étalées puis photographiées au photo-microscope Zeiss.

2- 3- Extraction des huiles essentielles

La partie aérienne de la plante (feuilles, tige et fleurs) est séchée à l'air libre, et à l'abri de la lumière puis broyer grossièrement dans le but de l'extraction des huiles essentielles.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Figure 9) qui se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. L'appareil se compose d'un ballon qui sert comme un récipient pour le matériel végétal, porté sur un chauffe-ballon électrique. Ce ballon est surmonté par une colonne verticale terminée par une ouverture, un réfrigérant

menu d'une voie d'admission et deux voies d'évacuation d'eau. Un robinet et une ouverture pour permettre le maintien du niveau de liquide dans le dispositif.



Figure 9: Dispositif d'extraction de type Clevenger

L'opération consiste à introduire 300g de matériel végétal frais (coupé en petit morceau) dans le ballon, on y ajoute une quantité suffisante (3-4 litre) d'eau distillée, le mélange est porté à ébullition, les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition. L'huile ainsi obtenue est récupérée et séchée avec du sulfate de sodium anhydre et conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5C°).

Le rendement des huiles essentielles se calcule par le rapport entre la masse de l'huile essentielle extrait et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = (M_{HE} / M_{MV}) \times 100$$

R: Rendement de l'extraction en %

M_{HE} : masse de l'huile essentielle extraite en (g)

M_{MV} : masse de matière végétale séchée et laminé en (g)

2- 4- Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chimique des huiles essentielles est réalisée dans le laboratoire de l'École d'ingénieurs SIGMA Clermont (France).

L'analyse d'un mélange complexe de composés volatils s'effectue classiquement par le couplage d'une technique chromatographique, généralement la Chromatographie en phase gazeuse (CPG), avec une technique d'identification spectrale, généralement la Spectrométrie de Masse (SM), elle est privilégiée lors de la réalisation d'analyse « de routine » d'un échantillon dont les constituants ne présentent pas de difficultés d'identification, cette méthode est constitué maintenant l'équipement de base des laboratoires de recherche et même de contrôle.

La technique d'analyse est généralement désigné sous le terme abrégé (CG/SM), elle est aujourd'hui à son apogée et trouvé des applications dans les domaines aussi varié que l'industrie alimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement.

2- 4- 1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La Chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est la technique de séparation la plus couramment employée dans l'étude des huiles essentielles qui permet l'identification des constituants et d'obtenir une valeur approximative des concentrations respectives. Cette méthode permet également de séparer de faibles quantités des différents composants de l'huile essentielle.

Les échantillons sont analysés sur deux colonnes capillaires de polarité différente, afin d'avoir une meilleure précision possible dans l'identification des constituants, l'identification des constituants volatiles des huiles essentielles est réalisée au moyen de la CPG couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) et la détermination quantitative a été faite sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG/FID).

2- 4- 2- La spectrométrie de masse

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe.

Depuis 1975 et l'apparition des premiers appareils de CG/SM de routine, les performances du couplage d'une technique chromatographique qui individualise les constituants d'un mélange et d'une méthode spectroscopique qui identifie les constituants n'ont cessé d'évoluer et de trouver de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire (aliments, eau), la pétrochimie (carburants, matières synthétiques), les produits naturels (parfumerie, cosmétique, médecine) mais aussi des domaines non marchand tel que la justice.

La chromatographie en phase gazeuse autorise le couplage de toute une série de détecteurs différents qui permettent d'avoir une vision multiple d'un seul produit. Le développement important de la spectrométrie de masse (SM) dans l'identification des constituants des huiles essentielles est rendu possible grâce au couplage du CPG directement à la spectrométrie de masse. Lors du couplage, la chromatographie (CPG) permet dans un premier niveau de séparer et d'isoler chacun des constituants du mélange qui est injecté séparément dans la chambre d'ionisation de la spectrométrie de masse. Grâce à cette innovation importante, la spectroscopie de masse est devenue la technique la plus sensible pour obtenir des données importantes sur la structure de composés organiques inconnus.

L'identification des composants a été basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la banque de spectres de masse NIST (Masada, 1976; Nist, 2002) et ceux décrits par Adams, ainsi que sur la comparaison de leurs indices de

rétenion soit avec ceux des composés authentiques ou avec des valeurs de la littérature (Adams, 1989).

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/MS. Chromatographe Hewlett-Packard HP 5890 couplé à un spectromètre de masse HP 5975.

Conditions opératoires

Colonne: DB5 MS: (30m x 0,25mm), (épaisseur de film: 0,25m)

Gaz vecteur :Hélium: 1.0 mL/min

Energie d'ionisation: 70eV

Température de l'injecteur: 250°C

Température du détecteur: 280°C

Programmation du four : 50°C (5min), 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C

Injecteur mode split : (1: 30)

Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme CPG/FID. Chromatographe Hewlett-Packard HP 5890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Conditions opératoires

Colonne: DB5 : 30m x 0,25mm, épaisseur de film 0,25um

Gaz vecteur : Hydrogène: 1mL/min

Température de l'injecteur: 280°C

Température du détecteur : 300°C

Programmation du four: 50°C (5min), 5°C/min de 50° à 300°C ,5min à 300°C

Injecteur mode split : (1: 30)

En effet, dans les conditions de programmation de température constantes au CPG, le temps de rétenion d'un composé reste également constant. Mais, en pratique, les conditions d'analyse varient beaucoup et, pour cette raison, le temps de rétenion seul ne serait fiable. Avec l'introduction du système des indices de Kovats, l'identification des différents composés des huiles essentielles est devenue plus pratique. Le calcul des indices de Kovats se fait en utilisant les temps de rétenion corrigés des deux alcanes qui encadrent le composé. Ces indices expriment la rétenion

d'un produit comparé à son homologue hydrocarbure linéaire, examiné dans les mêmes conditions de température.

2- 4- 3- Les indices de rétention

L'indice de rétention est une grandeur caractéristique de chaque composé et dépend du type de colonne. Deux types de phases stationnaires sont généralement utilisés: Sur colonne apolaire, les composés sont élués approximativement dans l'ordre de leur point d'ébullition. Une colonne imprégnée d'une phase stationnaire polaire retiendra préférentiellement les composés les plus polaires qui seront caractérisés par des temps de rétention et par conséquent des indices de rétention plus élevés.

2- 4- 4- Calcul des indices de KOVATS

Les indices de rétention (ou indices de Kovats) ont été calculés par comparaison des temps de rétention (TR) avec ceux d'une série d'alcane permettant un étalonnage du chromatogramme. Un mélange d'alcane de C5 à C22 a été injecté en CPG dans les mêmes conditions opératoires que celles des huiles essentielles. L'indice de rétention linéaire est défini par la formule suivante:

$$IR = 100n + \frac{(TR(A) - TR(Cn))}{(TR(Cn+1) - TR(Cn))} \times 100$$

- IR : Indice de rétention
- A : composé inconnu,
- TR(A) : temps de rétention du composé inconnu
- TR(Cn) : temps de rétention de l'hydrocarbure à n atomes de carbone précédant immédiatement le composé ;
- TR (Cn+1) : temps de rétention de l'hydrocarbure à n+1 atomes de carbone suivant immédiatement le composé ;

Ces indices expérimentaux sont ensuite comparés à ceux de la littérature ainsi qu'à ceux des banques de données du laboratoire pour confirmation.

2- 4- 5- Technique statistique Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA)

L'UPGMA est le nom d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique. Cette méthode permet la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné. C'est la méthode la plus simple de construction d'arbre. A l'origine elle a été développée pour construire les phénograms taxonomiques (arbres qui reflètent les similitudes phénotypiques entre unités taxonomiques), mais elle est employée aussi pour construire les arbres phylogénétiques si les taux d'évolution sont approximativement constants parmi les différentes lignées.

2- 5- Activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* est réalisée par la méthode de diffusion de disque sur des souches de référence, Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, la méthode de diffusion de disque est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Elle consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique ou substance diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine une zone d'inhibition en fonction de la concentration de l'antibiotique ou de la substance. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (Figure 10) (Fauchère et Avril, 2002).

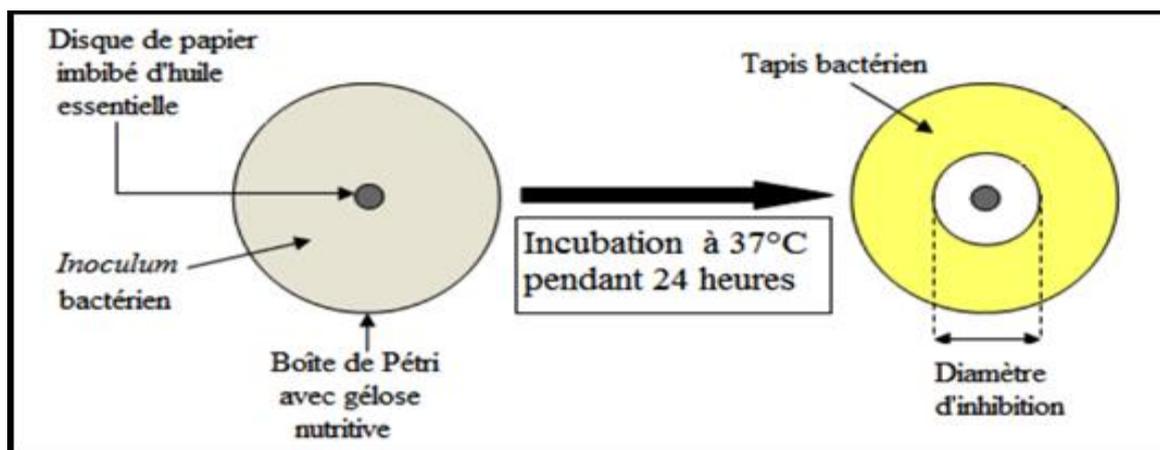


Figure 10: Principe de la méthode de diffusion de disque.

2- 5- 1- Souches microbiennes

Cinq souches bactériennes sont utilisées, Une Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 2592), quatre gram négative (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Shigella sp*) et une levure (*Candida albicans*). Un test bactéricide et bactériostatique a été aussi effectué sur les cinq souches bactériennes avec l'huile essentielle pure des deux espèces.

2- 5- 2- Milieu de culture

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne, la gélose Mueller Hinton a été utilisée. En effet il s'agit d'un milieu non sélectif et qui comporte des ions favorisant une bonne diffusion des antibiotiques. La gélose de Muller Hinton stérile a été coulée dans des boites de pétrie stériles de 90 mm de diamètre, l'épaisseur de la gélose doit être de 2 mm, répartie puis séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi. Avant solidification de la gélose, les boites ont été disposées sur une surface plane afin d'assurer une bonne uniformisation de la surface de la gélose.

2- 5- 3- Préparation de l'inoculum

Les bactéries à tester ont été ensemencées sur des boites de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches bactériennes utilisées puis incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Après ce temps d'incubation, 1 à 2 colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques sont

prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis émulsionnées dans un tube contenant 2 ml d'eau physiologique puis agiter au vortex. La densité de l'inoculum a été ajustée à 0,5 Mc Farland grâce à un DENSIMAT, pour effectuer un tapis bactérien homogène (ni concentré ni mince).

2- 5- 4- Ensemencement

A l'aide d'un écouvillon stérile. Les bactéries sont ensemencé dans les boites de Pétri, de chaque suspension bactérienne préalablement préparée, ils sont distribués distinctement sur des boites gélosées de Mueller-Hinton puis homogénéisés dans tous les sens de sorte à couvrir toute la surface de la boite gélosée.

La suspension bactérienne est laissée au contact de la gélose pendant 1 mn puis l'excès de suspension est prélevé à l'aide d'une pipette pasteur stérile surmontée de poire. Les boites de gélose ainsi ensemencées sont laissées pendant 15 mn à la température du laboratoire.

2- 5- 5- Dépôt de disque

A l'aide d'une pince flambée au Bec Bensen, des disques stériles (6 mm) ont été placés sur la boite gélose précédemment ensemencée, remplis de 10 µl de solution mère et d'huile essentielle diluée (1/1, 1/2, 1/5 et 1/10, v/v de DMSO). Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif, La boite gélosée ainsi préparée est maintenue à la température du laboratoire pendant 30 mn afin de permettre la pré-diffusion. Ensuite, elle a été incubée à 37°C pendant 24 heures pour la lecture.

Trois antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatoigrammes, c'est-à-dire, disposé un disque d'antibiotique (CS: gentamicine, CN: céfotaxine, CTX: colistinsulfate) dans des boites de pétri pour chaque type de bactérie et de levure qui vont servir de témoin. Le test est répété trois fois pour avoir des résultats fiables.

2- 5- 6- Lecture

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et documentés.

2- 6- Cytotoxicité des huiles essentielles sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7

Les tests de cytotoxicité cellulaire ont été mis au point comme méthode alternative à la manipulation sur les animaux (rongeurs, lapin, cochon,...). De nos jours, dans nombreuses firmes de biotechnologie et dans nombreuses publications, les scientifiques ont recours à ces tests afin de valider de nouvelles molécules. Historiquement, la viabilité des cellules au cours d'un test de cytotoxicité se mesurait par incorporation de nucléotides marqués dans l'ADN. Cependant, l'évolution des techniques s'accompagnant de plus en plus de contraintes sécuritaires pour les manipulateurs et l'environnement, des méthodes de substitution utilisant des réactifs non radioactifs ont été mises au point.

Dans cette étude, nous avons mesuré l'effet cytotoxique des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* sur la prolifération des cellules cancéreuses mammaires humaines MCF-7, en suivant la technique de fluorescence en utilisant la résazurine. Cette technique est réalisée dans le laboratoire de Sciences Végétales et Fongiques à la faculté de pharmacie à l'Université Clermont Auvergne (France).

2- 6- 1- Cellules cancéreuses mammaires

La mesure de la prolifération est effectuée sur la lignée de cellules cancéreuses mammaires appelée MCF-7, cellule épithéliales dérivant d'un adénocarcinome de sein. MCF-7 est l'acronyme de Michigan Cancer Foundation-7, en référence à l'institut de Détroit où la lignée fut établie (Soule, 1973). Cette lignée est une des lignées les plus utilisées dans les laboratoires spécialisés dans la cancérologie du sein. Elle est obtenue auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC® HTB22™). Tous les trois mois, une vérification de l'absence de contamination par les mycoplasmes (MycoAlert™ PLUS Mycoplasma Detection Kit, LONZA) est effectuée. La lignée possède à la fois les récepteurs aux estrogènes et ceux à la progestérone (Fiche technique *American Type Culture Collection*, 2016).

Les cellules MCF-7 sont cultivées (37°C, 5% de CO₂, sous atmosphère humide) dans du milieu RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium), additionné

d'insuline humaine (0,04 UI/mL), de Sérum de Veau Fœtal (SVF) décomplémenté (10%), de L-Glutamine (L-Gln) (2 mM) et de gentamycine (50 µg/mL).

2- 6- 2- Ensemencement et traitement

Les cellules MCF-7 sont ensemencées dans des plaques 96-puits à une concentration de 10 000 cellules/puits et mises à incuber à l'étuve à 37°C, sous atmosphère humide en présence de 5% de CO₂. Au bout de 24 heures, les cellules sont mises en présence de différentes concentrations d'huile essentielle (0,04%, 0,02%, 0,01% et 0,005%).

Pour chaque huile essentielle un témoin DMSO est réalisé. La concentration en DMSO dans ce témoin correspond à la concentration de DMSO présente dans l'échantillon le plus concentré en huile essentielle (0,04%). Les plaques sont ensuite mises à incuber dans les mêmes conditions pendant 72h.

La mesure de la prolifération cellulaire est réalisée indirectement par une technique de fluorescence en utilisant la résazurine. Après 72 heures d'incubation, le milieu de culture est substitué par une solution de résazurine à 25 µg/ml. Seules les cellules métaboliquement actives ont la capacité de réduire la résazurine en résorufine fluoresçant à 590 nm (Figure 11).

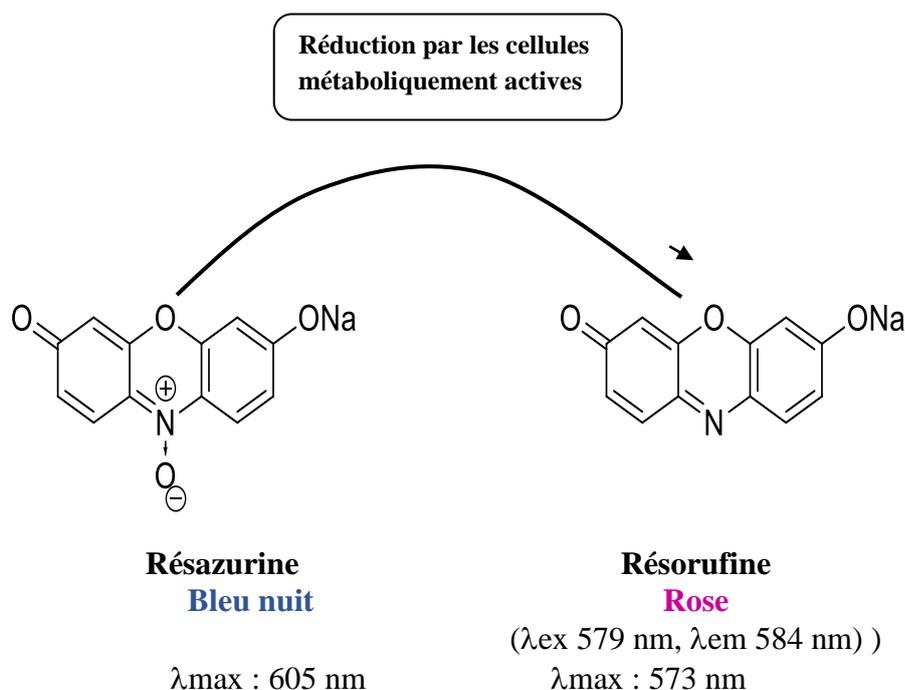


Figure 11: Réduction de la résazurine

L'intensité de fluorescence est ainsi proportionnelle au nombre de cellules viables. La fluorescence est ensuite mesurée grâce à une lecture de plaque; Fluoroskan Ascent FL (Thermo Fisher Scientific, Electron Coporation, France) à 590 nm (Figure 12).



Figure 12: Le Fluoroskan Ascent FL

2- 6- 3- Intensité de fluorescence

L'intensité de fluorescence obtenue après lecture au Fluoroskan Ascent FL (exprimée en unité arbitraire) est convertie en pourcentage d'inhibition de la prolifération par rapport à la prolifération des cellules témoins (témoin DMSO ; nous avons établi que le DMSO n'a aucune influence sur la prolifération des cellules, ceci en comparant avec un témoin sans DMSO réalisé dans les mêmes conditions).

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = 100 - \left(\frac{\text{Fluorescence de l'huile essentielle}}{\text{Fluorescence de témoin (DMSO)}} \right) * 100$$

Lorsque cela est possible, Pour chaque huile essentielle, une concentration inhibitrice médiane IC50 est calculée, les résultats sont présentés sous la forme ; moyenne \pm ESM (Ecart standard à la moyenne).

2- 6- 4- Mode opératoire

***- 1^{er} jour : Ensemencement des cellules**

Ensemencement des cellules

La première étape consiste à préparer le milieu de culture complet qui se compose de RPMI additionné d'insuline humaine, de 10% de sérum de veau fœtal (SVF) et de 1% de Gln (glutamine).

La flasque T75 dans laquelle se trouvent les cellules MCF-7 est récupérée à l'incubateur. Les cellules MCF-7 étant adhérentes, son milieu de culture est aspiré à l'aide d'une pipette branchée sur une pompe,

Ensuite, le tapis cellulaire est rincé avec 5 ml de tampon phosphate (phosphate buffered saline, PBS). Celui-ci est aspiré puis les cellules sont mises en présence de 2 ml de trypsine pendant 3 minutes à 37°C pour décoller les cellules de la flasque. Ensuite, on ajoute 4 ml de PBS-10% SVF afin d'inactiver la trypsine.

La suspension cellulaire est récupérée dans un falcon de 15 mL puis passée à la centrifugeuse pendant 7 min à 1000 rpm. Le surnageant est aspiré. Le culot cellulaire est repris dans 4 ml de PBS-10% SVF.

Les cellules sont ensuite comptées sur une lame de Malassez (plaque de microscope quadrillée). Pour cela, 10 µl de la suspension cellulaire est mélangé avec 90 µl de bleu de trypan, avant d'être déposé, après homogénéisation, sur une lame de Malassez. Cette étape se fait en double pour un double comptage. Les cellules sont comptées en multipliant le nombre total des cellules viables sur une lame par 10 (facteur de dilution) et par 1000 (pour obtenir le nombre de cellules par ml) et par 4 (volume utilisé pour suspendre les cellules).

A partir du double comptage, la suspension cellulaire de MCF-7 est préparée à la concentration souhaitée avec le milieu de culture complet qui préparé auparavant.

La suspension cellulaire est ensemencée dans des plaques de 96 puits (plaque test avec traitement par les huiles essentielles et plaque t0 comme témoin) à raison de 10 000 cellules dans un volume de 200 µl par puits. Les plaques sont mises dans l'incubateur (24 h à 37 °C, air humidifié, 5% CO₂).

Sur une plaque 96-puits, il y a la possibilité de tester 1 seule huile à 4 concentrations différentes séparées par des colonnes d'eau pour éviter les effets de bords et 1 colonne témoin (DMSO).

***- 2^{ème} jour: Lecture de la plaque t0**

Cette étape consiste à mesurer la prolifération des cellules MCF-7 dans la plaque t0 à l'aide de la solution de résazurine diluée au 1/50 dans du PBS-10% SVF par lecture au Fluoroskan, (programme Résa-96) après 24h de culture afin de vérifier leur bonne prolifération.

- Traitement des cellules avec les différentes concentrations des huiles essentielles

Pour chaque huile essentielle, une solution mère à 1% dans du PBS doit être préparée (5ul d'huile essentielle + 5ul DMSO+ 490 µl PBS). A partir de celle-ci les concentrations d'huiles essentielles testées sont préparées par dilution (0,04%, 0,02%, 0,01% et 0,005%) dans un milieu RPMI complet selon la figure 13:

Il faut ensuite répartir 200 ul de chaque concentration d'huile essentielle par puits et 200 µl de témoin dans la colonne contrôle puis distribuer 100 ul d'eau dans les puits en périphérie et entre les colonnes d'huile essentielle. Les plaques sont mises à incuber 72h à 37°C (air humidifié, 5% CO₂).

***- 5^{ème} jour: La Lecture**

Après 72 h d'incubation, la prolifération des cellules est mesurée à l'aide de la solution de résazurine diluée au 1/50 dans du PBS-10% SVF avec le Fluoroskan, programme Résa-96.

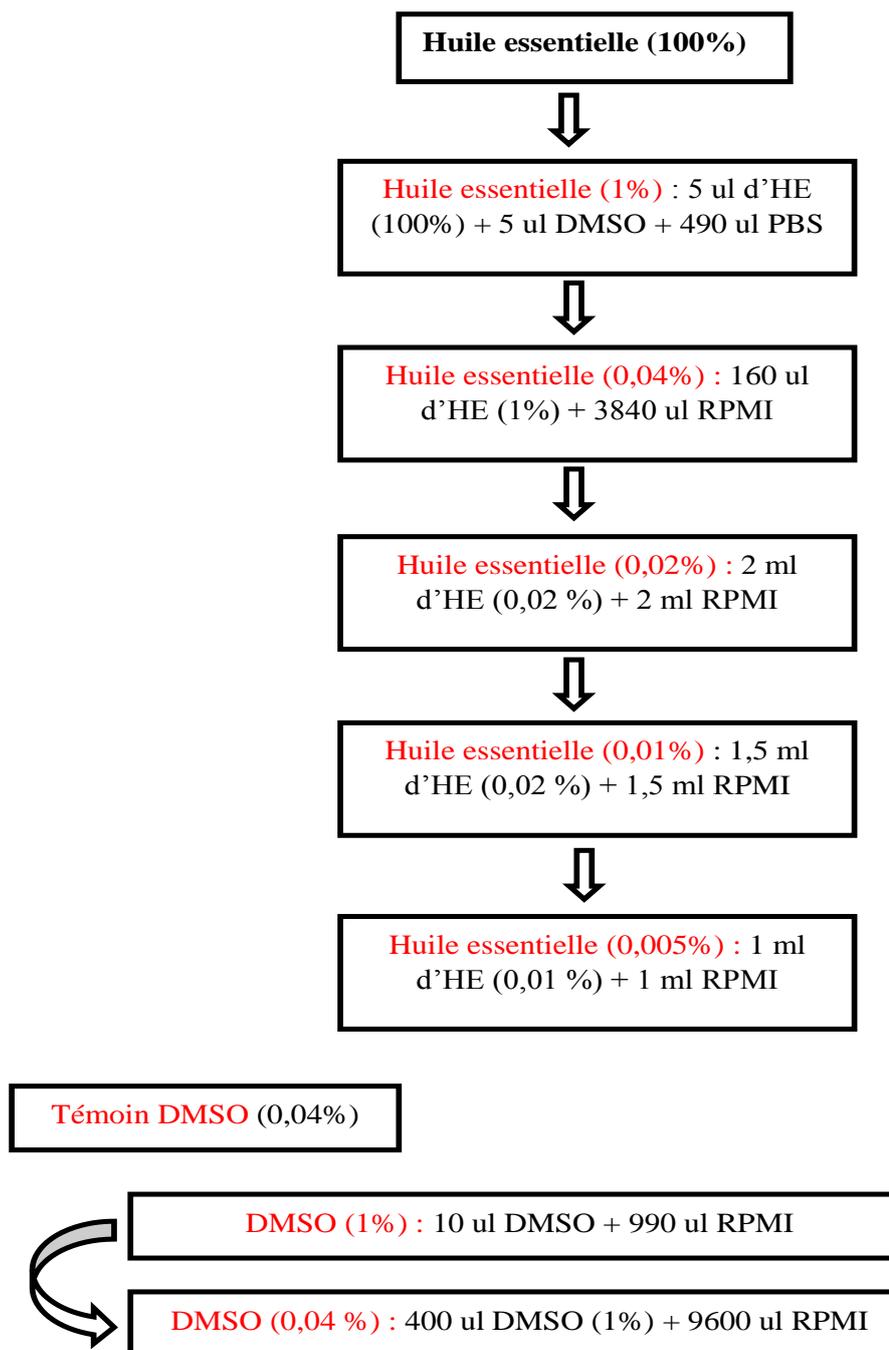


Figure 13 : Schéma de la gamme de criblage des huiles essentielles

CHAPITRE III:
RESULTAT ET DISCUSSION

CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

1- Etude histologique de *S. giganteus* et *S. jacobaea*

L'étude histologique des racines, tiges et feuilles fraîches de deux espèces du genre *Senecio* a été effectuée à main levée, les résultats montrent une différence nette entre les différentes parties.

1-1- Histologie de la racine

La coupe transversale des racines de *S. giganteus* et *S. jacobaea* montre une similitude en terme de nombre des tissus trouvés (Figure 14, 15). Elle nous permet d'observer deux cylindres (le cylindre cortical et le cylindre central). Ces derniers sont constitués d'un épiderme, d'un parenchyme cortical, d'un tissu vasculaire et d'un parenchyme médullaire (moelle).

L'épiderme de la racine de *S. giganteus* est constitué de deux rangées de petites cellules compactées, le même nombre de rangées cellulaires est observé dans l'épiderme de la racine de *S. jacobaea* mais avec des cellules plus grandes, l'épiderme des deux racines ne contient pas d'espaces interstitiels et porte sur leur surface des poils absorbants qui sont plus nombreux dans la racine de *S. giganteus* que celle de *S. jacobaea*. Le cortex racinaire de *S. giganteus* est constitué d'environ 22 à 25 rangées des petites cellules parenchymateuses, on observe au niveau du parenchyme la présence des points foncés, ce qui implique que l'espèce possède un parenchyme amylofère spécialisé dans le stockage (Figure 14).

La racine de *S. jacobaea* contient un cortex composé de 13-14 rangées de grandes cellules parenchymateuses. Elle possède un parenchyme méatique constitué de cellules isodiamétriques présentant entre elles des méats (Figure 15). La dernière couche des cellules de parenchyme cortical est épaissie et forme une sorte de barrière dans la racine dans les deux espèces, c'est l'endoderme.

La deuxième région est le cylindre central, elle est composée par les tissus conducteurs (xylème et phloème) et par la moelle. Le système vasculaire des deux espèces de *Senecio* est formé par un xylème, qui occupe la plus grande partie de la racine, et par le phloème, disposé en quelques couches, entourant le xylème.

S. giganteus possède huit (8) faisceaux conducteurs, alors que le nombre des faisceaux conducteurs de *S. jacobaea* est de quatre (4). Le centre de la racine des deux espèces, est composé d'un parenchyme médullaire forme la moelle (Figure 14, 15).

1-2- Coupe histologique au niveau de la tige

L'étude histologique des tiges des *S. giganteus* et *S. jacobaea* montre que les deux tiges sont différenciés en quatre zones selon la couleur et la forme des cellules. Ces zones sont l'épiderme, le parenchyme cortical (cortex), les faisceaux conducteurs (phloème et xylème) et la moelle (Figure 16, 17).

L'épiderme de la tige de *S. giganteus* est composé de deux rangées avec une couche mince de cuticule, et contient sur leur surface des trichomes. Alors que celle de *S. jacobaea* est formé d'une seule assise des cellules et contient aussi à leur surface des trichomes, au-dessous de l'épiderme se trouve le collenchyme; formé d'environ 7 à 10 assises des cellules parenchymateuses corticales. Le collenchyme de la tige de *S. giganteus* est diffusé par rapport à celui de *S. jacobaea* (Figure 16 B, 17 B).

Le parenchyme cortical de la tige de *S. giganteus* est formé de plusieurs couches de cellules plus grosses et moins bien organisées, il se trouve entre l'épiderme et les faisceaux conducteurs. Le parenchyme cortical de *S. jacobaea* est composé aussi par plusieurs couches de cellules mais elles sont plus petites par rapport au ceux de *S. giganteus*. Les faisceaux conducteurs des deux tiges sont disposés sur un seul cercle regroupant des structures élémentaires, faisceaux cribro-vasculaires, qui regroupe le xylème, vers le centre de la tige et le phloème vers l'extérieur, Les faisceaux conducteurs de *S. giganteus* sont de petite taille et sont nombreux (60 à 65), alors que les faisceaux conducteurs de *S. jacobaea* sont plus grande et en nombre réduit (environ 24 à 29) (Figure 16 C, 17 C).

Dans le centre des deux tiges se trouve la moelle ou le parenchyme médullaire, formée de plusieurs couches de cellules grosses. Dans la tige de *S. giganteus* une partie de cette zone est remplacée par une lacune et cela explique pourquoi la tige de *Senecio giganteus* est creuse dans le centre (Figure 16), cette zone (le parenchyme médullaire) est plus abondant part à port au parenchyme cortical dans les deux tiges (Figure 17 D).

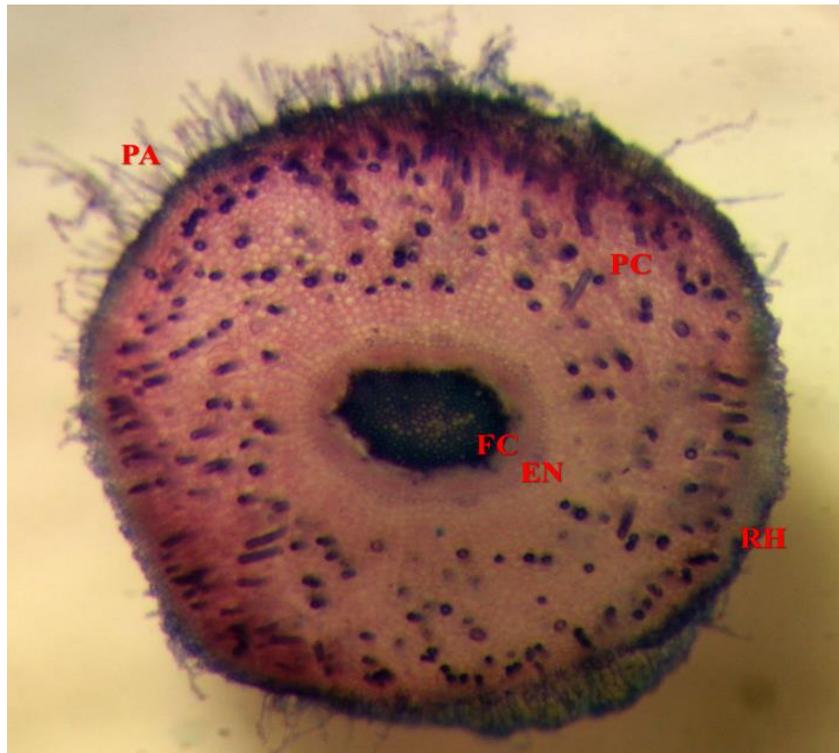


Figure 14: Coupe transversale au niveau de la racine de *S. giganteus*

PA : Poils absorbant, RH : Rhizoderme, PC : Parenchyme cortical, EN : Endoderme, FC : Faisceaux conducteurs (Grossissement 10X)

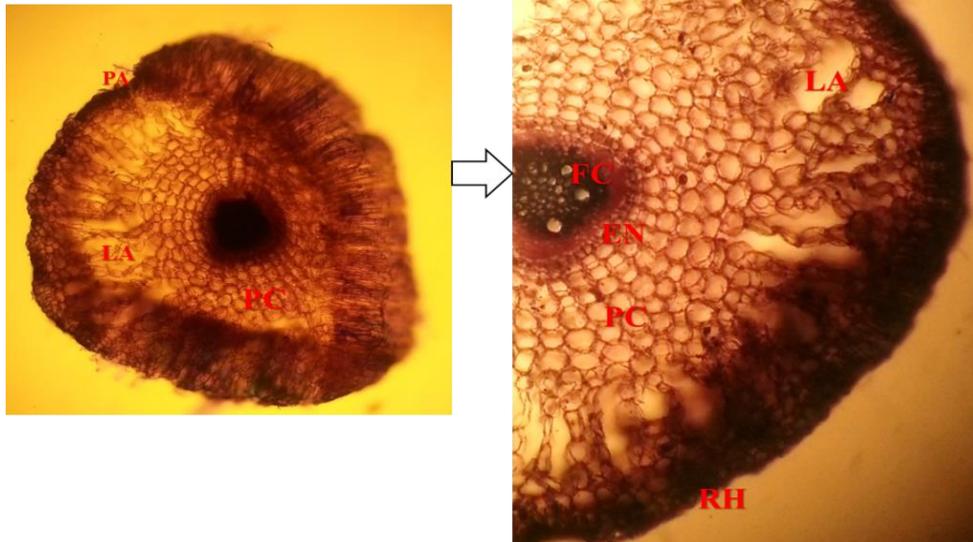


Figure 15: Coupe transversale au niveau de la racine de *S. jacobaea*

PA : Poils absorbant, RH : Rhizoderme, PC : Parenchyme cortical, LA : Lacune, EN : Endoderme, FC : Faisceaux conducteurs (Grossissement 10X)

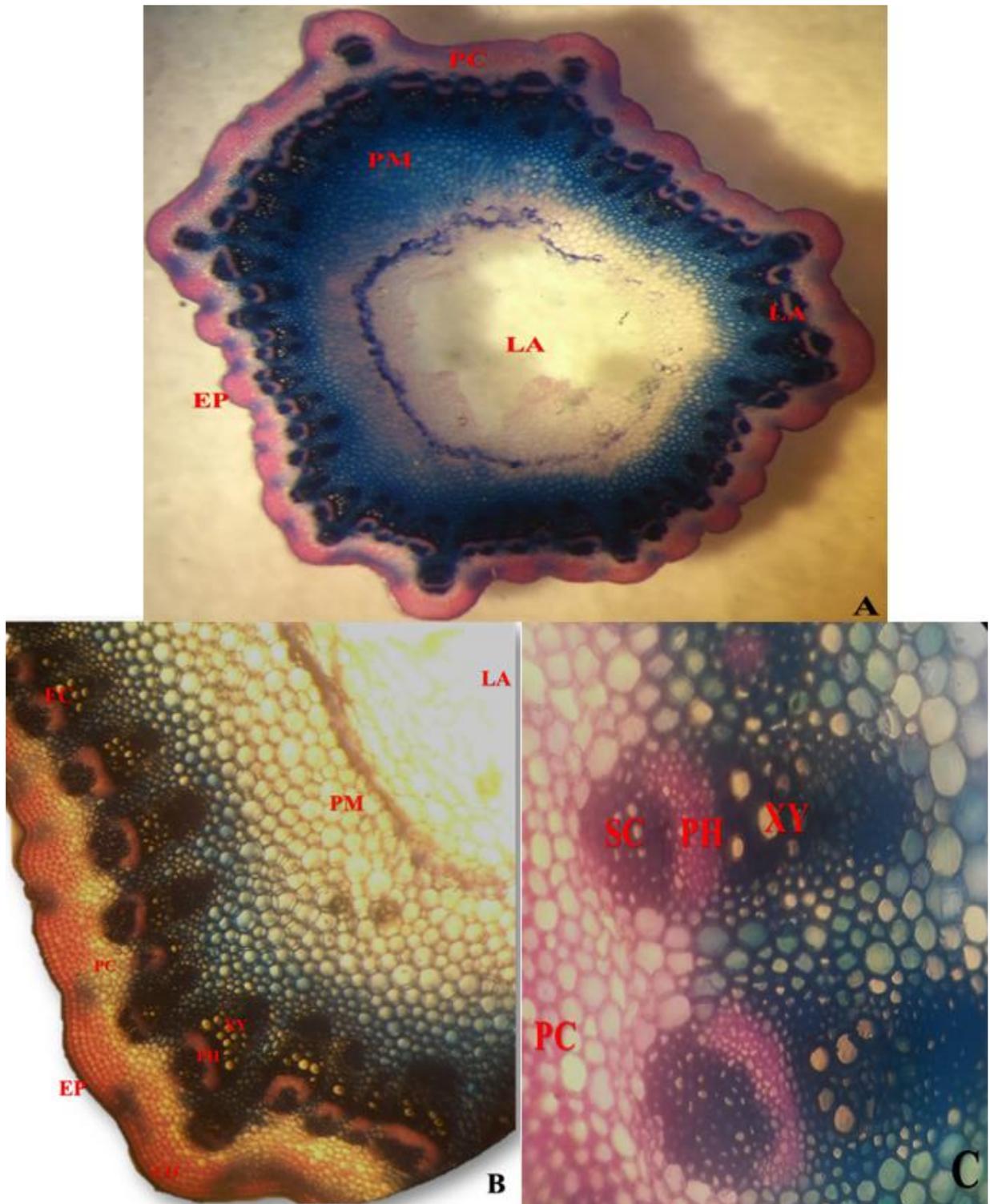


Figure 16: Coupe transversale au niveau de la tige de *S. giganteus*

A : vue générale (10X), B : Partie de la coupe (40X), C : Faisceaux conducteurs (100X).

