

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience pour achever ce travail.

J'exprime d'abord, mes vifs remerciements vont à Mademoiselle Abdellaoui Karima, Maître assistante classe A à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour toute l'aide et le soutien permanents qu'elle ma apportés. Pour son encadrement scientifique très formateur et de qualité ainsi que pour les précieux conseils et les suggestions pertinentes qu'elle ma toujours prodigués avec un dévouement exemplaire.

Mes profonds remerciements et ma vive connaissance vont à M^{me} Taleb-Toudert Karima, Maître de conférences à la faculté de biologie, Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour avoir toujours été disponible, pour avoir été à mon écoute et pour m'avoir guidée tout au long de ce travail. Merci tout particulièrement pour son soutien scientifique mais aussi humain dans la dernière ligne droite de la rédaction qui a été particulièrement difficile, et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Mes remerciements vont également aux membres de jury :
M^{elle} Mohamed Ouali D., Maître Assistante chargée de cours à l'UMMTO et M^{me} Arabdiou-Lekmache Y., Maître Assistante chargée de cours à l'UMMTO pour m'avoir fait l'honneur de faire partie du jury. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma gratitude.

À tous les membres de la bibliothèque, particulièrement Da Youcef, pour leur précieuse aide. Aux ingénieurs du laboratoire commun I et II qui ont mis à ma disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent à Monsieur Baik N. pour sa précieuse aide, et sa contribution à la réalisation de ce travail.

A Monsieur Féraguig, à Madame Lakabi pour leur soutien matériel et moral.

A Monsieur Houali pour m'avoir permis de réaliser les mesures spectrophotométriques.

A Monsieur Benghanem qui est une source de connaissance inestimable.

A monsieur Deguiche qui m'a fournie les produits.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail.

Que vous dire, mes chers parents, vous étiez toujours là pour m'écoutez, me soutenir, me réconforter et m'encourager dans les moments de doute....Tous les mots ne suffiraient pas...Sans vous, rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

Je dédie ce travail à :

- ✦ Mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse.*
- ✦ Mes très chers frères : notre petit chou Azzedine, Dada Ghagha Ghost (Rezak), Malik.*
- ✦ Ma belle-sœur Hanane que Dieu te garde pour nous.*
- ✦ A la personne la plus cher honney thank you.*

Merci Cossa, l'adorable Djidji, Hocine, Sara, pour ces années d'études, au cours desquelles nous avons partagé les bancs des amphis, les paillasses de TP, les révisions précipitées, de nombreux fous rires et d'excellentes moments.

Merci Ziri, Lilouche, Da Ahmed et Nana Wezna pour leur encouragement, leur bonne humeur et leur gentillesse. Enfin, je termine en ayant une douce pensée pour mon amie de très longue date Nina qui me soutient sans faille depuis si longtemps.

En terminant, je souhaite démontrer ma plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Hakima

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Métabolisme secondaire

I. Métabolisme secondaire des plantes	3
I.1. Définitions.....	3
I.2. Classification des métabolites secondaires	3
I.2.1. Terpénoïdes et stéroïdes.....	4
I.2.2. Composés azotés (dérivés des acides aminés : alcaloïdes)	5
I.2.3. Hétérosides.....	6
I.2.4. Huiles essentielles	6
I.2.5. Composés phénoliques (polyphénols).....	14

Chapitre II : Présentation botanique des deux plantes étudiées

II. Présentation botanique des deux plantes étudiées	19
II.1. Généralités sur les Lamiacées.....	19
II.2. Ballote noire	19
II.2.1. Généralités sur la Ballote noire	19
II.2.2. Classification botanique	20
II.2.3. Description botanique	21
II.2.4. Localisation et répartition	21
II.2.5. Composition chimique	21
II.2.6. Utilisation	23
II.3. Menthe	23
II.3.1. Généralités sur la menthe	23
II.3.2. Espèce <i>Mentha longifolia</i>	24
II.3.3. Noms communs	24
II.3.4. Classification botanique	24
II.3.5. Répartition et localisation	25
II.3.6. Composition chimique.....	25
II.3.7. Utilisation	26

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Présentation de la zone d'étude	27
II. Matériel utilisé.....	27
II.1. Matériel végétal	27
II.2. Matériel biologique	28
III. Méthodes	29
III.1. Extraction des huiles essentielles	29
III.1.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles	29
III.1.2. Séparation des huiles essentielles.....	30
III.2. Détermination du taux d'humidité de la matière végétale utilisée.....	31
III.3. Détermination du rendement en huile essentielle	31
III.4. Propriétés organoleptiques	31
IV. Etude histologique.....	31
V. Extraction des polyphénols	33
V.1. Protocole expérimental.....	33
V.2. Analyses quantitatives des extraits des deux plantes étudiées (<i>Ballota nigra</i> et <i>Mentha longifolia</i>)	35
VI. Tests des activités biologiques	37
VI.1. Activités antimicrobiennes.....	37
VI.2. Activités insecticides	38

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Extraction des huiles essentielles.....	40
I.1. Détermination de la teneur en eau	40
I.2. Rendement en huiles essentielles.....	40
I.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles.....	41
II. Extraction et analyses quantitatives des polyphénols.....	42
II.2. Extraits des feuilles de <i>Mentha longifolia</i>	42
II.3. Extraits des feuilles de <i>Ballota nigra</i>	43
III. Observations microscopiques des structures sécrétrices	44
IV. Résultats des tests de l'activité antibactérienne	46
IV.1. Résultats des analyses de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	47
IV.2. Résultats des analyses de l'activité antibactérienne des polyphénols.....	50
V. Activités insecticides	56
V.1. Effet répulsif des huiles essentielles de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> contre <i>Tribolium castaneum</i>	56
V.2. Effet répulsif des polyphénols de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> contre <i>Tribolium castaneum</i>	58

Conclusion	62
Références bibliographiques	64
Annexes.....	75

Liste des figures

Figure 1. Différentes classes de métabolites secondaires (Guignard, 2000).....	3
Figure 2. Structure d'un isoprène (Guignard, 2000).	4
Figure 3. Voies de synthèse des composés isopréniques (Morot-Gaudry et al, 2009)	5
Figure 4. Différentes structures sécrétrices des huiles essentielles.	8
Figure 5. Différentes structures de quelques mono- et sesquiterpènes (Bruneton, 2009).....	9
Figure 6. Biogénèse de quelques constituants chimiques des huiles essentielles (Garneau, 2001).....	10
Figure 7. Procédé d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur (Khodjet El Khil, 2015).	13
Figure 8. Structure chimique de quelques acides phénols (Tsao, 2010).	15
Figure 9. Structure chimique de quelques classes flavoniques (Beecher, 2003).....	16
Figure 10. Structure chimique de trans-resveratrol (Macheix et al, 2005).	17
Figure 11. <i>Ballota nigra</i> . (Blanca et al., 2009).	20
Figure 12. Quelques structures chimiques (Rombi et Robert, 2007)	22
Figure 13. <i>Mentha longifolia</i> - a: (Hamon, 2012). -b: (Costa, 1937).....	25
Figure 14. Localisation du site de prélèvement (Google Maps, 2015)	27
Figure 15. <i>Ballota nigra</i> , <i>Mentha longifolia</i> (de gauche à droite).	28
Figure 16. <i>Tribolium castaneum</i> observés à la loupe binoculaire (G : 2×10) (Laboratoire CIV, UMMTO, 2015).	29
Figure 17. Montage d'un hydrodistillateur.	30
Figure 18. Illustration du protocole de coloration des coupes histologiques.	32
Figure 19 a. Préparation de la poudre végétale.	34
Figure 19 b. Séparation de deux phases par l'éther-diéthylique, puis fraction des aglycones par le n-butanol.....	34
Figure 19. Illustration du Protocole expérimental d'extraction des polyphénols.	34
Figure 20. Dispositif expérimental des tests de répulsivité.....	39
Figure 21. Huile essentielle de <i>Mentha longifolia</i> (a) et <i>Ballota nigra</i> (b).....	41
Figure 22. Teneurs absolues en différentes classes phénoliques de <i>Mentha longifolia</i>	43
Figure 23. Teneur absolue en différentes classes phénoliques de <i>Ballota nigra</i>	43
Figure 24. Coupes transversales de la feuille de <i>Mentha longifolia</i> au microscope optique ×400 (Tc : trichome capités, Tp : trichome pelté).....	45

Figure 25. Coupe transversale de la feuille de <i>B. nigra</i> au microscope optique ×400. (Tc : trichome capités, Tp : trichome pelté, Pt : poil tecteur).	46
Figure 26. Zones d'inhibitions de l'huile essentielle de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Figure 27. Zones d'inhibitions de l'huile essentielle de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Figure 28. Zones d'inhibitions des anthocyanes de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
Figure 29. Zones d'inhibitions des c-glycosides de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
Figure 30. Zones d'inhibitions des aglycones de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
Figure 31. Zones d'inhibitions des aglycones de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Figure 32. Zones d'inhibitions des c-glycosides de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Figure 33. Zones d'inhibitions des anthocyanes de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Figure 34. Taux de répulsivité de l'huile essentielle de <i>Mentha longifolia</i> et <i>Ballota nigra</i> contre <i>Tribolium castaneum</i>	56
Figure 35. Taux de répulsivité des anthocyanes des deux plantes étudiées sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	59
Figure 36. Taux de répulsivité des c-glycosides des deux plantes étudiées sur les adultes de <i>T. castaneum</i>	60

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des principales classes de terpénoïdes.....	4
Tableau 2. Parties de certaines plantes riches en huiles essentielles (Garneau, 2001).	7
Tableau 3. Différentes classes de composés phénoliques (Macheix et <i>al.</i> , 2005).	14
Tableau 4. Quelques composés chimiques de la sommité fleurie de la ballote noire (Rombi et Robert, 2007 et Bruneton, 2009).	22
Tableau 5. Structure chimique de quelques constituants actifs de la menthe sylvestre	26
Tableau 6. Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude (A.P.C de Tizi-Rached, 2010).	27
Tableau 7. Pourcentage de répulsivité selon MC Donald et <i>al</i> (1970)	39
Tableau 8. Teneur en eau des deux plantes étudiées.	40
Tableau 9. Rendement en huile essentielle des deux plantes étudiées.....	40
Tableau 10. Caractéristiques organoleptiques des deux espèces <i>Ballota nigra</i> et <i>Mentha longifolia</i> extraites par hydrodistillation	41
Tableau 11. Teneurs absolues en différentes classes phénoliques de <i>Ballota nigra</i> et <i>Mentha longifolia</i>	42
Tableau 12. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les huiles essentielles étudiées.....	47
Tableau 13. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles étudiées.	49
Tableau 14. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les composés phénoliques étudiés	51
Tableau 15. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiés....	54
Tableau 16. Taux de répulsivité (%) des huiles essentielles testées à l'égard des adultes de <i>T. castaneum</i>	56
Tableau 17. Classification de la répulsivité de l'huile essentielle testée selon MC Donald et <i>al</i> (1970).	57
Tableau 18. Taux de répulsivité (%) des anthocyanes testés à l'égard des adultes de <i>T. castaneum</i>	59
Tableau 19. Classification de la répulsivité des anthocyanes testée selon MC Donald et <i>al.</i> (1970).	59

Tableau 20. Taux de répulsivité (%) des c-glycosides testées à l'égard des adultes de *T. castaneum*..... 60

Tableau 21. Classification de la répulsivité de c-glycosides testée selon MC Donald et *al* (1970). 61

Introduction

Les plantes aromatiques et médicinales ont des propriétés importantes, plusieurs médicaments pharmaceutiques ont été dérivés de plantes, ces derniers passent dans l'esprit de la population pour efficacité et tolérance du fait de son origine naturel faisant partie de la médecine douce (Hami et *al.*, 2011).

Ces plantes naturelles ont joué un rôle très significatif dans la découverte des médicaments (Newman et Gragg, 2007). Il est reporté qu'au minimum 119 composés dérivés de 90 espèces de plantes peuvent être considérés comme des médicaments importants (Farnsworth et *al.*, 1985).

Malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (Newman et *al.*, 2000 ; Calixto et *al.*, 2005).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnues et répertoriées, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (Bourgaud et *al.*, 2001 ; Kar, 2007).

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90% du traitement médical. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (Kar, 2007).

La résistance des microorganismes aux antibiotiques est un problème majeur de la santé publique, comme l'attestent de nombreuses données publiées (Decoussera et *al.*, 2010). A titre d'exemple *Staphylococcus aureus*, principal agent pathogène impliqué dans les infections nosocomiales, a acquis de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques dès les années 1960 (Kempf et *al.*, 2011). Ainsi l'augmentation de la résistance aux agents pathogènes d'origine alimentaire et les perceptions négatives des consommateurs concernant l'utilisation de fibres synthétiques bactéricides, a orienté la recherche des antimicrobiens naturels étant provenant du règne végétal (Leonard et *al.*, 2010). En effet, depuis quelques années, un intérêt accru s'est porté sur des molécules d'origine végétale ayant montré des propriétés antimicrobiennes.

Selon Silvy (1992), les céréales et leurs dérivés constituent la principale source de protéines dans de nombreux pays en voie de développement et les pertes causées par ce type de denrées lors de leur stockage sont estimées à 100 millions de tonnes dont 13 millions sont provoqués par les insectes. Dans les pays développés ces pertes avoisinent les 3 %, alors qu'en Afrique elles atteignent les 30 %. De plus, l'usage très répandu des pesticides a entraîné l'apparition de formes de résistance chez les insectes traités (Leonard et Ngamo, 2004).