EP : Epiderme, CO : Colenchyme, PC : Parenchyme cortical, EN : Endoderme, FC : Faisceaux conducteurs, SC : Sclérenchyme, PH : Phloème, XY : Xylème, PM : Parenchyme médullaire, LA : Lacune (Grossissement 10X)

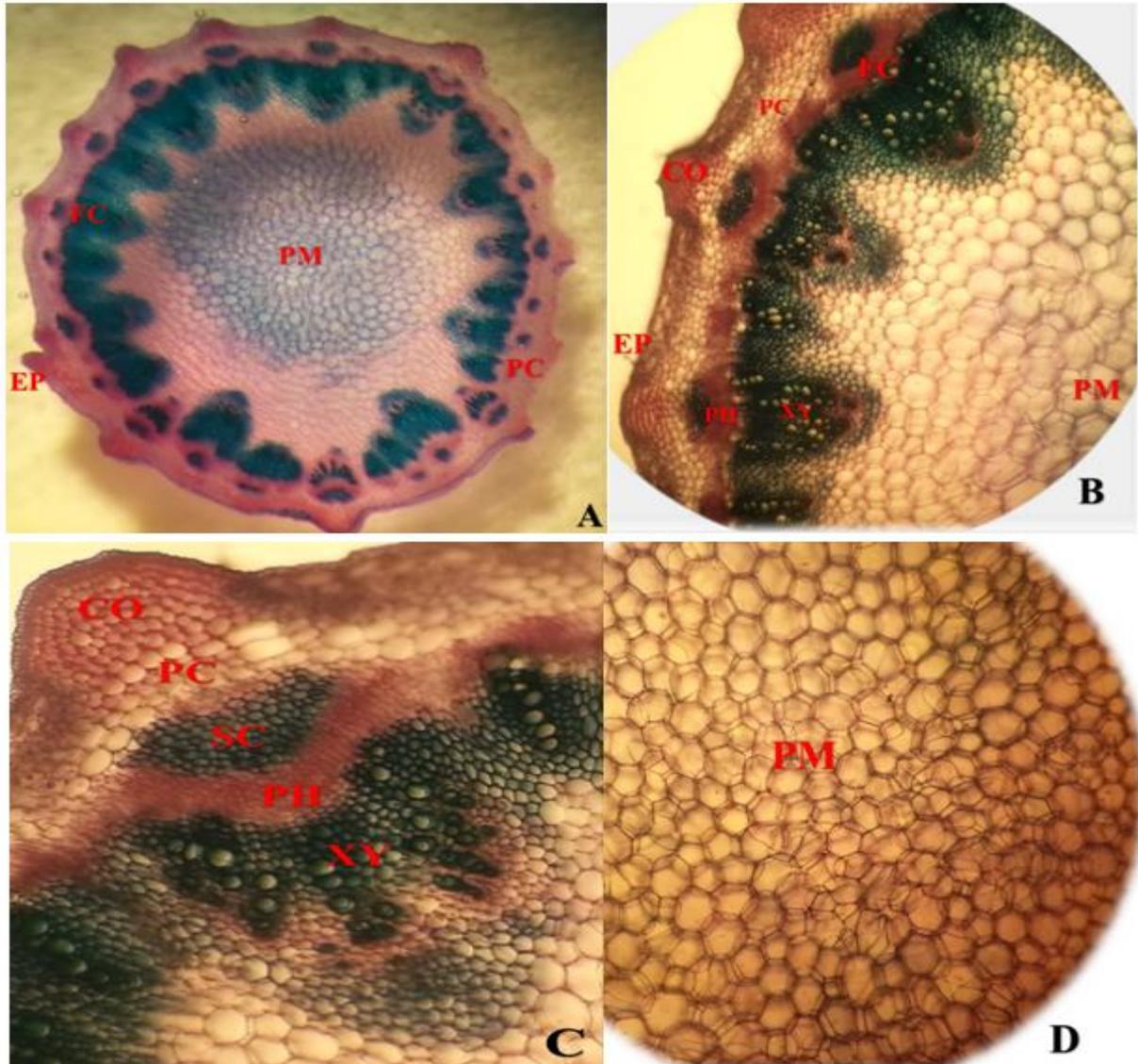


Figure 17: Coupe transversale au niveau de la tige de *S. jacobaea*

A : vue générale (10X), B : Partie de la coupe (40X), C : Faisceaux conducteurs (100X), D : Parenchyme médullaire (100X), EP : Epiderme, CO : Colenchyme, PC : Parenchyme cortical, EN : Endoderme, FC : Faisceaux conducteurs, SC : Sclérenchyme, PH : Phloème, XY : Xylème, PM : Parenchyme médullaire.

1-3- Coupe histologique au niveau de la feuille

La coupe transversale des feuilles montre la présence de deux épidermes, un épiderme inférieur et un épiderme supérieur, qui sont représentés par une seule couche de cellules. Et elles sont couvertes par une cuticule épaisse. Cependant, les cellules de l'épiderme inférieur sont plus petites que celles du supérieur dans les deux feuilles (Figure 18, 19). Les deux épidermes sont interrompus par la présence de stomates et trichomes, qui sont plus abondants dans l'épiderme inférieur et dans la zone de nervure centrale.

Les coupes histologiques de *S. giganteus* et *S. jacobaea* montrent la présence d'un mésophyllé hétérogène, qui est différencié en deux tissus, un parenchyme palissadique à la face ventrale avec des cellules verticales, allongées et serrées et un parenchyme lacuneux aux cellules plus arrondies et moins serrées (spongieux) à la face dorsale. Ainsi qu'un collenchyme, un sclérenchyme, et un système vasculaire composé de phloème et de xylème (Figure 18, 19).

Les trichomes glandulaires et non-glandulaires ont été observés dans les feuilles des deux espèces. Ils sont plus nombreux dans les faces inférieures. Ils se divisent en plusieurs types morphologiques distincts. Les trichomes observés sont plus nombreux sur les feuilles de *Senecio giganteus* que celles de *S. jacobaea* (Figure 20).

Les trichomes non-glandulaires examinés sont généralement pluricellulaires, certaines sont uni ou bicellulaires mais à nombre réduit. Ils apparaissent comme une colonne vertébrale avec des extrémités pointues. Ils sont assez variables en longueur, en grande partie capités et parfois sessiles avec des cellules apicales minces pointues, longues et parfois courtes et certaines cellules sont racornies.

Les trichomes glandulaires sont multicellulaires et de différents types. Ils sont généralement capités, de longueur variable et terminés par une cellule sécrétrice. Certains trichomes possèdent des cellules épidermiques basales, uni ou pluricellulaires et une cellule de cou clairsemé terminé par une cellule sécrétrice. Les trichomes glandulaires sont moins présentés par rapport aux trichomes non-glandulaires dans les deux espèces étudiées.

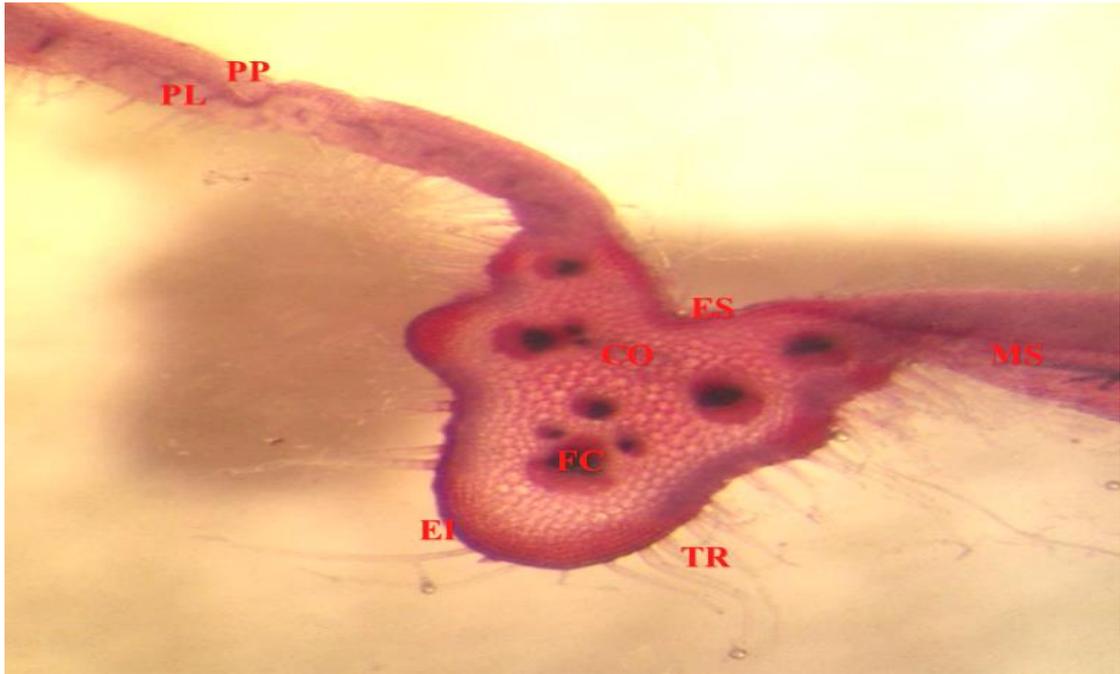


Figure 18: Coupe transversale de la feuille de *S. giganteus* (Grossissement 40X)

ES : Epiderme supérieur, EI : Epiderme inférieur, TR : Trichome, MS : Mésophile, PP : Parenchyme palissa, PL : Parenchyme lacuneux, CO : Collenchyme, FC : Faisceau conducteur.

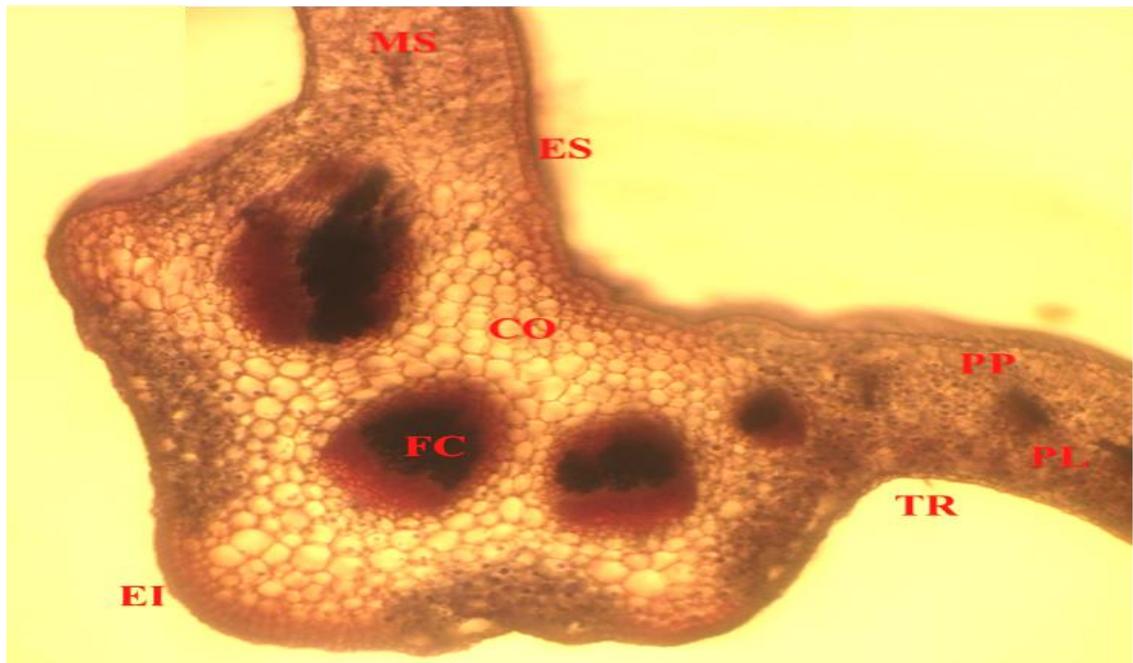


Figure 19: Coupe transversale de la feuille de *S. jacobaea* (Grossissement 40X)

ES : Epiderme supérieur, EI : Epiderme inférieur, TR : Trichome, MS : Mésophile, PP : Parenchyme palissa, PL : Parenchyme lacuneux, CO : Collenchyme, FC : Faisceau conducteur.

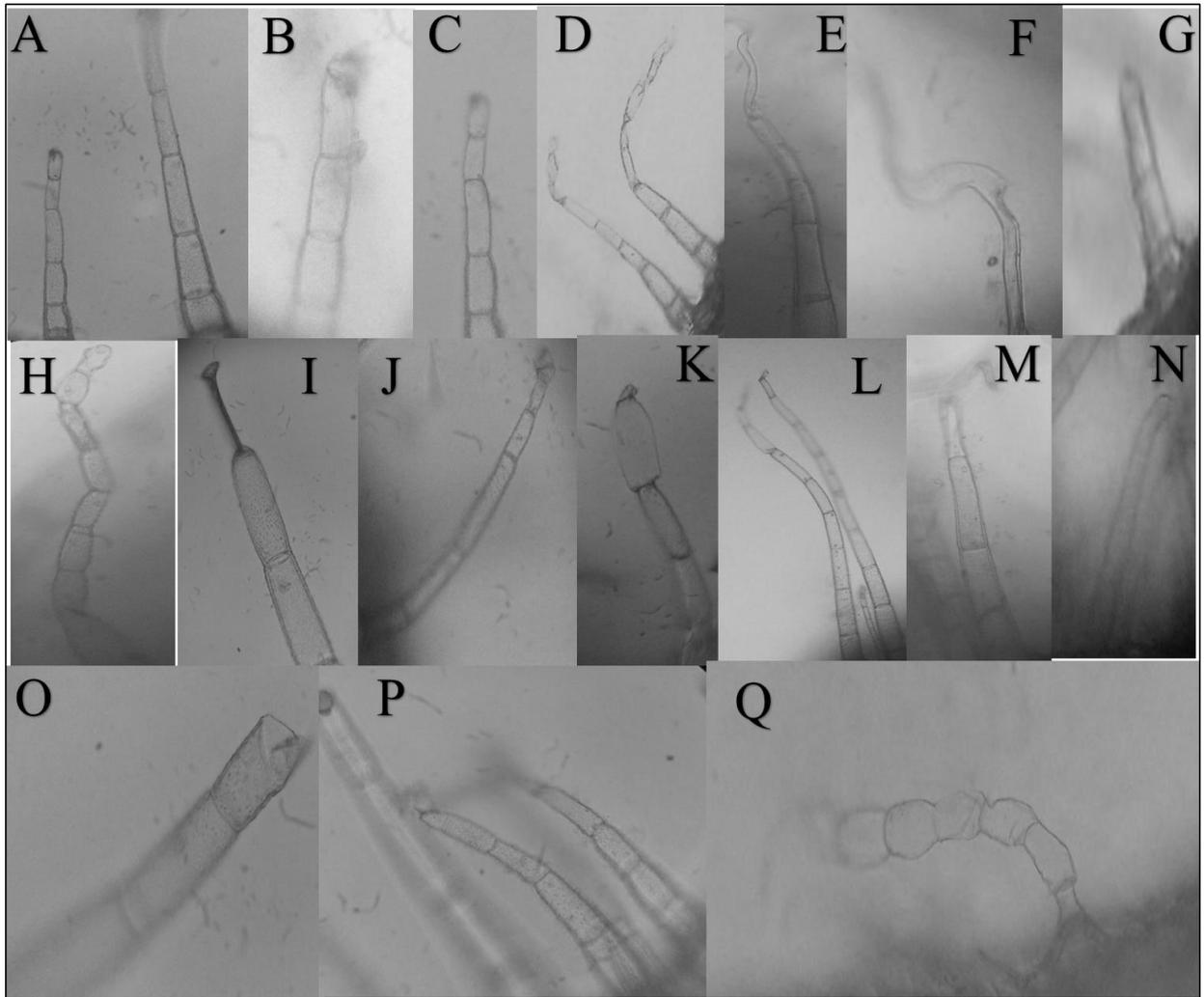


Figure 20: Diffèrent type des trichomes glandulaires et non-glandulaires des feuilles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* (Grossissement 100X)

A, B, G, H, J, K : trichomes non -glandulaire Capité, multicellulaire avec tête unicellulaire.
I : trichomes glandulaire multicellulaire, avec une cellule de cou clairsemés et une tête unicellulaire,
F : trichomes non -glandulaire unicellulaire Sommet faucille, **D, E**: trichomes non -glandulaire multicellulaire Sommet faucille. **L, M**: trichomes non -glandulaire multicellulaire. **N**: trichomes non -glandulaire unicellulaire. **O, P**: trichomes -glandulaire sessile. **Q**: trichomes non-glandulaire sessile.

Les coupes histologiques effectuées sur les racines, tiges et feuilles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaba* montre une similarité et une déférence entre eux, et avec d'autres espèces du genre *Senecio* et de la famille des *Asteraceae*.

La coupe transversale de la racine de *S. giganteus* et *S. jacobaea* montre la présence de deux régions principales: une écorce et un cylindre central. Le parenchyme corticale des deux espèces étudiés de *Senecio* prend une place importante par rapport au cylindre central, alors que dans d'autres espèces, l'écorce est moins développée que le cylindre central, l'exemple de la racine de *Chromolaena odorata* (*Asteraceae*) (N'Guessan *et al.*, 2012).

Les cellules du parenchyme cortical de *S. giganteus* et *S. jacobaea* sont différentes du point de vue nombre et taille. Le parenchyme de *S. giganteus* est constitué de 22 à 25 rangées de cellules de petites tailles, alors que *S. jacobaea* contient un cortex composé par 13-14 rangés de grandes cellules. Le nombre de rangés des cellules du cortex des deux espèces est considéré élevé en comparaison avec d'autres espèces, par exemple chez *Gynura aurantiaca* (*Asteraceae*) de 5-6 rangés et *Ageratum conyzoides* L. (*Asteraceae*) avec 5 rangés (Santos, 2016; Bercu, 2014).

Le cortex de *S. jacobaea* est représenté par un tissu parenchymateux avec des petits espaces intercellulaires (lacunes), le même tissu est observé chez l'espèce *Aster tripolium* et *Ageratum houstonianum* Mill (*Asteraceae*) alors que le parenchyme cortical de *S. giganteus* est un parenchyme continu et ne contient pas des lacunes, le même parenchyme est observé dans la coupe transversale de la racine de *Chromolaena odorata* (*Asteraceae*), cette différence peut être une caractéristique utile dans la différenciation de ces espèces (Das and Mukherjee, 2013; Bercu *et al.*, 2012).

En ce qui concerne la région corticale, des canaux sécrétoires ont été observés dans *S. giganteus*, ces canaux sécrétoires ont été signalés chez *Ageratum houstonianum* et chez *Ageratum fastigiatum* (*Asteraceae*), et par conséquent, c'est une autre caractéristique diagnostique importante (Del-Vechio-Vieira *et al.*, 2008; Das et Mukherjee, 2013).

Le système vasculaire des deux espèces étudiées de *Senecio* est formé par le xylème, qui occupe la plus grande partie de la racine, et par le phloème, disposé en quelques couches, entourant le xylème. Le nombre des faisceaux conducteurs de *S. giganteus* est égal à huit (8), alors que *S. jacobaea* n'en possède que quatre (4).

Les racines des deux espèces ont également une région médullaire parenchymateuse. La même caractéristique a été observé chez d'autres espèces du genre *Senecio* ainsi que dans la famille des *Asteraceae* (Del-Vechio-Vieira *et al.*, 2008; Bercu *et al.*, 2012; Das et Mukherjee, 2013).

Les observations des coupes transversale de la tige de *S. giganteus* et *S. jacobaea* montrent que les deux tiges possèdent une structure primaire similaire dans le nombre des tissus observées, qui sont différencié en quatre zone histologiques différentes selon la couleur et la forme des cellules; l'épiderme, le parenchyme cortical (cortex), les faisceaux conducteurs (phloème et xylème) et la moelle. La différence la plus apparente est dans l'organisation de la moelle de *S. giganteus*, une partie de cette moelle est remplacée par une lacune, creuse dans le centre. La même résultat est observé dans chez *Aster tripolium* (*Asteraceae*), qui possède une moelle constituée de cellules parenchymateuses, désorganisé au centre en une grande lacune (Bercu *et al.*, 2012).

La tige de *S. jacobaea* présente les mêmes caractères histologiques en comparant avec la même esèce originaire de la Turquie, qui présente des faisceaux vasculaires de type collatéral, le xylème vers le centre et le phloème vers l'épiderme, ainsi elle présente plusieurs couches de cellules de collenchyme sous l'épiderme dans les parties ondulées (Büyükkartal, 2017).

Loreley *et al.*, (2011) montre qu'une structure secondaire est observée au niveau de la tige de *Senecio grandidentatus*, en raison de l'activité de phellogène et du cambium, alors que la tige de *S. jacobaea* possède une structure primaire, La même structure et le même nombre de tissu est observé dans la coupe transversale de la tige de *Tanacetum albipannosum* (*Asteraceae*) avec une moelle complète (Tekin and Kartal, 2016).

La structure histologique de la tige des deux espèces de *Senecio* étudié révèle la présence d'un collenchyme au-dessous de l'épiderme, des faisceaux conducteurs disposés sur un seul cercle, le nombre des faisceaux conducteurs est plus élevé dans la tige de *S. giganteus* (60 à 65) que celle de *S. jacobaea* (environ 24 à 29). Le nombre de faisceaux conducteurs des espèces étudiés est considérée élevée par rapport à d'autre

espèces du genre *Senecio* et la famille des *Asteraceae*, par exemple *Senecio grandidentatus* possède 19-20 faisceaux conducteurs (Loreley *et al.*, 2011), cela peut être expliqué par leur écologie, *S. giganteus* qui pousse aux bords des eaux, lieux humides et les ruisseaux du Tell, et *S. jacobaea* qui est abondante dans les marais du Tell.

L'histologie de la tige a également longtemps été considérée comme un outil taxonomique surtout avec les travaux de Metcalfe et Chalk (1950) qui est un excellent exemple d'une encyclopédie illustrée de cet aspect et d'autres aspects de l'anatomie végétale, qui révèle la signification taxonomique des caractères anatomiques dans la classification des plantes.

Les caractères histologiques de la tige utilisés dans la classification sont la distribution et l'abondance du collenchyme, la variation de la structure des cellules de l'endoderme, caractéristiques de la moelle, la forme et la taille de sclérenchyme, ils ont été utilisés comme une clé dans la classification de plusieurs familles (*Piperaceae*, *Asteraceae* et *Lamiaceae*).

Carlquist (1961) a utilisé les caractéristiques anatomiques dans la classification de diverses espèces du genre *Fitchia* (*Asteraceae*). En outre, il a suggéré également la possibilité d'identifier les parents de plusieurs hybrides pour des raisons anatomiques.

L'organisation et le type de faisceaux vasculaires sont considérés parmi les critères les plus utilisés dans la classification des plantes, l'exemple de deux espèces de *Dioscorea*, à savoir *D. cayenensis* et *D. rotundata* qui ont été distingués sur la base de la disposition des faisceaux vasculaires dans la tige, qui autrement sont difficiles à distinguer sur des raisons exomorphes (Ayensu, 1970).

Les feuilles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* montrent la présence d'un mésophyle hétérogène, sur la face supérieure un parenchyme assimilateur ou parenchyme palissadique et sur la face inférieure un parenchyme lacuneux, le même type de mésophyle a été observé dans la feuille de *S. kleiniformis* et *S. jacobaea* originaire de la Turquie (Büyükkartal, 2017), alors que les feuilles de *S. jacobsenii*, *S. rowleyanus* et *S. grandidentatus* possèdent un mésophyle homogène formé par un seul type de parenchyme (Cristescu *et al.*, 2011; Loreley *et al.*, 2013).

Les feuilles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* sont comparable à celle des autres espèces d'*Asteraceae*, présentant à la fois l'épiderme avec des crêtes cuticulaires suivies d'un mésophile avec le parenchyme palissadique que l'on trouve à la fois sous l'épiderme supérieur et au-dessus de l'épiderme inférieur un parenchyme spongieux (Bavaru et Bercu, 2002; Evert, 2006).

L'épiderme foliaire des deux espèces étudiés montre la présence des trichomes glandulaires et non glandulaires de types morphologiques distincts, qui peuvent être entièrement, complètement ou partiellement lisse et granulaire, ces types de trichomes sont observé et déterminé chez plusieurs espèces du genre *Senecio* par exemple *S. gibbosus*; *S. boissieri*; *S. hypochioneus*, *S. congestus*; *S. spathulifolius*; *S. tournefortii*; *S. artemisiaefolius*; *S. erucifolius*; *S. doronicum* (Drury et Watson., 1964).

La distribution des trichomes est très complexe dans la nature, car différentes parties de la même espèce ont différents types de trichomes dans la famille des *Asteraceae*. Certains des genres peuvent être distingués des autres genres par un certain type de trichomes. Par exemple, *Vernonia cinerea* L. peut être séparé des autres genres par la présence de trichomes en forme de T ou de deux trichomes flagellés armés (Saha et Mukherjee, 2012). *Artemisia persica* était unique en étant la seule espèce avec le trichome étoilé. *Aster himalaicus* peut être délimité à partir d'autres espèces par la possession de trichomes en forme de J tandis que des longs trichomes multicellulaires ont été trouvés chez *Conyza japonica* et *Senecio chrysanthmoides* (Bano et al., 2015). les trichomes foliaires du genre *Artemisia* sont de bons caractères taxonomiques et peuvent être utilisés pour la discrimination de différents taxons au sein du genre (Bano et al., 2015).

D'après Metcalfe et Chalk (1950), la présence de certains types de trichomes épidermiques peut fréquemment délimiter des espèces, des genres ou des familles dans les plantes. Isawumi (1989) dans son étude sur le genre *Jatropha* mentionne que la différence dans les types de trichomes est plus utile dans la taxonomie et dans la discrimination des espèces en sections que tous les autres caractères épidermiques.

Castro *et al.* (1997) ont présenté une description des trichomes présents dans certains genres d'*Asteraceae* et ils les ont utilisés pour élaborer une clé d'identification. Outre son importance taxonomique, les trichomes glandulaires sont utiles pour attirer les pollinisateurs, la défense contre les insectes herbivores et les attaques pathogènes (Wagner, 1991).

La famille des *Asteraceae* présente diverses structures anatomiques et, dans certains cas, une spécialisation écologique peut se produire (Metcalfé et Chalk, 1950). Les structures sécrétoires présentent un grand intérêt taxonomique et leur distribution restreinte a une valeur diagnostique importante (Metcalfé et Chalk, 1950, Fahn, 1979). Fréquemment, chez les *Asteraceae*, ils occupent des positions distinctes dans différents organes de la plante qui se rencontrent dans tous, certains ou dans un seul organe (Solereder, 1908).

Selon Metcalfé et Chalk (1950), la diversité anatomique est communément observée dans la structure des feuilles des espèces appartenant aux *Asteraceae*. Parmi les caractéristiques qui varient sont: la distribution des stomates sur les surfaces des feuilles, le positionnement des cellules de garde par rapport aux cellules épidermiques ordinaires, la différenciation du mésophylle et du système fibrovasculaire; et la sécrétion de cire sur la surface des feuilles (Solereder, 1908). Ainsi, Anderson et Crech (1975) a suggéré des regroupements précis de *Solidago* et d'autres espèces d'*Asteraceae* basées sur leur étude de l'anatomie foliaire, incluant des différences qualitatives et quantitatives dans le mésophylle, le parenchyme de stockage, les sécrétions, l'extension de la gaine et la structure médiane.

Les caractères anatomiques des parties végétatives et florales des plantes à fleurs ont été utilisés avec succès pour résoudre les problèmes taxonomiques et pour élucider les relations phylogénétiques. L'anatomie des feuilles fournit divers caractères d'importance taxonomique comme la justement affirmé Carlquist (1961), que «la feuille est peut-être l'organe anatomiquement le plus varié des angiospermes et ses variations anatomiques concordent souvent avec des lignées génériques et spécifiques et parfois familiales».

2- Caryologie de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

Les dénombrements chromosomiques ont été portés sur les méristèmes racinaires. L'observation microscopique des cellules du méristème racinaire de la population *Senecio giganteus* d'Ain Roua (Sétif) fait apparaître un tétraploïde, avec la présence de deux chromosomes surnuméraires (chromosomes B) à $2n = 4x = 20 + 2B$ avec un nombre chromosomique de base $x=5$. Ce dénombrement chromosomique été réalisé pour la première fois (Figure 21).

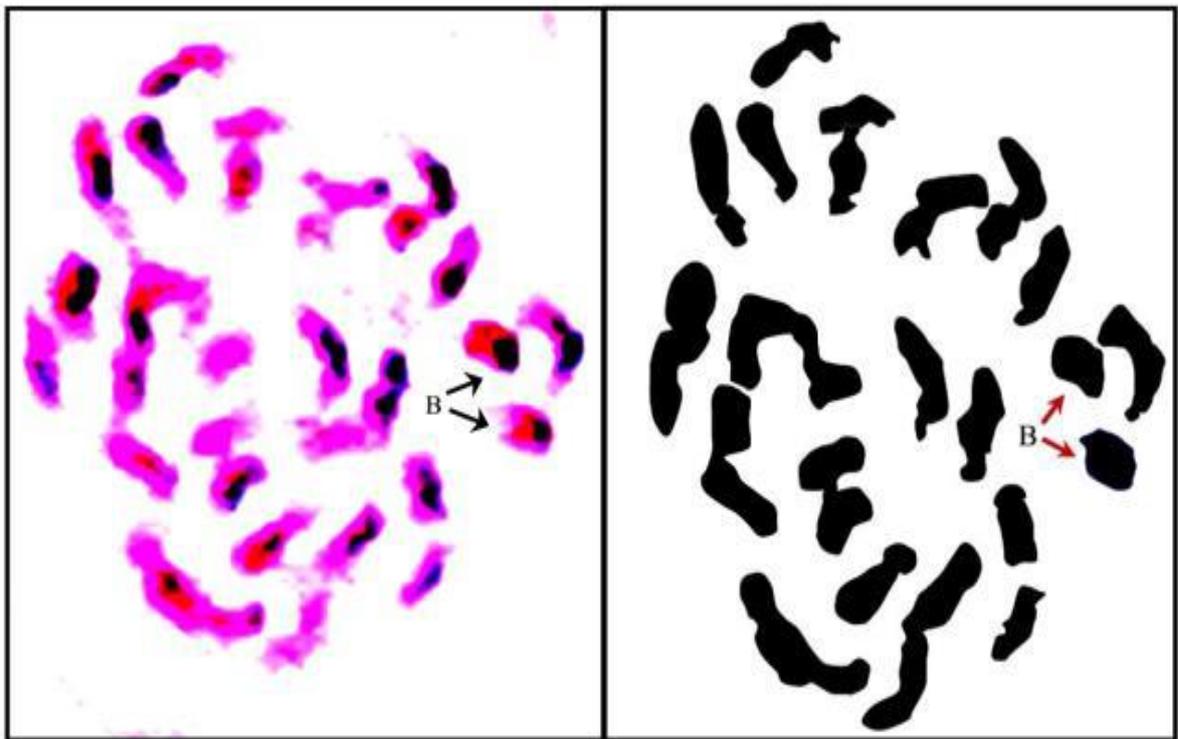


Figure 21: Plaques métaphasiques des cellules méristimatiqes de *Senecio giganteus*

Pour *Senecio jacobaea*, le dénombrement chromosomique réalisé sur la population de Souk El thenine (Bejaia), montre l'existence d'un tétraploïde à $2n = 4x = 40$ chromosomes avec un nombre de base $x = 10$ (Figure 22).