Les recherches de moyens de limitation de l'utilisation de ces insecticides dangereux prennent de plus en plus d'importance. A cet effet, de nombreux travaux récents se sont penchés sur la recherche de substances ayant des pouvoirs insecticides et respectueux de la santé humaine et de l'environnement (Lahlou, 2004).

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'efforts a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plantes pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (Kim et *al.*, 2003).

Le rôle des huiles essentielles et des polyphénols est non négligeable (Lahlou, 2004). En effet, ces substances issues du métabolisme secondaire offrent de nouvelles perspectives dans la recherche de pesticides et antimicrobiens naturels. Pour cela, nous avons orienté notre travail vers la recherche de ces métabolites dans deux espèces de Lamiacées : *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* et par la suite tester leurs activités antimicrobiennes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* et leurs activités insecticides vis-à-vis du ravageur des denrées entreposées *Tribolium castaneum*.

Notre travail est devisé en 3 parties :

- ✓ la première partie est consacrée à la bibliographie relative à *Mentha longifolia* et *Ballota nigra*, les huiles essentielles et les polyphénols.
- ✓ la deuxième partie abordera le matériel et les méthodes utilisés.
- ✓ la troisième partie est consacrée aux résultats et discussion et une conclusion.

Notre étude comprend trois parties : la partie biobibliographique s'articule autour de deux chapitres. Dans le premier nous présentons une synthèse sur le métabolisme secondaire. Le deuxième chapitre comprend une présentation des deux Lamiacées choisies à savoir celle de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra*. La partie expérimentale rassemble la présentation de la région d'étude et les matériels et méthodes utilisés. La troisième partie comprend les résultats obtenus et leurs discussions. Enfin, la présente étude est clôturée par une conclusion générale et des perspectives de recherche.

Revue bibliographiques

I. Métabolisme secondaire des plantes

I.1. Définitions

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent exactement pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi qu'à la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux. La défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd et *al.*, 2002).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches. Ils ont un intérêt multiple. Ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (Epifano et *al.*, 2007).

I.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être classés en quatre grands ensembles comme le montre la figure 1 (Guignard, 2000) :

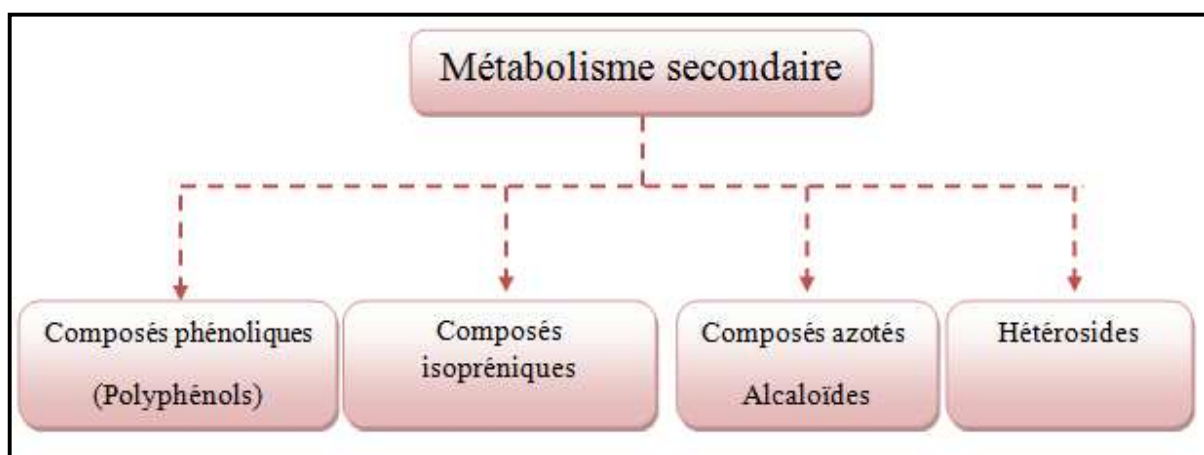


Figure 1. Différentes classes de métabolites secondaires (Guignard, 2000).

I.2.1. Terpénoïdes et stéroïdes

Les terpénoïdes, appelés aussi terpènes, existent chez toutes les plantes, et représentent de loin la plus vaste catégorie des métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits (Eichhorn, 2007).

Ce sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbones isoprène (figure 2).

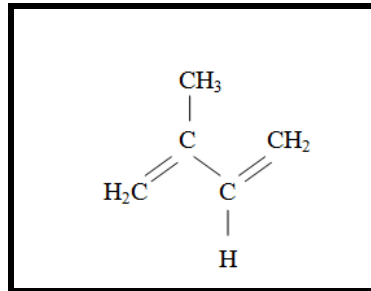


Figure 2. Structure d'un isoprène (Guignard, 2000).

Selon Guignard (2000), les terpénoïdes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène, selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, les terpénoïdes sont classés en plusieurs classes (tableau 1).

Tableau 1. Liste des principales classes de terpénoïdes

Nombre de carbone	Classe
5	Hémiterpénoïdes
10	Mono terpénoïdes
10	Mono terpénoïdes cyclique
15	Sesquiterpénoïdes
20	Diterpénoïdes
30	Triterpénoïdes
40	Tétraterpénoïdes

- **Voies de synthèse des terpènes**

Les terpénoïdes sont produits via deux voies de synthèse, la voie principale est celle de l'acide mévalonique. Cet acide est un précurseur des terpènes, notamment ceux où il y a répétition d'unités isoprènes (molécule à cinq atomes de carbone). Les molécules subissent ensuite différentes cyclisation, des réarrangements et des transformations (oxydations, réductions et conjugaisons) conduisant à la synthèse de milliers de terpénoïdes différents présents chez les plantes (Sauvion et *al.*, 2013).

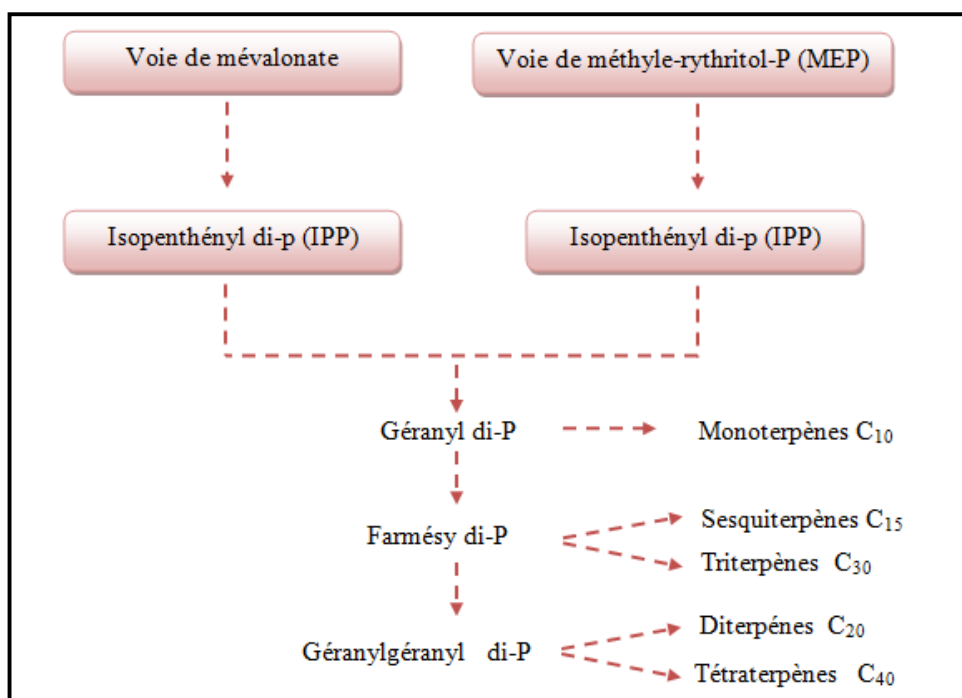


Figure 3. Voies de synthèse des composés isopréniques (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

I.2.2. Composés azotés (dérivés des acides aminés : alcaloïdes)

Les composés azotés sont d'une grande diversité chimique. Ils sont souvent caractéristiques d'un groupe systématique bien défini. Par exemple, la morphine est l'un des 30 alcaloïdes de l'opium chez les Papavéracées (Morot-Gaudry et *al.*, 2009). Ce sont des composés cycliques contenant de l'azote au moins dans l'un de leurs cycles.

Ils ont une structure très variable et sont produits à partir de différents acides aminés (à partir de tryptophane, de tyrosine, de phénylalanine, de lysine ou d'arginine). Les alcaloïdes servent essentiellement à protéger les plantes contre les herbivores (Nabors, 2008).

I.2.3. Hétérosides

Les hétérosides sont des composés issus de la condensation d'un ose avec un composé non-glucidique appelé la génine ou encore la fraction aglycone. L'origine biosynthétique de ces génines est très hétérogène (composés phénoliques, certains monoterpènes, triterpènes, alcaloïdes terpéniques, composés soufrés...). La glycosylation modifie les propriétés de solubilité des molécules (composés phénoliques glycosylés plus hydrosolubles, saponines amphiphiles). Il existe quatre familles importantes d'hétérosides :

- ✓ les hétérosides cyanogènes
- ✓ les glucosinolates
- ✓ les saponosides
- ✓ les hétérosides cardiotoniques (Gravot, 2008).

I.2.4. Huiles essentielles

I.2.4.1. Définition

Les huiles essentielles sont un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid dans le cas des agrumes, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) (AFNOR, 2000 ; Bruneton, 1993).

Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal, elles sont odorantes et volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (Padrini et Lucheroni, 2003).

I.2.4.2. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux (Tableau 2) : fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des racines, des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (toute-épice, anis, badiane), des graines (Bruneton, 1999).

Tableau 2. Parties de certaines plantes riches en huiles essentielles (Garneau, 2001).

Partie de la plante	Exemple
Feuilles	Romarin, sauge
Feuilles de confères	Sapin, cèdres
Tiges	Citronnelle, lemon-grass
Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vétiver, gingembre
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon
Bois	Santal
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose
Graines	Aneth

les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme de cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule (Teuscher et *al.*, 2005).

Il existe trois types de structures sécrétrices dans les plantes (figure 06) :

Les poils glandulaires épidermiques : les plantes possédant ces poils font partie des familles des Lamiacées, des Géraniacées, des Verbénacées, entre autres..

Les poches sphériques schizogènes : les glandes de type poche se retrouvent chez des plantes des familles des Astéracées, Hypéricacées, Rosacées, Rubiacées, Rutacées et autres.

Les canaux glandulaires lysigènes : on retrouve des canaux glandulaires dans tous les bois résineux et en particulier chez les Abiétacées et les Cupressacées; le pin maritime en est un exemple. Les familles suivantes contiennent aussi des espèces ce type de glandes : les Apiacées (les fruits), les Dipterocarpacees, les Burséracées et les Anacardiées (Garneau, 2001).

Les trichomes glandulaires sont les formes les plus répandues, ils représentent à la fois le site de biosynthèse et de stockage des huiles essentielles (Combrink et *al.*, 2007 in Khenaka, 2011).

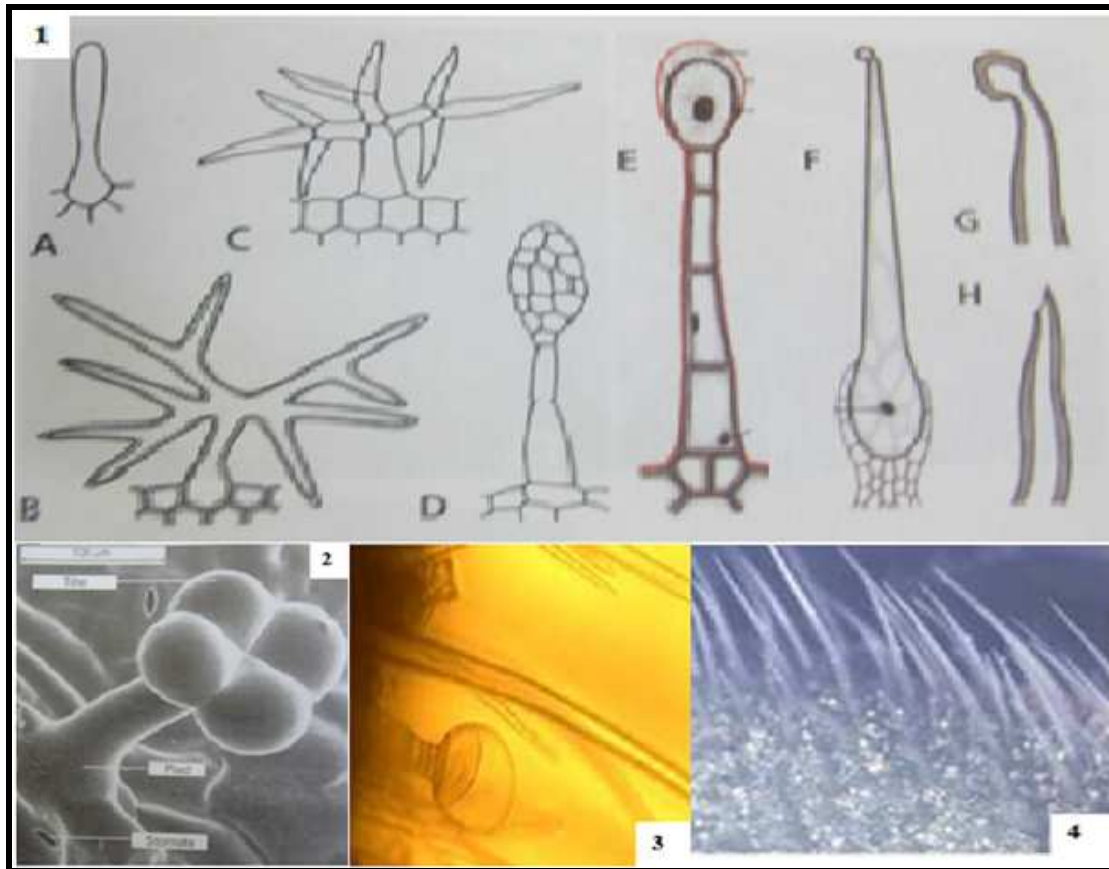


Figure 4. Différentes structures sécrétrices des huiles essentielles

(1) Types de poils épidermiques (1) ; Poil glandulaire de *Uncaria* sp; A : poil unicellulaire non ramifié. B : poil unicellulaire ramifié. C : poils pluricellulaire ramifié. D : poil capité. E, F, G, H : poils glandulaires. (2) Poils sécréteurs et protecteurs unisériés pluricellulaires (Gx 400) (3) ; Poils protecteurs longs et poils sécréteurs en ponctuations brillantes (loupe Gx4,5) de Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L) (4) (Boukhatem et al, 2010 ; Lüttge et al., 2002 ; Nultsch, 1998).