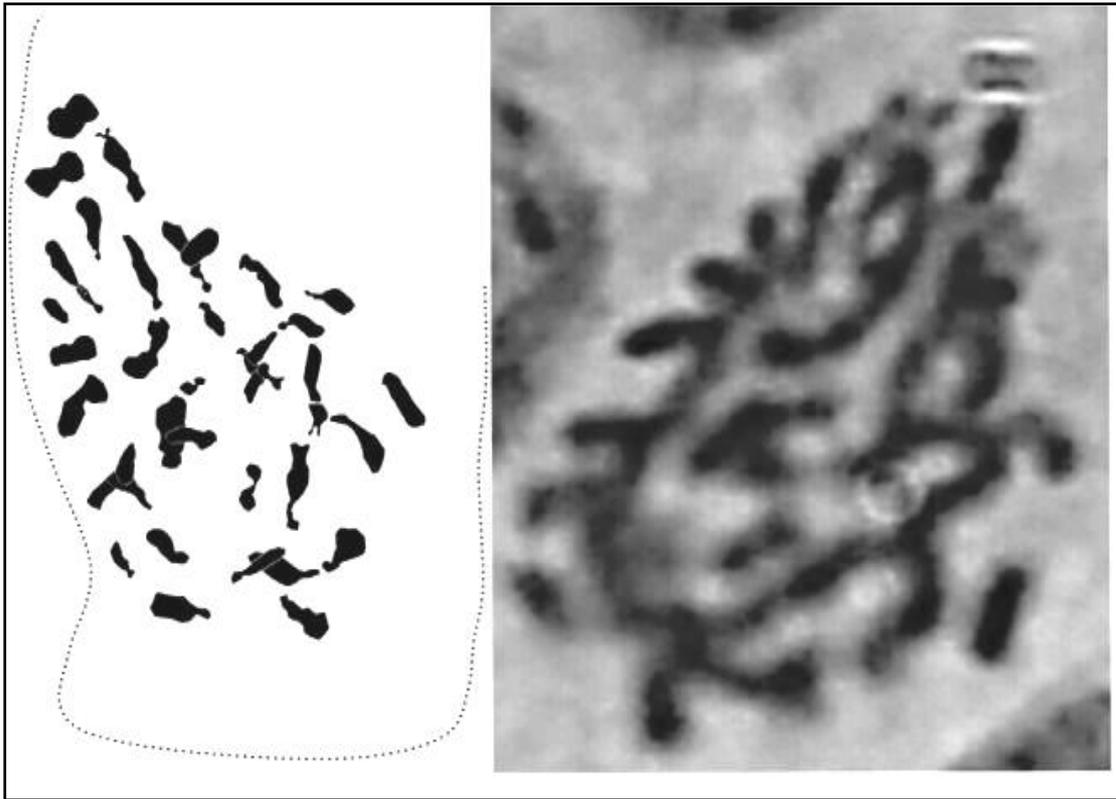


Figure 22: Plaques métaphasiques des cellules méristimatiques de *Senecio jacobaea*

Le nombre chromosomique $2n = 20$ observé, dans le méristème racinaire de *S. giganteus* de la population d'Ain Roua (Sétif), est un nombre qui se rencontre souvent dans les espèces du genre *Senecio*; Lopez *et al.*, (2008) ont observés ce nombre dans *S. madagascariens* pousse en Argentine, ainsi que chez les espèces ; *Senecio leucanthemifolius*, *S. squalidus* et *S. glaucus* trouvant au Maroc (Alexander, 1979; Vogt and Oberprieler, 2008). Abbott *et al.*, (2000) ont mentionnés aussi ce nombre chromosomique dans les populations de *S. aethnensis*, *S. squalidus* et *S. chrysanthemifolius* en Sicile. Alors que ce nombre chromosomique n'est pas compatible avec les comptages chromosomiques effectués sur d'autres espèces du genre *Senecio*. Les nombres $2n = 40$ et $2n = 80$ sont considérés comme les nombres modaux du genre (Bolkhovskikh *et al.*, 1969; Lawrence, 1980).

Nous avons observé la présence de deux chromosomes surnuméraires (B) chez *S. giganteus*. Ces chromosomes B sont fréquemment observés chez les espèces du

genre *Senecio*, comme dans toute la famille des *Asteraceae* (Jones and Puertas, 1995). Lopez *et al.*, (2002; 2013) ont énumérés chez *S. pogonias* et *S. sectilis* un nombre chromosomique $2n = 40 + 1B$, et chez *S. subulatus* un nombre de $2n = 80 + 2B$ et pour *S. uspallatensis* $2n = 80 + 5B$. Le nombre de chromosomes B varie dans le genre *Senecio* de 0 à 9, il peut être variable dans la même espèce ; *S. deferens* ($2n = 40 + 0-4B$), *S. microphyllus* ($2n = 80 + 0-6B$), *S. hieronymi* ($2n = 40 + 0-7B$) et *S. subulatus* ($2n = 80 + 0-9B$) (Lopez *et al.*, 2005; 2013),

Plusieurs auteurs ont suggéré que la présence des chromosomes B favorisent l'homologie contre l'appariement homéologue (qui sont partiellement homologues), phénomène observé dans autres espèces du genre *Senecio* (Sybenga, 1992; Lopez *et al.*, 2002). Les études sur le genre *Senecio* pourraient indiquer que les chromosomes B ne présentent pas des aptitudes méiotiques, de sorte que le mécanisme de leur maintien, leur propagation et leur rétention est encore inconnu (Lopez *et al.*, 2005).

Avec des fortes preuves qui ont été récemment confirmé et publiée en 2008 par Lopez *et al.*, $x=5$ est le nombre chromosomique de base du genre *Senecio*. Ces preuves sont basés sur les hautes fréquences des associations secondaires de bivalents, asynchronie des chromosomes et le regroupement des bivalent, ce qui confirme que *Senecio giganteus* native d'Ain Roua (Sétif) est une tétraploïde avec un nombre de base $x=5$.

Le dénombrement chromosomique de *S. jacobaea* de la population de Souk ethenine (Bejaia) est conforme à ceux trouvé dans les populations, de Bretagne par Morton (1977), d'Italie (D'Ovidio, 1984), de Russie (Krasnikov, 1991), de Biélorussie (Parfenov et Dmitrieva, 1988); et de Pannonie et ses parties adjacentes de Slovaquie (Hodalova *et al.*, 2007).

D'autre nombre chromosomique sont identifié chez *S. jacobaea*; $2n = 80$ en Biélorussie (Dmitrieva, 2000), en Irlande un nombre chromosomique $2n = 32$ a été rapporté par Böcher and Larsen (1955). Ainsi que le nombre chromosomique $2n = 20$ a été signalé en Bulgarie (Kuzmanov *et al.*, 1979).

Bien que *S. jacobaea* a été étudiée ces dernières années sous divers angles, il n'existe pas d'études approfondies consacrées à sa variation caryologique et la

possibilité d'une corrélation entre le niveau de ploïdie et la morphologie. (Hodalova *et al.*, 2007).

Le nombre de base de *S. jacobaea* suggéré est $x = 10$ d'après la morphologie des chromosomes observé et la présence de quatre bivalents au lieu de huit, Ornduff *et al.*, (1963) a suggéré aussi $x = 10$ le nombre de base du genre au lieu de 5 en se basant sur la fréquence des nombres dans les multiples de dix au lieu de cinq. Ainsi, les espèces avec $2n = 10$ se trouvent en Afrique, le lieu d'origine le plus probable du genre. la découverte de quatre et huit bivalents montrant des associations secondaires chez les espèces avec $2n = 40$ et 80 , respectivement, et l'observation de groupes de deux bivalents et l'asynchronie chromosomique chez une espèce africaine avec $2n = 20$ (Lopez *et al.*, 2003). Tous ces enquêtes ont été des outils assez puissants pour soutenir $x = 10$ comme un nombre de base.

Il est clair que les inférences concernant le nombre de chromosomes de base ne devraient pas être tirées des résultats de l'étude statistique seule. Une importance beaucoup plus grande est la prise en compte de toutes les preuves disponibles, en particulier de la morphologie comparative et de la cytogénétique (Babcock, 1934).

Le nombre, la taille et les caractéristiques structurales des chromosomes constituent le caryotype, qui peut être utile pour distinguer des taxons. Les chromosomes ne diffèrent pas seulement par leur longueur totale, mais aussi par la longueur de leurs deux bras, et la localisation du centromère. La combinaison de la longueur totale des chromosomes et la position du centromère permet éventuellement de distinguer les chromosomes du génome.

3- Extraction des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

L'extraction des huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* a été effectuée jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante. Les HEs ont été ensuite récupérées et conservées dans des flacons opaques bien scellés à température basse ($4-5^{\circ}\text{C}$) jusqu'au moment de leur utilisation.

Les HEs de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* ont une couleur jaune et leurs rendements déterminé par rapport à la matière sèche est de 0,02% et 0,03% respectivement.

Le rendement de l'huile essentielle de *S. giganteus* de la région d'Ain Roua (Sétif) est très faible (0,02%) en comparaison avec le rendement (0,7%) de la même espèce récoltée dans la région de Constantine (Chibani *et al.*, 2013).

Le taux enregistré dans les huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* est considéré faible par rapport à celui d'autres espèces du genre *Senecio*, notamment, *S. polyanthemoides* native de l'Afrique de sud qui présente un rendement de 0,7% (Lawal *et al.*, 2009), *S. graveolens* originaire de l'Argentine (0,5%) (Perez *et al.*, 1999), *S. aegyptius* d'Egypte (0,4%) (El-Shazly *et al.*, 2000) et *S. perralderianus* endémique de l'Algérie (0,1%) (Lograda *et al.*, 2012).

Les rendements des huiles essentielles des plantes sont plutôt faibles, quantitativement, assez souvent inférieurs à 1% et les niveaux forts comme dans le *Carum carvi* L. (5%) sont exceptionnels (Galambosi et Peura, 1996). Cette différence de rendement en huile essentielle peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction des huiles essentielles (Russo *et al.*, 1998; Van Damme, 2001; Karousou *et al.*, 2005 ; Pibiri, 2005 ; Loziene *et al.*, 2005 ; Curado *et al.*, 2006).

Un stockage de la plante pendant 24 heures suffit pour induire des changements sensibles de composition, la perte des composés les plus volatils peut être importante; Tucarov (1964) note la disparition de 15% de produits volatils dans le végétal après trois (3) mois de stockage et de 80% après neuf années. Il observe également une différence entre les feuilles jeunes, plus riches en essence, et les feuilles âgées. Ce phénomène, aggravé par les chocs thermiques, est également constaté par Stanford et Heinz (1971).

Ogzewalla et Willims (1962) montrent que la quantité d'essence au bout d'une année passe de 5% à quelques traces si l'épice a été stocké sous forme de poudre exposée ou non à l'air.

4- Analyses chimiques

4- 1- Composition chimique des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée sur les parties aériennes fleuries, par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau (hydrodistillation), l'huile essentielle est récupérée et analysée par GC-GC/MS.

L'identification du produit a été établie par GC-GC/MS sur deux colonnes de polarité différente, des temps de rétention, de l'indice de Kovats et de spectre de masse par concordance avec les données de la littérature (Adams, 1989; Jennings et Shibamoto, 1980) et de la banque des indices de Kovats et de spectres de masse du Laboratoire de l'école d'ingénieurs Sigma Clermont (France).

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *S. giganteus* a permis l'identification de 40 composés qui correspondent à un pourcentage de 92,3% du total de l'huile (Tableau 5, Figure 23, 24). L'acide hexadécanoïque (acide palmitique) apparaît comme le composé majoritaire de l'huile essentielle avec un pourcentage de 17,80%, suivi par l'isophytol (12,43%), le pentanol<3 methyl> (7,28%), le phytol (6,66%) et le spathulenol (4,47%).

La famille chimique des sesquiterpènes oxygénés est dominante dans l'huile essentielle de *S. giganteus* avec un pourcentage de 21,22% représenté par le Spathulenol (4,47%), Amorpha-4,9-dien-2-ol (4,24%) et le Caryophyllène oxide (3,09%) (Tableau 6). Les diterpènes représentent la deuxième classe la plus abondante avec un pourcentage de 19,09%, Les produits les plus abondants dans cette classe sont l'Isophytol (12,43%) et le Phytol (6,66%). Les acides gras sont composés par un seul constituant, l'acide hexadécanoïque, avec un pourcentage de 17,80%, cette famille représente la troisième classe la plus abondante.

Les monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés sont, contrairement aux sesquiterpènes, moins représentés dans la composition chimique de l'huile essentielle de *S. giganteus* avec un pourcentage de 2,15% et 2,92% respectivement.

Quarante-quatre (44) composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *S. jacobaea* qui correspond à un pourcentage de 83,56% du total de l'huile essentielle.

Les produits majoritaires de l'huile essentielle sont le Pentanol<3 methyl> avec un pourcentage de 25,70% suivi par le Cyclopentanedione 3 methyl,1,2 (22,83%) et l' α pinène (3,52%) (Tableau 5, Figure 25, 26).

On constate l'abondance de la famille chimique des hydrocarbures (alcanes, cétones...) dans l'huile de *S. jacobaea* avec un taux de 28,10% représenté par le cyclopentanedione 3 methyl,1,2 et le pentacosane, Les alcools sont la deuxième famille abondante avec un pourcentage de 27,94%, cette famille est dominée par le Pentanol<3 methyl>. Les monoterpènes hydrocarbonés figurent en troisième position (6,92%), ils sont dominés par l' α -pinène (3,52%) et le β -ocimene<(Z)> (2,06%) (Tableau 6).

Les sesquiterpène hydrocarbonés et oxygénés sont aussi présents dans l'huile essentielle de *S. jacobaea* avec des pourcentages inférieurs aux familles précédentes (6,31% et 5% respectivement). Ces deux classes chimiques sont dominées par l' α -funebrene (1,70%) et le caryophyllene oxide (2,97%) respectivement. les diterpènes et les aldéhydes sont moins représentés dans les compositions chimiques de l'huile essentielle de *S. jacobaea*.

Seizes (16) composants terpéniques figurent dans la composition chimique des deux huiles essentielles des *S. giganteus* et *S. jacobaea* mais avec des proportions différentes; les écarts les plus élevés sont observés pour le Pentanol<3 methyl> (7,28% ; 25,70%), et le caryophyllene oxide (3,09% ; 2,97%) respectivement.

La différence de la composition chimique entre les deux huiles essentielles étudiées est remarquée par la présence de certains composés dans l'une des espèces alors qu'ils sont absents dans l'autre; L'exemple de l'acide hexadécanoïque, composé majoritaire de l'HE de *S. giganteus* (17,80%), le Isophytol (12,43%), le Spathulenol (4,47%) et le 2E- Heptenal (3,40%) qui sont manquants dans l'HE de *S. jacobaea*.

Le Cyclopentanedione 3 methyl,1,2 (22,83%), l' α -Pinène (3,52%), l' α -Funebrene (1,70%), Citronellyl pentanoate (1,95%) et le 1-eicosene (2,13%) sont identifiés seulement dans l'HE de *S. jacobaea*.

Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

		<i>Senecio giganteus</i>	<i>Senecio jacobaea</i>			<i>Senecio giganteus</i>	<i>Senecio jacobaea</i>
Rendement		0,02%	0,03%	Rendement		0,02%	0,03%
Nombre de composant		40	44	Nombre de composant		40	44
Total %		92,38	83,56	Total		92,38	83,56
Composant	Ki			Composant	Ki		
Pentanol<3 methyl>	833	7,28	25,70	Linalool isovalerate	1466	0	0,29
α - Pinene	932	0	3,52	γ - Muurolene	1478	0	0,24
2E- Heptenal	947	3,40	0	(E)- β - Ionone	1483	1,22	0,27
2-Pentyl furan	984	0,64	1,68	Muurola-4(14),5-diene<trans	1493	1,17	0,19
1- Decene	986	1,42	0	Viridiflorene	1496	0	0,99
Mentha-1 (7), 8 dienne (β)	1003	0	0,19	α - Muurolene	1500	0	0,28
Cyclopentanedione 3 methyl,1,2)	1017	0	22,83	δ - Amorphene	1511	0,65	0,15
Limonene	1024	0	0,44	Kessane	1529	0,54	0,63
(Z)- β - Ocimene	1032	0,45	2,06	Z- Nerolidol	1531	2,19	0
(E)- β - Ocimene	1044	1,16	0	α calacorene	1544	0	0,59
3Z- Octen-1-ol	1089	0,52	0	Italicene epoxide	1547	0	0,47
n octanol	1063	0,38	0	E- Nerolidol< >	1561	0	0,60
5Z- octenol	1065	1,73	0	Spathulenol	1577	4,47	0
Linalool	1095	1,09	0	Caryophyllene oxide	1582	3,09	2,97
n- Nonanal	1100	0,68	2,20	Salvia 4 (14) en 1_one	1594	2,06	0,11
Ocimene <neo-allo>	1140	0	0,08	Humulene epoxide II	1608	2,75	0,59
2Z- Nonen-1-al	1144	0	0,31	Citronellyl pentanoate	1624	0	1,95
α -Terpineol	1186	0,53	0	Himachalol	1652	0,67	0
1- Dodecene	1187	0,95	0	α - Cadinol	1652	0,03	0
n- Decanal	1201	0	0,26	Pentadecanone 2-	1697	0	1,18
β - Cyclocitral	1217	0	0,18	Amorpha-4,9-dien-2-ol	1700	4,24	0
3Z,6Z,9Z Tetra decatriene	1288	0,39	0	Mint sulfide	1740	0,20	0
1- Tridecene	1290	0,54	0	5E,9Z- Farnesyl acetone	1886	0	0,24
(2E,4E)- Decadienal	1315	0	0,34	Phytol	1942	6,66	3,15
(E)- β -Damascenone	1383	0,26	0,95	Isophytol	1946	12,43	0
α - Funebrene	1402	0	1,70	Hexadecanoic acid	1959	17,80	0
Sesquithujene	1405	0	0,13	1-eicosene	1987	0	2,13
Z- Caryophyllene	1408	1,14	0	Eicosane (C20)	2000	0,87	0
E- Caryophyllene	1417	0	0,62	Tricosane	2300	0	0,17
Neryl acetone	1434	1,03	0	Tetracosane	2400	0,48	0,10
Guaiadiene (6,9)	1442	0	0,99	Pentacosane	2500	2,65	0,56
α - Humulene	1452	0,90	0	Hexacosane	2600	1,29	0,32
Geranyl acetone	1453	0	0,55	Heptacosane	2700	0	0,26
(E)- β - Farnesene	1454	0	0,43	Nonacosane	2900	2,43	0

Tableau 6: Classe chimique et composé majoritaire de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

Classe chimique	<i>Senecio giganteus</i>			<i>Senecio jacobaea</i>		
	%	NB	composé majoritaire	%	NB	composé majoritaire
Monoterpènes hydrocarbonés	2,15	3	(E)- β - Ocimene	6,92	6	α - Pinene
Monoterpènes oxygénés	2,92	4	Linalool	1,50	2	(E)- β - Damascenone
Sesquiterpènes hydrocarbonés	2,69	3	Z- Caryophyllene	6,31	11	α - Funebrene
Sesquiterpènes oxygénés	21,22	9	Spathulenol	5,00	6	Caryophyllene oxide
Diterpènes	19,09	2	Isophytol	3,15	1	Phytol
Composés Hydrocarbonés	11,54	10	Pentacosane	28,10	10	Cyclopentanedione 3 methyl,1,2
Acides gras	17,80	1	Hexadecanoic acid	0	0	-
Alcools	10,06	4	Pentanol<3 methyl>	27,94	3	Pentanol<3 methyl>
Aldéhydes	4,08	2	2E- Heptenal	2,98	4	n- Nonanal
Autres	0,83	2	2- Pentyl furan	1,68	1	2- Pentyl furan
Total	92,38%	40		83,56%	44	

NB: nombre de composés

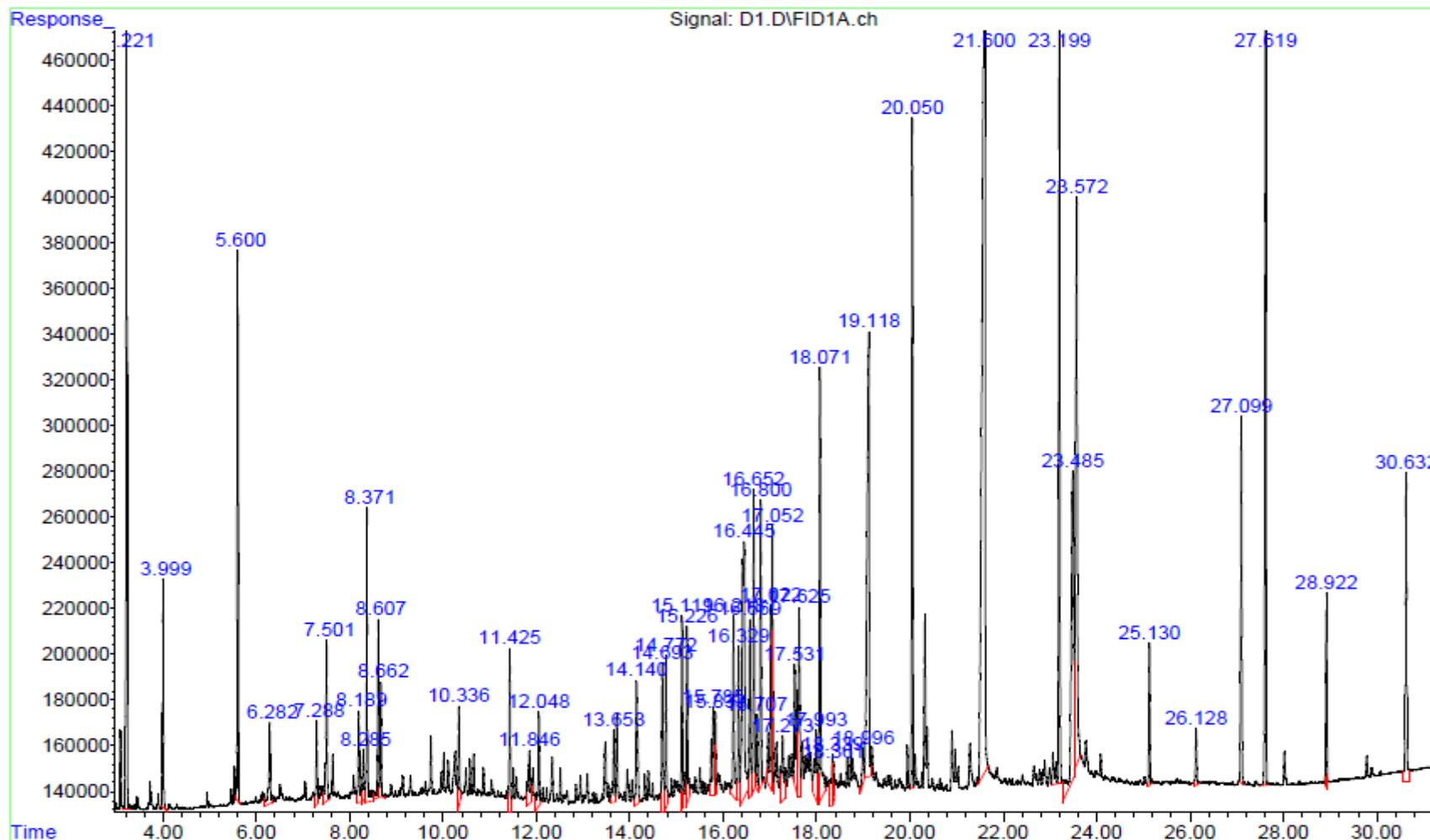


Figure 23: Chromatogramme de fid de l'huile essentielle de *Senecio giganteus*

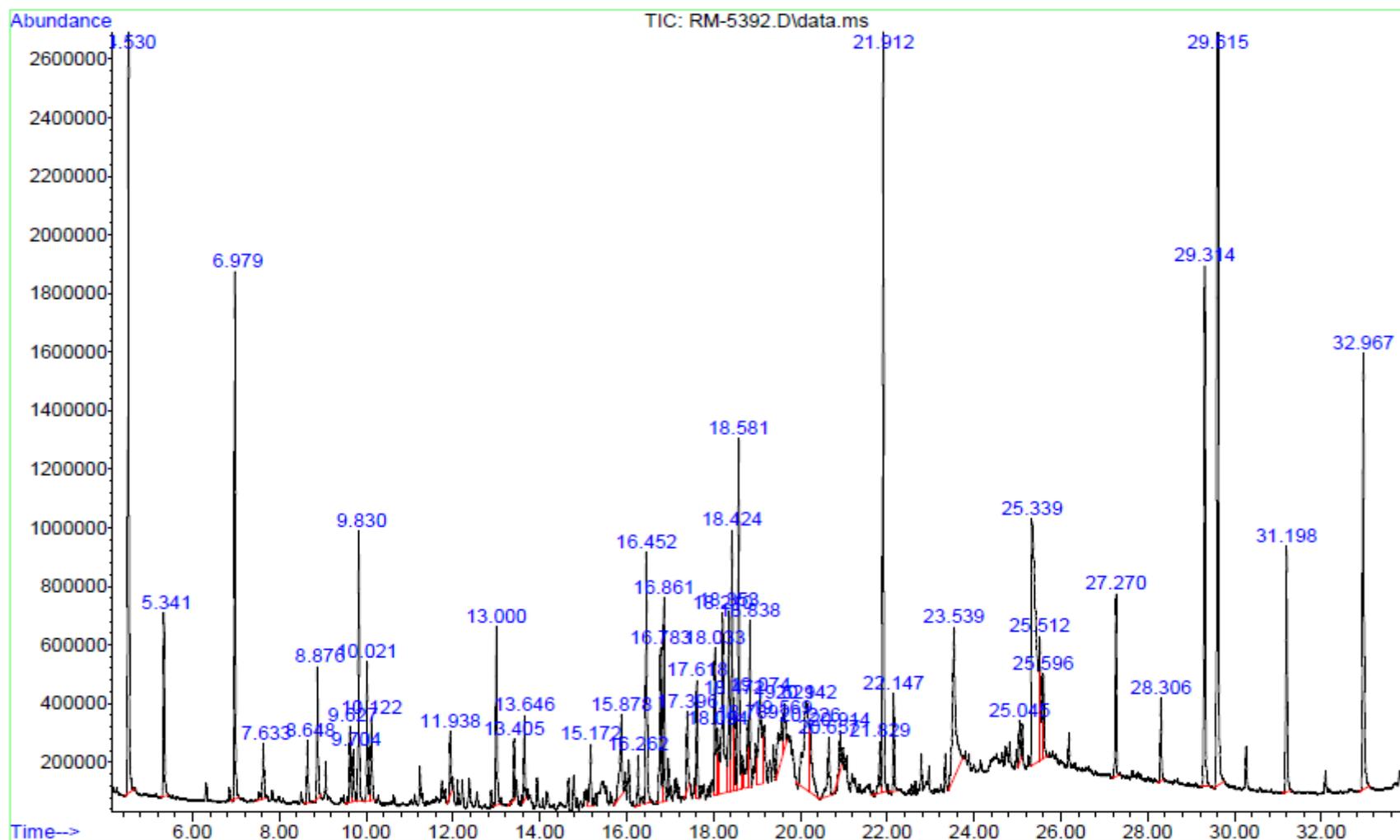


Figure 24: Chromatogramme de masse de l'huile essentielle de *Senecio giganteus*

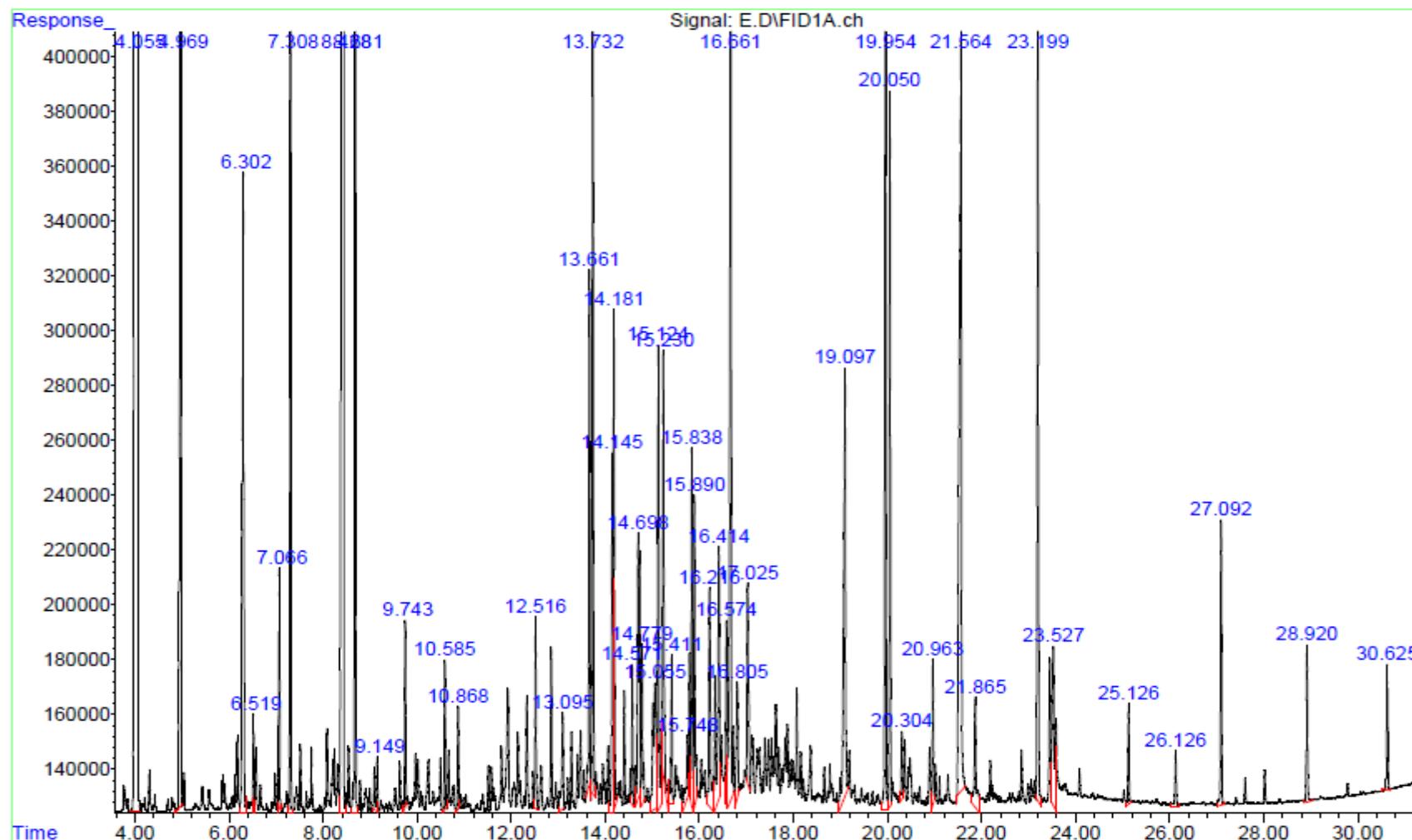


Figure 25: Chromatogramme de Fid de l'huile essentielle de de *Senecio jacobaea*

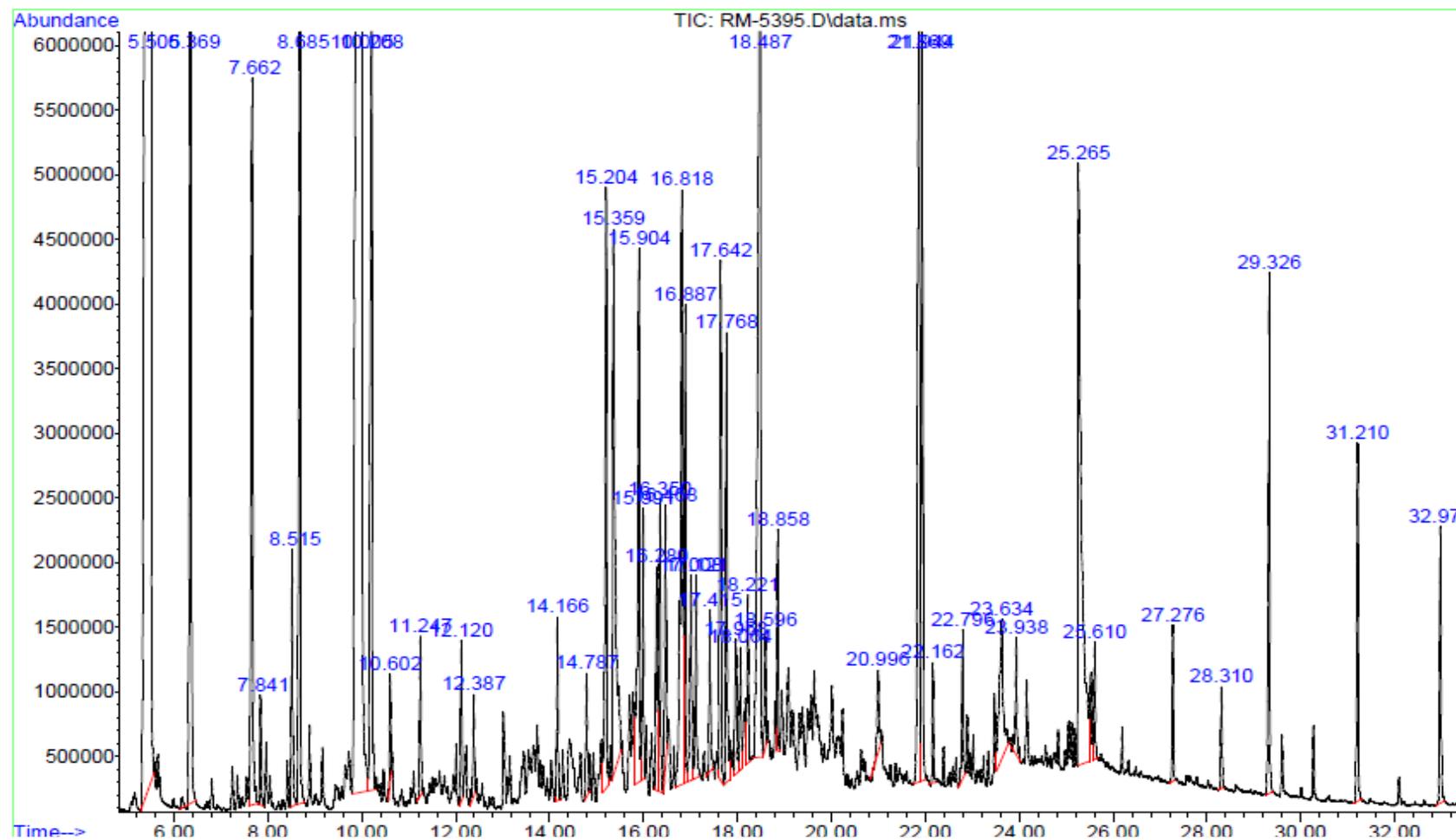


Figure 26: Chromatogramme de masse de l'huile essentielle de *Senecio jacobaea*

Les résultats de l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* montrent la présence de plusieurs composés chimiques, acides gras, diterpènes, alcools, monoterpènes, sesquiterpènes, aldéhydes, alcanes, etc.

Les rares études phytochimiques réalisées sur *Senecio giganteus* démontrent que cette espèce est riche en composés hydrocarbonés (58,9%), composés oxygénés (23,9%), monoterpènes hydrocarbonés (19,4%) avec des pourcentages élevés contrairement au Sesquiterpènes hydrocarbonés (1%) et oxygénés (3,2%), et les monoterpènes oxygénés (1%) qui sont moins représentés (Chibani *et al.*, 2013).

Cinq composés terpéniques (Eicosane, Nerolidol<Z->, Pentacosane, Pentyl furan<2-> et le Tridecene<1->) identifiés dans l'huile essentielle de *S. giganteus* sont identiques à ceux retrouvés dans la population de la région de Constantine (Algérie), alors qu'elles diffèrent dans le composé majoritaire, représenté par l' α -pinène dans l'huile essentielle de *S. giganteus* de la population de Constantine, ce composé terpénique est absent dans notre population, de même l'acide hexadécanoïque abondant de notre population est absent de la population de Constantine.

L'acide hexadécanoïque, constituant majoritaire de l'huile essentielle de *Senecio giganteus*, est présent dans la composition chimique des huiles essentielles du genre *Senecio* avec des taux faibles. Il est de l'ordre de 7.23% chez *S. flammeus* issu de Chine (Xiao, 2014) et de (0,3%) chez *S. farfarifolius* originaire de la Turquie (Baser et Demirci, 2004).

L'acide hexadécanoïque est présent dans la composition chimique de plusieurs huiles essentielles de la famille des *Asteraceae* avec des pourcentages élevés et aussi comme un composé majoritaire l'exemple de *Cynara cardunculus* (51,80%), *Centaurea tossiensis* (50,6%), *Centaurea luschaniana* (40%), *Centaurea solstitialis* (30,80%), *Cirsium japonicum* (28,06%) *Carduus pycnocephalus* (23,30%) et *Helichrysum artemisioides* (14,7%) (Mucaji *et al.*, 1998; Miyazawa *et al.*, 2001; Esmaeli *et al.*, 2005; Esmaeili *et al.*, 2006; Köse *et al.*, 2008; Javidnia *et al.*, 2009).

La composition chimique de l'huile essentielle des espèces du genre *Senecio* permet de mettre en évidence une variabilité chimique interspécifique tant au niveau

qualitatif que quantitatif traduisant la grande variation des composants majoritaire. Les composants majoritaires ayant le pourcentages les plus élevés sont le 1,10-epoxy furano eremophilane (55.30%) trouvés dans l'huile essentielle de *S. aegyptius* (El-Shazly *et al.*, 2002), le Curcumene (42.8%) dans l'HE de *S. nemorensis* (Uçüncü *et al.*, 2010) et l' α -pinene (33.97%) dans l'HE de *S. graciliflorus* (Lone *et al.*, 2014).

Les diterpènes sont, représentés par l'sophytol et le Phytol avec des pourcentages de 12,43% et le 6,66% respectivement, la deuxième classe la plus abondante dans l'huile essentielle de *S. giganteus*.

Le phytol est signalé dans les compositions chimiques de *S. vulgaris* de la Corse avec un pourcentage de 2,9% (Andrani, 2015) et *S. squalidus* de la Serbie avec un pourcentage faible de 0,2% (Chalchat *et al.* 2004).

Les alcools, les aldéhydes, les cétones et les alcanes sont retrouvés aussi dans la composition chimique de l'huile de *S. giganteus* comme dans les espèces du genre *Senecio* et de la famille des *Asteraceae*.

L'huile essentielle de *S. giganteus* est caractérisée par la prévalence des sesquiterpènes oxygénés avec un pourcentage de 21,22%. Nos résultats sont en accord avec la littérature en comparant avec la composition chimique d'autres huiles essentielles du genre *Senecio*, par exemple *S. nudicaulis* originaire de l'Inde est caractérisé par une teneur élevée en sesquiterpènes oxygénés (54,97%) (Sharma et Shah, 2015), *S. adenotrichius* native du Chili (72.1%) (Niemeyer, 2007), *S. rowleyanus* d'Egypte (El-Hawary *et al.*, 2008), *S. royelanus* de l'Inde (Bisht *et al.*, 2011), *S. belgaumensis* de l'Inde (Joshi, 2011), *S. vulgaris* et *S. angulatus* issues de Corse (France) (Andreani, 2015). Alors que d'autres espèces ont une composition considérablement différente, avec la dominance des sesquiterpènes hydrocarbonés (*S. perralderianus* d'Algérie, 67.5%) (Lograda *et al.*, 2012), de monoterpènes oxygénés, l'exemple de *S. leucanthemifolius* du Maroc (83.6%) (Ouchbani *et al.*, 2011) out par de monoterpènes hydrocarbonés comme *S. atacamensis* (89,6%) (Benites *et al.*, 2011).

Le profil chimique de *S. jaobaea* de la population de Bejaia (Algérie) est caractérisé par la dominance de Pentanol<3 methyl> (25,70%) suivie par le

Cyclopentanedione 3 methyl,1,2 (22.83%) et l' α -pinène (3,52%). Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Dooren *et al.*, (1981) où le germacrene D et le 1-undecène sont les composants majoritaires dans l'huile essentielle de *S. jacobaea* provenant de Hollande, alors que ces deux composants sont absents de l'huile essentielle de notre espèce.

Bohlmann a signalé la présence d'un grand nombre de mono et sesquiterpène dans la composition chimique de l'huile essentielle de *S. jacobaea* : Germacrene D, Caryophyllène, Cadinène, Tymol ester, Bisabole et beaucoup d'autres composés (in Dooren *et al.*, 1981). Le caryophyllène est le seul sesquiterpène commun qui se trouve dans la composition chimique de l'huile essentielle de *S. jacobaea* de notre population.

L'alcool, Pentanol<3 methyl> est présent aussi bien chez *S. jacobaea* et *S. giganteus*, alors qu'il est présent avec un faible pourcentage dans la composition chimique des huiles essentielles d'autres espèces de la famille des *Asteraceae*, tels que de *Anthemis nobilis* (2,01%) (Patri et Silano, 2002).

Les alcools non terpéniques (alcools aliphatiques) se retrouvent souvent dans la matière végétale, ils résultent de l'activité lipoxigénase et leur rôle biochimique ne semble pas être explicite (Jean France, 1992). Ainsi, la présence de composés à fonction alcool justifie les activités antibactériennes, antifongiques et antioxydantes des plantes (Baratta *et al.*, 1998; Dorman et Deans, 2000).

Le cétone, Cyclopentanedione 3 methyl,1,2, représente le deuxième produit le plus abondant dans l'huile essentielle de *S. jacobaea* avec un pourcentage de 22,83%, d'après la littérature, ce produit n'est pas noté dans la composition chimique des huiles essentielles du genre *Senecio*.

L' α -pinène, est présent dans l'huile essentielle de *S. jacobaea* avec un pourcentage de 3,52%. Ce composé terpénique est l'un des produits majoritaires des huiles essentielles du genre *Senecio*. Il représente un pourcentage de 33,97% dans l'huile essentielle de *S. graciliflorus* (Lone *et al.*, 2014), et 19,4% chez *S. giganteus* (Chibani *et al.*, 2013). Il est aussi présent dans les huiles essentielles de *S. angulatus* et *S. cineraria* avec 13,4% et 6,4% respectivement (Andrani, 2014).

À faible dose, l' α -pinène est un bon bronchodilatateur chez l'homme et est hautement bio-disponible. Son absorption pulmonaire humaine est de 60% avec un métabolisme ou une redistribution rapide. L' α -pinène est un anti-inflammatoire et semble être un antibiotique à large spectre. Il présente une activité en tant qu'inhibiteur de l'acétylcholinestérase, aidant la mémoire (Nissen, 2010; Russo, 2011).

Les aldéhydes, les alcanes et les diterpènes sont aussi présents dans la composition chimique de l'huile de *S. jacobaea* comme dans les autres espèces du genre *Senecio* et de la famille des *Asteraceae*. Les aldéhydes sont connus comme stimulants de la saveur des aliments à une très faible concentration et sont essentiellement issus de l'activité lipoxycgénase, ou de l'autoxydation des acides linoléique ou α -linoléique (Belitz *et al.*, 1987).

L'analyse chimique de l'huile de *S. jacobaea* révèle la présence d'un pourcentage élevé des composants hydrocarbures (alcanes, cétones,...etc.) (28,10%), ces résultats sont proches de la composition chimique de *S. coinnyi* d'Espagne (Arrabal *et al.*, 2011) et *S. giganteus* d'Algérie (Chibani *et al.*, 2013), alors que la composition chimique des huiles essentielles de *S. rowleyanus* d'Egypte (El-Hawary *et al.*, 2008), *S. royelanus* et *S. belgaumensis* d'Inde (Bisht *et al.*, 2011; Joshi, 2011). *S. vulgaris* et *S. angulatus* de Corse (France) (Andreani, 2014) diffère considérablement de celle de *S. jacobaea*.

La composition quantitative et même qualitative des huiles essentielles des deux espèces du genre *Senecio* diffère considérablement de celle des autres espèces du genre. Les travaux de recherche ont montré que la composition chimique des huiles essentielles est très fluctuante. En effet, elle dépend d'un grand nombre de facteurs d'ordre naturel (génétique, localisation, maturité, sol, climat, etc....) ou technologique (mode de culture ou d'extraction d'huile essentielle de la plante, mode et durée de stockage du matériel végétal,...). La différence de composition constatée entre les huiles essentielles de plantes étudiées et celles rapportées par d'autres auteurs est vraisemblablement liée à la régulation différentielle des divers constituants de l'huile essentielle des facteurs abiotiques et biotiques. De nombreux facteurs écologiques tels que la température, l'humidité relative, l'insolation et la nature du sol peuvent

influencer la composition chimique des huiles essentielles (Boira et Blanquer, 1998; Oliveira *et al.*, 2005).

Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de la période de récolte, du site de récolte ou encore du cycle végétal sont nombreuses (Kouamé, 2012). La période de récolte est un facteur très important. A titre d'exemple, Oussou (2008) a montré que la composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de *Lippia multiflora* varie considérablement. La teneur en géraniol et en néral passe respectivement de 37,8% et 25,7% durant le mois de décembre à 1,1% et 0,8% pendant le mois d'octobre.

L'influence du procédé d'extraction sur la labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal.

4- 2- Résultat de l'UPGMA

L'analyse des clusters UPGMA (Figure 27) basée sur la distance du linkage, confirme la séparation des populations du genre *Senecio* en deux clades bien distincts. Cette séparation, nous indique la présence d'une importante variabilité génotypique au sein du genre, qui se traduit par la présence de différence dans la composition des huiles essentielles des espèces du genre.

Le premier clade est représenté par les deux espèces (*S. giganteus* et *S. jacobaea*) qui sont séparées strictement des autres populations. Cette séparation est due à la présence du composant majoritaire Pentanol-3 méthyl chez ces deux espèces et absent des autres espèces. Ces deux espèces sont éloignées l'une de l'autre par la présence du Cyclopentanedione-3-methyl-1-2, qui représente un taux de 22,833% chez *S. jacobaea* et son absence de l'espèce *S. giganteus* qui est caractérisée par l'hexadécanoïque acides (17,80%). Le reste des espèces forment le second clade, avec la présence de l' α -pinène, qui à son tour, il se subdivise en deux sous clades.

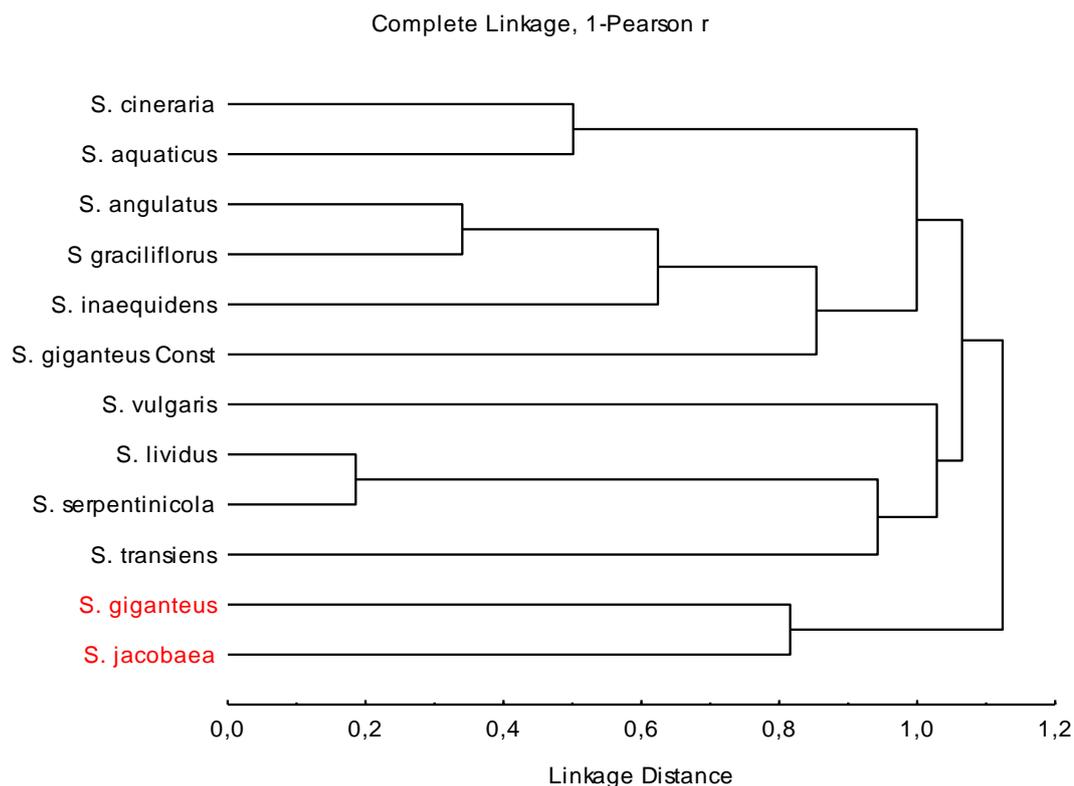


Figure 27 : UPGMA cluster des populations de *Senecio*.

Ces sous-clades correspondent aux deux groupes d'espèces, écologiquement et morphologiquement bien différenciés. Le premier sous clade formé par les espèces (*S. vulgaris*, *S. lividus*, *S. serpentinicola* et *S. transiens*), sont caractérisées par un taux faible d' α -pinène et un taux important de terpinolène. Les espèces du deuxième sous clade sont caractérisées par un taux élevé d' α -pinène.

Les espèces *S. angulatus* et *S. graciliflorus* forment un sous-groupe séparé aux autres espèces, caractérisées par la teneur élevée de β -pinène, le même cas pour *S. cineraria* et *S. aquaticus* qui se réunissent par les forts pourcentages de nonène et germacrène-D. Alors que *S. giganteus* de la région de Constantine s'isole dans un sous-groupe, qui est caractérisé par la dominance du 6,10,14-triméthyl-2-pentadecanone et le pentacosane.

Du point de vue taxonomique, il est nécessaire de préciser qu'au sein du genre *Senecio*, les espèces *S. aquaticus* et *S. cineraria* appartiennent à la section *Jacobea* alors que les espèces *vulgaris* et *lividus* se regroupent dans la section *Senecio*. *S. transiens* et *S. serpentinicola* seraient à rapprocher de la section *leucanthimifolius*

(Andreani, 2014). L'UPGMA montre que la distribution des espèces, *S. aquaticus* et *S. cineraria* sont étroitement apparentées car elles partagent les mêmes caractères chimiques. Tandis que les échantillons de *S. lividus* et *S. vulgaris* ou encore celles de *S. serpentinicola* et *S. transiens* sont très éloignés alors qu'ils sont taxonomiquement voisins. Ces résultats montrent la présence d'une grande variabilité inter-spécifique dans la composition chimique des huiles essentielles chez le genre *Senecio*.

S. serpentinicola et *S. transiens* sont clairement différencier du point de vue chimique. *S. serpentinicola* produit une huile essentielle très riche en composés hydrocarbonés alors que celle de *S. transiens* est dominée par les composés oxygénés non terpéniques (Andreani, 2014). Ce sont des espèces endémiques proviennent d'un ancêtre commun (Jeanmonod, 2003). 36 composés sont communs aux deux huiles essentielles, il s'agit là du plus fort taux de similitudes inter-espèces qui laisse à penser que même si les deux espèces ne produisent pas des compositions chimiques totalement convergentes, il existe néanmoins des voies métaboliques communes liées à une ancienne parenté (Andreani, 2014).

Senecio lividus et *S. vulgaris* sont deux espèces ayant une confusion d'identification. En effet, des erreurs d'identification notifiées dans des planches et herbiers attestent du degré de mimétisme de ces deux espèces (Jeanmonod *et al.*, 2004). Alors que l'étude chimique permet de différencier sans ambiguïté ces deux espèces : *S. lividus* est riche en monoterpènes hydrocarbonés tandis que *S. vulgaris* présente une composition dominée par les sesquiterpènes hydrocarbonés (Andreani, 2014).

Dans la littérature, la taxonomie du genre *Senecio* a fait l'objet de nombreuses discussions (Jeanmonod *et al.*, 2004); initialement, les espèces ont été regroupées en sections définies en fonction de caractères morphologiques (taille des pieds, forme et disposition des fleurs etc..). Plus récemment, la classification des espèces a été revue en utilisant des marqueurs génétiques ; malgré ces études la différenciation taxonomique demeure encore aujourd'hui ambiguë (Pelser *et al.*, 2002).

L'étude de la variabilité chimique intra-spécifique de quelques espèces de *Senecio* a permis de mettre en évidence les corrélations entre la composition chimique

des huiles essentielles et le polymorphisme des taxons et/ou des facteurs édaphiques. Les caractéristiques pédologiques des sols semblent être à l'origine de la diversité chimique de quelques espèces du genre (Andreani, 2014).

5- Résultats microbiologique des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne, des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*, a été effectuée par la méthode de diffusion de disque sur cinq souches bactériennes (ATCC), une levure. Trois antibiotiques témoins (CN: gentamicine, CTX: céfotaxime et CS : colistin sulfate) ont été utilisés pour tester la sensibilité de ces dernières. Cette technique permet de mesurer le diamètre d'inhibition autour d'un disque de papier filtre imprégné d'huile essentielle sur la surface du milieu gélosé Mueller-Hinton dans des boîtes de pétri. Les résultats sont exprimés par mesure du diamètre des halos d'inhibition, en mm après 24h d'incubation à l'étuve à 37°C.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en observant le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* à différentes concentrations sur les cinq bactéries et la levure et les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 7 et la figure 27.

Selon Rossi *et al.*, 2007, les huiles essentielles sont considérées actives si elles produisent des diamètres d'inhibitions de croissances microbiennes supérieurs ou égaux à 15mm.

Les diamètres des halos d'inhibitions produits par les trois antibiotiques sur les souches microbiennes testées varient entre 12 et 33,5 mm, à l'exception de la levure *Candidat albicans* qui présente une résistance contre les trois antibiotiques. De même la bactérie *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 reste résistante à la gentamicine.

Tableau 7: Diamètres des zones d’inhibitions de l’huile essentielle de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*.

souche microbienne				<i>Senecio giganteus</i>				<i>Senecio jacobaea</i>			
	CN	CS	CTX	Dilution				Dilution			
				1	1/2	1/5	1/10	1	1/2	1/5	1/10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0	18	18	8	10	12	11	14	9	12	12,5
<i>Echerichia coli</i> ATCC 25922	25	15	33,5	12	11	9	11	13	10	11	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603	17	12	19	11	10	9	9,5	15	9	9	9,5
<i>Shigella</i> sp	30	15	14	14	13	11,5	11	11	10	9	9,5
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	26	15	18	9	8	7,5	9	12	7	9	10,5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CN: gentamicine, CTX: céfotaxime ,CS : colistin sulfate

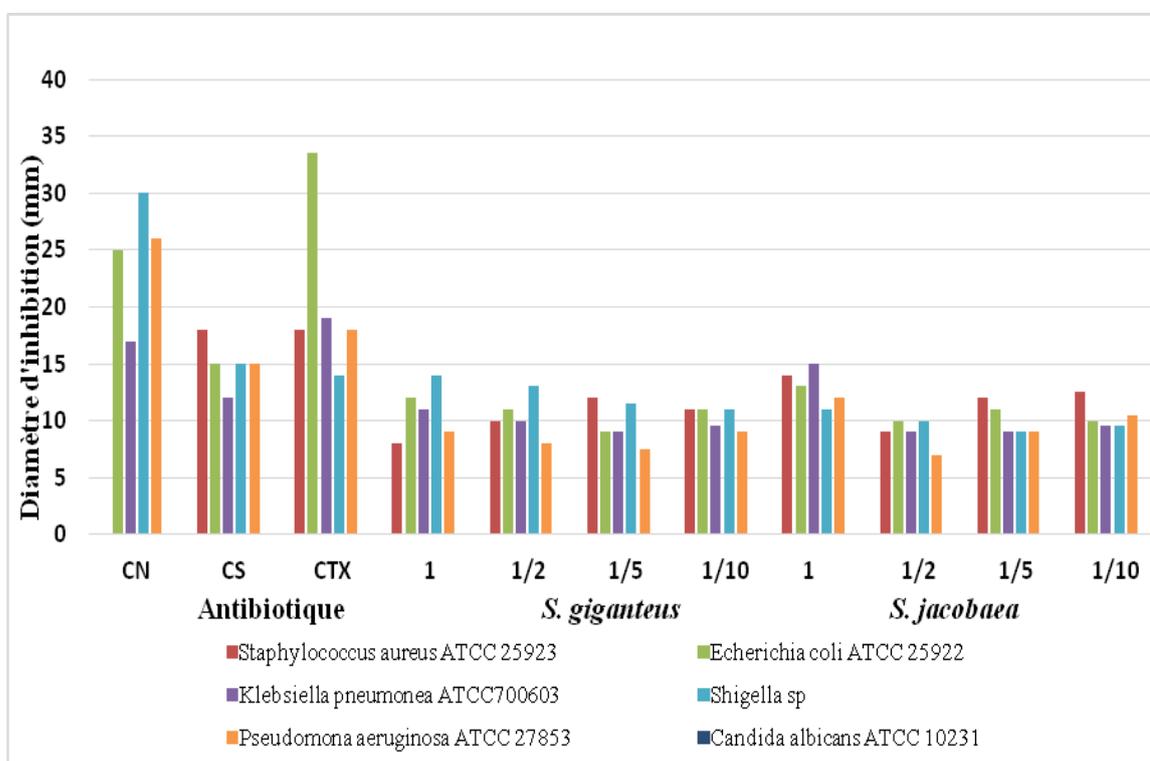


Figure 28 : Graphe des zones d’inhibitions de l’huile essentielle de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea*

Les diamètres des halos d’inhibition générés par l’huile essentielle pure de *S. giganteus* variés entre 7.5 et 14 mm, les bactéries a gram⁻, *Echerichia coli* ATCC 25922 et *Shigella* sp, montrent une sensibilité pour cette huile avec des diamètres d’inhibitions qui varient entre 12 et 14mm, cette huile est modérément sensible contre

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 et *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre d'inhibition entre 7.5-11 mm.

Aux dilutions 1/2, 1/5 et 1/10 de l'huile essentielle de *S. giganteus*, la sensibilité des souches bactériennes est modérée et le diamètre le plus élevé de 13mm est mesuré dans les boîtes de petri de *Shigella sp* à la concentration de 1/2 et de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pour une dilution 1/5. La levure *Candida albicans* montre une résistance à l'huile essentielle de *S. giganteus*.

Pour *S. jacobaea*, son huile essentielle a généré des halos d'inhibitions, sur les souches microbiennes, variant de 7 à 15 mm, sauf pour *Candida albicans* qui reste résistante. Les diamètres d'inhibitions, pour l'huile pure, les plus importantes sont observées sur les souches à gram négative *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et à gram positive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec un halo de 15 et 14 mm respectivement, ces deux souches bactériennes sont donc les plus sensibles. L'huile essentielle de *S. jacobaea* est modérément active contre la souche gram négative *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 et *Shigella sp* avec des diamètres d'inhibitions qui varient entre 11-13 mm. Les autres dilutions présentent une activité modérée à faible sur les souches bactériennes étudiées avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 7 et 12,5 mm. Les diamètres des zones d'inhibitions produits par l'huile essentielle de *S. giganteus* et *S. jacobaea* sont considérées moyennement actives en comparaison avec celle produit par les antibiotiques.

Le test bactéricide et bactériostatique de l'HE pure de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* montre qu'elles possèdent seulement un effet bactériostatique c'est à dire que les deux huiles essentielles ont juste la capacité d'empêcher les bactéries de se développer.

En conclusion, les diamètres d'inhibitions générés par l'huile essentielle de *S. jacobaea* sont considérés relativement élevés par rapport à celle de *S. giganteus*.

Les résultats des analyses bactériologiques de *S. giganteus* et *S. jacobaea* sont globalement semblables à celles des autres espèces du genre *Senecio*. Les huiles essentielles de *S. graveolens* et de *S. pedunculatus* montrent des activités modérées

contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ATCC 29923 (Pumaylle *et al.*, 2012; Joshi *et al.*, 2013). Et les HE de *S. othonnae* et *S. nemorensis* ont montré aussi une activité antibactérienne modérée contre *Staphylococcus aureus* (Uçüncü *et al.*, 2010). Nos résultats sont en accord avec ceux des huiles essentielles de *S. pogonias* et *S. oreophyton* testés sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Lopez *et al.*, 2014). Alors que les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont résistantes à l'huile de *S. glaucus* d'Egypte (EL Amier *et al.*, 2014).

Saurat et Thomas, (2009), signalent que les acides gras libres ont une activité antimicrobienne sur *Staphylococcus aureus* et sur *Streptococcus*. La Camera *et al.*, 2005, constate que le métabolisme des acide gras est particulièrement actif lors des infections microbiennes, sans que les mécanismes de leurs mobilisations soient bien connus. Les acide gras libres, possède une grande activité inhibitrice sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. (Sirot *et al.*, 1983).

Malgré la présence de l'acide gras (Acide hexadecanoïque) dans la composition chimique de l'huile essentielle de *S. giganteus* avec un pourcentage de 17,80%, l'activité antimicrobienne de l'huile reste moyenne sur les souches bactériennes testées. Cela peut être expliqué par les interactions synergiques entre les différents composés qui peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaires.

L'huile essentielle pure de *S. jacobaea* présente des diamètres d'inhibitions importantes sur la souche *Klebsiella pneumonea* ATCC 700603 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec un halo de 15 et 14 mm respectivement, cette activité peut expliquer par la présence d'un pourcentage élevé des alcools (27,94%), d'après Baratta *et al.*, 1998; Dorman and et Deans, 2000, la présence de composés à fonction alcool justifie les activités antibactériennes, antifongiques et antioxydantes des plantes.

La levure *Candida albicans* est résistante aux huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea*, alors qu'elle est sensible à l'huile essentielle de *S. pedunculatus* (Joshi

et al., 2013). Cependant elle montre une activité modérée pour les huiles essentielles de *S. glaucus* et *S. aegyptius* (El-Amier *et al.*, 2014; El-Shazly *et al.*, 2002).

Les différences de l'activité biologique (antibactérienne, antifongique,...) d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques entre les constituants (Bel Hadj *et al.*, 2010). Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de configuration des enzymes de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (Cox *et al.*, 2000; Carson *et al.*, 2002).

6- Résultat de la cytotoxicité de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7

La mesure de l'effet cytotoxique des huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* sur la prolifération des cellules cancéreuses mammaires humaines MCF-7 est effectué par la technique de fluorescence en utilisant la résazurine, L'intensité de fluorescence obtenue après lecture au Fluoroskan Ascent FL (exprimée en unité arbitraire) est convertie en pourcentage d'inhibition de la prolifération par rapport à la prolifération des cellules témoins.

- Lecture de la plaque t0

Après 24 h d'incubation de la plaque t0, la présence de cellules métaboliquement actives est observée dans les deux premières colonnes et cela se traduit par la réduction de la résazurine (bleu) en résorufine (rose). L'intensité de fluorescence est proportionnelle au nombre de cellules viables.

- Mesure de la prolifération des cellules

Après 72 h de culture, l'intensité de fluorescence obtenue par lecture sur le fluoroskan Ascent FL à 590 nm est convertie en pourcentage d'inhibition de la

prolifération par rapport à la prolifération des cellules témoins (DMSO). Ces résultats nous ont permis d'établir un histogramme du pourcentage de viabilité cellulaire en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* (Figure 28). Nous avons confirmé au préalable que le DMSO n'a aucune influence sur la prolifération des cellules, ceci en comparant avec un témoin DMSO réalisé dans les mêmes conditions.

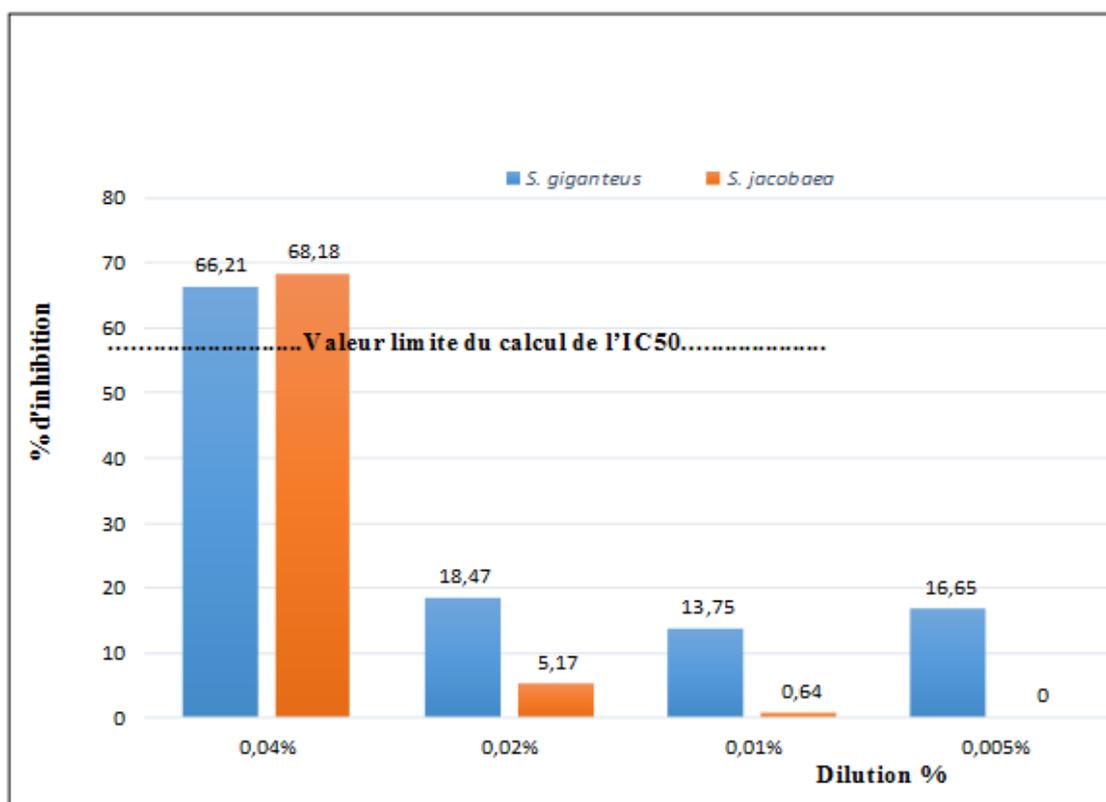


Figure 29: Inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses MCF-7 par différentes concentrations des huiles essentielles de *Senecio*

L'étude de l'activité cytotoxique de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7 nous a clairement montré que les deux huiles essentielles n'avaient pratiquement aucune activité sur la prolifération cellulaire globale des lignées cellulaires étudiées pour les dilutions de 0,005%, 0,01% et 0,02% et cela se traduit par des pourcentages d'inhibition très faibles (Tableau 8).

Alors qu'à la concentration 0,04%, les huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S. jacobaea* induisent une certaine activité antiproliférative qui se traduit par la couleur bleue de la résazurine qui n'est pas transformée en résorufine rose (Figure 30, 31). L'huile essentielle de *S. giganteus* a enregistré un pourcentage d'inhibition d'une moyenne de 66,21% ce qui correspond à une concentration inhibitrice IC50 de 251ug/ml, et le pourcentage d'inhibition généré par l'huile de *S. jacobaea* est de 68,18 % avec un IC50 de 265µg/ml (tableau 8).

Le pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* sont respectivement en moyenne 66,21% et 68,18% ce qui correspond à des CI50 (concentrations qui inhibent 50% de la prolifération des MCF-7) de 251 ug/ml et 265 ug/ml (Tableau 8).

Tableau 8: Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de *S.giganteus* et *S.jacobaea* sur la prolifération de cellules mammaires cancéreuses MCF-7

Dilution	<i>S.giganteus</i>				<i>S. jacobaea</i>			
	0,005%	0,01%	0,02%	0,04%	0,005%	0,01%	0,02%	0,04%
Pourcentage d'inhibition %	14,20	0,00	7,98	57,53	0,00	0,00	0,00	61,98
	24,33	24,14	25,21	71,66	0,00	0,00	5,40	71,78
	25,34	22,96	39,33	73,20	0,00	1,24	11,36	68,32
	15,84	25,92	26,49	72,60	0,00	2,62	9,39	71,63
	3,54	9,50	11,80	68,73	0,00	0,00	0,00	71,69
	0,00	0,00	0,00	53,57	0,00	0,00	4,88	63,66
Moyennes	16,65	13,75	18,47	66,21	0,00	0,64	5,17	68,18
SEM	3,96	4,96	5,89	3,47	0,00	0,44	1,91	1,79
IC 50	251µg/ml				265µg/ml			

La cytotoxicité de l'huile essentielle de *S. giganteus* et *S. jacobaea* a été testée sur des cellules mammaires cancéreuses MCF-7. Peu d'études concernant la cytotoxicité des huiles essentielles des espèces du genre *Senecio*, sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7 ont été réalisées.