I.2.4.3. Composition biochimique des huiles essentielles

Selon Bruneton (2008), les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- ✓ les terpénoïdes
- ✓ les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

a- Terpénoïdes

Selon Guignard (2000), les terpénoïdes sont les principaux composés des huiles essentielles.

b- Monoterpènes

Ce sont des composés à 10 carbones, souvent volatils, aromatiques et biologiquement actifs. Ils sont largement présents dans les résines et les huiles essentielles (exemples du pinène constituant majeur de l'essence de térébenthine et du menthol). On distingue les monoterpènes linéaires, des monoterpènes monocycliques et bicycliques (Guignard, 2000).

c- Sesquiterpènes

Ce sont des composés à 15 carbones, assez universellement représentés chez les végétaux. Exemple : le farnésol, un sesquiterpène linéaire de nombreuses huiles essentielles, abondamment utilisé en parfumerie. On distingue également les sesquiterpènes monocycliques et polycycliques (exemple : le caryophyllène, un sesquiterpène bicyclique en partie responsable du piquant du poivre) (Gravot, 2008).

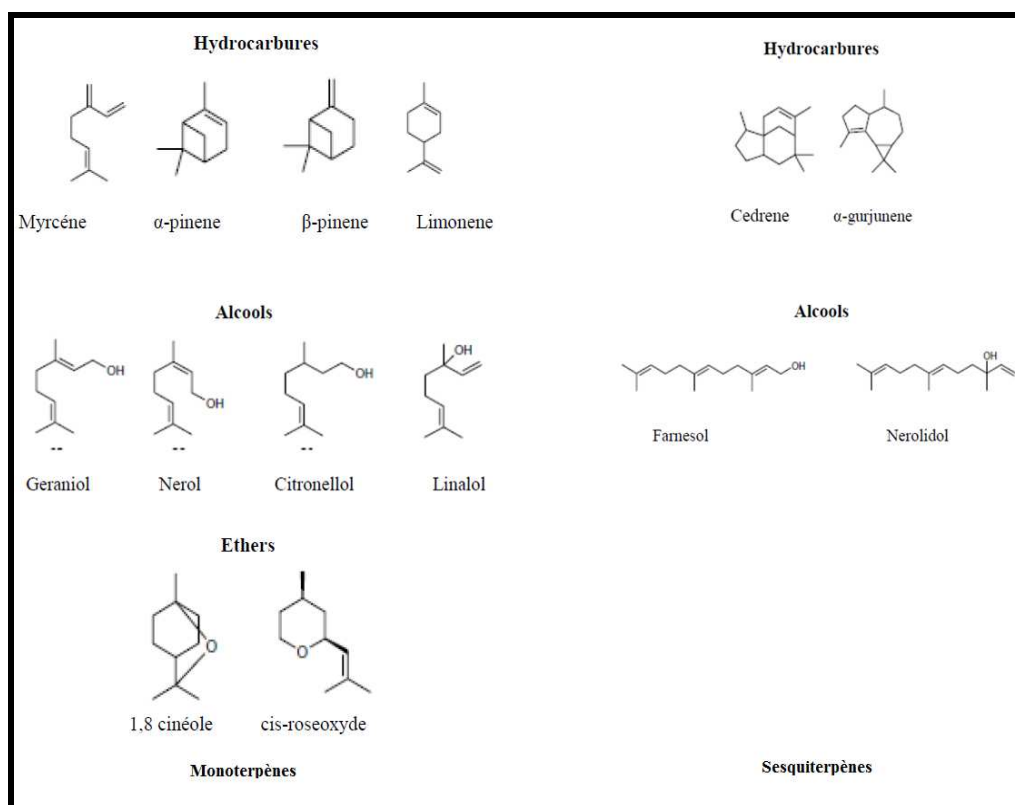


Figure 5. Différentes structures de quelques mono- et sesquiterpènes (Bruneton, 2009).

d- Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ils sont classés selon la nature des fonctions qu'ils portent : acide, ester, aldéhyde, phénol, éther phénolique (Bruneton, 1999).

Les composés de la dégradation d'acides gras et les composés de la dégradation des terpènes sont aussi fréquemment retrouvés dans les huiles essentielles. Tous ces produits émanent de la photosynthèse comme le montre la figure 5. L'acide pyruvique, produit du métabolisme des sucres, se transforme en acétyl coenzyme A. La condensation ramifiée de trois molécules de ce coenzyme donne l'acide mévalonique. Cet acide se transforme en deux unités d'isoprène pyrophosphate (IPP), précurseurs des terpènes. Une autre voie métabolique, la condensation linéaire d'unités d'acétyl coenzyme A, donne les acides gras et les acétogénines (Garneau, 2001).

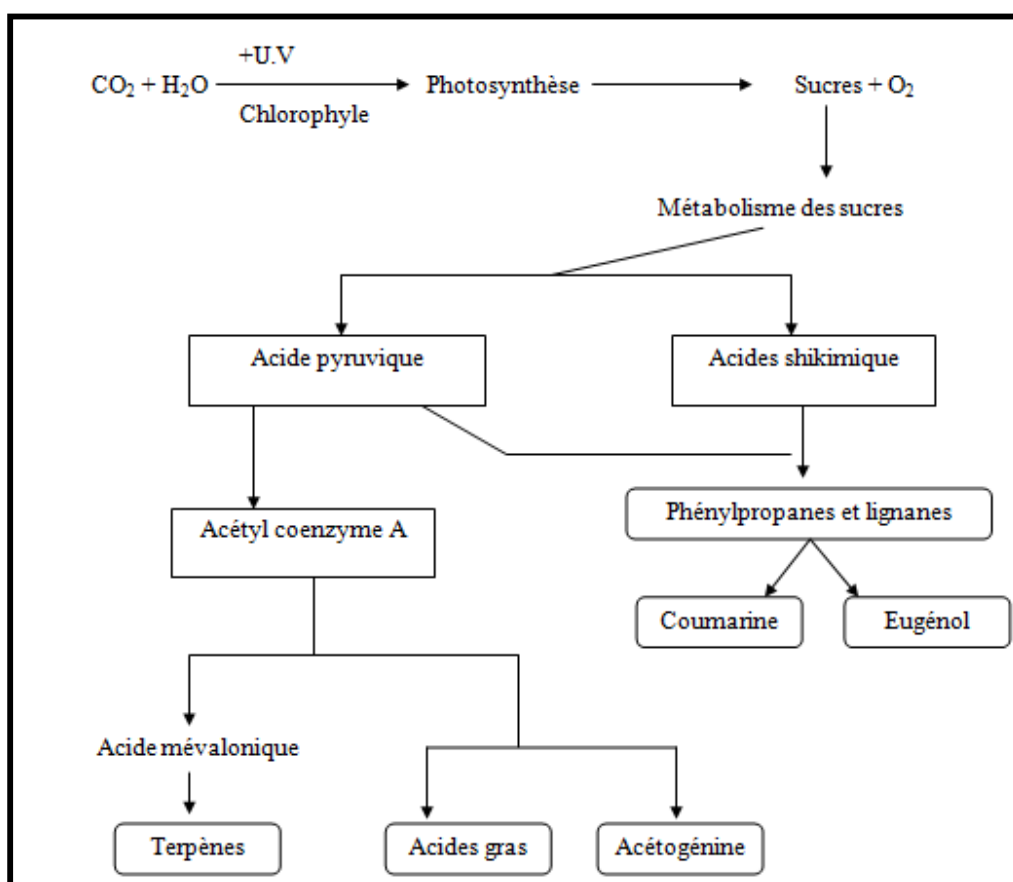


Figure 6. Biogénèse de quelques constituants chimiques des huiles essentielles (Garneau, 2001).

I.2.4.4. Chimiotype

Le chimiotype est la carte d'identité, ou l'empreinte digitale, de toute l'huile essentielle. Celui-ci décrit sa spécificité biochimique, à savoir les molécules aromatiques et leur concentration. Elle est induite par le biotope et est révélatrice des propriétés thérapeutiques.

Le chimiotype peut être différent au sein d'une même espèce, voire pour une même plante, comme c'est le cas du thym et du romarin (Huete, 2007).

I.2.4.5. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

Malgré leurs différences de constitutions, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés :

- ✓ elles sont généralement liquides à la température ambiante ;
- ✓ elles sont volatiles et entraînaient à la vapeur d'eau ;
- ✓ leur densité est généralement inférieure à 1,
- ✓ peu solubles dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes ;
- ✓ elles sont sensibles à l'oxydation donc de conservation limitées (Catier et Roux, 2007) ;
- ✓ elles sont liposolubles ; solubles dans les solvants organiques (éther, alcool, huiles fixes) mais très peu solubles dans l'eau ;
- ✓ elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques (Bruneton, 1999).

De ces propriétés découlent les principales précautions à prendre pour les conserver, dans des flacons de petite taille, bien bouchés, colorés ou en aluminium et si possible à basse température (Catier et Roux, 2007).

I.2.4.6. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés médicinales, susceptibles de répondre à tous les besoins de l'être humain.

Elles sont des antibiotiques naturels, en effet, l'une des premières mises en évidence *in vitro* de l'activité antibactérienne des huiles essentielles datent de la fin du XIX^{ème} siècle, lorsque Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de l'huile de thym en 1875. Toutefois, il aurait fallu attendre le début du XX^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Cox et al., 2000). Dès lors, plusieurs recherches ont

démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large gamme de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Le rôle des huiles essentielles dans la plantes est mal connu, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile pour attirer les insectes afin de favoriser la pollinisation ou au contraire pour se protéger contre les prédateurs et les champignons parasites (Bruneton, 2008 ; Eichhorn, 2007).

La présence des huiles essentielles dans des parties spécifique dans certaines espèces végétales (tableau 1), correspond à un effet antiseptique vis-à-vis des parasites présents dans le bois ou attaquant ce dernier (Guignard, 1996).

En effet, Roger et ses collaborateurs (2002) ont démontré que les constituants terpénoïdes d'huiles essentielles végétales peuvent être utilisés comme insecticides d'origine végétale car ils sont toxiques par contact pour un large éventail d'insectes. Parmi ces composés chimiques les plus influents figurent le thymol, extrait du thym (*Thymus vulgaris*), la pulégone, extrait du clou de girofle (*Eugenia caryophyllus*).

I.2.4.7. Toxicité des huiles essentielles

Certains constituants aromatiques des huiles essentielles possèdent de multiples vertus, cependant elles peuvent présenter une toxicité à très forte dose (essentiellement les cétones mono terpéniques) ; suivant la citation de Paracelse : « Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose compte ». Généralement, les huiles essentielles ingérées par voie orale ont une toxicité aiguë faible

Ainsi, l'ingestion massive peut conduire à une neurotoxicité issue des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, sauge) ou à pinocamphone. Ces cétones peuvent provoquer des crises épileptiformes et titanifères, des troubles sensoriels (Bruneton, 1999).

I.2.4.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir de matières premières naturelles principalement d'origine végétale.

La 7^{ème} édition de la Pharmacopée européenne indique que les huiles essentielles sont obtenues par :

- ✓ Hydro- distillation

- ✓ Distillation sèche
- ✓ Expression à froid

D'autres méthodes sont destinées à des utilisations en parfumerie ou en agroalimentaires.

a- Hydrodistillation ou entraînement à la vapeur d'eau

Le but de cette méthode est d'entraîner avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle surnageant (Figure 6) (Benjilali et *al.*, 1986 ; Zhiri et Baudoux, 2005).

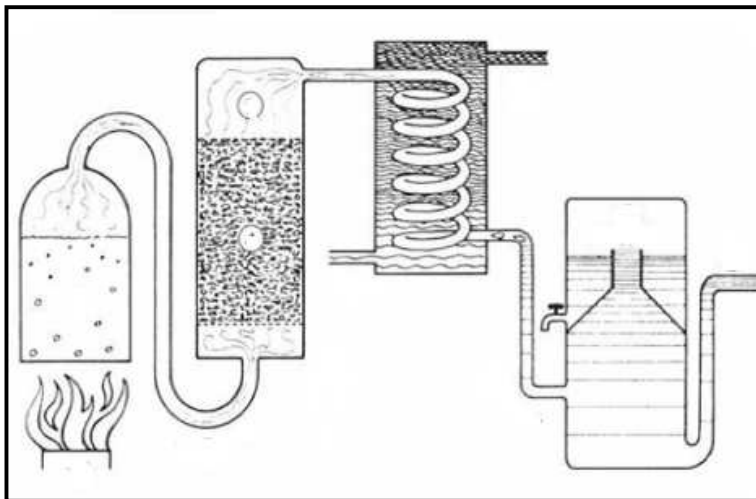


Figure 7. Procédé d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur (Khodjet El Khil, 2015).

I.2.5. Composés phénoliques (polyphénols)

I.2.5.1. Définition

Les polyphénols sont des phytomicronutriments synthétisés par les végétaux et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (Gee et Johnson, 2001).

Ils sont présents dans presque toutes les plantes et s'accumulent dans toutes les parties de l'organisme (tiges, feuilles, racines, fruits, fleurs). Les composés phénoliques sont le groupe le plus étudiés et l'un des plus importants métabolites secondaires (Eichhorn, 2007).

I.2.5.2. Classification des polyphénols

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) (Bruneton, 1999). Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Dacosta, 2003).

Les polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ; les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (Dacosta, 2003).

Les différentes classes de composés phénoliques sont définies selon le squelette de base au niveau du tableau 3.

Tableau 3. Différentes classes de composés phénoliques (Macheix et al., 2005).

Squelette carbonée	Classes de composés phénoliques
C ₆	Phénols simples
C ₆ - C ₁	Acides hydroxybenzoïques
C ₆ - C ₃	Acides hydroxycinnamiques
	Coumarines
C ₆ - C ₄	Naphtoquinines
C ₆ - C ₂ - C ₆	Stilbènes
C ₆ - C ₃ - C ₆	Flavonoïdes
	<ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones

$(C_6-C_3)_2$	Isoflavonoïdes
$(C_6-C_3)_n$	Lignanes
$(C_{15})_n$	Lignines
	Tanins

a- Acides phénoliques

Il existe deux principales classes d'acide phénolique ; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (figure 8) (Macheix *et al.*, 2005).

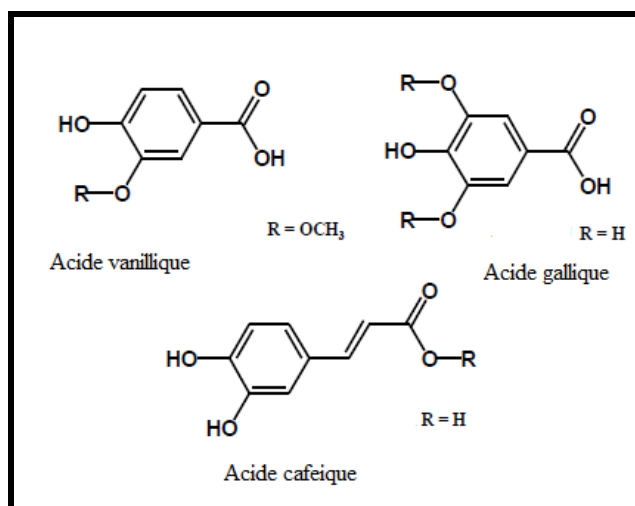


Figure 8. Structure chimique de quelques acides phénols (Tsao, 2010).

b- Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux (Guignard, 2000). Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules. En effet, plus de 6500 structures ont été identifiées (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont des dérivés du phénylpropane avec une composition de base $C_6-C_3-C_6$ (Hopkins, 2003). Il existe environ douze groupes connus de flavonoïdes (figure 9) dont certains

ont une très grande importance biologique et technologique par exemple les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones de couleur crème ou jaune claire, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tanins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (figure 9) (Macheix *et al.*, 2005).

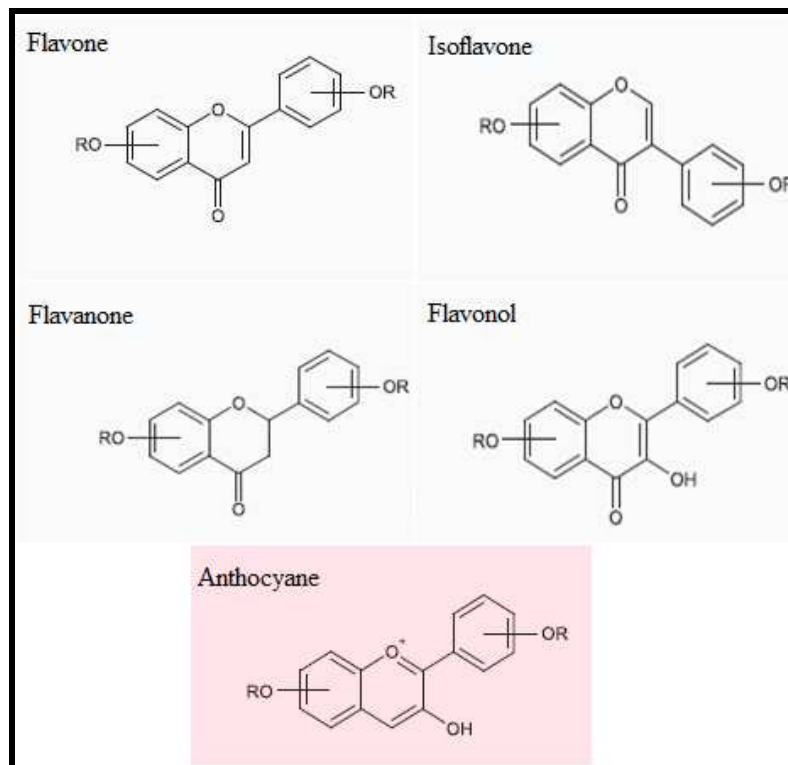


Figure 9. Structure chimique de quelques classes flavoniques (Beecher, 2003).

c- Tanins

Ces extraits contiennent des dérivés phénoliques qui se lient aux protéines et donc les dénaturent. Il existe deux catégories de tanins, les tanins condensés qui sont des polymères d'unités flavonoïdes reliées par de liaisons fortes carbone-carbone. Les tanins hydrolysables sont des dimères de l'acide gallique, leur structure de base est constituée d'un glucide (généralement glucose), dont le radical hydroxyle forme une liaison ester avec l'acide gallique (Hopkins, 2003).

d- Lignine

Les lignines sont des composés phénoliques complexes qui renforcent les parois cellulaires et repoussent les herbivores (Nabors, 2008).

e- Stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine. Parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales (Macheix et *al.*, 2005). (Figure 10)

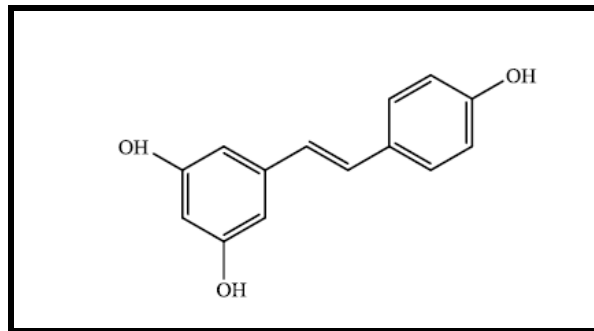


Figure 10. Structure chimique de trans-resveratrol (Macheix et *al.*, 2005).

I.2.5.3. Voies de synthèse des polyphénols

Selon Guignard (2000), il existe deux voies de synthèse des polyphénols.

a- Voie de l'acide shikimique

Cette voie est très spécifique des végétaux et conduit à la synthèse des trois acides aminés essentiels suivants : tryptophane, phénylalanine et tyrosine. L'acide shikimique est accumulé dans l'anis étoilé d'où il est extrait industriellement pour réaliser la synthèse de composés antigrippaux (Gravot, 2008).

La désamination de la phénylalanine par la PAL conduit au cinnamate, qui est une plaque tournante de la synthèse des composés aromatiques (Guignard, 2000). D'un point de vue évolutif, l'apparition de cette enzyme chez les végétaux (présente déjà chez les bryophytes) constitue une étape majeure dans la mesure où elle conditionne la possibilité de synthétiser ce pilier de la croissance érigée qu'est la lignine. L'acide cinnamique, un composé en C₆-C₃ (un noyau phényle + un acide propénoïque) constitue un carrefour métabolique intermédiaire entre le métabolisme primaire (Gravot, 2008).

b- Voie de polyacétates

Cette voie conduit à des poly β -cétoesters de longueur variable (polyacétates) qui engendrent, par cyclisation des composés souvent polycycliques tels que les chromones, isocoumarines, orcinols, depsides, xanthones et les quinones (Bruneton, 2009).

I.2.5.4. Activités biologiques des composés phénoliques

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (Crozier et *al.*, 2010). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires (Manach et *al.*, 2005). Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas.

Certains composés phénoliques ont un rôle dans la protection de la plante contre les agents photogènes et les herbivores et d'attirer les pollinisateurs comme la lignine (Meyer et *al.*, 2008 ; Nabors, 2008) ou comme les flavonoïdes qui sont responsables de l'arôme de plusieurs fleurs et fruits ainsi que leur coloration. Ces composés jouent un rôle protecteur, dissuasif vis-à-vis des micro-organismes pathogènes ou d'insectes ravageurs (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

II. Présentation botaniques des plantes étudiées

II.1. Généralités sur les Lamiacées

La famille des Lamiaceae connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres et 6 900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (Botineau, 2010). Les Lamiacées sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne. C'est une famille très homogène ; une Lamiacée est facile à reconnaître (Dupont et Guignard, 2007).

Les Lamiacées sont surtout des plantes méditerranéennes qui, au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptica* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues et en particulier, les deux premières espèces (Ozenda, 2004).

II.2. Ballote noire

II.2.1. Généralités sur la Ballote noire

Le genre *Ballota* appartient à la famille des lamiacées, dans laquelle les plantes regroupées dans ce genre sont des herbes ou des arbrisseaux très hispides à feuilles ovales plus au moins cordiformes (Quézel et Santa, 1963). Inflorescences en longs épis de faux-verticilles feuillés interrompus (Pottier-Alapetite, 1981).

C'est une plante herbacée vivace qui peut atteindre 40 à 80 cm de longueur, pubescente, d'odeur fétide (Pottier-Alapetite, 1981), à tige quadrangulaire de la famille des labiées (*Ballota foetida* Lam., *Ballota nigra* L) (figure 11).

La ballote noire, vulgairement dite marrube noire fut longtemps confondue avec le marrube blanc (Mongold et al, 1991), ils ont presque la même forme des feuilles (ovales, dentées, cordiformes) malgré cette ressemblance, Aït Youssef (2006), a décrit que les feuilles du marrube blanc sont feutrées, cotonneuses de couleur blanchâtres (duveteuse) ; et cette description distingue probablement les deux espèces.

Par ailleurs, la différence entre ces deux espèces se porte pas seulement sur la présence du duvet blanc sur les feuilles du marrube blanc, mais aussi par leur inflorescences ; les fleurs de marrube blanc sont groupées en glomérules verticillés alors que celles de la ballote sont groupées en glomérules unilatéraux ou semi-verticillées (Quézel et Santa, 1963).



Figure 11. (a) : *Ballota nigra*. (Blanca et al., 2009).

(b) : A : Système floral de *Ballota nigra*, B : les étamines C : les feuilles de *Ballota nigra* (Pinar Shahin et al, 2005)

II.2.2. Classification botanique

La position systématique de la ballote noire selon la classification APG III est :

Clade des Angiospermes

Clade des "Dicotylédones vraies"

Clade du "Noyau des Dicotylédones vraies"

Clade des Astéridées

Clade des Lamiidées

Ordre des *Lamiales*

Familles des *Lamiaceae*

Genre : *Ballota*

Espèce : *Ballota nigra* L., 1753

II.2.3. Description botanique

C'est une plante vivace érigée, parfois assez haute, à forte odeur plutôt désagréable, à tige rameuse, de section carrée, porte depuis sa base de nombreuses feuilles opposées, pétiolées, tomenteuses. Les feuilles ont un limbe vert sombre, arrondi, à contour crénelé, de consistance molle. Le réseau des nervures confère à leur face inférieure un aspect ridé. (Pharmacopée française, 1989). Les fleurs, généralement de couleur mauve, sont sessiles, se groupent en glomérules unilatéraux (semi-verticilles) à l'aisselle des feuilles de la partie supérieure de la tige ; elles sont pourvues de minces bractées vertes, ciliées. Elle est munie d'un calice en entonnoir à 5 dents très courtes un peu étalé en dehors (Quézel et Santa, 1963).

La corolle bilabée, dont le tube ne dépasse pas le calice, est rouge violacé ; la lèvre supérieure, dressée et légèrement concave, présente des poils blancs appliqués sur sa face externe. Les filets des 4 étamines sont parallèles. (Pharmacopée française, 1989).

II.2.4. Localisation et répartition

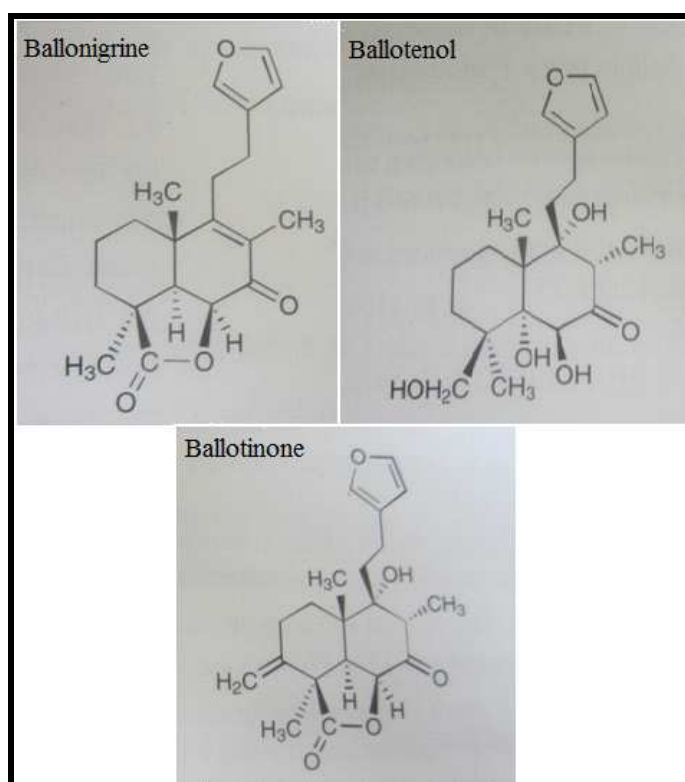
Elle pousse généralement dans les lieux incultes et les décombres (Rombi et Robert, 2007), elle est très commune en France et en Europe. Elle se retrouve également en Amérique du nord, Asie occidentale et en Afrique septentrionale (Coste, 1937).