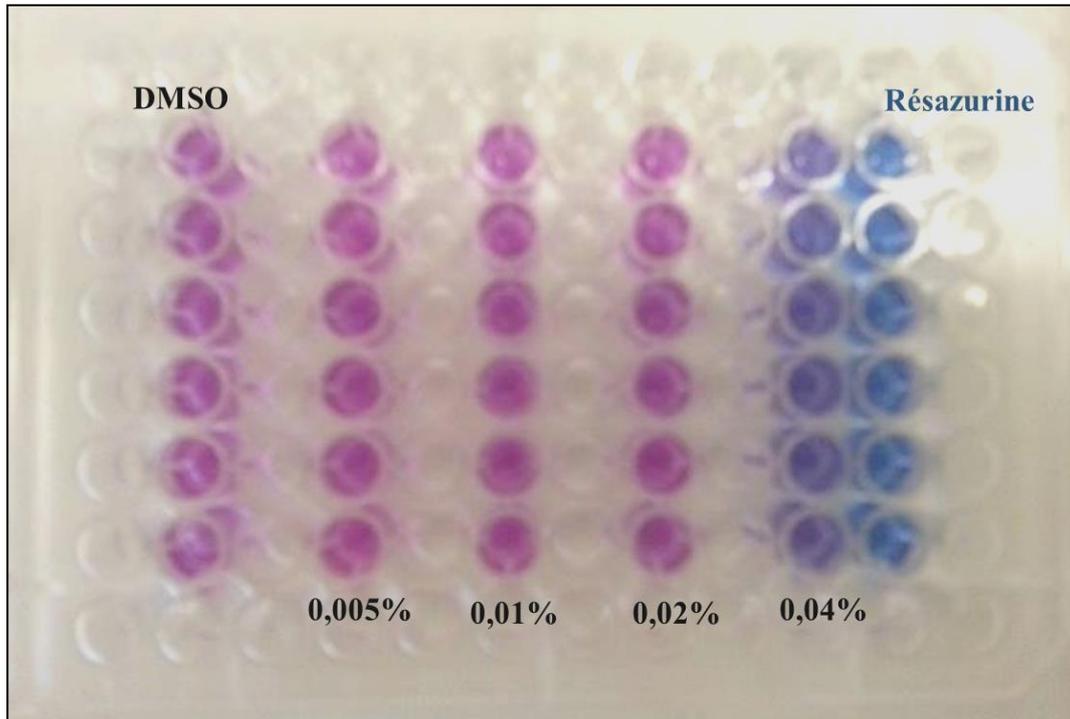


Figure 30: La plaque mesurant l'activité cytotoxique de l'huile essentielle de *Senecio giganteus* après incubation pendant 72h

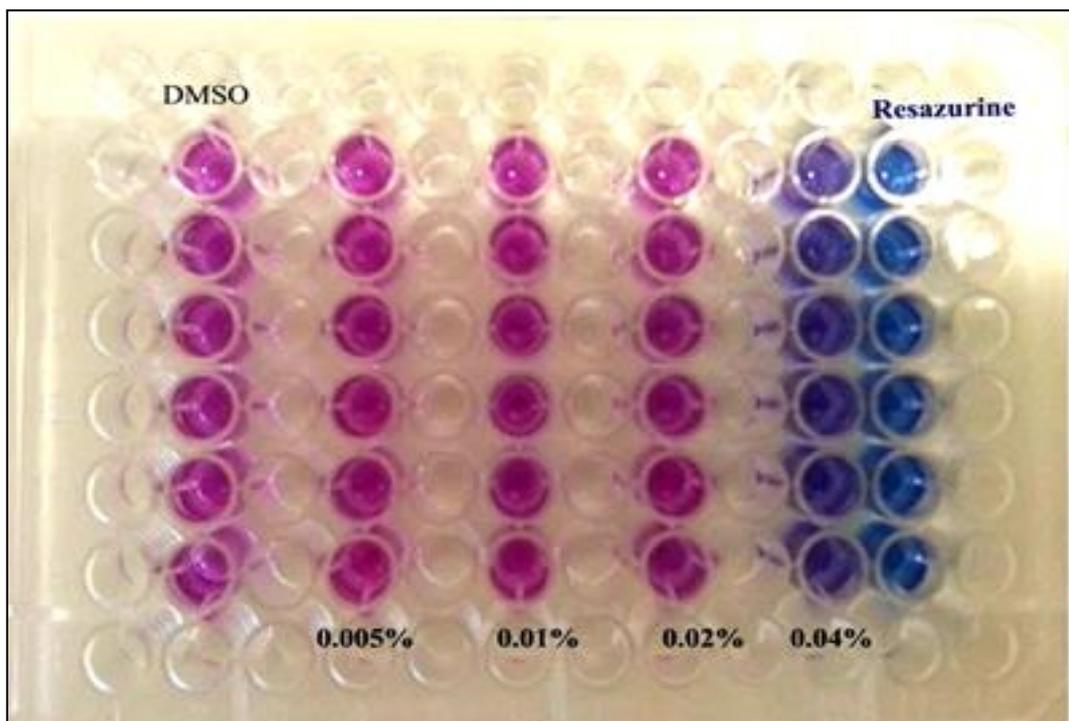


Figure 31: La plaque mesurant l'activité cytotoxique de l'huile essentielle de *Senecio jacobaea* après incubation pendant 72h

Les valeurs de l'IC₅₀ (concentration qui inhibe de 50 % le taux de croissance de la population cellulaire considérée après trois jours de culture en présence du composé d'intérêt) déterminées pour l'huile essentielle de *S. giganteus* et *S. jacobaea* sont 251 ug/ml et 265 ug/ml respectivement pour la concentration 0,04%. Cette activité est considérée faible comparée aux résultats de la littérature qui considère qu'une huile essentielle est active si elle possède une IC₅₀ < 25 ug/ml (Costa *et al.*, 2016).

Comme il n'existe pas dans la littérature de données sur la cytotoxicité des huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea*, les résultats de notre étude sont comparés avec ceux d'études antérieures réalisées avec des huiles essentielles d'autres espèces du genre *Senecio*. Une étude portant sur l'huile essentielle de *S. leucanthemifolius* montre qu'elle possède une activité cytotoxique importante sur les cellules cancéreuses humaines du col de l'utérus avec une IC₅₀ = 1.158 ug/ml (Ouchbani *et al.*, 2011). Des résultats identiques sont observés avec l'huile essentielle de *S. pterophorus* qui présente une cytotoxicité importante sur les oeufs de crevettes (*Artemia salina*) avec une IC₅₀ comprise entre 12.15 et 13.23 ug/ml (Lawal *et al.*, 2016). L'huile essentielle de *S. graciliflorus* possède aussi une activité cytotoxique importante sur les cellules cancéreuses du poumon humain avec un IC₅₀ = 19.1 µg/ml (Lone *et al.*, 2014). Les huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* semblent moins cytotoxiques en comparant avec d'autres espèces du genre *Senecio* d'après ces premiers résultats.

L'effet cytotoxique de certaines huiles essentielles dans le genre *Senecio* est dû à la présence de certains composants comme l' α -pinène, l'ocimène et du caryophyllène. On peut s'attendre à ce que le puissant effet cytotoxique de ces huiles soit lié à l'effet synergique des principaux constituants. En plus des constituants majeurs précités, certains constituants mineurs peuvent également contribuer à la bioactivité observée (Wang *et al.*, 2008).

Malgré la présence de l' α -pinène, l'ocimène et le caryophyllène dans la composition chimique des huiles essentielles étudiées, l'activité cytotoxique des deux huiles reste faible sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7 testés. Cela peut être expliqué par les pourcentages faibles ou par les interactions synergiques entre les

différents composés qui peuvent être l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaires.

En comparant avec d'autres espèces de la famille des *Asteraceae*, les huiles essentielles des deux espèces du genre *Senecio* étudiés sont induit une meilleure cytotoxicité cellulaire par rapport au d'autres espèces de la même famille, l'exemple de *Achyrocline alata* et *Baccharis latifolia*, qui sont utilisés à des fins médicinales, en médecine traditionnelle colombienne, l'huiles essentielles de deux plantes ne présente aucun effet cytotoxiques (Zapata *et al.*, 2010).

Ainsi l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*, une plante aromatique et médicinale, ne présente pas un effet cytotoxique contre les lignées cellulaires cancéreuses (Martínez-Díaz *et al.*, 2015). Alors que d'autres espèces de la famille des *Asteraceae* présentent une activité cytotoxique plus importante, l'huile essentielle de *Pluchea carolinensis* présente une activité cytotoxique importante (Garcia *et al.*, 2017), et aussi, l'huile essentielle de *Tagetes erecta* qui présente une cytotoxicité très importante avec un $IC_{50} = 7.47 \mu\text{g/ml}$ et suggéré d'être utilisé pour traiter le cancer sans affecter les cellules normales (Pollyanna Francielli *et al.*, 2015).

La majorité des huiles essentielles qui présentés des effets antiprolifératifs sont pour la plus part riches en composés terpénique oxygénés, Les monoterpènes sont très efficaces dans le traitement des cancers précoces et avancés ; empêchent le processus de cancérogenèse lors de l'initiation et les étapes de promotion / progression, le monoterpène pirillyl alcool a été décrit pour avoir une activité anti proliférative intéressante (Gould, 1997; Garcia *et al.*, 2010). D'autres monoterpènes, tel que le limonène a été démontré pour prévenir les cancers mammaires, du foie, du poumon, et d'autres cancers (Gould, 1997). La teneur faible en monoterpènes de deux huiles essentielles de *Senecio* expliquerait donc l'activité anti-proliférative faible de ces huiles. Cela confirmé que l'activité biologique (cytotoxicité, antibactérienne, antifongique, etc.) d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques.

Le composé naturel le plus toxique est d'environ 270 fois moins toxiques que la molécule de chimio-thérapie la plus toxique. Cependant, ils sont aussi moins toxiques pour les cellules cancéreuses que la plupart des médicaments de chimiothérapie (Boik, 2001). De nombreuses molécules cytotoxiques d'origine végétale sont largement utilisées dans la chimiothérapie (Newell, 2005). L'huile essentielle de *S. giganteus* et *S. jacobaea* pourrait offrir un espoir dans la prise en charge du cancer du sein.

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles (Université Ferhat abbas Sétif 1) dont l'un des objectifs est la recherche de nouveaux principes actifs afin de valoriser les plantes utilisées en médecine traditionnelle en Algérie. Nous avons pour cela sélectionné deux espèces du genre *Senecio*. Dans ce contexte, une étude anatomique, caryologique, phytochimique, activité biologique et la cytotoxicité des deux huiles essentielles de *Senecio giganteus* et *S.jacobaea* a été réalisées.

L'étude de la structure histologique des racines, tiges et feuilles de *Senecio giganteus* et *Senecio jacobaea* a été abordée dans cette thèse. Une importante diversité de structures anatomiques dévoile la présence des similarités et des variations notables entre les différentes parties dans les deux espèces. Dans les racines de *S. giganteus* et *S. jacobaea*, une similaire en terme de nombre des tissus a été observés. Alors que celles des tiges a montré une différence apparente dans la moelle, une partie de la moelle de *S. giganteus* est remplacé par une lacune centrale. L'épiderme foliaire des deux espèces présente des trichomes glandulaires et non glandulaires de types morphologiques distincts.

Il ressort des analyses effectuées que la plupart des caractéristiques anatomiques observées sont des formes d'adaptation au milieu originel des espèces étudiées. C'est le cas notamment de la densité de faisceaux conducteurs et des trichomes.

Les dénombrements chromosomiques, portés sur les deux espèces ont permis de distinguer deux niveaux de ploïdie, un tétraploïde avec la présence d'un chromosome surnuméraire (B) à $2n = 4x = 20 + 2B$ pour *Senecio giganteus*, et un tétraploïde à $2n = 4x = 40$ pour *Senecio jacobaea* et présentant deux nombres chromosomiques de base $x = 5$ et $x = 10$.

Après avoir déterminé leur composition chimique, nos efforts ont porté sur leur valorisation par le biais de la mise en évidence de leurs propriétés antibactériennes et antiprolifératives. Les huiles essentielles issues des deux plantes étudiées, ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type clewenger. La composition chimique des huiles essentielles extraites a été réalisée par

chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse. Dans cette partie, il ressort que les plantes étudiées ont de faibles rendements en huiles essentielles. Des rendements allant de 0,02% pour *Senecio giganteus* à 0,03% pour *Senecio jacobaea*. Les analyses de la composition chimique des huiles essentielles de *S. giganteus* et *S. jacobaea* ont permis d'identifier 40 et 44 composés respectivement. L'huile essentielle de *S. giganteus* s'est avérée largement dominée par les sesquiterpènes oxygénés (21,22%) alors que celle de *S. jacobaea* est riche en Composé hydrocarboné (28,10%).

Dans la dernière partie de cette étude, une évaluation des activités antibactérienne et antiproliférative des huiles essentielles obtenues a été réalisée. L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été réalisée sur des souches de références par les méthodes de diffusion et de microdilution en milieu solide. Les huiles essentielles ont montré une activité plus ou moins variée. Les deux huiles essentielles ont montré une activité antibactérienne modérée, à l'exception de *Candidat albicans* qui reste résistante.

L'étude de l'effet cytotoxique des huiles essentielles, testé sur les cellules mammaires cancéreuses MCF-7, indique que les deux huiles présentent un effet cytotoxique faible sur la prolifération cellulaire globale avec un IC50 de 251µg/ml et de 265µg/ml respectivement pour une concentration de 0,04%.

Ce modeste travail est une contribution à l'étude de deux espèces du genre *Senecio* natives de l'Est Algérien, *S. giganteus* et *S. jacobaea*, Nous espérons que les éléments réunis dans le présent travail contribueront à faire progresser les connaissances ce groupe d'espèces connu pour sa complexité, ce travail doit être complété par d'autres travaux, à savoir,

-L'application des technique caryologiques de coloration différentielle et la réalisation des caryotypes, à l'aide des techniques de marquage particulières qui permettent d'obtenir une coloration inhomogène des chromosomes par le Giemsa (colorant) et l'apparition de bandes.

-Utiliser les techniques de biologie moléculaire pour caractériser les chromosomes B dans l'optique d'obtenir certaines données quant à leur origine, cela

CONCLUSION

nous permettra d'apporter de nouveaux éléments relatifs à la place des chromosomes B dans le génome.

-Il serait intéressant de fractionner les huiles essentielles ayant donné un résultat positif par leurs action sur les cellules mammaires cancéreuses et les souches microbiennes testés, de le tester séparément puis de réaliser de mélange a différents concentrations afin de vérifier l'hypothèse de synergie d'action des différents constituants.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abbott RJ, James JK, Forbes DG and Comes HP. 2002. Hybrid origin of the Oxford Ragwort, *senecio squalidus* L: morphological and allozyme differences between *S. squalidus* and *S. rupestris* Waldst. and Kit. *Watsonia*, 24: 17-29.
- Abdel Aal M, Bohlmann F, Sarg T, El-Domiaty M and Nordenstam B. 1988. Oplopane derivatives from *Acrisione denticulata*. *Phytochemistry*, 27: 2599-2602.
- Adams R P. 1989. Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy. *Academic Press, U.S.A.*, 302 p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). 1996. Huiles essentielles, recueil de normes françaises. 5^{ème} éd., 1, échantillonnage et méthode d'analyse, 2, spécifications, Paris.
- Alexander JCM. 1979. The mediterranean species of *Senecio* sections *Senecio* and *Delphinitolius*. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh*, 37: 387-428.
- Alvarenga SAV, Ferreira MJP, Emerenciano VP, Cabrol-Bass D. 2001. Chemosystematic studies of natural compound isolated from *Asteraceae*. Characterization of tribes by principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 56: 27-37.
- Amirouche R, Misset MT. 2009. Flore spontanée d'Algérie: différenciation écogéographique des espèces et polyploïdie. *Cahiers Agricultures*, 18 (6): 474-480.
- Anderson L C, Kyhos D W, Mosquin T, Powell A M and Raven P H. 1974 Chromosome Numbers in Compositae, IX: *Haplopappus* and Other *Astereae*. *American Journal of Botany*, 61:665-671.
- Anderson Loran C and Creech Jessica B. 1975. Comparative leaf anatomy of *Solidago* and related *Asteraceae* (Morphotaxonomy). *American Journal of Botany*, 62 (5): 486-493.
- Andreani S, Paolini J, Costa J, Muselli A. 2015. Essential-oil composition and chemical variability of *Senecio vulgaris* L. from Corsica. *Chem Biodivers*, 12 (5):752-66.
- Andreani S. 2014. Valorisation d'espèces envahissantes des genres *Xanthium* et *Senecio*: Caractérisation, variabilité chimique et activités des huiles essentielles. *Thèse de Doctorat, UNIVERSITE DE CORSE-PASCAL PAOLI*, 264p.
- Arce M Yepes M and Feijóo M. 2010. Anatomía foliar de *Senecio coluhuapiensis* Speg., endémica del Bosque Petrificado de Sarmiento (Chubut-Argentina). *VII Simposio*

Internacional sobre la Flora Silvestre en Zonas Áridas. Hermosillo, Sonora, México. Resumen EMC, 3: 94.

- Arrabal C, Garcia F M, Arraiza M P, Garcia S G. 2011. Chemical composition of essential oil of *Senecio coinnyi* an endemic species of the central Iberian peninsula. *Natural Product Communications*, 6: 123-126.
- Arthur J Eames and Laurence H Mac Daniels. 1947. an Introduction to Plant Anatomy. 2nd ed. McGraw-Hill, New York, link, 427 p.
- Ashton PA et Abbott RJ. 1992. Multiple origins and genetic diversity in the newly arisen allopolyploid species, *Senecio cambrensis* Rosser, (*Compositae*). *Heredity*, 68:25–32.
- Assiniwi B. 1988. La médecine des Indiens d'Amérique. *Guérin littérature, Montréal*, 448p.
- Ayensu E S. 1970. Comparative anatomy of *Dioscorea rotundata* and *Dioscorea cayenensis*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 63: 127-136.
- Babcock Ernest B. 1934. Basic Chromosome Numbers in Plants with Special Reference to the Compositae. *The New Phytologist*, 33:386-388.
- Badami R C and Patil K B. 1980. Structure and occurrence of unusual fatty acids in minor seed oils. *Prog. Lipid. Res*, 19: 119-153.
- Bagci E and Kilic O. 2012. Chemical composition of essential oil of *Senecio vernalis* Waldstet Kit. (*Asteraceae*) from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(3): 399-404.
- Bagheri S, Ahmadvand H, Mohammadrezaei Kkorramabadi R, Khosravi P. 2017. Amount of limonene in different parts of plants. *Geriatr Persia*, 1(1):e03.
- Bain F John. 1985. Chromosome numbers in the aureoid *Senecio* complex (*Asteraceae*). *Revue canadienne de botanique*, 63(3): 539-542.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem. Toxicol*, 46 (2): 446- 475.
- Bala Santosh and Chand Gupta Raghbir. 2013. Male meiosis and chromosome number in *Asteraceae* family from District Kangra of H.P. (WESTERN HIMALAYAS). *International Journal of Botany and Research (IJBR)*, 3(1): 43-58.
- Baratta M T, Dorman H J D, Deans S G, Biondi D M and Ruberto G. 1998. Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosmar, oregano and coriander essential oils. *J. Essent. Oil Res*, 10: 618–627.
- Barkley TM. 1978. *Senecio*. in: North American Flora, series II. *Botanical Garden New York*, 10: 1050–139.

- Baser K H C, Demirci B. 2004. The essential oil of *Senecio farfarifolius* Boiss. et Kotschy growing in Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 16 (6), 558-559.
- Bautista P J, Stubing G, Figuerola R. 1991. Guia de las plantas Medicinales de la comunidad valenciana. *Las provincias, Valencia*, 305 p.
- Bavaru A and Bercu R. 2002. Morfologia și anatomia plantelor. *Edited by Ex Ponto, Constanța*, 276p.
- Beccera J, Flores C, Mena J, Aquaveque P, Alarcon J, Bittner M, Hernandez V, Hoeneisen M, Ruiz E and Silva M. 2002. Antifungan and antibacterial activity of diterpenes isolated from word extractable of Chilean *Podocarpeae*. *Boletin de la Sociedad Chilena de Quimica*, 47 (2): 151-157.
- Bel Hadj Karima, Salah Fatnassi, Amira Slim-Bannour, Fathia HarzallahSkhiri, Mohamed Ali Mahjoub, Zine Mighri, Jean-Pierre Chaumont and Mahjoub Aouni. 2010. Activités antivirale et antioxydante in vitro d'huiles essentielles de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmans. & Link de Tunisie, *Acta Botanica Gallica*, 157(3): 433–444.
- Belaunde A J, Sandoval J G, De Martino L, Senatore F, De Feo V. 2007. Chemical composition and antibacterial activity of *Senecio nutans* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 10: 332-338.
- Belitz H D, Grosch W and Schieberle P. 1987. Food Chemistry. *Ed. CBS, Khetarpaul, Neelam, "Food Processing and Preservation"*, 774p.
- Béliveau R, Gingras D. 2005. Les aliments contre le cancer. *Édition du Trécarré, Outremont*, 213 p.
- Belzung Ernest. 1900. Anatomie et physiologie végétales: à l'usage des étudiants en sciences naturelles des universités, des élèves à l'Institut agronomique, des écoles d'agriculture, etc. *Félix Alcan, Editeur, Paris*, 1308p.
- Benites J, Bravo F, Rojas M, Fuentes R, Moiteiro C, Venâncio F. 2011. Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis* Phil. from Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56 (2), 712-714.
- Bentham G. 1873. Notes on the classification, history, and geographical distribution of *Compositae*. *J. Linn. Soc., Bot*, 13: 335–577.
- Bercu Rodica, M Făgăraș, Livia Broască. 2012. Anatomical Features of *Aster Tripolium* L. (Asteraceae) To saline environments. *Faculty of Natural and Agricultural Sciences "OVIDIUS" University, Constantza, Roumania*, Vol. XVII (1): 271- 277.

- Bercu Rodica. 2014. Anatomy of *GYNURA AURANTIACA* (BLUME) SCH.BIP. EX DC. (*Asteraceae*). *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, vol XVII (1): 39-44.
- Bisht C M S, Melkani A B, Dev V, Beauchamp P S. 2011. 1, 10- β -epoxy-6-oxofuranoeremophilane and other terpenoids from the essential oil of *Senecio roylanus* DC. *Journal of Essential Oil Research*, 23: 102-104.
- Böcher TW, Larsen K. 1955. Chromosome studies on some European flowering plants. *Botanisk Tidsskrift*, 52: 126–127.
- Boik J. 2001. Natural compounds in cancer therapy. *Oregon Medical Press Minnesota*.
- Boira H and Blanquer A. 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematic and Ecology*, 26:811-822.
- Bolkhovskikh Z, Grif V, Matvejeva O and Zakharyyeva O, 1974. Chromosome numbers of flowering plants. *Leningrad: Academy of Science USSR. Reimpr. P. Koeltz Science Pebl. West Germany*.
- Bonnier Gaston. 1934. Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique (comprenant la plupart des plantes d'Europe). *Librairie générale de l'enseignement, Paris*, vol 12.
- Boppré M. 1986. Insects pharmacophagously utilizing defensive plant chemicals (pyrrolizidine alkaloids). *Naturwissenschaften*, 73: 17–26.
- Bougourd S M and R N Jones. 1997. B chromosomes: a physiological enigma. *New Phytol*, 137:43–65
- Boyle P. 2005. Breast cancer control: signs of progress, but more work required. *Breast*, 14: 429–438.
- Bremer K. 1987. Tribal interrelationships of the Asteraceae. *Cladistics*, 3: 210–253.
- Bremer K. 1994. *Asteraceae*, Cladistics and classification. *Portland. OR: Timber Press*.
- Bruneton J. 1987. Éléments de phytochimie et de Pharmacognosie., *Tec And Doc. Lavoisier, Paris*, pp 230.
- Bruneton J. 1993. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, *Tec and Doc. Lavoisier, Paris, 2ème édition*, 915 p.
- Bunn F, Jones D J and Bell-Syer S. 2012. Prophylactic antibiotics to prevent surgical site infection after breast cancer surgery. *Cochrane Database Syst Rev*, 18 (1): D005360.
- Burt A, and R Trivers. 1998. Selfish DNA and breeding system in flowering plants. *Proc. R. Soc. Lond*, 265:141–146.

- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *Int. J. Food Microbiol*, 94: 223-253.
- Büyükkartal Hatice Nurhan, Hatice Çölgeçen, Ümit Budak. 2017. Stem and leaf anatomy and achene structure in some species of Senecio (Asteraceae). *Annals of Plant Sciences*, 6 (12): 1845-1854.
- Calcabrini A, Stringaro A, Toccaceli L, Meschini S, Marra M, Colone M, Salvatore G, Mondeillo F, Arancia G, Molinari A. 2004. Terpinen-4-ol, the main component of *Melaieuca aitemifolia* (tea tree) oil inhibits the *in vitro* growth of human melanoma ceils. *J. invest. Dermatol*, 122: 349-360.
- Camacho J P M, Sharbel T F and Beukeboom L W. 2000. B-chromosome evolution. *Philosophical Transactions of the royal society B*, 355: 163–178.
- Candolle A P De. 1836-1838. Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. *Treuttel and Würtz, Paris*, vol 5.-7(1).
- Carlquist S. 1961. Comparative Plant Anatomy. *Holt, Rinehart and Winston*.
- Carlquist S. 1976. Tribal interrelationships and phylogeny of the *Asteraceae*. *Aliso*, 8 (4): 465-492.
- Carnesecchi S, Bras-Gonçalves R, Bradaia A, Zeisel M, Gossé F, Poupon M.F, Raul F. 2004. Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Lett*, 215:53-59.
- Carnesecchi S, LangSey K, Exinger F, Gossé F, Raul F. 2002. Geraniol, a component of plant essential oils, sensitizes human colonie cancer cells to 5-fluorouracil treatment. *J. Pharm. Exp. Ther*, 301:625-630.
- Carson C F, Mee B J and Riley T V. 2002. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46: 1914–1920.
- Cassini H. 1816. Troisième mémoire sur les Synanthérées. *Journal de Physique, de Chimie, d'Histoire Naturelle et des Arts*, 82: 116– 146.
- Cassini H. 1819. Suite de Sixième mémoire sur la famille des Synanthérées, contenant les caractères des tribus. *Journal de Physique, de Chimie, d'Histoire Naturelle et des Arts*, 88: 189–204.
- Cassini H. 1829. Tableau synoptique des Synanthérées. *Annales des Sciences Naturelles*, 17: 387–423.

- Castro M M, leitão-Filho H F and Monteiro W R. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de *Asteraceae* de uma vegetação de cerrado. *Rev. brasil. Bot.*, 20: 163-174.
- Cavalieri E, Mariotto S, Fabrizi C, Carcereri de Prati A, Gottardo R, Leone S, Berra L V, Lauro G M, Ciampa Â R, Suzuki H. 2004. a-Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 315 (3): 589-594.
- Chalchat Jean-claude, Zoran A. Maksimovic, Silvana D. Petrovic, Momcilo S. Gorunovic. 2004. Essential Oil of *Senecio squalidus* (L.), *Asteraceae*. *Journal of Essential Oil Research*, 16 : 227-228
- Charles D J et Simon J E. 1992. A new geraniol chemotype of *Ocimum gratissimum*. *J. Essent. Oil Res*, 4: 231-234.
- Chaumont J P et Leger D. 1989. Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement voisins, relation structure-activité. *Plant. Méd. Phytothér.*, 23:124-128.
- Chen Y G, Yang J H, Zhang Y, Liu Y. 2009. Chemical composition of the essential oil of *Senecio scandens* flowers. *Chemistry of natural compounds*, 45(1): 114-115.
- Chibani S, Gherboudj W, Kabouche A, Touzani R, Aburjai T, Kabouche Z. 2013. GC-MS analysis of *Senecio giganteus* Desf. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16: 123-125.
- Combrinck S, Du Plooy GW, McCrindle RI and Botha BM. 2007. Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (*Verbenaceae*). *Annals of botany*, 6: 1111-1119
- Costa EV, da Silva TB, Costa CO, Soares MB, Bezerra DP. 2016. Chemical Composition of the Essential Oil from the Fresh Fruits of *Xylopia laevigata* and its Cytotoxic. *Evaluation Nat Prod Commun*, 11(3):417-418.
- Cox S D, Mann C M, Markham J L, Bell H C, Gustafson J E, Warmington J R and Wyllie S G. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88: 170-175.
- Cristescu Mihaela, Anton Doina, Mandă Manuela, Nicu Carmen. 2011. Study of leaves structures that determine the resistance to dryness at succulent plants. *University of Craiova, Faculty of Horticulture*, 60-64.
- Cronquist. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants Colombia. *University Press New York*.

- Curado MA, Oliveira CB, Jesus JG, Santos SC, Seraphin JC, Ferri PH. 2006. Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. *Phytotherapy*, 67 (21): 2363-2369.
- D'Ovidio R. 1984. Numeri cromosomici per la flora Italiana: 1011–1021. *Informatore Botanico Italiano*, 16: 251–260.
- Dambolena J S, Zunino M P, Banchio E, Lucini E I, Biurrun F N, Rotman A, Zygadlo J A. 2008. Essential oil composition of three species of *Senecio* from Argentina. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(6): 623-627.
- Darlington CD et Lacour LF. 1940. Nucleic acid storvation of chromosomes in trillium. *Journ. Genet*, 40: 185-213.
- Darlington CD. and Wylie A P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. *George Allen and Unwin, London*. 519 p.
- Das K S and Mukherjee S K R. 2013. Comparative morphological, anatomical and palynological observation in *Ageratum conyzoides* and *Ageratum houstonianum* of the family Compositae. *Int. J. Pharm. Res. Bio-Sci*, 2: 48-62.
- De Sousa A, Alviano A, Blank A, Alves P, Alviano C, Gattass C. 2004. *Melisa officinalis* L essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *J. Pharm. Pharmacol*, 56: 677-681.
- De Vivar A R, Pérez-Castorena A L, Arciniegas A, Villaseñor J L. 2007. Secondary metabolites from Mexican species of the tribe *Senecioneae* (*Asteraceae*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 51(3): 160-172.
- Del-Vechio-Vieira G, Barbosa M V D Lopes, B C, Sousa O V, Santiago-Fernandes L D R, Esteves R L, Kaplan M A C. 2008. Caracterização morfoanatômica de *Ageratum fastigiatum* (*Asteraceae*). *Bras. Farmacogn*, 18: 769-776.
- Dematteis M and Fernández A. 1998. Estudios cromosómicos en dos especies de *Senecio* (*Asteraceae*). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 33: 181–184.
- Dessein S, Jansen S, Huysmans S, Robbrecht E and Smets E. 2001. A morphological and anatomical survey of *Virectaria* (African *Rubiaceae*), with a discussion of its taxonomic position. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 137: 1-29.
- Dewick PM. 2002. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. *Ed. John Wiley and Sons, Chichester*, 520p.
- Diaz Lifante Zoila, Luque Teresa and Santa Barbara Consuelo. 1992. Chromosome numbers of plants collected during Iter Mediterraneum II in Israel. *Bocconeia*, 3: 229-250.

- Dmitrieva SA. 1987. Kariologicheskaya kharakteristika nekotorykh predstaviteleisem. slozhnotsvetnykh (*Asteraceae* Dumort.). *flory Belorussii. Botanika (Minsk)*, 28: 23–33.
- Dooren B V R Bos and Tattje D H E. 1981. Composition of essential oils of some *Senecio* Species. *Planta Med*, 42(08): 385–389.
- Dorman H J D and Deans S G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, 88: 308–316.
- Driemeier D and Barros C S L. 1992. Intoxicação experimental por *Senecio oxyphyllus* (*Compositae*) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 12(1/2):33-42.
- Drury D G and Waston L. 1964. Anatomy and the taxonomic significance of gross vegetative morphology in *Senecio*. *New Phytologist*, 64: 307–314.
- Dudareva N, Pichersky E and Gershenzon J. 2004. Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*, 135: 1893-1902.
- Duquénois P, Anton R. 1968. Search for derivatives of anthracene in 2 African *Cassia*: *Cassia nigricans* Vahl et *Cassia podocarpa* Guill. et Perr. *Ann Pharm Fr*; 26: 607-14.
- Echiburú-Chau, Alfaro-Lira S, Brown N, Salas CO, Cuellar M, Santander J, Ogalde JP, Rothhammer. 2014. The selective cytotoxicity elicited by phytochemical extract from *Senecio graveolens* (*Asteraceae*) on breast cancer cells is enhanced by hypoxia. *Int J Oncol*, 44(4):1357-64.
- Edris A E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res*, 21: 308-323.
- El Ajjouri M, Satrani B, Ghanmi M, Aafi A, Farah A, Rahouti M, Amarti F and Berchane M. 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 12(4): 345-351.
- El Hawary S S, Galal A E, Yousif M F, Kirolos F N. 2008. GC-MS and bioactivity of the essential oil of *Senecio rowleyanus* Jacobs. *Pharmacognosy Magazine*, 4(16): 273-277.
- El-Amier YA, Abdelghany AM and Abed Zaid A. 2014. Green Synthesis and Antimicrobial Activity of *Senecio glaucus* -Mediated Silver Nanoparticles. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(5): 631–642.
- El-Shazly A, G Doral and M Wink. 2002. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Senecio aegyptitus* var. *discoideus* Boiss, *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 57: 434-439.
- Esau Katherine. 1965. *Plant Anatomy. 2nd ed. Wiley, New York, 767p.*

- Esmaeili Akbar, Abdolhossein Rustaiyan, Mohammad T Akbari, Nasrin Moazami, Shiva Masoudi and Hamzeh Amiri. 2006. Composition of the Essential Oils of *Xanthium strumarium* L. and *Centaurea solstitialis* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 366-368.
- Esmaeili Akbar, Abdolhossein Rustaiyan, Marjan Nadimi, Shiva Masoudi, Fariba Tadayon, Sajjad Sedaghat, Nayyereh Ebrahimpur, Elmira Hajyzadeh. 2005. Volatile Constituents of *Centaurea depressa* M.B. and *Cardus pycnocephalus* L. Two *Compositae* Herbs Growing Wild in Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 17: 539-541.
- Evert R F. 2006. Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body : their structure, function, and development. 3th ed, Edited by John Wiley and Sons, 601p.
- Fabian D, Sabol M, Domaracké K, Bujněková D. 2006. Essential oils - their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. in vitro*, 20: 1435-1445.
- Fahn A. 1979. Secretory Tissues in Plants. London: Academic Press.
- Farmer H J et Moore J E S. 1905. On the meiotic phase in animals and plants. *Quarterly Journal of Microscopic Science*, 48: 489-564.
- Farnsworth N K, Kass C J. 1986. An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor inhibiting plants. *Bulletin de l'OMS*, 66:159pp.
- Fauchère J L et Avril J L. 2002. Bactériologie générale et médicale. *Ellipses Editions, Paris*: 365 p.
- Feijóo MS, Arce M E and D'Ambrogio A. 2005. Variación morfoanatómica en una población de *Senecio filaginoides* (Asteraceae). *Polibotánica*, 19: 1-17.
- Festy Daniele. 2008. Ma bible des huiles essentielles, Guide complet d'aromathérapie. *Leduc S. edition, Paris*, 550p.
- Fiche technique *American Type Culture Collection*® sur la lignée MCF7, https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/HTB-22.aspx?geo_country=fr, consulté le 25/04/2016.
- Fluck H. 1963. Chemical plant taxonomy. London T. Swain Academic, 543 pp.
- Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Robinson HE. 2009. Classification of *Compositae*. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer RJ. Systematics, Evolution, and Biogeography of *Compositae*. *International Association for Plant Taxonomy, Vienna*, 171–189.
- Galambosi Bertalan and Peura Pekka. 1996. Agrobotanical Features and Oil Content of Wild and Cultivated Forms of Caraway (*Carum carvi* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 8(4): 389-397.

- Garcia D G, Amorim L M F, de Castro Faria M V, Freire A S, Santelli R E, Da Fonseca C O, Quirico-Santos T, Burth P. 2010. The anticancer drug perillyl alcohol is a Na/K-ATPase inhibitor. *Mol. Cell. Biochem*, 345: 29–34.
- Garcia M, Scull R, Satyal P, Setzer WN, Monzote L. 2017. Chemical Characterization, Antileishmanial Activity, and Cytotoxicity Effects of the Essential Oil from Leaves of *Pluchea carolinensis* (Jacq.) G. Don. (Asteraceae). *Phytother Res*, 31 (9):1419-1426.
- Garnero J. 1978. L'évolution des méthodes et techniques d'analyse dans l'étude de la composition chimique des huiles essentielles. *Labo-pharma Problèmes et Techniques n° 277*.
- Garnero J. 1985. Les problèmes rencontrés au cours de l'obtention des huiles essentielles : le cas des huiles des labiées (1ère partie). *Phytotherapy*, 13 : 5-8.
- Gausson H, Leroy F, and Ozenda P. 1982. Précis de botanique (Végétaux supérieurs). 2 Ed *Masson, Paris*, 580p.
- Gerber D E. 2008. Targeted therapies: a new generation of cancer treatments. *American Family Physician*, 77: 311-319.
- Giseke PD. 1792. Praelectiones in Ordines Naturales Plantarum. *Hoffmann, Hamburg*.
- Gonny M, Bradesi P, Casanova J. 2004. Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour Fragr. J*, 19: 424–433.
- Gould M N. 1997. Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environ. Health Perspect*, 105: 977–979.
- Grant V. 1981. Plant Speciation. 2nd ed. *Columbia Univ Press; New York*, 563p.
- Grant V. 1986. Differentiation patterns in higher plants. In "Plants biosystematics". *Academic press, London*.
- Grant VS. 1989. Especiación Vegetal. *Limusa, México*, 587p.
- Gratti Adriana, Mabel S Feijóo, Elizabeth A Barrientos, Roxana B Peneff, Evangelina Laztra. 2014. Caracteres anatómicos, morfofuncionales y químicos foliares de *Senecio subpanduratus* (Asteraceae). *Dominguezia*, 30 (1):41-46
- Guignard J L. 1983. Abrégé de botanique. *Masson 5ème édition, Paris*, 259p.
- Guignard J L. 1994. Abrégé botanique. *Ed Masson, Paris*, 276p.
- Habermehl G G, Martz W, Tokarnia C H, Döbereiner J and Mendez M C. 1988. Livestock poisoning in South America by species of the *Senecio* plant. *Toxicon*, 26 (3):275 86.