II.2.5. Composition chimique

Les constituants caractéristiques des sommités fleuries de la ballote noire sont représentés dans le tableau 4 et quelques structures chimiques sont représentées au niveau de la figure 12.

Tableau 4. Quelques composés chimiques de la sommité fleurie de la ballote noire (Rombi et Robert, 2007 et Bruneton, 2009).

Hétérosides d'acides phénylpropaniques	Esters d'acide caféique	Flavonoïdes	Ditrpénoïdes	Huile essentielle
Verbascoside (actéoside) Forsythoside B Arénarioside Ballotétroside Alyssonoside Lavansulifolioside Angoroside A	Acide (+)-E caféyl-L-malique	Lutéolol Lutéolol-7-lactate Lutéolol-7-glucosyl-lactate Apigénol Vitéxine	Labdane Marrubiine Ballotinone Ballonigrine Balloténol	Terpènes et sesquiterpènes : α -pinène β -pinène sabinène germacréne D caryophyllène α -humulène copaène

**Figure 12.** Quelques structures chimiques (Rombi et Robert, 2007)

II.2.6. Utilisation

La ballote noire peu utilisée à cause de son mauvais goût mais vantée cependant par quelques médecins célèbres, dont Boerhaave au XVIII^e, contre l'hystérie et les nervosités. en 1919, le Dr Leclerc a révélé un pouvoir sédatif et antispasmodique remarquable, depuis lors dans bon nombre de troubles nerveux : psychonévrose (anxiété, irritabilité, insomnie), affections psychosomatiques (spasmes gastriques), dans ce contexte, un certains membres de l'Institut national français de phytothérapie ont pu déterminer que les DME (médicinal drug extract) de *Ballota nigra* jouent un rôle dans les traitements de l'anxiété.

Elle a été utilisée aussi pour soigné les morsures du chien (Iserin, 2007, Mongold et *al.*, 1991), elle est sédatif et anxiolytique (Nusier et *al.*, 2007, Mongold et *al.*, 1991),

En Algérie, exactement en Kabylie elle est couramment utilisée pour ses propriétés antivomitives.

II.3. Menthe

II.3.1. Généralités sur la menthe

Le genre *Mentha* comprend 25 à 30 espèces qui poussent dans les régions tempérées d'Eurasie, L'Australie et l'Afrique du Sud (Dorman et *al.*, 2003). Il existe plusieurs variétés de menthes, cultivées ou spontanées, en Algérie, les plus connues et utilisées sont la menthe verte et le pouliot (Kaddem, 1990).

Elles sont des plantes herbacées vivaces, odorantes, pourvues d'une souche stolonifère. Elle porte des feuilles opposées et dressées ou crénelées, de forme variable. Elles sont dotées des fleurs de petites tailles, regroupées en épis ou glomérules terminaux, de couleurs rosées, violacées ou blanches, avec un calice en tube ou en cloche à cinq dents pratiquement égales.

La corolle pourvue de quatre lobes presque égaux en forme de coupe, leurs fruit set généralement en akènes groupés par quatre (Rameau et *al.*, 2008).

Les espèces de menthe ont une grande importance, à la fois médicinales et commerciale. En effet, les feuilles, les fleurs et les tiges de *Mentha* spp. sont fréquemment utilisés dans des tisanes ou comme additifs dans les mélanges d'épices commerciaux pour de nombreux aliments pour offrir un arôme et la saveur (Moreno et *al.*, 2002 ;Hajlaoui et *al.*, 2009).

En outre, *Mentha* spp. a été utilisé comme un remède populaire pour le traitement des nausées, de la bronchite, la flatulence, anorexie, ulcération colite active, et du foie plaintes en

raison de ses propriétés anti-inflammatoire, carminatives, antiémétique, sudorifique, antispasmodique, analgésique, stimulant, emménagogue. (Iskan et *al.*, 2002 ; Moreno et *al.*, 2002 ; Hajlaoui et *al.*, 2009).

Diverses activités biologiques ont été rapportées pour certaines espèces de *Mentha*, comme antibactérien, antifongique et propriétés insecticides (Saljoqi et *al.*, 2006 ; Hajlaoui et *al.*, 2008 ; Najafian et Rowshan, 2013).

II.3.2. Espèce *Mentha longifolia*

C'est une plante vivace à odeur assez agréable, de 30-80 cm, généralement rameuse dans le haut, d'un vert grisâtre, entièrement couverte d'une pubescence blanche, soyeuse, appliquée. Elle présente des feuilles ovales dentées en scies (Potier-Alapetite, 1981). Les feuilles sessiles, lancéolées ou ovales-oblongues, aiguës, dentées en scie, blanchâtres tomenteuse en moins en dessous. Elle est pourvue des fleurs rosées ou lilas en épis terminaux assez compacts. Calice en cloche, très velu, à cinq dents linéaires en alène avec une corolle rosée (Coste, 1937).

II.3.3. Noms communs

Menthe à feuilles longues, menthe sylvestre, menthe des bois menthe à épi, menthe romaine (Hamon, 2012).

II.3.4. Classification botanique

La position systématique de la menthe sylvestre selon la classification APG III est :

Clade des Angiospermes

Clade des "Dicotylédones vraies"

Clade du "Noyau des Dicotylédones vraies"

Clade des Astéridées

Clade des Lamiidées

Ordre des *Lamiales*

Famille des *Lamiaceae*

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha longifolia* L., 1753

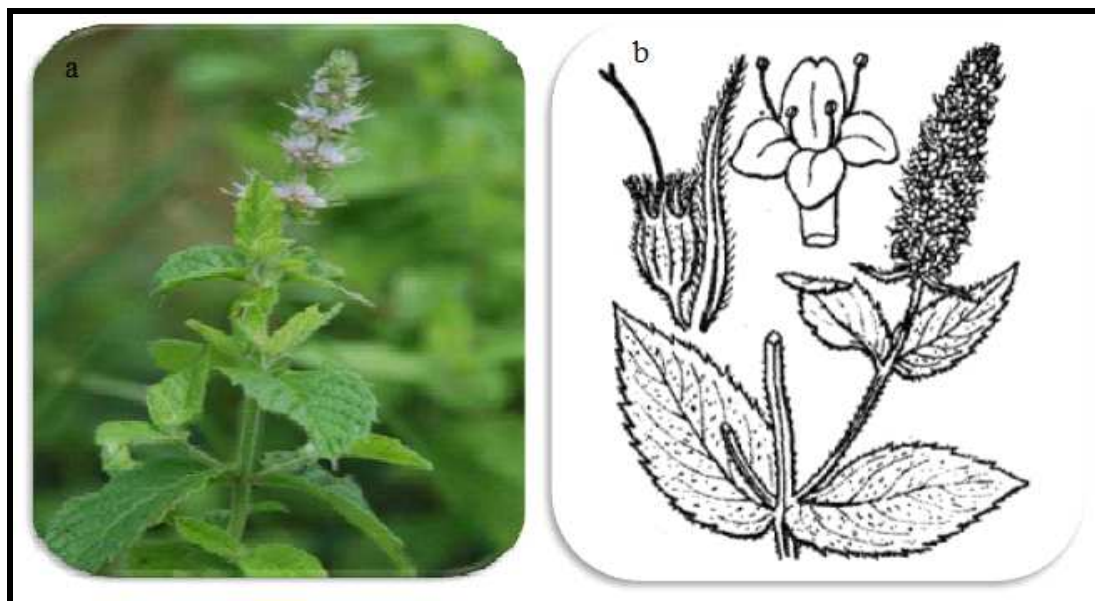


Figure 13. *Mentha longifolia* - a: (Hamon, 2012). -b: (Costa, 1937).

II.3.5. Répartition et localisation

La menthe sylvestre pousse généralement au bord des eaux, dans les lieux humides (Lieutaghi, 1996). Elle très rare en Algérie et Maroc. Elle pousse en Europe, Asie occidentale (Quézel et Senta, 1963, Potier-Alapetite, 1981). Elle se retrouve également en Amérique du nord, Afrique septentrionale et en Australie (Coste, 1937).

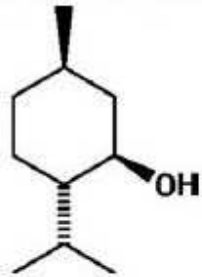
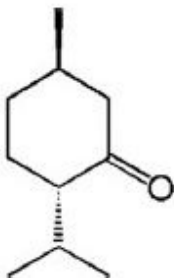
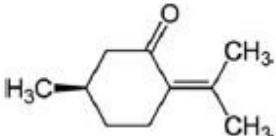
II.3.6. Composition chimique

Les études réalisées sur la composition chimique de la plante ont montré que les principaux composés chimiques présents dans huile essentielle de *M. longifolia* sont des monoterpènes (tableau), notamment sont oxygénés tels que pulégone, menthone, isomenthone, le menthol, le 1,8-cinéole, le bornéol, et l'oxyde de pipériténone (Mekaddem et *al.*, 2009).

Le menthol est le composant le plus important responsable de la plupart des effets pharmacologiques de la plante (Mimica et *al.*, 2003, Gulluce et *al.*, 2007). Il est une substance cireuse, cristalline, claire ou de couleur blanche, qui est solide à température ambiante et fond à des températures légèrement élevées. la chromatographie en phase gazeuse de masse et l'analyse par spectrométrie ont montré que les principaux composés dans l'huile essentielle de *M. longifolia* sont: Menthol (de 19,4 à 32,5%), menthone (de 20,7 à 28,8%), pulégone (de 7,8

à 17,8%), le 1,8-cinéole (05/06 à 10/08%), qui ont des rôles impérieuses divers effets de cette plante (Hajlaoui et *al.*, 2008).

Tableau 5. Structure chimique de quelques constituants actifs de la menthe sylvestre

Composant	Structure chimique	Références
Menthol (C ₁₀ H ₂₀ O)		(Bayati et <i>al.</i> , 2009)
Menthone (C ₁₀ H ₁₈ O)		(Sousa er <i>al.</i> , 1997)
Pulegone (C ₁₀ H ₁₆ O)		(Sousa er <i>al.</i> , 1997)

II.3.7. Utilisation

Comme décrits précédemment les espèces de menthe ont presque les mêmes propriétés dont la menthe sylvestre est souvent utilisée dans phytothérapie domestique, étant valorisé surtout pour ses propriétés antiseptiques et son bénéfique effets sur la digestion (Foster et Duke, 1999 ; Al-Ankari et *al.*, 2004)), et contre les affections respiratoires, de décongestionnant nasal et d'aromatisant, car à froid elle dégage une odeur très agréable (Nolen et Friend, 1999).

Matériels et méthodes

I. Présentation de la zone d'étude

Les échantillons des plantes médicinales ont été prélevés à partir d'un site de la Daïra de Tizi-Rached située à une vingtaine de kilomètres du chef lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les paramètres géographiques de notre station d'étude sont représentés dans le tableau 6 et la figure 14.

Tableau 6. Situation géographique et bioclimatique de la station d'étude (A.P.C de Tizi-Rached, 2010).

Station	Longitude (O)	Latitude (N)	Etage bioclimatique
Tizi-Rached	36°40'18''N	4°11'30 ''E	Subhumide



Figure 14. Localisation du site de prélèvement (Google Maps, 2015)

II. Matériel utilisé

II.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale sont des espèces végétales appartenant à la famille des Lamiacées : *Ballota nigra* et *Mentha longifolia* (Figure 15), leurs taxonomie et toutes les données concernant les deux plantes ont été détaillées précédemment.

La partie aérienne (feuilles et tiges) est choisie pour la réalisation des expérimentations de cette étude puisque c'est à son niveau que se trouve la majorité des principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.

Au laboratoire, la partie aérienne récoltée a été rincée à l'eau du robinet pour éliminer les impuretés et séchée à l'ombre dans un endroit bien aéré, à une température ambiante et à l'abri de la lumière, pour préserver l'intégrité des molécules.



Figure 15. *Ballota nigra*, *Mentha longifolia* (de gauche à droite) (Original, 2015).

II.2. Matériel biologique

Pour effectuer les divers tests biologiques (activité antimicrobienne et insecticide) de nos huiles essentielles et les composés phénoliques nous avons opté pour l'utilisation des :

- **Souches**

Les deux souches microbiennes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, ont été aimablement fournies par le laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri.

Cette étude a été accomplie dans le laboratoire de CIV de la faculté de Biologie.

- **coléoptères**

Les espèces étudiées sont *Tribolium castanum*. Les individus testés ont été obtenus à partir des élevages en masses réalisés au niveau du laboratoire de CIV (U.M.M.T.O) (figure 16).



Figure 16. *Tribolium castaneum* observés à la loupe binoculaire (G : 2×10) (Laboratoire CIV, UMMTO, 2015).

(a) femelle (b) male (c) larve de *Tribolium castaneum* (Original, 2015).

III. Méthodes

III.1. Extraction des huiles essentielles

III.1.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles

L'extraction est faite par :

- ✓ un montage d'hydrodistillation accomplie à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (Figure 16), elle est réalisée par ébullition pendant 4 heures d'un mélange de 40 g de matériel végétal et 500ml d'eau distillée.
- ✓ chauffe-ballon
- ✓ ballon (MVS+ eau distillé)
- ✓ ampoule à décanter
- ✓ sortie d'eau
- ✓ réfrigérant
- ✓ entrée d'eau



Figure 17. Montage d'un hydrodistillateur (Original, 2015).

III.1.2. Séparation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont séparées du distillat par extraction liquide - liquide au moyen de l'éther di-éthylique ($C_2H_5OC_2H_5$).

Dans une ampoule à décanter on sépare la phase organique (huile essentielle) de l'hydrolat. Ensuite, les huiles essentielles récupérées sont pesées afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse végétale. Enfin, elles seront conservées dans le réfrigérateur à l'abri de la lumière à une température de 4°C.

III.2. Détermination du taux d'humidité de la matière végétale utilisée

Le séchage de nos plantes (partie aérienne de *Ballota nigra* et *Mentha longifolia*) à été réalisé à l'abri de la lumière, dans de telles conditions les pertes en huiles essentielles sont négligeables.

Afin de déterminer la cinétique de séchage ainsi que les paramètres de calcul des rendements des extractions, on prend 20g de chaque plante et on fait une dessiccation de la matière sèche à une température de $103 \pm 2C^{\circ}$ dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique où il sera suivi pour une période de 10 heures. On arrête l'expérience lorsqu'on atteint la stabilité du poids de nos échantillons.

III.3. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité éreueillée après hydrodistillation sur la quantité de la plante à traiter exprimé en pourcentage.

Le rendement est calculé par la formule suivante (Benet, 1960) :

$$R_{HE} (\%) = M'/M \times 100$$

Avec :

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

III.4. Propriétés organoleptiques

La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physico-chimiques et organoleptiques caractéristiques.

IV. Etude histologique

Afin de mettre en évidence les différentes structures sécrétrices de nos plantes, nous avons effectué des coupes microscopiques au niveau des feuilles et des tiges par la technique de la double coloration (vert de méthyle-rouge Congo) après réalisation des coupes transversales.

Cette méthode a pour but de renforcer le contraste et de rendre plus évident les différents constituants tissulaires. Grâce à la réaction successive sur les coupes fines d'une solution d'hypochlorite de sodium, résultant la destruction des organites cellulaire et la conservation des parois cellulaires. Nous obtiendrons la coloration en rose des membranes celluloses (parenchyme cellulosique, liber et collenchyme) et en vert les membranes lignifiées ou sclérifiées (bois, sclérenchyme). Le protocole expérimental est illustré dans la figure 17.

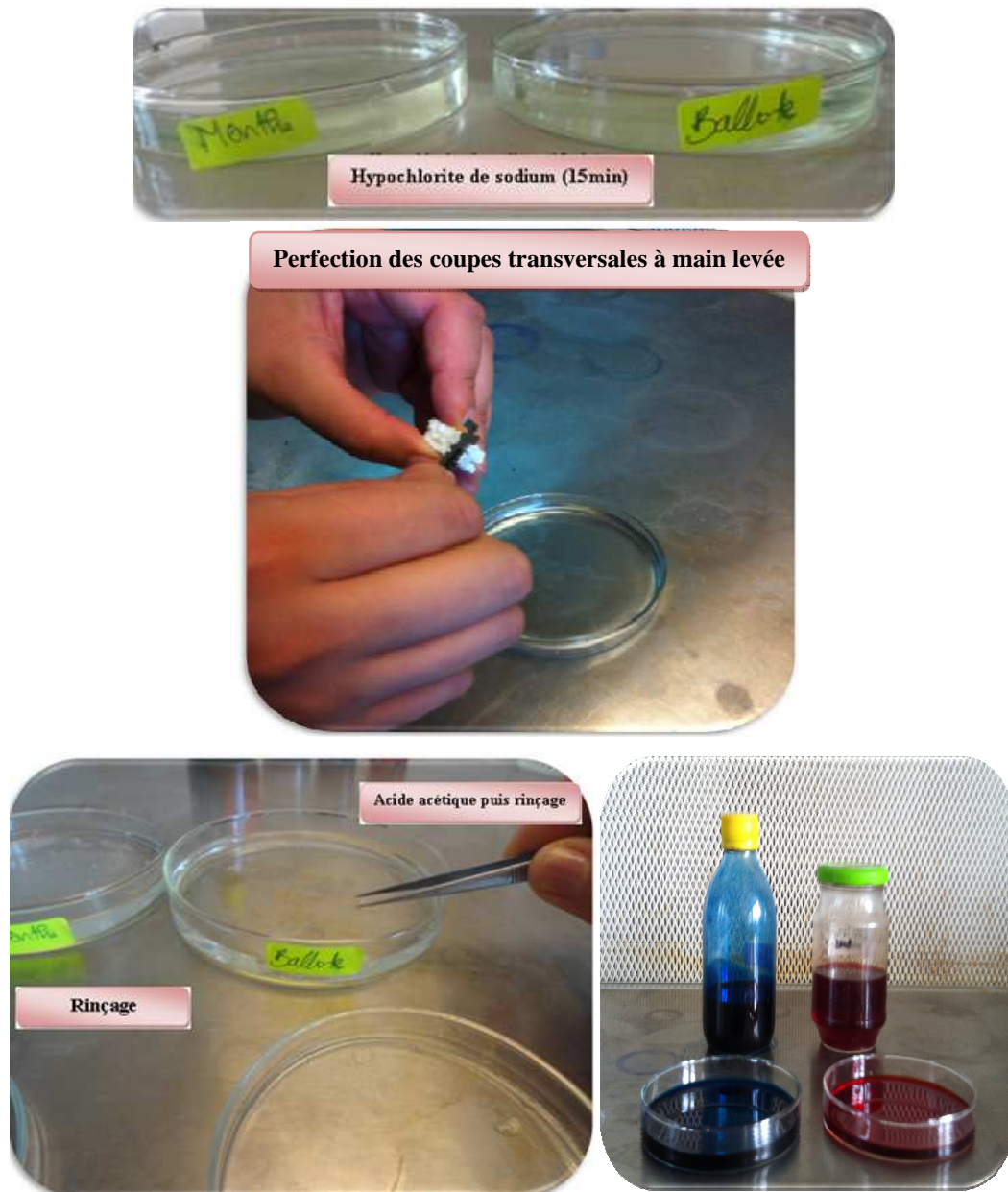


Figure 18. Illustration du protocole de coloration des coupes histologiques (Original, 2015).

V. Extraction des polyphénols

Il s'agit d'analyses biochimiques de 3 classes de flavonoïdes : (les C-glycosides, les Anthocyanes et les aglycones flavoniques), extraites à partir du matériel végétal sec.

V.1. Protocole expérimental

La technique utilisée a été mise au point par Bate-Smith (1954), reprise par Lebreton (1967) puis par Jay et *al.* en (1975) et enfin améliorée par Laracine (1984). Elle consiste en l'extraction et la séparation des flavonoïdes par hydrolyse acide et à chaud de la poudre végétale, et permet d'obtenir deux types de composés :

Une fraction d'aglycones et d'acides phénols par l'extraction préliminaire à l'éther diéthylique, et une fraction de C-glycosides et d'Anthocyanes récupérée par l'extraction au n-butanol. Les différentes étapes d'extraction des polyphénols sont illustrées dans la figure 19.



Figure 19 a. Préparation de la poudre végétale.

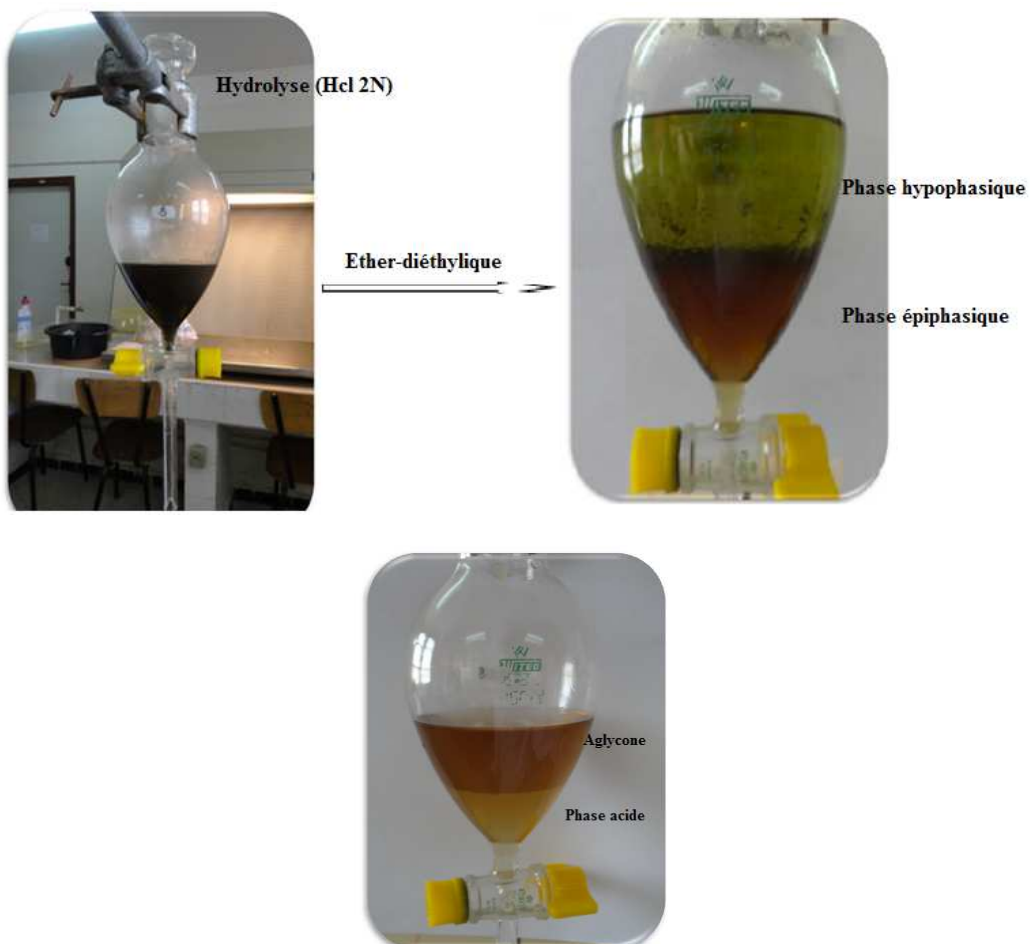


Figure 19 b. Séparation de deux phases par l'ether-diéthylique, puis fraction des aglycones par le n-butanol.

Figure 19. Illustration du Protocol expérimental d'extraction des polyphénols (Original, 2015).

V.2. Analyses quantitatives des extraits des deux plantes étudiées (*Ballota nigra* et *Mentha longifolia*)

Le dosage des polyphénols (Anthocyanes, C-glycoside et les aglycones) a été effectué par un spectrophotomètre.

V.2.1. Dosage des pro-anthocynes

La lecture des extraits s'établit par spectrophotométrie à 520nm juste après l'extraction car elle se dégrade rapidement à la lumière. La teneur absolue en anthocyanes est calculée par la formule suivante dont le coefficient correctif, est égale à 6 (Lebreton et *al.*, 1967).

$$T \text{ (mg/g)} = 5,2 \cdot 10^{-2} \cdot \text{DO} \cdot V \cdot d / p$$

Avec :

DO : densité optique

V : volume de la phase méthanoïque

d : facteur de dilution

p : poids sec du matériel végétal hydrolysé

V.2.2. Dosage des C-glycosylflavones

La lecture des extraits s'établit également par spectrophotométrie à 340nm et la teneur absolue est exprimée en Orientine et calculée par la formule suivante :

$$T \text{ (mg/g)} = 2,37 \cdot 10^{-2} \cdot \text{DO} \cdot V \cdot d / p$$

Avec :

DO : densité optique

V : volume de la phase méthanoïque

d : facteur de dilution

p : poids sec du matériel végétal hydrolysé

V.2.3. Dosage des aglycones flavonique

Les flavonoïdes ayant un hydroxyle (-OH) libre en position 3 et 5 réagissent avec les métaux. Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) forme un complexe avec les flavones et/ou les flavonols. Pour

déterminer la teneur en aglycones, on utilise la méthode du dosage différentiel, qui est basé sur deux dilutions :

- la 1^{ère} dilution se fait dans de l'éthanol (extrait étheré + éthanol 95°)
- la 2^{ème} dilution se fait dans la solution d'AlCl₃ (extrait étheré + AlCl₃ dans l'éthanol 95°).

La solution d'AlCl₃ est préparée par le mélange de 1g de chlorure d'aluminium dans 100ml d'éthanol à 95°.

A partir du résidu sec étheré repris dans de l'éthanol à 95° et d'autre part avec du chlorure d'aluminium à 1%, après réaction pendant 15min, la lecture des aglycones se fera entre 400 et 435nm au spectrophotomètre.

Concernant le dosage des Aglycones flavoniques (420nm) et des flavonols (435nm), la formule utilisée est la suivante :

$$T \text{ (mg/g)} = 1,3 \cdot 10^{-2} \cdot \Delta DO \cdot V \cdot d / p$$

Avec :

ΔDO : densité optique au pic différentiel égale à DO (AlCl₃) – D.O (Éthanol 95°)

V : volume de la solution éthanolique

d : facteur de dilution

p : poids sec du matériel végétal hydrolysé en g.