- Haluk J P et Roussel C. 1998. Durabilité naturelle du Red cedar et application des biotechnologies végétales dans le domaine de la préservation du bois. *In : Communication 2ème Journées Scientifiques Bois-Forêt, Épinal, France.*
- Haluk J P et Roussel C. 2000. Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des *Cupressacées*. Application potentielle en préservation du bois. *Ann. Forest Sci*, 57:819-829.
- Hamdi Cherif M, Zaidi Z, Abdellouche D, Hamdi S, Lakhdari N, Djema Bendjazia A, Laouamri S, Mahnane A, Moussaoui H, Kadri L, Guerra D. 2010. Registre du cancer de Sétif (Algérie): incidence, tendance et survie, 1986–2005. *Journal Africain du Cancer*, 2 (4): 245–258.
- Hammond GB, Fernandez ID, Villegas LF and Vaisberg AJ. 1998. A survey of traditional medicinal plants from the Callejo'n de Huaylas, Department of Ancash, Peru. *Journal of Ethnopharmacology*, 61 (1): 17-30.
- Hanelt P. 2001. Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops. *Springer Science & Business Media, Berlin*, 3641 p.
- Hart KJ, Yáñez-Ruiz DR, Duval SM, McEwan NR and Newbold CJ. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 147: 8-35.
- Hartmann T and Witte L. 1995. Pyrrolizidine alkaloids: chemical, biological and chemoecological aspects. in: Pelletier SW. *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives. Pergamon Press, Oxford*, 9: 155– 233.
- Heckel E. 1910. Catalogue alphabétique des plantes utiles et en particulier des plantes médicinales et toxiques de Mad. avec leurs noms malgaches et leurs emplois, *in Annual. Museum., Ed., Colonies Marseille*, 372-373.
- Hegnauer R. 1977. The chemistry of the *Compositae*. In: Heywood VH, Harborne JB, Turner BL. *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Academic Press: *London, New York, San Francisco*, 1: 283–335.
- Hegnauer R. 1989. Chemotaxonomie der Pflanzen. *Birkhäuser Verlag, Basel*, 8: 718pp.
- Heywood V H. 1985. Las plantas con flores. *Ed. Reverté. España*, 329 p.
- Hodalova Iva, Vit Grulich, Lucie Horova, Milan Valachovic, Karol Marhold. 2007. Occurrence of tetraploid and octoploid cytotypes in *Senecio jacobaea* ssp. *jacobaea* (*Asteraceae*) in Pannonia and the Carpathians. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 153: 231–242
- Holzner G. 1977. *P.C.A.* 15: 67- 79.

- Humbert H. 1962. Flore de Madagascar et des Comores (plantes vasculaires), 189 famille, *Firmin-Didot et cie, Paris, France*, 735 p.
- Huseyin I, Hayırlıoglu-Ayaz S, Ozcan M. 2007. Chromosome numbers of the twenty-two Turkish plant species. *Caryologia*, 60 (4): 349–357.
- Isawumi M A. 1989. Epidermal studies in the species of *Jatropha* L. (*Euphorbiaceae*) found in Nigeria. *Nigerian. Journal of Botany*, 23: 94-100.
- Iva Hodalova, Vit Grulich, Lucie Horova, Milan Valachovic and Karol Marhold. 2007. Occurrence of tetraploid and octoploid cytotypes in *Senecio jacobaea* ssp. *jacobaea* (*Asteraceae*) in Pannonia and the Carpathians. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 153: 231–242.
- Jahier J, Chevre A M, Eber F, Delourme R et Tanguy A M. 1992. Technique de cytogénétique végétale. *INRA, Paris*: 181p.
- Jansen RK and Kim KJ. 1996. Implications of chloroplast DNA data for the classification and phylogeny of the Asteraceae, In: Hind, DJN, Beentje, HJ, (eds.) *Compositae: systematics, Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, 1994* (DJN, Hind, Editor-in-Chief), *Royal Botanic Gardens, Kew*, (1): 317–339.
- Jansen RK and Palmer JD. 1987. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (*Asteraceae*). *Proc. Natl Acad Sci USA*, 84: 5818–5822.
- Jansen RK, Michaels HJ, Palmer JD. 1991. Phylogeny and character evolution in the Asteraceae based on chloroplast DNA restriction site mapping. *Syst Bot* 16: 98–115.
- Jansen RK, Palmer JD. 1988. Phylogenetic implications of chloroplast DNA restriction site variation in the Mutisieae (*Asteraceae*). *Amer J Bot*, 75: 753–766.
- Jean France-Ida. 1992. Analyse de produit naturels de *Taxus canadiensis*. *Mémoire, université du Québec à Chicoutimi*, 104p.
- Jeanmonod D et Gamisans J. 2007. Flora Corsica. *Edisud, Aix en Provence*, 921p.
- Jeanmonod D, Schlüssel A and Gamisans J. 2004. *Asteraceae* -II. In *Compléments au Prodrome de la Flore Corse. Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques. Genève*, 256 p.
- Jeanmonod D. 2003. Le groupe du *Senecio leucanthemifolius* en Corse, avec description d'une nouvelle espèce : *S. serpentinicola* Jeanm. *Candollea*, 58(2): 429-459.
- Jeffrey C and Chen Y L. 1984. Taxonomic studies on the tribe *Senecioneae* (*Compositae*) of Eastern Asia. *Kew Bulletin*, 39: 205- 446.
- Jeffrey C, Halliday P, Wilmot-Dear M and Jones SW. 1977. Generic and sectional limits in *Senecio* (*Compositae*): I. Progress report. *Kew Bulletin*, 32: 47–67.

- Jeffrey C. 1992. Notes on Compositae, VI: The tribe *Senecioneae* (*Compositae*) in the Mascarene Islands with an annotated world check-list of the genera of the tribe. *Kew Bulletin*, 47: 49–109.
- Jennings W. and Shibamoto T. 1980. Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatile by Glass Capillary Chromatography., *Academic Press, NY*, 472p.
- Jones R N and Rees H B. 1982. Chromosomes. *London: Academic Press*, 266p.
- Jones R N. 1991. B-chromosome drive. *American Naturalist*, 137:430- 442.
- Jones R N. 1995. B chromosomes in plants. *New phytologist*, 131 (4): 411- 434.
- Jones RN et Puertas MJ. 1995. Los cromosomas B. In: Gosálvez J, García de la Vega C, eds. Seminarios de Citogenética. *Universidad Autónoma de Madrid*, 91- 123.
- Joshi Navadha, Sah GC and Devendra Mishra. 2013. Gc-MS Analysis and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Senecio Pedunculatus*. *Journal of Applied Chemistry*, 6(3): 49–51.
- Joshi R K. 2011. GC/MS analysis of the essential oil of *Senecio belgaumensis* flowers. *Natural product communications*, 6 (8) : 1145-1146.
- Jouhannau D G. 1991. La médecine des plantes aromatiques: Phyto-aromathérapie et les huiles essentielles de l'océan indien. *Azalées Editions, St Denis*, 153 p.
- Judd WS, Campbell CS, Kellog EA, Stevens PF. 1999. Plant Systematics. A phylogenetic approach. *assachusetts, Sinauer Associates*.
- Juel H. O. 1900. Vergleichende Untersuchungen über typische und parihenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung *Antennaria*. *Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 33: 1- 59
- K Javidnia, R Miri, M Soltani, A R Khosravi. 2009. Essential Oil Composition of Two Iranian Endemic *Helichrysum* Miller. Species (*H. leucocephalum* Boiss. and *H. artemisioides* Boiss. et Hausskn.). *Journal of Essential Oil Research*, 21: 54-56.
- Kadereit J W and Jeffrey C. 1996. A preliminary analysis of cpDNA variation in the tribe *Senecioneae* (*Compositae*). in: Hind DJN and Beentje HJ (eds.), Proceedings of the International *Compositae* Conference, Kew, 1994. vol.1, *Compositae: Systematics. Royal Botanic Gardens, Kew*, 349–360.
- Kalemba D, Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*, 10: 813-829.

- Karousou R, Koureas D N and Kokkini S. 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in Natura 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66: 2668-2673.
- Karray-Bouraoui N, Rabhi M, Neffati M, Baldan B, Ranieri A and Marzouk B. 2009. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*, 30: 338-343.
- Keil D J and T F Stuessy. 1977. Chromosome counts of Compositae from Mexico and the United States. *Amer. J. Bot*, 64: 791–798.
- Khetouta Larbi M. 1978. Comment se soigner par les plantes médicinales. *Editions Marocaines Internationales, Tanger*, 294 p.
- Kishore N, Mishra A K, Chansouria J P N. 1993. Fungitoxicity of essential oils against dermathophytes. *Mycoses*, 36: 211-215.
- Kouamé Bi K F P. 2012. Valorisation de quatre plantes médicinales Ivoiriennes : étude phytochimique. *Thèse de doctorat, chimie organique, Université de Nantes et de l'Université de Cocody-Abidjan*, 180p.
- Krasnikov AA. 1991. Chromosome numbers in some species of vascular plants from Novosibirsk region. *Botanicheskii Zhurnal (Sankt Peterburg)*,76: 476–479.
- Kuzmanov BA, Georgieva S, Nikolova V. Report. In: Love A, ed. IOPB chromosome number reports. 1979. *LXXII. Taxon* : 28: 408.
- La Camera S, Geoffroy P, Samaha H, Ndiaye A, Rahim G, Legrand M.and Heitz T. 2005. A pathogen-inducible patatin-like lipid acyl hydrolase facilitates fungal and bacterial host colonization in Arabidopsis. *Plant J*, 44: 810-825.
- Laberche Jean-Claude. 2001. Biologie végétale. *Dunod 3Ed, Paris*, 305p.
- Lahlou M, Berrada R. 2003. Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour Fragr. J.*, 18: 124–127.
- Lahlou M. 2004. Essential oils and fragrance compound: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr. J.*, 19:159–165.
- Land WJ. 1900. Double fertilization in Compositae. *Botanical Gazette*, 30: 252–260.
- Lawal A O, Oyedeji O A. 2009. Chemical composition of the essential oils of the flowers, leaves and stems of two *Senecio polyanthemoides* Sch. Bip. samples from South Africa. *Molecules*, 14, 2077-2086.

- Lawal O A, Oyedeji A O. 2010. Volatile constituents of *Senecio pterophorus* (African Daisy) DC. from South Africa. *Natural Product Communications*, 5: 1811-1814.
- Lawall A Oladipupo, Isiaka A Ogunwande, H M M Mzimela, Andy R Opoku and Adebola O Oyedeji. 2016. *Senecio pterophorus* DC. (Asteraceae) Essential Oils: Antibacterial, Antioxidant, Cytotoxic and Larvicidal Activities. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (1): 1-11.
- Lawrence BM. 1995. Progress in essential oils. *Perfum. Flavor*, 20: 35-48.
- Lawrence ME. 1980. *Senecio* L. (Asteraceae) in Australia: chromosome numbers and the occurrence of polyploidy. *Aust J Bot*, 28:151-165.
- Lawrence ME. 1985. *Senecio* L. (Asteraceae) in Australia: nuclear DNA amounts. *Aust J Bot*, 33: 221-232.
- Legault J, Dahl W, Debiton E, Pichette A, Madelmont J C. 2003. Antitumor activity of balsam fir oil: Production of reactive oxygen species induced by α -humulene as possible mechanism of action. *Planta Med*, 69:402-407.
- Lens-Lisbonne C, Cremieux A, Maillard C et Ballansard G. 1987. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles: applications aux essences de Thym et de Cannelle, *J Pharm. Belg*, 42 (5): 297-302.
- Les actualités économiques. 1996. Huile essentielle: une production mondiale de 45000 tonnes, *Parfums Cosmétiques Actualités*, 127: 26-30.
- Lessing C F. 1832. *Synopsis Generum Compositarum*. Duncker and Humblot, Berlin, 473 pp.
- Li Y H, Gesang S L, Ping A, Bianba C R, Guan Y L, Bai B R. 2006. GC-MS analysis of essential oil from the flowers of *Senecio dianthus*. *Chinese. Journal of Analysis Laboratory*, 25: 42-45.
- Li Y, Li M, Wang L, Jiang Z, Li W, Li H. 2004. Induction of apoptosis of cultured hepatocarcinoma cell by essential oil of *Artemisia annul* L. *Sichuan Da ue Xue Bao Yi Xue Ban*, 35:337-339.
- Liddell J R. 1997. Pyrrolizidine alkaloids. *Nat. Prod. Rep*, 14: 653-660.
- Lih C, Zhou L. 2005. In vitro antiviral activity of three enantiomeric sesquiterpene lactone from *Senecio* species against hepatitis B virus. *Journal Antiviral Chemistry*, 16: 277- 282.
- Lima E O, Gompertz O F, Giesbrecht A M, et al., 1993. In vitro antifungal activity of essential oils obtained from plants against dermatophytes. *Mycoses*, 36: 333-336.

- Lograda T, Ramdani M, Chalard P, Gharzouli R, Feguirodo G, Chalchat J C. 2012. Essential oil and antimicrobial activity of *Senecio perralderianus*. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2, 632-637.
- Lone SH, Bhat KA, Bhat HM, Majeed R, Anand R, Hamid A, Khuroo MA. 2014. Essential oil composition of *Senecio graciliflorus* DC: comparative analysis of different parts and evaluation of antioxidant and cytotoxic activities. *Jeanmonod Phytomedicine*, 15: 21(6):919-925.
- Lopez Mariana G, Wulff AF, Poggio L and Xifred CC. 2008. South African fireweed *Senecio madagascariensis* (Asteraceae) in Argentina: relevance of chromosome studies to its systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 158: 613-620.
- Lopez Mariana G, Xifred CC, Poggio L and Wulff AF. 2013. Deep cytogenetics analysis reveals meiotic recombination depletion in species of *Senecio* (Asteraceae). *Botanical Studies*, 54(1): 1-11.
- Lopez Maruiana G, Wulff AF and Xifreda CC. 2002. Chromosome contribution to Andean Polyploid Species of *Senecio* (Asteraceae), from Argentina; *Caryologia*, 55(1): 27-35.
- Lopez MG, Wulf AF, Poggio L, Xifreda CC. 2005. Chromosome numbers and meiotic studies in species of *Senecio* (Asteraceae) from Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 148: 465–474.
- Lopez S, Beatriz L, Aguero MB, Lopez ML, Hadad M, Zygadlo J, Caballero D, Stariolo R, Suero E, Feresin GE, Tapia A. 2014. Chemical composition, antibacterial and repellent activities of *Azorella trifurcata*, *Senecio pogonias* and *Senecio oreophyton* essential oils. *Arabian Journal of Chemistry*, doi:10. 1016/j.arabjc. 2014.11.022.
- Loreley Dana Jianui, Rodica Bercu, Razvan Dan Popoviciu. 2013. Anatomical aspects of the stem and leaf of *Senecio grandidentatus* Ledeb. (Asteraceae). *Annals of the University of Craiova Agriculture, Montanology, Cadastre Series*, 43 (1): 365-371
- Loziene K and Venskutonis P R. 2005. Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochem. Syst. Ecol*, 33, 517-525.
- Macel M. 2003. On the Evolution of the Diversity of Pyrrolizidine Alkaloids. The Role of Insects as Selective Forces. *Ph.D. Thesis Leiden University, Leiden*.
- Mangena T and Muyima NYO. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *artemisia afra*, *pteronia incana* and *rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appli. Microbiol*, 4: 291-296.

- Mark W. Chase et James L. Reveal. The Angiosperm Phylogeny Group APG III, « An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III ». 2009. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161 (2): 105-121.
- Marongiu B, Porcedda S, Piras A, Rosa A, Deiana M, Dessi A. 2004. Antioxidant activity of supercritical extract of *Melissa officinalis* Subsp. *Officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*. *Phytoter. Res*, 18: 789-792.
- Martínez-Díaz Rafael Alberto, Ibáñez-Escribano Alexandra, Burillo Jesús, Lorena de las Heras, Gema del Prado, M Teresa Agulló-Ortuño, Luis F Julio and Azucena González-Coloma. 2015. Trypanocidal, trichomonacidal and cytotoxic components of cultivated *Artemisia absinthium* Linnaeus (*Asteraceae*) essential oil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 110(5): 693–699.
- Masada Y. 1976. Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass spectrometry. *Wiley Halsted, New York*: 334 p.
- Mengi N, Garg S N, Agarwal S K, Mathela C S. 1995. The occurrence of β -thujone and a new *p*-menthane derivative in *Senecio chrysanthemoides* leaf oil. *Journal of Essential Oil Research*, 7(5): 511-514.
- Merrell WD. 1900. A contribution to the life history of Silphium. *Botanical Gazette*, 29: 99–133.
- Metcalf C R and Chalk L. 1950. Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, Stem and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses. 2v. *Clarendon Press, Oxford*. 1500p.
- Metcalf C R. and Chalk L. 1979. Anatomy of the Dycotyledons. *Clarendon Press. Oxford 2nd ED*, 276p.
- Meusel H and Jäger EJ. 1992. Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora, *Band III. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag Jena*.
- Mezache N, Derbre S, Akkal S, Laouer H and Seraphin D. Richomme. 2009. Pascal Fast counter current chromatography of n-butanolic fraction from *Senecio giganteus* (*Asteraceae*). *Natural Product Communications*, 4(10): 1357-1362.
- Mirza M, Nik Z B. 2008. Chemical composition of the essential oil of *Senecio leucostachys* Baker. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(2): 179-183.
- Mishra D, Bisht G, Mazumdar PM and Sah SP. 2010. Chemical composition and analgesic activity of *Senecio rufinervis* essential oil. *Pharm Biol*, 48(11): 1297-1301

- Misset. 1974. Utilisation des métabolites secondaires en chimie Taxonomique. La flore du bassin méditerranéen: *Essai de systématique*. CNRS., 387-400.
- Miyazawa Mitsuo, Yamafuji Chikako, Ishikawa Yukio. 2001. Volatile Components of *Cirsium japonicum* DC. *Journal of Essential Oil Research*, 17 : 12-16
- Modzelewska A, Sur S, Kumar K S et Khan S R. 2005. Sesquiterpenes: Natural products that decrease cancer growth. *Curr. Med.Chem.- Anti-cancer Agents*, 5: 477-499.
- Mohammad hosseini M, Pazoki A, Ali-Zamani H, Akhlaghi H, Nekoei M. 2010. Chemical composition of the essential oil from aerial parts of *Senecio gallicus* Chaix growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13: 704-709
- Morton JK. 1977. A cytological study of the *Compositae* (excluding Hieracium and Taraxacum) of the British Isles. *Watsonia*, 11: 211–223.
- Mucaji Pavel, Mucajiová Ivana, Nagy Milan, Grancai Daniel and Svajdlenka Emil. 1998. Chemical Composition of the Flower Oil of *Cynara cardunculus* L, *Journal of Essential Oil Research*, 13 : 357-358
- Müntzing A. 1936. The evolutionary significance of autopolyploidy. *Hereditas*, 21: 263–378.
- Murari A L, De Carvalho F H, Heinzmann B M, Michelot T M, Hörner R, Mallmann C A. 2008. Composição e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassifolius* var *crassifolius*. *Quimica Nova*, 31: 1081-1084.
- N'Guessan Koffi, Kafana Soro et N'Guessan Bra Yvette Fofie. 2012. Étude anatomique de plantes utilisées en médecine traditionnelle en pays Abbey et Krobou, au Sud de la Côte-d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(1): 264-278.
- Newell D R. 2005. How to develop a successful cancer drug --molecules to medicines or targets to treatments?. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 41: 676 –682.
- Niemeyer H M. 2007. Composition of the essential oils from five aromatic species of *Asteraceae*. *Journal of Essential Oil Research*, 21: 350-352.
- Nissen L, Zatta A, Stefanini I, Grandi S, Sgorbati B, Biavati B et Monti A. 2010. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia*, 81: 413–419.
- Nist. 2002. Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System (Ver. 2.1). *DTRA*.
- Nordenstam B and Lundin R. 2002. *Oldfeltia*, a new genus of the *Compositae-Senecioneae* from Cuba. *Compositae Newsletter*, 38: 65–70.

- Nordenstam B, Pelser P B, Kadereit JW and Linda E Watson. 2009. Chapter 34, *Senecioneae*, In: Victoria Ann Funk A. Susanna T F Stuessy and R J Bayer (Hrsg.): Systematics, Evolution, and Biogeography of *Compositae*. *International Association for Plant Taxonomy*, Vienna, 503-525.
- Nordenstam B, Pelser PB, Kadereit JW and Linda E Watson. 2009. Chapter 34, *Senecioneae*, S., In : Victoria Ann Funk, A. Susanna, T. F. Stuessy & R. J. Bayer (Hrsg.) : Systematics, Evolution, and Biogeography of *Compositae*. *International Association for Plant Taxonomy: Vienna*, 503-525.
- Nordenstam B. 1977. *Senecioneae* and *Liabeae*. Systematic review, in: Heywood VH, Harborne JB and Turner BL (eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. *Academic Press, London*, 799-830.
- Nordenstam B. 2003. *Io* B. Nord. (*Compositae-Senecioneae*), a new monotypic genus from Madagascar. *Compositae Newsletter* 40: 47–50.
- Nordenstam B. 2006. Additions to the genus *Jacobaea* Mill. (*Compositae,-Senecioneae*). *Compositae Newsletter*, 44: 12–13.
- Nordenstam B. 2007. *Senecioneae*. In: Kadereit J W and Jeffrey C (eds.). *The Families and Genera of Vascular Plants*. vol. VIII, *Flowering Plants. Eudicots. Asterales*. Springer, Berlin, 208–241.
- Nori-Shargh D, Raftari S, Deyhimi R. 2008. Analysis of the essential oil of *Senecio vernalis* Waldstet Kit. from Iran. *Flavour and fragrance journal*, 23: 357-359.
- Odom R B, James W D, Berger T.G. 2000. *Andrews Diseases of the Skin: Clinical Dermatology*. *W.B. Saunders Company*, 1135p.
- Ogzewalla C and Willims M.1962. Volatil oil in cardamon seed. *Proc. Okla. Acad. Sci*, 16 (8): 107-110.
- Oliveira M J, Iani F P C, Oliveira C B A, Santos M R, Souza P S, Santos S C, Seraphin J C and Ferri P H. 2005. Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33: 275-285.
- OMS. 2006. Le cancer. Aide-mémoire. *Word Health Organisation*, 297 : 1- 4.
- Onippam. 1997. Huiles essentielles et plantes aromatiques: bilan en demi-teinte, *Arômes Ingrédients Additifs*, 8: 23-26.
- Ornduff R, Raven PH, Kyhos DW and Kruckeberg AR. 1963. Chromosome numbers in *Compositae*. III. *Senecioneae*. *American Journal of Botany*, 50: 131-139.

- Ouchbani Tarik, Ouchbani Said, Bouhfid Rachid, Merghoub Nawel, Radouane Ahmed Guessous, EL. Mzibri Mohamed and Essassi E M. 2011. Chemical Composition and Anti proliferative Activity of *Senecio Leucanthemifolius* Poiret Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14 (6): 815- 819.
- Oussou K R, Youlou S, Kanko C, Guessennnd K N, Boti J B, Ahibo C and Casanova J. 2008. Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Reaserch*, 1: 94-103.
- Ozenda P. 1958. Flore du Sahara septentrional et central, *Ed CNRS, Paris. France*, 485p.
- Palestis B G, R Trivers A, Burt and R N Jones. 2004. The distribution of B chromosomes across species. *Cytogenet. Genome Res*, 106:151–158.
- Parfenov VI and Dmitrieva SA. 1988. Kariologicheskaya kharakteristika predstavitelei flory sosudistyykh rastenii Berezinskogo biosfernogo zapovednika. *Zapovedniki Belorussii Issledovaniya*, 12: 3–8.
- Parra Claudio, Soto Emilio, León Gloria, Cristian O Salas, Michael Heinrich and Carlos Echiburú-Chau. 2017. Nutritional composition, antioxidant activity and isolation of scopoletin from *Senecio nutans* support of ancestral and new uses. *Journal Natural Product Research*, 1- 4
- Patri Franco et Silano Vittorio. 2002. Plants in cosmetics - Les plantes dans les cosmétiques - volume 1. *Council of Europe*, 218 p.
- Pauli A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather*, 11: 126- 133.
- Paume Marie Claude. 2009. Sauvages et Toxiques: Plantes des bois, des prés et des jardins. *Edisud Aix en Provence*, 255p.
- Pellecuer J, Jacob M, Simeon de Buechberg M and Allegrini J. 1980. Therapeutic value of the cultivated mountain savory (*Satureia Montana* L.). *Acta Hortic*, 96: 35-39
- Pellecuer J. 1982. De la plante vers le médicament: Plantes médicinales et médecine populaire en Bas Languedoc. *Document édité par l'ODAC, supplément à études sur l'Hérault*, 13 (3): 29-35.
- Pelser PB, Bertil N, Joachim WK and Linda EW. 2007. An ITS phylogeny of tribe *Senecioneae* (*Asteraceae*) and a new delimitation of *Senecio* L. *Taxon*, 56(4): 1077-1104.

- Pelser PB, De Vos H, Theuring HC, Beuerle T, Vrieling K and Hartmann T. 2005. Frequent gain and loss of pyrrolizidine alkaloids in the evolution of *Senecio* sect. *Jacobaea* (Asteraceae). *Phytochemistry*, 66: 1285–1295.
- Pelser PB, Tepe EJ, Kennedy AH, Watson LE. 2010. The fate of *Robinsonia* (Asteraceae): sunk in *Senecio*, but still monophyletic?. *Phytotaxa*, 5: 31–46.
- Pelser PB. 2002. Waarom classificaties steeds veranderen: voorbeelden uit de Sleutelbloemfamilie (*Primulaceae*). *Gorteria*, 28: 89-92.
- Perez C, Agnese A M, Cabrera J L. 1999. The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1): 91-96.
- Pernet R and Meyer G. 1957. Pharmacopée de Madagascar. *Tananarive-Tsimbazaza, Publication de l'Institut de Recherche Scientifique*, 96p.
- Pibiri M C. 2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. *Thèse École polytechnique fédérale de Lausanne EPFL, n° 3311*, 161p.
- Pichersky E, Noel JP, Dudareva N. 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*; 311: 808-11.
- Piesschaert F, Andersson L, Jansen S, Dessein S, Robbrecht E and Smets E. 2000. Searching for the taxonomic position of the African genus *Collettoecema* (Rubiaceae): morphology and anatomy compared to an rps16- intron analysis of Rubioideae. *Canadian Journal of Botany*, 78: 288-304.
- Poiret Danie. 2011. Plantes Médicinales. <http://www.mr-plantes.com/2011/03/jacobee-senecio-jacobaea/>, 2011.
- Pollyanna Francielli de Oliveiraa, Jacqueline Morais Alvesa, Jaqueline Lopes Damascenoa, Renata Aparecida Machado Oliveiraa, Herbert Júnior Diasb, Antônio Eduardo Miller Crotti b, Denise Crispim Tavaresa. 2015. Cytotoxicity screening of essential oils in cancer cell lines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25: 183–188
- Pumaylle KO, Paredes L, Dagnith LBL, Silva Paz RJ. 2007. Extraction, characterization and evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*, 3: 291-302.
- Pyykkö M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. *Departament of Botany. University of Helsinki*, 620 pp.

- Quezel P et Santa S. 1962-1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1-2 Ed, CNRS, Paris, 1170p.
- Quezel P. et Bounaga D. 1974. Aperçu sur la connaissance actuelle de la flore d'Algérie et de Tunisie. La flore du bassin méditerranéen: Essai de systématique. CNRS, PP 125-130.
- Rahman AHMM, Islam AKMR, Rahman MM. 2011. The Family *Asteraceae* of Rajshahi Division, Bangladesh, VDM Verlag Dr. Muller Publishing House Ltd. Germany, 1-176.
- Rakhi S, Daman S, Dwarakanath B S, Madhu C. 2011. Inhibition of Human Cervical Cancer Cell Growth by Ethanolic Extract of *Boerhaavia diffusa* Linn. (Punarnava) Root. *Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 1-13.
- Rastogit T, Hildesheim A, Sinha R. 2004. Opportunities for cancer epidemiology in developing countries. *Nat Rev Cancer*, 4 (11) : 909-917.
- Raven P H, Solbrig O T, Kyhos D W and Snow R. 1960. Chromosome numbers in *Compositae*. I. *Astereae*. *American Journal of Botany*, 47:124-132
- Ribeiro M A, Bernardo-Gil M G, Esquivel M M. 2001. *Melissa officinalis*, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. *Journal of Supercritical Fluids*, 21: 51-60.
- Richard H M J et Etievant P. 1997. Représentativité des extraits d'arômes réalisés au laboratoire, *Rivista Italiana EPPOS, Numero spécial*, 306-325.
- Robert G. 2000. Les Sens du Parfum. *Osman Eroylles Multimedia. Paris*, 224 p.
- Robinson H, Carr G D, King R M and Powell A M. 1997. Chromosome numbers in *Compositae*, XVII: *Senecioneae* III. *Ann. Missouri Bot. Gard*, 84: 893-906.
- Roder E, 1995. Medical plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie*, 50:83-98.
- Roder E, 2000. Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie*, 55:711-726.
- Rondon M, Araque M, Morales A, Gualteri M, Rojas J, Veres K, Mâthé I. 2006. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *lasiocephalus longipenicillatus* (*Senecio longipenicillatus*). *Natural Product Communications*, 1: 113-115.
- Rossi PG, Berti L, Panighi J, Luciani A, Maury J, Muselli A. 2007. Antibacterial action of essential oils from Corsica. *Journal of Essential Oil Research*, 19 : 176-182.
- Roze. 1972. *Senecio* Species: Toxic Plants Used as Food and Medicine in the Transkei. *South African medical journal*, 46 (30):1039-43.

- Ruberto G, Baratta M T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem*, 69: 167–174.
- Russo E B. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects, *British Journal of Pharmacology*. 163 (7): 1344–1364.
- Russo M, Galleti G, Bocchini P and Garnacini A. 1998. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences. *J. Agric. Food Chem*, 46: 3741-3746.
- Saha Lipika and Mukherjee Sobhan Kr. 2012. Morphological variation of trichomes in some common species of *Asteraceae*. *IJPRBS*, 1(6): 408-425
- Samyn N and Kintz P. 1999. Determination of "Ecstasy" components in alternative biological specimens. *Journal of Chromatography Biomedical Science Applied*, 1 (2):137- 143.
- Santos F Rafaela, Nunes M Bárbara, Sá D Rafaela, Soares A L Luiz, Randau P Karina. 2016. Morpho-anatomical study of *Ageratum conyzoides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26 (6): 679-687.
- Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Señoráns FJ, Reglero G. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J Food Prot*; 68: 790- 795.
- Saurat Jean-Hilaire et Thomas Luc. 2009. Dermatologie et infections sexuellement transmissibles. *Éd. 5, Elsevier Masson*, 1152p.
- Schmidt. 1981. Hydrodiffusion SA, *brevet suisse n° 2473058*.
- Schneider D. 1987. The strange fate of pyrrolizidine alkaloids in: Chapman RF, Bernays E A and Stoff olano JG (eds.). *Perspectives in Chemoreception and Behavior*. Springer, New York, 123–142.
- Semple J C, Watanabe K. 2009. A review of chromosome numbers in *Asteraceae* with hypotheses on chromosomal base number evolution. In: Funk VA, Susanna A, Stuessy T, Bayer R, eds. *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae*. Vienna: *International Association for Plant Taxonomy (IAPT)*, 61–72.
- Sharma P and Shah GC. 2015. Composition and antioxidant activity of *Senecio nudicaulis* Wall.ex DC. (*Asteraceae*): a medicinal plant growing wild in Himachal Pradesh, India. *Nat Prod Res*, 29 (9):883- 886
- Singh Rajendra, Ahluwalia Vivek, Singh Pratap, Kumar Naresh, Sati Om Prakash and Sati Nitin. 2016. Antifungal and phytotoxic activity of essential oil from root of *Senecio*

amplexicaulis Kunth. (*Asteraceae*) growing wild in high altitude-Himalayan region. *Natural Product Research*, 30 (16): 1875-1879.

- Singh Rajendra, Singh Garima, Tiwari Ajeet Kumar, Patel Shveta, Agrawal Ruhi, Sharma Akhilesh, Singh BB. 2015. Diversity of Host Plants of Aphids (*Homoptera: Aphididae*) Infesting *Asteraceae* in India. *International Journal of Zoological Investigations*, 1 (2): 137–16.
- Sirot J, P Jouanel, C Motta and Sirot D. 1983. Influence of the fatty acid content of bone tissue on the activity of antibiotics. *Annales de l'institut Pasteur. Microbiologie*, 134 (1): 79-90.
- Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *J. Agr. Food Chem*, 44: 1202-1205.
- Solbrig OT. 1977. Chromosomal cytology and evolution in the family Compositae. In: Heywood VH, Harborne JB, Turner BL, eds. The biology and chemistry of the Compositae. *London: Academic Press*, 267–281.
- Solereder H. 1908. *Systematic Anatomy of the Dicotyledons*. *Oxford: Clarendon Press*.
- Soule H D, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan M. 1973. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 51: 1409-1413.
- Spach Edouard. 1834-1848. Histoire naturelle des végétaux: Phanérogames. *Librairie encyclopédique de Roret, Paris : 572p*
- Spichiger R E, Savolainen V V, Figeat M, Jeanmonod D. 2004. Botanique Systématique des plantes à fleurs. 3ème édition, *Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne, Suisse*. pp. 348-349.
- Stanford K and Heinz D. 1971. Effects of storage on the volatile composition of nutmeg. *Phytochemistry*, 10: 1245-1250.
- Stebbins G L. 1971. Chromosomal évolution in higher plants. *Edwards, Arnold ltd, London*, 216p.
- Sybenga J. 1992. Cytogenetics in plant breeding. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 469p.
- Sybenga S. 1959. Some sources of error in the détermination of chromosome length. *Chromosoma*, 10 : 355-364
- Sylvestre M, Legault J, Dufour D, Pichette A. 2005. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrlca gale* L. *Phytomedecine*, 12: 299-304.