VI. Tests des activités biologiques

VI.1. Activités antimicrobiennes

Dans notre travail l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des polyphénols de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* ont été évaluées par deux méthodes :

- la méthode de diffusion par disque.
- la méthode de dilution en milieu liquide, qui permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentration des huiles essentielles et des polyphénols.

VI.1.1. Préparation de l'inoculum bactérien

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de pétri ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24h.

Dans de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont mélangées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne, la standardisation à 10⁶ UFC/ml a été réalisée par spectrophotomètre réglée sur une longueur d'onde de 620nm. La densité optique obtenue doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ce qui correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/ml selon Mc Ferland.

VI.1.2. Méthodes de la diffusion par disque (Aromatogramme)

Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos composants (huiles essentielles, polyphénols) nous avons suivi les étapes suivantes :

- ✓ Après coulage des milieux de culture gélosés et solidification dans des boîtes de pétri, préparés au préalable. Nous avonsensemencé l'inoculum en surface de ces boîtes (ensemencement en stries) à l'aide des écouvillons stériles. Ensuite, nous avons déposés des disques de papier Wattman stériles imbibé de 15µl de nos deux huiles essentielles et 10µl de chaque classe phénolique, un disque d'antibiotique est utilisé comme témoin positif la gentamicine et un disque imprégné de 10µl de DMSO comme témoin négatif. Les essais sont répétés trois fois.

- ✓ Après incubation à 37°C dans une étuve pendant 24 heures, la lecture des résultats a été faite par la mesure du diamètre d'inhibition exprimée en mm.

VI.2. Activités insecticides

VI.2.1. Test de répulsivité

Pour évaluer les effets répulsifs de nos huiles essentielles ainsi que les polyphénols de *Ballota nigra* et *Mentha longifolia*, la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par Mc Donald et al. (1970), et modifiée par d'autres chercheurs (Lale et Alaga, 2000; Obeng-Ofori et Reichmuth, 1997) est utilisée.

Le test consiste à découper en deux moitiés un papier filtre Whatman N°1 (Ø = 9 cm). Différentes doses (5µl, 10µl, 15µl et 20µl) de l'huile essentielle ainsi que les différents dilutions des polyphénols (1/2, 1/4, 1/8, 1/16), sont préparées avec de l'acétone comme solvant, quatre répétition ont été réalisé pour chaque dose. A l'aide d'une micropipette, une quantité de chaque solution est uniformément répandue sur une moitié du disque, tandis que l'autre moitié reçoit uniquement de l'acétone.

Après évaporation complète du solvant, les deux moitiés du disque sont ressoudées à l'aide d'une bande adhésive et placées dans une boîte de Pétri. Dix adultes de *Tribolium castaneum* sont libérés au centre de chaque papier filtre et les boîtes sont fermées puis placées à l'obscurité (Figure 19). Quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose d'huile essentielle et polyphénols.

Au bout de 4h, le nombre d'insectes présents sur la partie traitée uniquement à l'acétone et le nombre de ceux présents sur la partie traitée à l'huile essentielle sont enregistrés. Le pourcentage d'insectes repoussés est calculé par la formule suivante (Mc Donald et al., 1970) :

$$PR (\%) = [(N_c - N_t) / (N_c + N_t)] \times 100.$$

Avec :

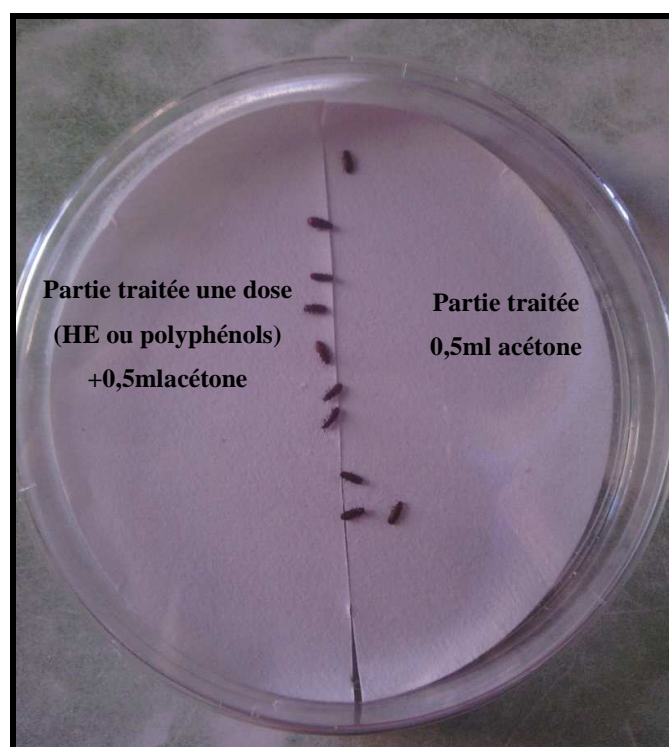
N_c : le nombre d'insectes présent sur la partie du disque traité uniquement avec l'acétone

N_t : nombre d'insectes présents sur la partie traitée avec la solution huile + acétone

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile et classe phénoliques est calculé et attribué à l'une des classes répulsives, selon le classement de MC Donald et al (1970) qui est dans le tableau 7.

Tableau 7. Pourcentage de répulsivité selon MC Donald et *al* (1970)

Classe	Intervalle de répulsion	Propriétés de la substance traitée
Classe 0	PR < 0,1	Non répulsive
Classe 1	10-20%	Très faiblement répulsive
Classe 2	20 – 40 %	Faiblement répulsive
Classe 3	40 – 60%	Modérément répulsive
Classe 4	60 – 80 %	Répulsive
Classe 5	80 – 100%	Très répulsive

**Figure 20.** Dispositif expérimental des tests de répulsivité (Original, 2015).

Résultats et discussions

I. Extraction des huiles essentielles

I.1. Détermination de la teneur en eau

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans les parties aériennes sèches de deux plantes étudiées. C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve. Les résultats sont représentés au niveau du tableau 8.

Tableau 8. Teneur en eau des deux plantes étudiées.

Plantes	Humidité (g d'eau/g MVS)
Menthe sylvestre	0,145
Ballote noire	0,11

I.2. Rendement en huiles essentielles

Les rendements en huile essentielle, qui sont calculés en fonction de la masse du matériel végétal sec, pour les deux plantes sont représentés au niveau du tableau.

Tableau 9. Rendement en huile essentielle des deux plantes étudiées

Huiles essentielle	Rendement (%)
<i>M. longifolia</i>	2,34
<i>B. nigra</i>	1,12

Les rendements en huiles essentielles obtenus, qui ont été calculés en fonction de la masse du matériel végétal à l'état sec, varient sensiblement entre les deux plantes étudiées (tableau 9). La menthe sylvestre a le rendement le plus élevé 2.34 %, tandis la ballote à un rendement moins important 1,12%.

Les résultats obtenus concernant le rendement en huile essentielle *Ballota nigra* et *Mentha longifolia* sont appréciables. Ceci est du aux caractéristiques des espèces de la famille des Lamiacées. Les espèces appartenant à cette famille montrent les rendements les plus élevés en huiles essentielles. Des différences intra et interspécifiques peuvent être observées en fonction de :

- ✓ la période de récolte ;
- ✓ le climat ;
- ✓ l'origine géographique ;
- ✓ la génétique de la plante ;

- ✓ la qualité du séchage ;
- ✓ et la méthode d'extraction employée.

I.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles

Les différentes caractéristiques organoleptiques tel que l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle des deux espèces ont été notées après sa récupération et sont regroupées au niveau du tableau 10 et la figure 21.

Tableau 10. Caractéristiques organoleptiques des deux espèces *Ballota nigra* et *Mentha longifolia* extraites par hydrodistillation

	HE de <i>Ballota nigra</i>	HE de <i>Mentha longifolia</i>
Aspect	Liquide limpide	Liquide limpide
Couleur	Incolore	Jaune claire
Odeur	Désagréable	Agréable,

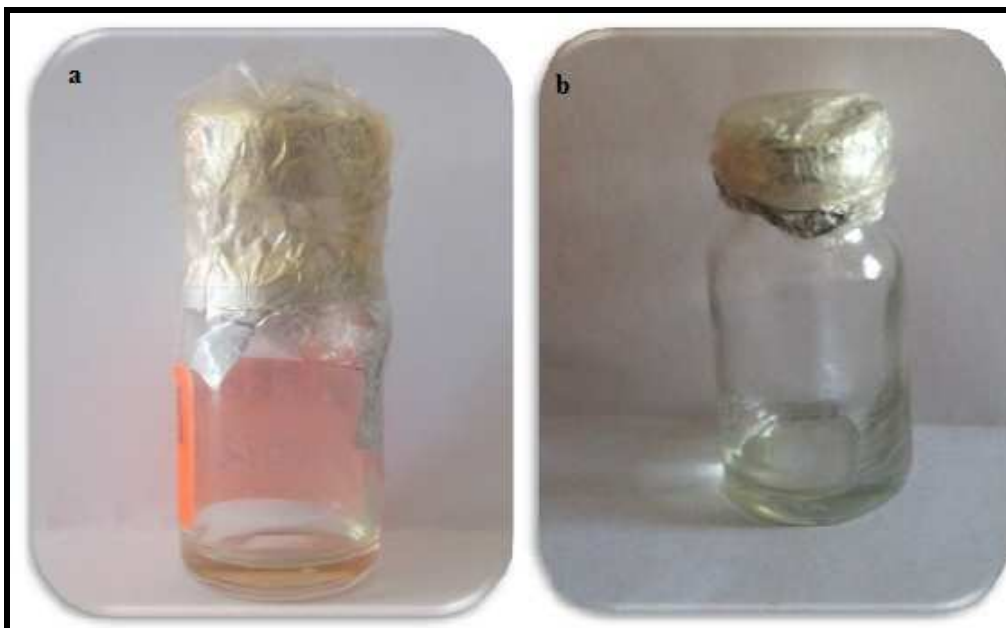


Figure 21. Huile essentielle de *Mentha longifolia* (a) et *Ballota nigra* (b).

II. Extraction et analyses quantitatives des polyphénols

L'extraction des polyphénols à partir du broyat de feuilles séchées de la Ballote noire et la Menthe sylvestre a permis d'obtenir trois classes phénoliques : celle des Anthocyanes de couleur rouge brique clair, celle des C-glycosides de couleur rouge brique foncé et celle Aglycones de couleur jaune verdâtre.

Les différentes classes de polyphénols sont conservés au frais dans des tubes ombrés jusqu'à leur utilisation.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotométrie des composés phénoliques des feuilles de *Ballota nigra* et *Mentha longifolia* étudiées sont représentés au niveau du tableau 11 et des figures 22, 23.

Tableau 11. Teneurs absolues en différentes classes phénoliques de *Ballota nigra* et *Mentha longifolia*.

Classe phénolique	Anthocyanes	C-Glycosides	Aglycones
Espèce			
<i>Mentha longifolia.</i>	0,970mg/g	1,433 mg/g	0,055 mg/g
<i>Ballota nigra</i>	1,941 mg/g	1,033 mg/g	0,023 mg/g

II.2. Extraits des feuilles de *Mentha longifolia*

Les résultats des analyses quantitatives en composés phénoliques des feuilles de *Mentha longifolia* sont reportés au niveau de la figure 22. Ces résultats nous indiquent que les teneurs absolues en substances phénoliques des feuilles de *Mentha longifolia* étudiés sont majoritairement constitués des C-glycosides et des Anthocyanes avec des valeurs de 1,433 mg/g et 0,97 mg/g respectivement, alors que sa composition en Aglycones est très faible avec une valeur de 0,055 mg/g.

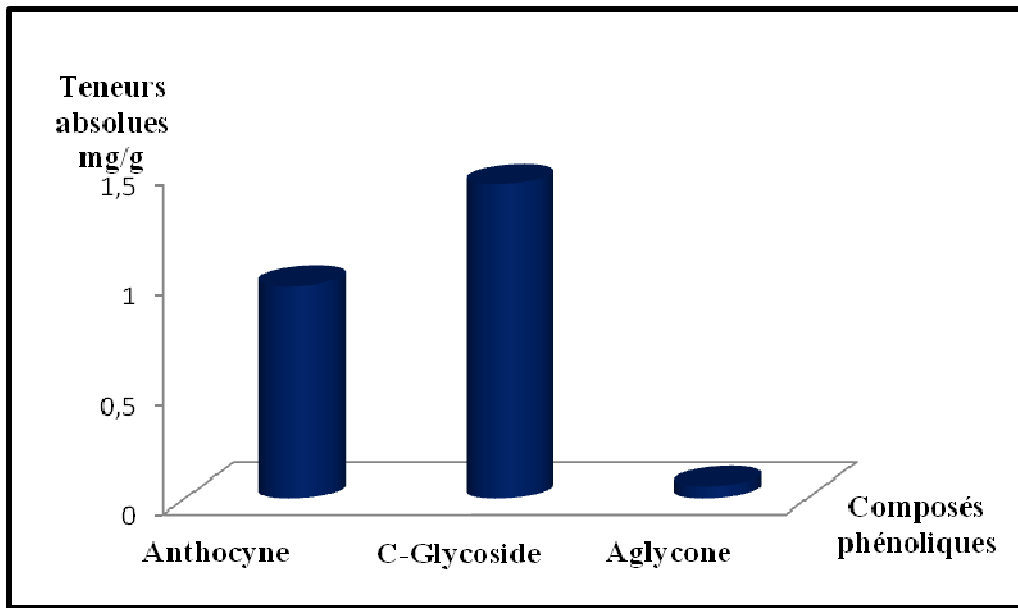


Figure 22. Teneurs absolues en différentes classes phénoliques de *Mentha longifolia*.