- Sylvestre M, Pichette Â, Longtin A, Nagau F, Legault J. 2006. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *J. Ethnopharmacol*, 103: 99-102.
- Tekin Mehmet and Kartal Ciler, 2016. Comparative anatomical investigations on six endemic Tanacetum(Asteraceae) taxa from turkey. *Pak. J. Bot*, 48(4): 1501-1515.
- Thakuri B C, Padalia R C, Chanotiya C S, Tiwari A, Mathela C S, Kharkwal H. 2008. Sesquiterpene rich oils from leaves and roots of *Senecio rufinervis* DC. *Journal of Essential Oil Research*, 20, 435-436.
- Tokarnia C H and Döbereiner J. 1984. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras*, 4(2):39-65
- Toma W, Trigo J R, Bensusaski de Paula A C, Souza B A, Monteiro R. 2004. Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. *Journal of ethnopharmacology*, 95: 345-351.
- Touche J. 1997. Représentativité et reproductibilité des extraits de végétaux aromatiques au niveau du végétal. *Rivista Italiana EPPOS, Numero spécial*, 288-294.
- Tranchant J. 1964. Manuel de chromatographie en phase gazeuse. *Masson et Cie. Paris*, 231pp.
- Trivers R, A Burt and B G Palestis. 2004. B chromosomes and genome size in flowering plants. *Genome*, 47:1-8.
- Tucarov J. 1964. Influence des facteurs exogènes sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. *La France et ses parfums*, 7(40): 277-283.
- Tundis R, Loizzo M R, Bonesi M, Menichini F, Dodaro D, Passalacqua N G, Statti G, Menichini F. 2009. In vitro cytotoxic effects of *Senecio stabianus* Lacaita (Asteraceae) on human cancer cell lines. *Natural Product Research*, 23(18): 1707-1718.
- Turner B L and Lewis W H. 1965. Chromosome numbers in the Compositae. IX. African species. *Journal of South African Botany*, 31: 207-217.
- Üçüncü O, Kahriman N, Terzioglu S, Karaoglu S A, Yayh N. 2010. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from flowers of *Senecio othonnae*, *Senecio racemosus* and *Senecio nemorensis*. *Natural Product Communications*, 5: 831-834.
- Uedo N, Tatsuta M, Lishi H, Baba M, Sakai N, Yano H, Otani T. 1999. Inhibition by D limonene of gastric carcinogenesis induced by A/-methy!-/V'-nitro-A/-nitrosoguanimidine in wistar rats. *Cancer Lett*, 137:131-136.

- Usta A, Üçüncü O, Cansu T B, Terzioğlu S, Yaylı N. 2009. Chemical composition of the essential oils from flowers of *Senecio vernalis* and *Senecio platyphyllus* var. *platyphyllus*. *Asian Journal of Chemistry*, 21(8), 6369-6374.
- Uzun E, Sariyar G, Adsersen A, Karakoc B, Otuk G, Oktayoglu E, Pirildar S. 2004. Traditional medicine in Sakarya Province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. *J. Ethnopharmacol*, 95: 287-296.
- Van Damme P. 2001. Pesticide, drug and essential oil crops. In: Raemakers R.H., ed. Crop production in tropical Africa. *Directorate General for International Cooperation (DGIC), Brussels, Belgium*, 1155-1166.
- Van Dooren B, Bos R, Tattje D H E. 1981. Composition of Essential Oils of Some *Senecio* Species. *Planta medica*, 42(08), 385-389.
- Vanier P. 1994. Les huiles essentielles et la thérapie par les huiles essentielles. *Guide Ressources*, 9: 69-73.
- Véla E and Benhouhou S. 2007. Evaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le bassin méditerranéen (Afrique du nord). *C.R. Biologies*, 330: 589-605.
- Vèsque J. 1885. Caractères des principales familles gamopétales. Tirés de l'anatomie de la feuille. *Annales des Sciences Naturelles. Botanique. Ser*, 7 (1): 183-360.
- Villagran C, Castro V, Sanchez G, Romo M, Latorre C, Hinojosa L F. 1998. La tradición surandina del desierto: etnobotánica del área del Salar de Atacama (Provincia de El Loa, Región de Antofagasta, Chile). *Estudios Atacamenos*, 16: 7-105.
- Viollon C, Leger D and Chaumont J P. 1993. Activités antagonistes *in vitro* de certains composés volatils naturels vis-à-vis de germes de la flore vaginale. *Plant Méd Phytothér*, 26: 17-22.
- Vogt R, Oberprieler C. 2008. Chromosome numbers of North African phanerogams. VIII. More counts in *Compositae*. *Willdenowia*, 38: 497-519.
- Wagenitz G. 1976. Systematics and phylogeny of the *Compositae* (*Asteraceae*). *Plant Systematics and Evolution*, 125 (1): 29-46.
- Wagner G W. 1991. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physiol*, 96: 675-679.
- Wagner H. Pharmaceutical and economic uses of the *Compositae*. 1977. In: Heywood VH, Harborne JB, Turner BL. *The Biology and Chemistry of the Compositae. Academic Press, London, New York, San Francisco*, 1: 411-433.

- Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ. 2008. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chem*, 108: 1019–1022.
- Watt J M and Breyer-Brandwijk M G. 1962. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 2ed. Livingstone, Edinburgh and London, 1457p.
- Wayne Jonas. 2005. Dictionary of Complementary and Alternative Medicine. Mosby, 1 edition, 592p.
- Witte L, Ernst L, Adam H, Hartmann T. 1992. Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid containing *Senecio* species. *Phytochemistry*, 31: 559-565.
- Xiao KJ, Wang WX, Dai JL, Zhu L. 2014. Anti-inflammatory activity and chemical composition of the essential oils from *Senecio flammeus*. *EXCLI J*, 18(13):782- 791.
- Yang Y, Zhao L, Wang Y F, Chang M L, Huo C H, Gu Y C, Shi Q W, Kiyota H. 2011. Chemical and pharmacological research on plants from the genus *Senecio*. *Chemistry and Biodiversity*, 8: 13-72.
- Yurek D, Farrar W and Andersen B L. 2000. Breast cancer surgery: comparing surgical groups and determining individual differences in postoperative sexuality and body change stress. *J Consult Clin Psychol*, 68 (4): 697-709.
- Zambonelli A, D'Aurelio AZ, Severi A, Benvenuti E, Maggi L and Bianchi A. 2004. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L. *J. Essent. Oil. Res*, 16(1): 69-74.
- Zapata B, Durán C, Stashenko E, Betancur-Galvis L, Mesa-Arango AC. 2010. Antifungal activity, cytotoxicity and composition of essential oils from the *Asteraceae* plant family. *Rev Iberoam Micol*, 30: 27(2):101-103.
- Zdero C, Bohlmann F. 1990. Systematics and evolution within the *Compositae*, seen with the eyes of a chemist. *Plant Syst Evol*, 171: 1–14.
- Zelnak A B. 2007. Clinical pharmacology and use of microtubule-targeting agents in cancer therapy. *Methods in Molecular Medicine*, 137: 209-234.

**PUBLICATIONS
SCIENTIFIQUES**

Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of *Senecio giganteus* Desf. from Algeria

Kenoufi M¹, Lograda T¹, Chalard P^{2,3}, Figueredo G⁴, Ramdani M^{1*}

¹Laboratory of Natural Resource Valorisation, Faculty of Natural Sciences and Life, Ferhat Abbas University, 19000 Setif, Algeria

²Clermont Université, ENSCCF, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France

³CNRS, UMR 6296, ICCF, F-63171 Aubiere, France

⁴LEXVA Analytique, 460 rue du Montant, 63110 Beaumont, France

Available Online: 15th November, 2016

ABSTRACT

The species *Senecio giganteus* is endemic to North Africa, especially in streams of mound. The essential oil isolated from aerial parts of *S. giganteus* from Ain Roua (Setif) region was submitted to the hydrodistillation; the yield obtained is very low 0.02% (v/w). The oil was analysed by GC and GC/MS. The chemical analysis has allowed identifying 40 compounds corresponding to 92.38 %. The oxygenated sesquiterpenes are dominant in the essential oil of *S. giganteus* with 21.22% and the hexadecanoic acid is the major component (17.80%), followed by isophytol (12.43%), pentanol 3 methyl (7.28%) and phytol (6.66%). The Essential oil of *S. giganteus* was tested for antimicrobial activity; it showed a modest effect against the strains tested. The karyological investigation of the population of *S. giganteus* has revealed a tetraploid chromosome number $2n = 4x = (20 + 2B)$, this number is reported for the first time in Algeria.

Keywords: *Senecio giganteus*, Essential oil, antibacterial activity, Chromosome, Algeria

INTRODUCTION

Senecioneae is the largest tribe of the *Asteraceae* family gathered about 150 genera and 3000 species, nearly a third of the species of the tribe are included in the genus *Senecio*^{1,2}. In Algeria, the *Senecio* genus is represented by 18 species of which five species are endemic³. Several species of the tribe are used in folk medicine⁴. The species of genus *Senecio* are known to be toxic but also for their beneficial effects on cough, eczema, bronchitis, wound healing and facilitation of childbirth⁵. *S. vulgaris* is used to calm painful menstruation and *S. cineraria* to relieve eye problems⁶. The essential oils of the genus have been many studies⁷⁻¹⁹. The butanol extracts of the flowers of *S. giganteus* present an antioxidant power²⁰. The major components of oil in genus *Senecio* are highly variable; 1,10-epoxy furano-eremophilane (55.30%) found in the essential oil of *S. aegyptius* in Egypt; the curcumene (42.8%) in the oil of *S. nemorensis* of Turkey and the α -pinene (33.97%) in oil of *S. graciliflorus* from India^{7,10,15}. The genus *Senecio* includes several chemical families; hydrocarbon compounds, aliphatic and the oxygenated compounds¹⁷. The chemical composition of essential oils from species of the genus *Senecio* is influenced by soil type and characteristics of the plant¹⁸. The essential oils of the genus *Senecio* have shown several biological activities. The oils of *S. othonnae*, *S. nemorensis* and *S. racemosus*, showed antimicrobial and antifungal activity¹⁰. The essential oil of *S. aegyptius*

possesses an antifungal and antibacterial activity⁷. The essential oil of *S. flammeus* is effective in the treatment of acute inflammations¹⁶; the essential oil of *S. nudicaulis* has an anti-antioxidant power¹⁹, while the essential oil of *S. rufinervis* presents an analgesic activity²¹. The essential oil of the flowers of *S. graciliflorus* has antioxidant potential and high cytotoxicity against cell lines of lung cancer¹⁵. The essential oil of *S. graveolens* has antibacterial and antifungal effects²², the oil of *S. amplexicaulis*, exhibits antifungal activity²³. The genus *Senecio* is largely polyploid with a basic number ($x = 5$)²⁴⁻²⁷. The species of the genus show a great chromosomal diversity²⁶. The species with $2n = 10$ are located in Africa and probably this is the site of original genre^{24,26,28}. The highest chromosome number is observed in *Senecio roberti-friesii* with $2n = 36x = 180$ chromosomes²⁹. It is noteworthy that several species of the genus *Senecio* are wearing chromosomes B, (*S. pogonias*, *S. sectilis*, *S. ragonesei*, *S. viridis*, *S. subulatus*, *S. uspallatensis*, *S. uspallatensis* and *S. uspallatensis*)³⁰. The aim of this work is to study the chemical composition, the antimicrobial activity and determination of chromosomal number of *Senecio giganteus*, a species endemic to eastern Algeria.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

Senecio giganteus is an endemic plant of North Africa. Stems are fluted, with 2 cm in diameter. The leaves are whitish below; the flowers are yellow, grouped in corymbs. The akenes are very small, hairless³ (Figure 1). *Senecio giganteus* is collected from eastern Algeria, Ain roua (Setif) (Figure 2). Aerial parts were collected during the flowering stage in June 2014. The air dried materials were subjected to hydro-distillation for 3h using a Clevenger apparatus type. Voucher specimens were deposited in the herbarium of the Department of Biology and Ecology, Setif University, Algeria. The oil obtained was collected and dried over anhydrous sodium sulphate and stored in screw capped glass vials in a refrigerator at 4-5°C prior to analysis. Yield based on dried weight of the samples was calculated.

Essential oil analysis

The essential oils were analyzed on a Hewlett-Packard gas chromatograph Model 5890, coupled to a Hewlett-Packard model 5971, equipped with a DB5 MS column (30 m X 0.25 mm; 0.25 µm), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min, with a 5 min hold. Helium was used as the carrier gas (1.0 mL/min); injection in split mode (1:30); injector and detector temperatures, 250 and 280°C, respectively. The mass spectrometer worked in EI mode at 70 eV; electron multiplier, 2500 V; ion source temperature, 180°C; MS data were acquired in the scan mode in the m/z range 33-450. The identification of the components was based on comparison of their mass spectra with those of NIST mass spectral library³¹⁻³³ and those described by Adams, as well as on comparison of their retention indices either with those of authentic compounds or with literature values³⁴.

Antimicrobial activity

The antimicrobial activities of the essential oil of *S. giganteus* were evaluated against One Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC2592), three Gram negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsella pneumonia* ATCC 70060, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Shigella* sp) and the yeast *Candidat albicans* ATCC 10231. The bacterial inoculums were prepared from overnight broth culture in physiological saline (0.8 % of NaCl) in order to obtain an optical density ranging from 0.08-01 at 625 nm. Muller-Hinton agar (MH agar) and MH agar supplemented with 5 % sheep blood for fastidious bacteria were poured in Petri dishes, solidified and surface dried before inoculation. Sterile discs (6 mm Φ) were placed on inoculated agars, by test bacteria, filled with 10 µl of mother solution and diluted essential oil (1:1, 1:2, 1:4, and 1:8 v: v of DMSO). DMSO was used as negative control. Bacterial growth inhibition was determined as the diameter of the inhibition zones around the discs. All tests were performed in triplicate. Then, Petri dishes were incubated at 37°C during 18 to 24h aerobically (bacteria). After incubation, inhibition zone diameters were measured and documented. The bactericidal and bacteriostatic tests on the five bacterial strains using pure oil of *S. giganteus* are performed in the present study.

Caryology

For karyotypic analysis, the squashing method is used. The root-tip meristems of from germinating seeds were usually used for chromosome preparations. A pre-treatment at room temperature for 1.5 hours was usually applied before fixation of the root-tips, in a 0.05% water solution of colchicine. After fixation in a cold mixture of ethanol acetic acid (3:1), the root-tips were stored in cold 70° ethanol until used. The following procedure involved the maceration in 45% acetic acid for 15 min. staining of chromosomes is made of emerging root-tips in acetic orcein with heating for one minute. Cutting off the meristems and squashing them in a drop of orcein.

RESULTS

The essential oil, of *Senecio giganteus*, isolated by hydro-distillation from the aerial parts, was obtained in very low yield 0.02% (v/w). The analysis by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) (Figure 4 and 5) of the chemical composition of essential oils, we allowed the identification of 40 compounds in oil representing 92.38% of the total oil. The compounds, identified in this oil and their relative abundance, are presented in their order of appearance (Table 1). The major compounds of the essential oil of *S. giganteus* are hexadecanoic acid (17.80%), followed by isophytol (12.43%), 3-methyl pentanol (7.28%), phytol (6, 66%) and the spathulenol (4.47%). Oxygenated sesquiterpenes are dominant in the essential oil of *S. giganteus* with 21.22%, followed by diterpenes (19.09%) and fatty acids with 17.80%. One Notices the poverty of monoterpenes compared to the sesquiterpenes and diterpenes. The anti-bacterial activity of the essential oil was determined by the disc diffusion method. Five strains bacteria and yeast and three controls (antibiotics) are used in this study (Table 2). The diameters of inhibition zones generated by the essential oil are well below those produced by antibiotics. The essential oil of *S. giganteus* shows moderate activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Shigella* sp. with a diameter of inhibition of (12-14mm). This oil is weakly active against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klepsela pneumonia* ATCC 70060 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, with inhibition diameter of (7.5-11 mm). The yeast, *Candidate albicans*, is resistant to the essential oil of *S. giganteus*. The bactericidal and bacteriostatic tests on the five bacterial strains using the pure oil of *S. giganteus* show a bacteriostatic effect. To our knowledge *S. giganteus*, Algerian endemic species, has never been the subject of karyological study. The microscopic observation of the metaphase plates of root meristems, allowed to observe a tetraploid chromosome number, $2n = 4x = 20 + 2B$, with the presence of two B chromosomes (Figure 5). This chromosome number is identified for the first time. The basic chromosome number of this species is $x = 5$.

DISCUSSION

The essential oil yield of *S. giganteus* in the region of Ain Roua (Setif) is considered very low (0.02%) compared with the performance of the population of Constantine (0.7%)¹⁴. While our result is inserted into the genus of



Figure 1: *Senecio giganteus*

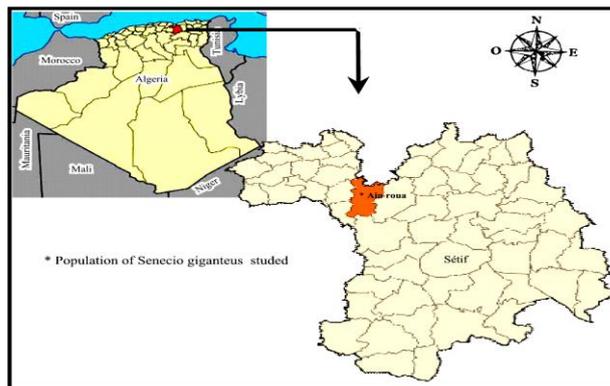


Figure 2: Population of *Senecio giganteus* studied

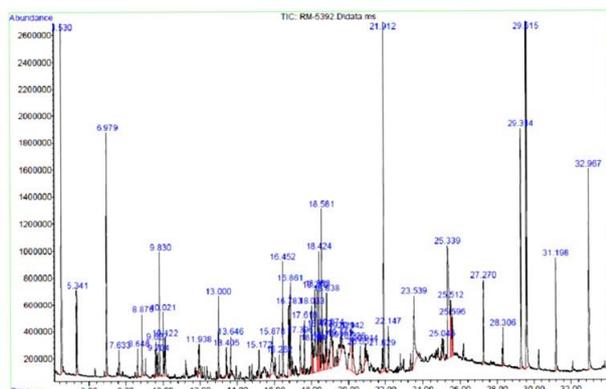


Figure 3: GC/FID profiles of *Senecio giganteus*

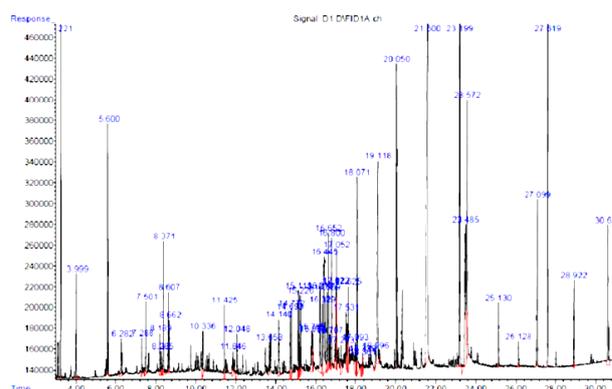


Figure 4: GC/MS profiles of *Senecio giganteus*

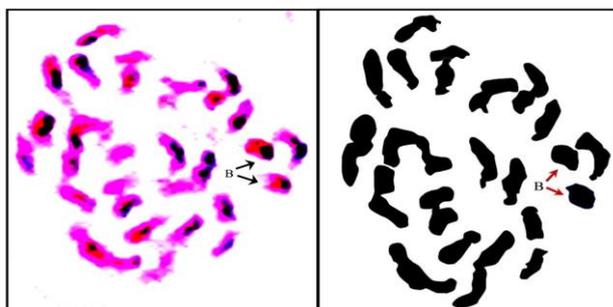


Figure 5: Caryotype of *Senecio giganteus* ($2n = 4x = 20 + 2B$). (Magnification = HI 100X).

literature data, *S. aegyptius* from Egypt (0.05%)⁷, *S. polyanthemoides* of South Africa (0.07 %) ⁹, *S. perralderianus* of Algeria (0.1%)¹³ and *S. graveolens* of Argentina (0.5%)²². The essential oil chemical profile of *S. giganteus* differs from other species of the genus. The chemical composition of *S. giganteus* of Constantine region (Algeria) shows similarity with our results, with the presence of five terpene compounds (eicosane, nerolidol<Z>, pentacosane, pentyl furan<2> and tridecene<1>)¹⁴. To our knowledge this is the only study that was done on the essential oil of this species. The chemical composition of *S. giganteus* is integrated to the overall context of the genus *Senecio*, by the presence of hexadecanoic acid, major compound in the genre, as in *S. flammeus*¹⁶. *S. giganteus* is characterized by the prevalence of oxygenated sesquiterpenes, moving closer to the chemical composition of species (*S. nudicaulis* and

S. adenotrichius)³⁵, *S. rowleyanus* of Egypt³⁶, *S. royelanus* of India³⁷, *S. belgaumensis* of India¹², *S. vulgaris* and *S. angulatus* of France¹⁷. While the chemical composition of the species *S. perralderianus*¹³, *S. leucanthemifolius*³⁸ and *S. atacamensis*³⁹ is significantly different from the chemical composition of *S. giganteus*. The results of bacteriological analyzes of *S. giganteus* are generally similar to those in the literature. Essential oils of our species show moderate activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The same results are cited for species *S. graveolens* and *S. pedunculatus*^{40,41} and *S. othonnae* and *S. nemorensis*¹⁰. The essential oils of *S. pogonias* and *S. oreophyton* show antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*⁴². While, the bacteria *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* are resistant to the oil of *S. glaucus* of Egypt⁴³. The yeast *Candida albicans* is resistant to the essential oil of *S. giganteus* by against it is sensitive to the essential oil of *S. pedunculatus*⁴⁰. The oil of *S. glaucus* from Egypt shows moderate activity against *C. albicans*⁴³. The karyological study of *S. giganteus* showed the presence of a tetraploid karyotype with $2n = 4x = 20 + 2B$. The presence of chromosomes B in this genre is confirmed in several species^{30,44-47}. This result is consistent with those found in other species of the genus *Senecio*. The species *S. madagascariensis* Argentina²⁸, *S. leucanthemifolius*, *S. glaucus* and *S. squalidus* of Morocco⁴⁸⁻⁴⁹; *S. aethnensis*, *S. squalidus* and *S. chrysanthemifolius* of Sicily have a basic chromosome number ($x = 5$)⁵⁰. This basic number is

Table 1: Chemical composition of *Senecio giganteus* essential oil

Yield (%)	KI	0.02	Yield (%)	KI	0.02
Number of compound		40	Number of compound		40
Total		92.38	Total		92.38
Pentanol 3-methyl	833	7.28	Muurolo-4(14),5-diene-trans	1493	1.17
Heptenal (2E)	947	3.40	Δ -amorphene	1511	0.65
Pentylfuran-2	984	0.64	Kessane	1529	0.54
Decene-1	986	1.42	Nerolidol (Z)	1531	2.19
β -ocimene (Z)	1032	0.45	Spathulenol	1577	4.47
β -ocimene (E)	1044	1.16	Caryophyllene oxide	1582	3.09
Octen-1-ol (3Z)	1047	0.52	Salvia 4(14) en 1 one	1594	2.06
n-octanol	1063	0.38	Humulene epoxide II	1608	2.75
Octenol (5Z)	1065	1.73	Himachalol	1652	0.67
Linalool	1095	1.09	α -cadinol	1652	0.03
n-nonanal	1100	0.68	Amorpha-4,9-dien-2-ol	1700	4.24
α -terpineol	1186	0.53	Mint sulfide	1740	0.20
Dodecene-1	1187	0.95	Phytol	1942	6.66
Tetradecatriene (3Z,6Z,9Z)	1288	0.39	Isophytol	1946	12.43
Tridecene-1	1290	0.54	Hexadecanoic acid	1959	17.80
β -damascenone (E)	1383	0.26	Eicosane (C20)	2000	0.87
Caryophyllene (Z)	1408	1.14	Tetracosane	2400	0.48
Neryl acetone	1434	1.03	Pentacosane	2500	2.65
α -humulene	1452	0.90	Hexacosane	2600	1.29
β -ionone (E)	1483	1.22	Nonacosane	2900	2.43
Chemical Class					
Monoterpene hydrocarbons	2.15				
Oxygenated monoterpenes	2.92				
Sesquiterpene hydrocarbons	2.69				
Oxygenated sesquiterpene	21.22				
Diterpenes	19.09				
Hydrocabons	11.54				
Fatty acid	17.80				
Alcool	10.06				
Aldehyde	4.08				
Others	0.83				

Table 2: Inhibition diameter of essential oil of *Senecio giganteus*

Microbial strains	Controls			Dilution			
	CN	CTX	CS	1	1/2	1/5	1/10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0	18	18	8	10	12	11
<i>Echerichia coli</i> ATCC 25922	25	33,5	15	12	11	9	11
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 70060	17	19	12	11	10	9	9,5
<i>Shigella</i> sp.	30	14	15	14	13	11,5	11
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	26	18	15	9	8	7,5	9
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0	0	0	0	0	0	0

CN = gentamicine, CTX = cefotaxime, CS = colistin sulfate

controversial between $x = 5$ and $(x = 10)^{24-25,27}$, while $x = 5$ is confirmed for the genus *Senecio*²⁸.

CONCLUSION

The chemical analysis of the essential oil of *Senecio giganteus* show that the oil contains 40 compounds when the Hexadecanoic acid is the major constituent (17.80%), and reported that the oil is rich of oxygenated sesquiterpenes. This result is differing from the other species of genus *Senecio*. The testing of the antimicrobial activity of essential oils of *S. giganteus* shows that the oil

has a moderate antibacterial activity and it was inactivated against yeast. The karyological study of *S. giganteus* based on chromosome counting, allows us to determine a tetraploid with $2n = 4x = 20 + 2B$, with a basic chromosome number $x = 5$ and this result are reported for the first time in Algeria. This study thus reflects that *Senecio giganteus* could be considered as a potential natural source of oxygenated sesquiterpenes and the karyological results can help in the classification of the species and the genus *Senecio*.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by MESRS of Algeria and in part, by the Laboratory of Chemistry and Heterocyclic of Clermont Ferrand, France.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests

REFERENCES

- Jeanmonod D, Schlüssel A and Gamisans J. *Asteraceae* -II. In Compléments au Prodrome de la Flore Corse. Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques. Genève, 2004, 256 p.
- Pelser PB, Bertil N, Joachim WK and Linda EW. An ITS phylogeny of tribe *Senecioneae* (*Asteraceae*) and a new delimitation of *Senecio* L. *Taxon* 2007; 56(4): 1077-1104.
- Quézé P et Santa S. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, CNRS, Paris, 1963, 963p.
- Nordenstam B, Pelser PB, Kadereit JW and Linda E. Watson : Chapter 34, *Senecioneae*, S. 503-525, In : Victoria Ann Funk, A. Susanna, T. F. Stuessy & R. J. Bayer (Hrsg.) : *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae* ; *International Association for Plant Taxonomy* : Vienna, 2009.
- Hammond GB, Fernandez ID, Villegas LF and Vaisberg AJ. A survey of traditional medicinal plants from the Callejo'n de Huaylas, Department of Ancash, Peru. *Journal of Ethnopharmacology* 1998; 61(1): 17-30.
- Paume Marie Claude. (2009). Sauvages et Toxiques : Plantes des bois, des prés et des jardins. *Edisud*, Aix en Provence, 2009, 255p.
- El-Shazly A, Doral G and Wink M. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Senecio aegyptius* var. *discoideus* Boiss. *Verlag der Z. Naturforsch C* 2002; 57: 434-439.
- Lawal AO and Oyedeji AO. Chemical composition of the essential oils of the flowers, leaves and stems of two *Senecio polyanthemoides* Sch. Bip. samples from South Africa. *Molecules* 2009; 14: 2077-2086.
- Lawal AO and Oyedeji AO. Volatile constituents of *Senecio pterophorus* (African Daisy) DC. from South Africa. *Natural Product Communications* 2010; 5: 1811-1814.
- Üçüncü O, Kahriman N, Terzioğlu S, Karaoğlu SA and Yaylı N. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from flowers of *Senecio othonnae*, *S. racemosus*, and *S. nemorensis*. *Natural Product Communications* 2010; 5(5): 831-834.
- Arrabal C, Garcia FM, Arraiza MP and Garcia SG. Chemical composition of essential oil of *Senecio coinycian* endemic species of the central Iberian Peninsula. *Natural Product Communications* 2011; 6: 123-126.
- Joshi RK. GC /MS analysis of the essential oil of *Senecio belgaumensis* flowers. *Natural product communications* 2011; 6(8): 1145-1146.
- Lograda T, Ramdani M, Chalard P, Gharzouli R, Feguirodo G, Chalchat JC. (2012). Essential oil and antimicrobial activity of *Senecio perralderianus* *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2012; 2: 632-637.
- Chibani S, Gherboudj W, Kabouche A, Touzani R, Aburjai T and Kabouche Z. GC-MS Analysis of *Senecio giganteus* Desf. from Algeria *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 2013; 16(1): 123-125.
- Lone SH, Bhat KA, Bhat HM, Majeed R, Anand R, Hamid A and Khuroo MA. Essential oil composition of *Senecio graciliflorus* DC: comparative analysis of different parts and evaluation of antioxidant and cytotoxic activities. *Phytomedicine* 2014; 21(6): 919-925.
- Xiao KJ, Wang WX, Dai JL, Zhu L. Anti-inflammatory activity and chemical composition of the essential oils from *Senecio flammeus*. *EXCLI Journal* 2014; 13: 782-791.
- Andreani S. (2014). Valorisation d'espèces envahissantes des genres *Xanthium* et *Senecio* : Caractérisation, variabilité chimique et activités des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, *Université de Corse-Pascal Paoli*, 2014, 264p.
- Andreani S, Paolini J, Costa J and Muselli A. Essential-oil composition and chemical variability of *Senecio vulgaris* L. from Corsica. *ChemBiodivers* 2015; 12(5):752-66.
- Sharma P and Shah GC. Composition and antioxidant activity of *Senecio nudicaulis* Wall.ex DC. (*Asteraceae*): a medicinal plant growing wild in Himachal Pradesh, India. *Nat Prod Res* 2015; 29(9): 883-886.
- Mezache N, Derbre S, Akkal S, Laouer H and Seraphin D. Richomme, Pascal Fast counter current chromatography of n-butanolic fraction from *Senecio giganteus* (*Asteraceae*). *Natural Product Communications* 2009; 4(10): 1357-1362.
- Mishra D, Bisht G, Mazumdar PM and Sah SP. Chemical composition and analgesic activity of *Senecio rufinervis* essential oil. *Pharm Biol* 2010; 48(11): 1297-301.
- Perez C, Agnese AM and Cabrera JL. The essential oil of *Senecio graveolens* (*Compositae*): chemical composition and antimicrobial activity tests. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 91-96.
- Singh R, Ahluwalia V, Singh P, Kumar N, Prakash Sati O and Sati N. Antifungal and phytotoxic activity of essential oil from root of *Senecio amplexicaulis* Kunth. (*Asteraceae*) growing wild in High Altitude Himalayan Region. *Natural Product Research* 2015; 30(16): 1875-1879.
- Ornduff R, Raven PH, Kyhos DW and Kruckeberg AR. Chromosome numbers in *Compositae*. III. *Senecioneae*. *American Journal of Botany* 1963; 50: 131-139.
- Turner BL and Lewis WH. Chromosome numbers in the *Compositae*. IX. African species. *Journal of South Africa Botany* 1965; 31: 207-217.
- Lawrence ME. *Senecio* L. (*Asteraceae*) in Australia: chromosome numbers and the occurrence of polyploidy. *Aust J Bot* 1980; 28:151-165.

27. Lawrence ME. *Senecio* L. (Asteraceae) in Australia: nuclear DNA amounts. *Aust J Bot* 1985; 33: 221-232.
28. Lopez Mariana G, Wulff AF, Poggio L and Xifred CC. South African fireweed *Senecio madagascariensis* (Asteraceae) in Argentina: relevance of chromosome studies to its systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2008; 158: 613-620.
29. Lopez Mariana G, Xifred CC, Poggio L and Wulff AF. Deep cytogenetics analysis reveals meiotic recombination depletion in species of *Senecio* (Asteraceae). *Botanical Studies* 2013; 54(1): 1-11.
30. Lopez Maruiana G, Wulff AF and Xifreda CC. Chromosome contribution to Andean Polyploid Species of *Senecio* (Asteraceae), from Argentina. *Caryologia* 2002; 55(1): 27-35.
31. Masada Y. Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass spectrometry.: Wiley / Halsted, New York, 1976, 334 p.
32. NIST (2002). Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System, Ver. 2.1, DTRA, 2002.
33. McLafferty FW, Stauffer DB (2004). Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th electronic Ed with NIST02, John Wiley & Sons, New York, NY, USA, 2004.
34. Adams RP (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. (4th Ed.) Carol Stream, IL, Allured Publishing Corporation. USA, 2007, 804p.
35. Niemeyer HM. Composition of the essential oils from five aromatic species of Asteraceae. *Journal of Essential Oil Research* 2007; 21: 350-352.
36. El Hawary SS, Galal AE, Yousif MF and Kirolos FN. GC-MS and bioactivity of the essential oil of *Senecio rowleyanus* Jacobs. *Pharmacognosy Magazine* 2008; 4(16): 273-277.
37. Bisht CMS, Melkani AB, Dev V and Beauchamp PS. 1,10- β -epoxy-6-oxofuranoeremophilane and other terpenoids from the essential oil of *Senecio roylanus* DC. *Journal of Essential Oil Research* 2011; 23: 102-104.
38. Ouchbani T, Ouchbani S, Boufhid R, Merghoub N, Guessous AR, El Mzibri M and Essassi E M. (2011). Chemical composition and antiprolative activity of *Senecio leucanthemifolius* Poiret. Essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plant* 2011; 14(6): 815-819.
39. Benites J, Bravo F, Rojas M, Fuentes R, Moiteiro C and Venâncio F. Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis*. Phil. from Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society* 2001; 56(2): 712-714.
40. Navadha J, Sah GC and Devendra M. Gc-MS Analysis and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Senecio Pedunculatus*. *Journal of Applied Chemistry* 2013; 6(3): 49-51.
41. Pumaylle KO, Paredes L, Dagnith LBL, Silva Paz RJ. Extraction, characterization and evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria* 2007; 3: 291-302.
42. Lopez S, Beatriz L, Agüero MB, Lopez ML, Hadad M, Zygadlo J, Caballero D, Stariolo R, Suero E, Feresin GE, Tapia A. Chemical composition, antibacterial and repellent activities of *Azorella trifurcata*, *Senecio pogonias*, and *Senecio oreophyton* essential oils. *Arabian Journal of Chemistry* 2014; doi:10.1016/j.arabjc.2014.11.022.
43. El-Amier YA, Abdelghany AM, Abed Zaid A. Green Synthesis and Antimicrobial Activity of *Senecio glaucus* -Mediated Silver Nanoparticles. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2014; 5(5): 631-642.
44. Lopez MG, Wulff AF, Poggio L and Xifreda CC. Chromosome numbers and meiotic studies in species of *Senecio* (Asteraceae) from Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2005; 148(4): 465-474.
45. Watanabe, K. 2002: Index to chromosome numbers in the Asteraceae. <http://www.asteraceae.cla.kobe-u.ac.jp/index.html>.
46. Oberprieler C and Vogt R. Chromosome numbers of North African phanerogams. II. *Willdenowia* 2002; 23: 211-238.
47. Humphries CJ, Murray BG, Bocquet G and Vasudevan KN. Chromosome numbers of phanerogams from Morocco and Algeria. *Bot. Not* 1978; 131: 391-406.
48. Alexander JCM. The mediterranean species of *Senecio* sections *Senecio* and *Delphinitolius*. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh* 1979; 37: 387-428.
49. Vogt R, Oberprieler C. Chromosome numbers of North African phanerogams. VIII. More counts in *Compositae*. *Willdenowia* 2008; 38: 497-519.
50. Abbott RJ, James JK, Forbes DG and Comes HP. Hybrid origin of the Oxford Ragwort, *senecio squalidus* L: morphological and allozyme differences between *S. squalidus* and *S. rupestris* Waldst. and Kit. *Watsonia* 2002; 24: 17-29.



Original Article

Chemical Composition, Antimicrobial Activity of Essential oil and Chromosome Number of *Senecio jacobaea* L. from Algeria

Meriem Kenoufi¹, Takia Lograda¹, Messaoud Ramdani^{1,*}, Pierre Chalard², Gille Figueredo³

¹Laboratory of Natural Resource Valorisation, Faculty of Natural Sciences and Life, Ferhat Abbas University, 19000 Setif, Algeria

²SIGMA Clermont, Campus des Cezeaux; CS 20 265-63178 Aubière cedex, France

³LEXVA Analytique, Rue Henri Mondor Biopole Clermont-Limagne 63360 Saint-Beauzire, France

ARTICLE INFO

A B S T R A C T

Received: 01 Apr 2017
Accepted: 22 Apr 2017

The objective of this work is to identify the chemical composition of the essential oil of *Senecio jacobaea* from Algeria, to test its antimicrobial activities and to identify its chromosomal number. The analysis and identification of the components of the essential oil of this species was performed using the (GC/SM), the antimicrobial activity is tested on five bacterial strains and yeast and the crushing process is used in the karyotype analysis. The samples of *S. jacobaea* were harvested from eastern Algeria: Souk Lethnine (Bejaia) in full bloom stage. The air dried materials were subjected to a hydrodistillation which gave a viscous liquid with pale yellow oil. The analysis by GC-GC/MS allowed the identification of 44 compounds corresponding to 83.56% of the total oil. This oil is characterized by the presence of major components, pentanol-3-methyl (25.70%), followed by cyclopentanedione-3-methyl-1,2 (22.83%) and phytol (3.15%). The hydrocarbons and alcohols represent 56% of the oil of *S. jacobaea*. The essential oil, tested on 5 bacterial strains and yeast, showed a relatively moderate antimicrobial activity against all the bacteria tested. The population of *S. jacobaea* shows a tetraploïde chromosome number, $2n = 4x = 40$, with a basic chromosome number $x = 10$.

Key words: *Senecio jacobaea*, Essential oil, Antimicrobial activity, chromosome number, Algeria

1. INTRODUCTION

Senecio is one of the most important genera of the *Asteraceae* family. It contains more than 1500 species distributed throughout the world¹. This genre is cosmopolitan². In Algeria, it is represented by 18 species, 5 of which are endemic³.

Corresponding author *

Messaoud Ramdani

¹Laboratory of Natural Resource Valorisation, Faculty of Natural Sciences and Life, Ferhat Abbas University, 19000 Setif, Algeria

E-mail: ramdanimesaoud@yahoo.com

Many species of the genus *Senecio* have been used in traditional medicine. In Chile, Andean populations use *Senecio* species as traditional remedies for altitude sickness⁴, and for the treatment of asthma, cough, bronchitis, eczema and wound healing⁵⁻⁶. Traditional uses of *S. vulgaris*, in infusion, to calm painful menstruation and *S. cineraria* to relieve ophthalmic problems, have been reported⁷. Some species of the genus *Senecio* have anti-viral activity for hepatitis B⁸. The essential oil of *S. flammeus* is effective in the treatment of acute and chronic inflammations⁹.

The essential oils of the genus *Senecio* have been the subject of a large number of phytochemical studies, which made it possible to highlight a significant chemical variability. The α -pinene is the major component of essential oil in *S. angulatus* of France¹⁰, in *S. perralderianus* of Algeria¹¹ and *S. flammeus* of China⁹. The β -caryophyllene is present in the oil of *S. othonnae* and *S. racemosus* from Turkey⁵, of *S. nudicaulis* from India¹² and *S. vulgaris* from France¹³. Several species of *Senecio* possess cytotoxic activities on cancer cell lines¹⁴⁻¹⁶.

The essential oils of the genus *Senecio* have several biological activities; *S. graveolens* inhibits the growth of *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, and also have antifungal effects on *Candida albicans*¹⁷. The oils of *S. othonnae* and *S. nemorensis* have antimicrobial activity against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Candida tropicalis*; those of *S. racemosus* possess antifungal activity against *Candida tropicalis*⁵. The essential oil of *S. aegyptius* and *S. pandurifolius* possesses antifungal activity against *Candida albicans*, and against Gram-positive bacteria^{6,18}. The oil of *S. amplexicaulis* exhibits significant antifungal activity against five phytopathogenic fungi¹⁹.

The basic chromosomal number for the genus *Senecio* is traditionally ($x = 10$), however, Lopez et al.²⁰, in a study on the number of *Senecio* chromosomes, supported ($x = 5$) as base number for this genre. Thus, the number $2n = 40$ in *S. jacobaea* can be considered as octaploid and $2n = 80$ as 16-ploides. The diploids with ($2n = 10$) were observed in Africa, the most probable centre of origin of *Senecio*²¹⁻²². According to Lopez et al.²⁰, the secondary polyploidy proposed by Stebbins (1971) is the best explanation for the *Senecio* base number dilemma.

A considerable variation in the number of chromosomes is reported for *Senecio jacobaea* from various regions ($2n = 20$, 32, 40 and 80)²³. *S. jacobaea* is one of the species of the genus, most variable at the cytological levels, with several cytotypes²⁴. Four different cytotypes have been reported, with the occurrence of tetraploids ($2n = 40$); In Slovakia, polyploids were identified, one tetraploid and one octaploid at ($2n = 80$)²³. The number of diploid chromosomes ($2n = 20$) was reported in Bulgaria²⁵, while in Ireland the chromosome number of $2n = 32$ was reported²⁶.

The aim of this work is to identify the chemical composition of the essential oil of *Senecio jacobaea* of Algeria, thus to

test its antimicrobial activities and to identify its chromosomal number.

2. MATERIALS AND METHODS

Plant Material

Senecio jacobaea is a glabrous or pubescent plant with a height of 0.50-1.20 m, with striated stems not exceeding 5-7 mm in diameter. The leaves of a dark green are petiolate and deeply erected, the superior are sessile and irregularly lacinated. The inflorescence is composed of yellow, mediocre heads and grouped in corymbs at the top of the stems³ (Figure 1). It is a plant originating in Europe, Asia and Siberia. In Algeria, it is common in the Tell marshes and known as Debbouz El-Arab³.

Samples of *S. jacobaea* were collected in the flowering stage in June 2014, in eastern Algeria (Souk Lethnine, Bejaia) (figure 2). The air dried materials were subjected to hydrodistillation for 3h using a Clevenger apparatus type. Voucher specimens were deposited in the herbarium of the Department of Ecology and Biology, Setif 1 University, Algeria. The oil obtained was collected and dried over anhydrous sodium sulphate and stored at 4°C in sealed brown vials until use.

Essential oil analysis

The essential oils were analyzed on a Hewlett-Packard gas chromatograph Model 5890, coupled to a Hewlett-Packard model 5971, equipped with a DB5 MS column (30 m X 0.25 mm; 0.25 μ m), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min, with a 5 min hold. Helium was used as the carrier gas (1.0 mL/min); injection in split mode (1:30); injector and detector temperatures, 250 and 280°C, respectively. The mass spectrometer worked in EI mode at 70 eV; electron multiplier, 2500 V; ion source temperature, 180°C; MS data were acquired in the scan mode in the m/z range 33-450. The identification of the components was based on comparison of their mass spectra with those of NIST mass spectral library²⁷⁻²⁸ and those described by Adams, as well as on comparison of their retention indices either with those of authentic compounds or with literature values³⁰.

Antimicrobial activity

The antimicrobial activities of the essential oil of *S. jacobaea* were evaluated against One Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC2592), four Gram negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *klebsiella pneumoniae* ATCC 70060, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Shigella sp*) and the yeast (*Candida albicans* ATCC 10231). The bacterial inoculums was prepared from overnight broth culture in physiological saline (0.8 % of NaCl) in order to obtain an optical density ranging from 0.08-0.1 at 625 nm. Muller-Hinton agar (MH agar) and MH agar supplemented with 5 % sheep blood for fastidious bacteria were poured in Petri dishes, solidified and surface dried before inoculation. Sterile discs (6 mm) were placed on inoculated agars, by test bacteria, filled with 10 μ l of mother solution and diluted essential oil (1:1, 1:2, 1:4, and

1:8 v/v of DMSO). DMSO was used as negative control. Bacterial growth inhibition was determined as the diameter of the inhibition zones around the discs. All tests were performed in triplicate. Then, Petri dishes were incubated at 37°C during 18 to 24h aerobically (Bacteria). After incubation, inhibition zone diameters were measured and documented. The bactericidal and bacteriostatic test on the five bacterial strains is performed using pure oil of *S. jacobaea*.

Karyology

The crushing process is used in the karyotype analysis. The meristems of the roots, resulting from the germination of seeds, are used for chromosomal preparations. A pretreatment at room temperature for 1 hour 15 minutes was applied before fixation of the root-tips, in a solution of colchicine a 0.05%. After fixation in a mixture of ethanol and acetic acid

3. RESULTS

The hydro-distillation of *Senecio jacobaea* essential oil gave a viscous liquid with yellow oil. The average yield of essential oil of the sample is 0.02%. The analysis and identification of the components of the essential oil of this species was performed using the (GC/SM) (Figure 3).

The chemical analysis of the essential oil of *S. jacobaea* allowed the identification of 44 chemical components corresponding to 83.56% of the total oil. The compound identified in these oils and their relative abundances are presented in order of their appearance (Table 1). The chemical composition of essential oil of this species is dominated by the presence of major compounds, Pentanol-3-methyl (25.70%) and Cyclopentanedione 3-methyl, 1,2 (22.83%), Followed by -pinene (3.52%) and Phytol (3.15%). The oil of *S. jacobaea* is dominated by the chemical family of hydrocarbons with a percentage of 28.10%, followed by alcohols with 27.94% and monoterpenes with 6.92%.

The antimicrobial activity of the essential oil of *S. jacobaea* is tested on five bacterial strains and yeast with three antibiotic controls (gentamicin, cefotaxime and colistin sulfate) according to the disk diffusion method. The essential oil of *S. jacobaea* has shown a bacteriostatic effect and generates diameters of inhibition zones on the microbial strains varying from 7 to 15 mm with the exception of the yeast *Candida albicans* which has resistance to oil of this species (Table 2). The inhibition diameters generated by the essential oil of *S. jacobaea* are considered medium to large in comparison with the diameters generated by the antibiotics

The most important inhibition diameters are observed on the strain *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with a halo of 15 and 14 mm respectively, these two bacterial strains are therefore the most sensitive to this essential oil. The oil is moderately active against *Echerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomona*

aeruginosa ATCC 27853 and *Shigella* sp. with an inhibition diameter of 11-13 mm. The other dilutions of the essential oil of *S. jacobaea* show moderate to low activity on the bacterial strains studied with diameters of inhibition varied between 7 and 12.5 mm.

The observation of metaphase plates of *S. jacobaea* allowed us to identify a karyotype with a tetraploide chromosome number $2n = 4x = 40$ (Figure 4).

4. DISCUSSION

The yields of plant essential oils are quite low, often less than 1%, and the high levels as in the bud of clove (1.5%) are exceptional³⁰. The yield of *S. jacobaea* essential oil of 0.02% is the same in *S. giganteus* of Algeria³¹. This rate is very low compared to that found in other species of the genus *Senecio*, in particular in *S. graveolens* (0.5%)¹⁷, *S. aegyptius* (0.4%)⁶, *S. polyanthemoides* (0.23%)³², *S. perralderianus* (0.1%)¹¹. This difference in yield of essential oil can be attributed to several factors, including origin, species, harvest period, drying time and extraction technique of essential oils³³⁻³⁸.

The chemical profile of the essential oil of *S. jacobaea*, from Bejaia region (Algeria), differs from those reported by Dooren *et al.*³⁹, whose shows that germacrene-D and undecene-1 are the major components, while these two compounds are completely absent from the oil of the studied population. In general, the chemical composition of the essential oil of *S. jacobaea* is integrated into the overall context of the composition of the genus *Senecio* by the presence of the major compounds, -pinene, which is present in *S. angulatus* of France, *S. perralderianus* and *S. giganteus* of Algeria and *S. flammeus* of China^{9-11,40}, while the phytol is present in *S. vulgaris* of France¹⁰.

S. jacobaea is characterized by the prevalence of hydrocarbon components that bring our species closer to the *S. coincyi* species of Spain⁴¹ and *S. giganteus* of Algeria⁴⁰. The chemical composition of *S. rowleyanus* species from Egypt⁴², *S. royelanus* and *S. belgaumensis* from India⁴³⁻⁴⁴ and *S. vulgaris* and *S. angulatus* from Corsica (France)¹⁰ differs considerably from that of *S. jacobaea*.

The antibacterial and antifungal activities of an essential oil are linked to their chemical composition, to the functional groups of the major compounds (alcohols, phenols, terpene compounds and ketones) and to their synergistic effects⁴⁵.

The results of the bacteriological tests of *S. jacobaea* are generally similar to those of the literature. The oils of *S. othonnae* and *S. nemorensis* show activity against *Staphylococcus aureus*⁵, as well as the oil of *S. graveolens*¹⁷. Our results are similar to those of *S. pogonias* and *S. oreophyton* essential oils, which exhibit antibacterial activity against *E. coli* and *K. pneumoniae*⁴⁶. Whereas, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* are resistant to *S. glaucus* oil from Egypt⁴⁷.

The yeast *Candida albicans* is resistant to the essential oil of *S. jacobaea*, the same result is observed by Kenoufi *et al.*³¹

with the essential oil of *S. giganteus* of Algeria. On the other hand it's sensitive to the essential oil of *S. pedunculatus*⁴⁸. While the oils of *S. glaucus* and *S. aegyptius* show moderate activity against *C. Albicans*^{6,47}.

A considerable variation in the number of chromosomes is reported for *S. jacobaea* from different regions²³, but the chromosomal number 2n = 40 is the most replied in nature. The caryological study of *S. jacobaea* of Algeria shows a cytotype with a chromosomal number diploid 2n = 4x = 40. The same results were observed in this species²¹⁻²³. *S. jacobaea* is one of the species of the genus, most variable at the caryological levels, with several cytotypes²⁴. In Slovakia, a tetraploid and octaploid were identified²³. The chromosome number (2n = 20) was reported in Bulgaria²⁵, while in Ireland the chromosome number of 2n = 32 was observed²⁶.

Table 1: Chemical composition of *Senecio jacobaea* essential oil

Yield v/v	KI	0.02	Yield v/v	KI	0.02
Number of compounds	44		Number of compounds	44	
Total	83.5 9		Total	83.5 9	
Pentanol -3 methyl	833	25.7	-ionone (E)	148	0.27
-pinene	932	3.52	Muurola-4(14),5-diene trans	149	0.19
Pentyl furan (2)	984	1.68	Viridiflorene	149	0.99
-mentha-1 (7), 8 dienne	100	0.19	-muurolene	150	0.28
Cyclopentane dione 3 methyl, 1,2	101	22.8	-amorphe	151	0.15
Limonene	102	0.44	Kessane	152	0.63
-ocimene (Z)	103	2.06	-calacorene	154	0.59
Nonanal (n)	110	2.20	Italicene epoxide	154	0.47
Ocimene (neo-allo)	114	0.08	Nerolidol (E)	156	0.60
Nonen-1-al (2Z)	114	0.31	Caryophyllene oxide	158	2.97
Decanal (n)	120	0.26	Salvia 4-(14) en 1-one	159	0.11
-cyclocitral	121	0.18	Humulene epoxide II	160	0.59
Decadienal (2E, 4E)	131	0.34	Citronellyl pentanoate	162	1.95
-damascenone (E)	138	0.95	Pentadecanone (2)	169	1.18
-funebrene	140	1.70	Farnesyl acetone (5E, 9Z)	188	0.24
Sesquithuijene	140	0.13	Phytol	194	3.15
Caryophyllene (E)	141	0.62	eicosene	198	2.13
Guaiadiene (6, 9)	144	0.99	Tricosane	230	0.17
Geranyl acetone	145	0.55	Tetracosane	240	0.10
-farnesene (E)	145	0.43	Pentacosane	250	0.56
Linalool isovalerate	146	0.29	Hexacosane	260	0.32
-muurolene	1478	0.24	Heptacosane	2700	0.26
Monoterpene hydrocarbons				6.9	
Oxygenated monoterpenes				1.5	
Sesquiterpene hydrocarbons				6.3	
Oxygenated sesquiterpene				5	
Diterpenes				3.2	
Hydrocarbons				28.1	
Alcool				27.9	
Aldehyde				3	
Others				1.7	

Table 2: Inhibition diameter (mm) of *S. jacobaea* essential oil

Microorganisms	Antibiotics*			Dilution			
	CN	CS	CTX	1	1/2	1/5	1/10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0	18	18	14	9	12	12.5
<i>Echerichia coli</i> ATCC 25922	25	15	33.5	13	10	11	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603	17	12	19	15	9	9	9.5
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	26	15	18	12	7	9	10.5
<i>Shigella</i> sp	30	15	14	11	10	9	9.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 1	0	0	0	0	0	0	0

* CN = gentamicine; CS = colistin sumlfate; CTX = Cefotaxime



Fig 1: *Senecio jacobaea* (Photo Kenoufi 2016)

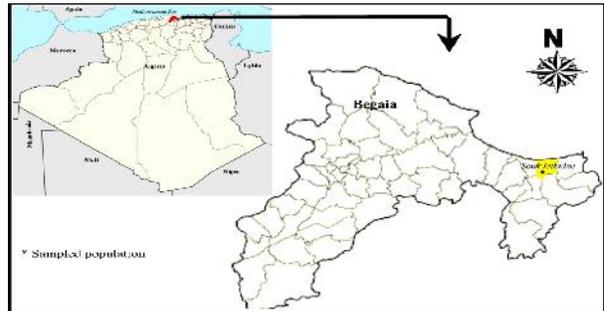


Fig 2: Population of *Senecio jacobaea* sampled

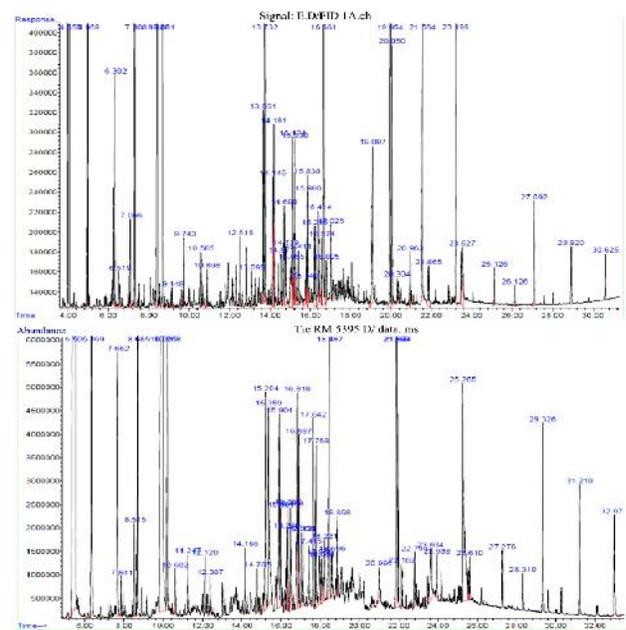


Fig 3: GC/Fid and Masse profiles of *Senecio jacobaea*

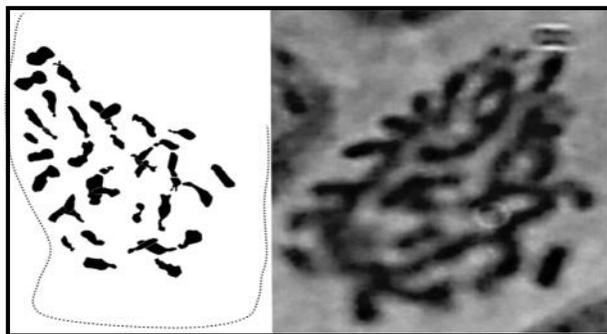


Fig 4: karyotype of *Senecio jacobaea* $2n = 4x = 40$ (Magnification = HI 100X)

5. CONCLUSION

Analysis of the chemical composition of essential oils by GC/MS allowed the identification of 44 components in the essential oil of *Senecio jacobaea* collected from Souk lethnine Bejaia region. It is characterized by the main presence of pentanol-3-methyl (25.70%), and cyclopentanedione-3-methyl-1,2 (22.83%). We also note that the chemical composition of the Bejaia sample differs from species of genus *Senecio*. The antibacterial activity of *S. jacobaea* show that the essential oil of this species has moderate inhibitory action on almost all the bacteria tested. The chromosome number of *S jacobaea* is stable and similar to bibliographic results. The caryotype of the Bejaia population is a tetraploid with $2n = 4x = 40$, and a chromosomal basic number $x = 10$.

6. REFERENCES

1. D .Jeanmonod, A. Schlüssel and J. Gamisans. Asteraceae -II. In Compléments au Prodrome de la Flore Corse. Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques. Genève, 2004; 256 p.
2. Pelsner PB, Bertil N, Joachim WK, Linda EW. An ITS phylogeny of tribe Senecioneae (Asteraceae) and a new delimitation of *Senecio* L. *Taxon* 2007; 56(4): 1077–1104.
3. P. Quézel et S. Santa. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, CNRS, Paris 1963; 963p.
4. Villagran C, Castro V, Sanchez G, Romo M, Latorre C, Hinojosa LF. La tradición surandina del desierto: etnobotánica del área del Salar de Atacama (Provincia de El Loa, Región de Antofagasta, Chile). *Estudios Atacamenos* 1998; 16: 7–105.
5. Üçüncü O, Kahriman N, Terzioglu S, Karaoglu SA, Yayh N. Composition and antimicrobial activity of the essential oils from flowers of *Senecio othonnae*, *Senecio racemosus* and *Senecio nemorensis*. *Natural Product Communications* 2010; 5(5): 831–834
6. El-Shazly Assem, Gamal DoraI, Michael Wink. Chemical Composition and Biological Activity of the Essential Oils of *Senecio aegyptius* var. *discoideus* Boiss. *Z. Naturforsch.* 2002; 57(c): 434–439.
7. Paume Marie Claude. *Sauvages et Toxiques: Plantes des bois, des prés et des jardins*. Edisud, Aix en Provence 2009; 255p.
8. Lih C, Zhou L. In vitro antiviral activity of three enantiomeric sesquiterpene lactone from *Senecio* species against hepatitis B virus, *Journal Antiviral Chemistry* 2005; 16: 277–282.
9. Xiao KJ, Wang WX, Dai JL, Zhu L. Anti-inflammatory activity and chemical composition of the essential oils from *Senecio flammeus*, *EXCLI J.* 2014; 18(13): 782–791.
10. S. Andreani S. Valorisation d'espèces envahissantes des genres *Xanthium* et *Senecio*: Caractérisation, variabilité chimique et activités des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal paoli, 2014; 264p.
11. Lograda T, Ramdani M, Chalard P, Gharzouli R, Feguirodo G, Chalchat JC. Essential oil and antimicrobial activity of *Senecio perralderianus*. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2012; 2: 632–637.
12. Sharma P. Shah GC. Composition and antioxidant activity of *Senecio nudicaulis* Wall.ex DC. (Asteraceae): a medicinal plant growing wild in Himachal Pradesh, India. *Nat Prod Res* 2015; 29(9): 883–886
13. Andreani S, Paolini J, Costa J, Muselli A. Essential-oil composition and chemical variability of *Senecio vulgaris* L. from Corsica. *Chem Biodivers* 2015; 12(5): 752–66.
14. Ouchbani T, Ouchbani S, Boufhid R, Merghoub N, Guessous AR, El Mzibri M, Essassi EM. Chemical composition and antiprolative activity of *Senecio leucanthemifolius* Poiret. *Essential Oil Journal of Essential Oil Bearing Plants* 2011; 14(6): 815–819.
15. Lone SH, Bhat KA, Bhat HM, Majeed R, Anand R, Hamid A, Khuroo MA. Essential oil composition of *Senecio graciliflorus* DC: comparative analysis of different parts and evaluation of antioxidant and cytotoxic activities. *Jeanmonod Phytomedicine* 2014; 21(6): 919–25
16. Lawal Oladipupo A, Isiaka A Ogunwande, Mzimela HMM, Andy R Opoku, Adebola O Oyedeji. *Senecio pterophorus* DC. (Asteraceae) Essential Oils: Antibacterial, Antioxidant, Cytotoxic and Larvicidal Activities. *British Journal of Pharmaceutical Research* 2016; 12(1): 1–11.
17. Perez C, Agnese AM, Cabrera JL. The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 66(1): 91–96.
18. Kahriman Nuran, Gonca Tosun, Salih Terzioglu, Sengül Alpay Karaoglu, Nurettin Yayli. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from

- the Flower, Leaf, and Stem of *Senecio pandurifolius*. *Rec. Nat. Prod.* 2011; 5(2): 82–91.
19. Singh R, Ahluwalia V, Singh P, Kumar N, Prakash Sati O, Sati N. Antifungal and phytotoxic activity of essential oil from root of *Senecio amplexicaulis* Kunth. (Asteraceae) growing wild in High Altitude Himalayan Region. *Natural Product Research* 2016; 30(16): 1875–1879.
 20. Lopez MG, Wulf AF, Poggio L, Xifreda CC. Chromosome numbers and meiotic studies in species of *Senecio* (Asteraceae) from Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2005; 148: 465–474.
 21. Ornduff R, Raven PH, Kyhos DW, Kruckeberg AR. Chromosome numbers in Compositae. III. Senecioneae. *American Journal of Botany* 1963; 50: 131–139.
 22. Lawrence ME. *Senecio* L. (Asteraceae) in Australia: chromosome numbers and the occurrence of polyploidy. *Aust J Bot* 1980; 28: 151–165.
 23. Hodalova Iva, Vit Grulich, Lucie Horova, Milan Valachovic, Karol Marhold. Occurrence of tetraploid and octoploid cytotypes in *Senecio jacobaea* ssp. *jacobaea* (Asteraceae) in Pannonia and the Carpathians. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2007; 153: 231–242
 24. H. Meusel and E.J. Jäger. *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*, Band III. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag Jena 1992.
 25. Kuzmanov BA, Georgieva S, Nikolova V. Report. In: Löve Á, ed. *IOPB chromosome number reports. LXXII*. *Taxon* 1979; 28: 408.
 26. Böcher TW, Larsen K. Chromosome studies on some European flowering plants. *Botanisk Tidsskrift* 1955; 52: 126–127.
 27. Y. Masada. *Analysis of essential oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry*. J. Wiley & Son's, Inc. New Yor. 1996.
 28. NIST. *Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System. Ver. 2.1, DTRA*, 2002.
 29. R.P. Adams. *Identification of essential oils components by Gas Chromatography-Mass spectroscopy*. Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois USA 2001.
 30. Galambosi B, Peura P. Agrobotanical features and oil content of wild and cultivated forms of caraway (*Carum carvi* L.). *Essential oil research* 1996; 8: 389–397.
 31. Kenoufi M, Lograda T, Chalard P, Figueredo G, Ramdani M. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of *Senecio giganteus* Desf. from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 2016; 8(11): 1772–1777.
 32. Lawal Oladipupo A, Oyedeji OA. Chemical composition of the essential oils of the flowers, leaves and stems of two *Senecio polyanthemoides* Sch. Bip. samples from South Africa. *Molecules* 2009; 14: 2077–2086.
 33. Russo M, Galletti G, Bocchini P, Garnacini A. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letswaart): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *Inflorescences. J. Agric. Food Chem.* 1998; 46: 3741–3746.
 34. P. Van Damme. Pesticide, drug and essential oil crops. In: Raemakers RH. *Crop production in tropical Africa*. Brussels, Belgium, Ed. Directorate General for International Cooperation (DGIC) 2001; 1155–1166.
 35. Karousou R, Koureas DN, Kokkini S. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in Natura 2000 sites of Crete. *Phytochemistry* 2005; 66: 2668–2673.
 36. P. Pibiri. *Assainissement microbiologique de l'air et de systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*. Thèse de doctorat : Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit, EPFL (Suisse) 2005.
 37. Loziene K, Venskutonis PR. Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochem. Syst. Ecol.* 2005; 33: 517–525.
 38. Curado MA, Oliveira CB, Jesus JG, Santos SC, Seraphin JC, Ferri PH. Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. *Phytotherapy* 2006; 67: 2363–2369.
 39. Dooren BV, Bos R, Taffe DHE. Composition of essential oils of some *Senecio* species, *Planta Med.* 1981; 42(08): 385–389.
 40. Chibani S, Gherboudj W, Kabouche A, Touzani R, Aburjai T, Kabouche Z. GC-MS analysis of *Senecio giganteus* Desf. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 2013; 16: 123–125.
 41. Arrabal C, Garcia FM, Arraiza MP, Garcia SG. Chemical composition of essential oil of *Senecio coincy* an endemic species of the central Iberian peninsula. *Natural Product Communications* 2011; 6: 123–126.
 42. El Hawary SS, Galal AE, Yousif MF, Kirolos FN. GC-MS and bioactivity of the essential oil of *Senecio rowleyanus* Jacobs. *Pharmacognosy Magazine* 2008; 4(16): 273–277.
 43. Bisht CMS, Melkani AB, Dev V, Beauchamp PS. 1,10-epoxy-6-oxofuranoeremophilane and other terpenoids from the essential oil of *Senecio rolyanus* DC. *Journal of Essential Oil Research* 2011; 23: 102–104.
 44. Joshi RK. GC/MS analysis of the essential oil of *Senecio belgaumensis* flowers. *Natural product communications* 2011; 6(8): 1145–1146.
 45. Bel Hadj Karima, Salah Fatnassi, Amira Slim-Bannour, Fathia HarzallahSkhiri, Mohamed Ali Mahjoub, Zine

- Mighri, Jean-Pierre Chaumont, Mahjoub Aouni. Activités antivirale et antioxydante in vitro d'huiles essentielles de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmans. & Link de Tunisie, *Acta Botanica Gallica* 2010; 157(3): 433-444.
46. Lopez S, Beatriz L, Aguero MB, Lopez ML, Hadad M, Zygadlo J, Caballero D, Stariolo R, Suero E, Feresin GE, Tapia A. Chemical composition, antibacterial and repellent activities of *Azorella trifurcata*, *Senecio pogonias* and *Senecio oreophyton* essential oils. *Arabian Journal of Chemistry* 2014; 2014.11.022.
47. El-Amier YA, Abdelghany AM, Abed Zaid A. Green Synthesis and Antimicrobial Activity of *Senecio glaucus* -Mediated Silver Nanoparticles. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2014; 5(5): 631-642.
48. Navadha J, Sah GC, Devendra M. Gc-MS Analysis and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Senecio Pedunculatus*. *Journal of Applied Chemistry* 2013; 6(3): 49-51.

Conflict of Interest: None

Source of Funding: This work was supported by MESRS of Algeria (Code Project CNEPRU F01220140022), and by the Laboratory of chemistry and Heterocyclic of Clermont Ferrand, France.

S. jacobaea L. و *Senecio giganteus* Desf الأناشطة البيولوجية والكيميائية، الكاربيولوجي، الوصف النسيجي،

المؤطر: لقرادة تاقية

الإسم: مريم

ملخص
اللقب: كئوفى

أظهرت الدراسة النسيجية لنبئة *Senecio giganteus* (نوع مستوطن في شمال أفريقيا) ونبئة *S. jacobaea* (نوع متوسطي) تنوع كبير في شكل وعدد الأنسجة المختلفة على مستوى المقاطع العرضية للجذور، السيقان والأوراق. وقد سمحت الدراسة الكاربيولوجية لنبئة *S. giganteus* ونبئة *S. jacobaea* بتحديد مجموعة صبغية رباعية $2N = 4X = 20 + 2B$ و $2N = 4X = 40$ على التوالي. سمح تحليل الزيوت الأساسية للنباتين بتقنية CG/ SM و CG/ SM سمح لنا بالتعرف على 84 مركبا مع اختلاف كبير في المكونات، كما أظهرت التحاليل أن حمض hexadecanoic acid (17.80%) هو المركب الأساسي في زيت *S. giganteus* والكحول <3 methyl> Pentanol (25.70%) في زيت *S. jacobaea*. كما أظهرت الزيوت الأساسية لـ *S. jacobaea* و *S. giganteus* وجود نشاطية معتدلة ضد السلالات ATCC المستعملة، في حين أنها لا تمتلك أي نشاط ضد سلالة *Candida albicans*. أظهر التأثير السمي الخلوي للزيوت الأساسية نشاطا منخفضا مع تسجيل IC50 مساو لـ 251 ميكروغرام/مل لنبئة *S. giganteus* و 265 ميكروغرام/مل لنبئة *S. jacobaea* عند تركيز 0.04%.

الكلمات المفتاحية: *Senecio*, Histologie, Caryologie, Chromosome, Huile essentielle, Activité biologique, Cytotoxicité.

Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de *Senecio giganteus*

Desf et *S. jacobaea* L.

Nom : Kenoufi

Prénom : Meriem

Encadreur : Lograda Takia

Résumé

L'étude histologique de *Senecio giganteus* (endémique nord Afrique) et *Senecio jacobaea* (espèce méditerranéenne) a mis en évidence une importante diversité dans la forme et le nombre des différents tissus au niveau des racines, des tiges et des feuilles. Le dénombrement chromosomique a révélé la présence d'une tétraploïdie pour les deux espèces; *Senecio giganteus* à $2n = 4x = 20 + 2B$ et *S. jacobaea* à $2n = 4x = 40$. L'analyse des huiles essentielles de deux espèces par CG et CG/SM a permis d'identifier 84 composés avec une variabilité interspécifique importante, dont l'abondance de l'acide gras, l'acide hexadécanoïque (17,80%) dans l'HE de *S. giganteus* et L'alcool, Pentanol<3 methyl> (25.70%) dans l'HE de *S. jacobaea*. L'activité antibactérienne des deux HE est modérée sur les souches ATCC testés, alors qu'elle est nulle sur *Candidat Albicans*. L'effet cytotoxique des deux huiles essentielles est faible avec un IC50 de 251µg/ml pour *S. giganteus* et de 265µg/ml pour *S. jacobaea* à la concentration 0,04%.

Mots clefs: *Senecio*, Anatomie, Caryologie, Chromosome, Huiles essentielles, Activité biologique, Cytotoxicité.

Histological, karyological, phytochemical characterization and biological activities of *Senecio giganteus*

Desf and *S. jacobaea* L.

Name : Kenoufi

First Name : Meriem

Directed by : Lograda Takia

Abstract

The histological study of *Senecio giganteus* Desf (endemic North Africa) and *Senecio jacobaea* L. (Mediterranean species) showed an important diversity in the form and number of different tissues in the roots, the stems and the leaves. The karyological study of two species of *Senecio* revealed the presence of a tetraploid chromosomal number with $2n = 4x = 20 + 2B$ for *Senecio giganteus* and a tetraploid number with $2n = 4x = 40$ for *Senecio jacobaea*. The analysis of essentials oils of two species by GC and GC/MS allowed to identify 84 compounds with an important interspecific variability, the fatty-acid, Hexadecanoic acid (17.80%), is the major compound in the essential oil of *S. giganteus*, and the alcohol, Pentanol<3 methyl> (25.70%), in the essential oil of *S. jacobaea*. The antibacterial activity of both essential oils is moderate against the ATCC strains tested, whereas it is nil against *Candida Albicans*. The cytotoxic effect of the two essential oils is low with an IC50 of 251 µg/ml for *S. giganteus* and 265 µg / ml for *S. jacobaea* at a concentration of 0.04%.

Keywords : *Senecio*, Anatomy, Karyology, Chromosome, Essential oil, Biological activity, Cytotoxicity.