II.3. Extraits des feuilles de *Ballota nigra*

La figure 23 montre les teneurs absolues des composés phénoliques des extraits des feuilles de *Ballota nigra* analysés. Ces résultats nous indiquent qu'elles sont plus riches en Anthocyanes et en C-Glycosides 1,941 mg/g et 1,033 mg/g respectivement pour les deux classes de polyphénols, tandis que son contenu en Aglycones est très faibles (0,023 mg/g).

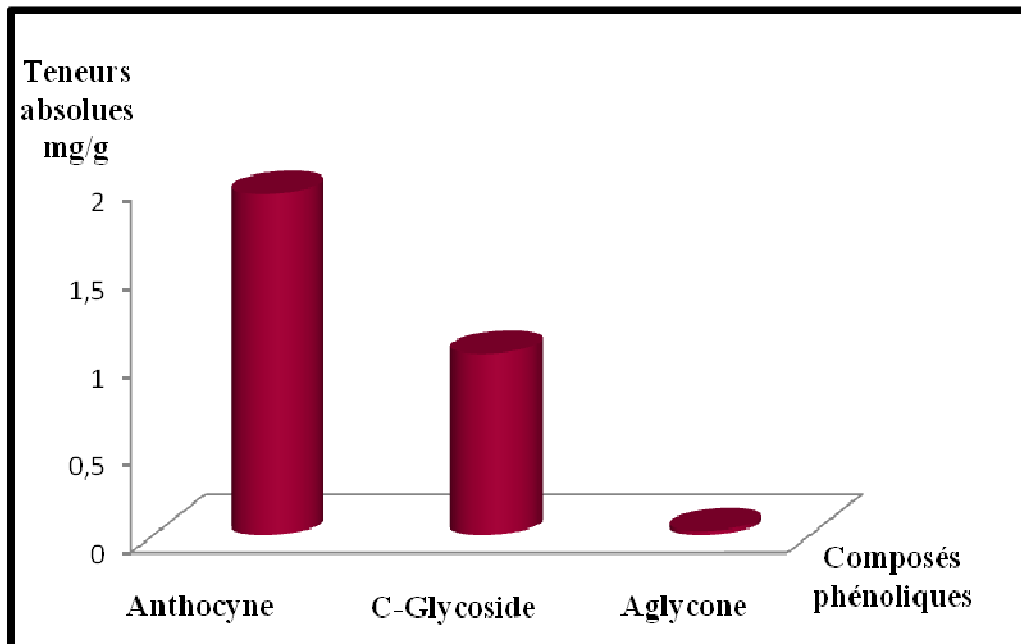


Figure 23. Teneur absolue en différentes classes phénoliques de *Ballota nigra*.

Dans notre présente étude, nous avons quantifié trois classes des flavonoïdes de deux plantes de la famille des Lamiacées. Peu d'études se sont intéressées à l'étude des polyphénols de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra*, en outre les travaux réalisés se sont intéressés à étudier uniquement les polyphénols totaux ou les flavonoïdes totaux, il est important ainsi de souligner que la méthode utilisée, ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction ont été effectuée, affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent affecte les activités biologiques de ces métabolites (Lee et al., 2003).

Les résultats obtenus lors de cette étude, révèlent que les deux plantes étudiées sont riches en flavonoïdes, en outre nous avons remarqué une variabilité dans les teneurs pour les différentes classes phénoliques, mais cette différence reste non significative ($p > 0,05$) et cela est confirmé par le test t, ceci peut s'expliquer du fait que les deux plantes appartiennent à la même famille (Lamiacée).

Par ailleurs, les résultats de Raj et al (2012), ont révélé une teneur en flavonoïdes totaux de *Mentha longifolia*, de l'ordre de 42,47 mg/g de poids sec. Il en est de même pour Stanisavljevic et al. (2012) ont rapporté la présence d'une forte teneur en flavonoïdes $106,7 \pm 0,3$ mg de rutine /g de l'extrait sec. L'ensemble de ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus lors de notre étude, avec une richesse de cette plante en substances phénoliques.

Une étude menée par Yilmaz et al., (2015), sur 16 espèces du genre *Ballota* dont *Ballota nigra*, ont déterminé leurs teneurs en flavonoïdes. Ils ont montrés que la majorité des espèces de *Ballota* est riche en flavonoïdes. Erdoğan-Orhan et al, (2010), qui ont travaillé également sur quelques espèces de *Ballota*, ont révélé la richesse de ce genre en flavonoïdes.

Ces auteurs considèrent que les flavonoïdes des espèces de *Ballota* semblent avoir le potentiel pour le traitement des maladies liées au stress oxydatif.

III.Observations microscopiques des structures sécrétrices

Cette étude a permis de localiser les sites sécréteurs des deux espèces végétales. Les coupes transversales au niveau des feuilles font apparaître la présence de deux types de poils : les poils sécréteurs à tête vésiculaires, et des trichomes capités, ils sont responsables de la sécrétion de l'huile essentielle. Nous avons également, remarqué la présence des poils protecteurs pluricellulaires qui participent d'après Taleb-Toudert (2015), à l'équilibre hydrique de la plante car ils ralentissent l'évaporation et protègent les structures sécrétrices des huiles essentielles.

Dans l'ensemble, les coupes histologiques de nos deux plantes semblent posséder la même organisation tissulaire.

Les plantes de la famille des lamiacées sont caractérisées par la présence de deux types de poils glandulaires sécrétrices qu'on retrouve chez la menthe et la ballote (Marin *et al.*, 2006 ; Bottega et Corsi, 2000). Ce sont des trichomes glandulaires capités pouvant synthétiser et contenir l'huile essentielle, elles sont constituées d'une seule cellule basale encrée dans l'épiderme, d'un stipe porteur court unicellulaire ou bicellulaire et d'une large tête sécrétrice constituée d'une ou de huit cellules sécrétrices disposées en rosaces. La récupération lors de l'extraction des huiles essentielles se fait par rupture de la cuticule (Wagner *et al.*, 2004 ; Sharma *et al.*, 2003).

Chez le genre *Mentha* les trichomes sont généralement représentés par des poils sécréteurs capités et peltés, fournis par une seule glande sécrétrice, ayant huit cellules sécrétrice (Fahn, 1979 ; Toma *et al.*, 2009). Nous avons observé ces deux types de trichomes sur la coupe transversale de *Mentha longifolia* (figure 24). Ces observations corroborent avec celles d'Andro *et al.* (2011), qui ont analysé les structures sécrétrices des différents organes de *Mentha longifolia*, ont observé les mêmes structures histologiques que celles décrites lors de notre étude.

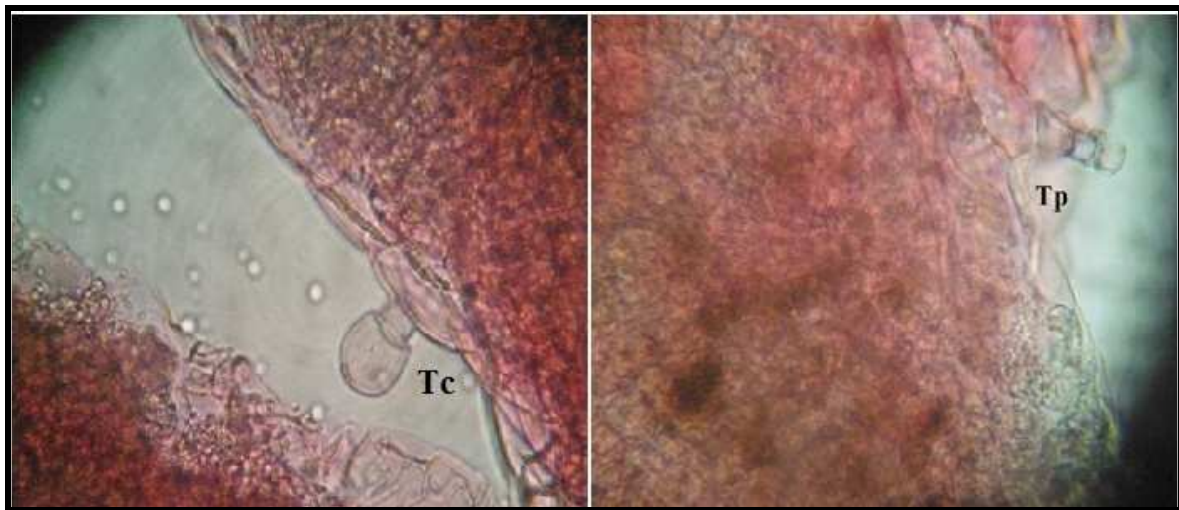


Figure 24. Coupes transversales de la feuille de *Mentha longifolia* au microscope optique $\times 400$ (Tc : trichome capités, Tp : trichome pelté).

Les coupes transversales au niveau des feuilles de *Ballota nigra* ont révélé également la présence de deux types de glandes sécrétrices des huiles essentielles, poils sécréteurs, des trichomes capités, nous avons noté également la présence de poils tecteurs, qui sont largement

répandues dans la majorité des Lamiacées (figure 25). Les travaux de Pinar Sahin et *al.*(2005) viennent confirmé nos observations.

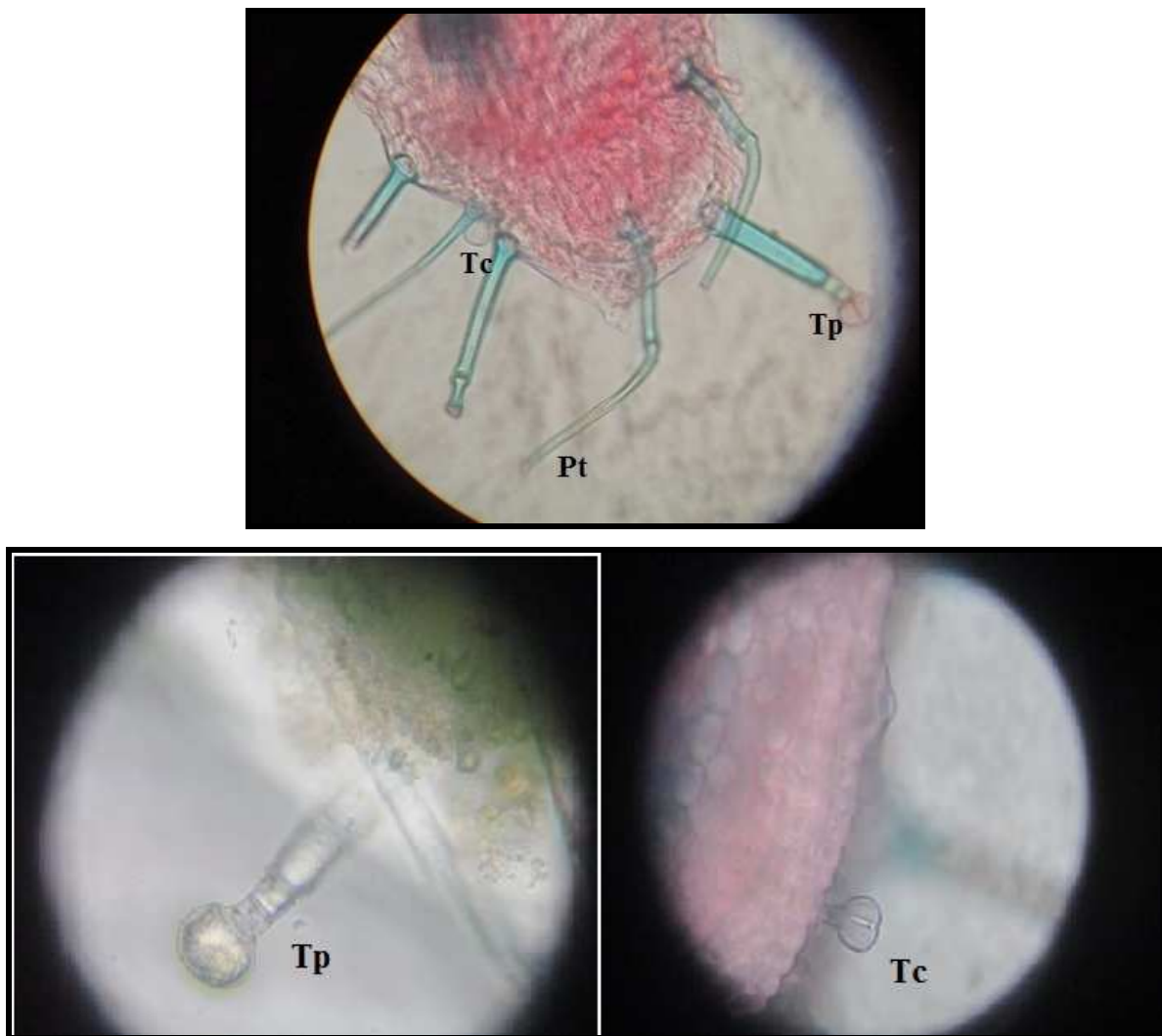


Figure 25. Coupe transversale de la feuille de *B. nigra* au microscope optique $\times 400$. (Tc : trichome capités, Tp : trichome pelté, Pt : poil tecteur).

IV. Résultats des tests de l'activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des polyphénols sont repris ci-dessous. Dans ces tableaux sont incluses d'une part les valeurs en (mm) des diamètres des zones d'inhibition, représentant la grandeur du halo formé par les microorganismes détruit par l'activité antimicrobienne et d'autre part les valeurs des différentes concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les figures 26-30 donne une illustration de la capacité

antimicrobienne de nos substances (huiles essentielles, polyphénols) vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Du fait que les différentes classes phénoliques ont été récupérées par le DMSO ainsi que la dilution des huiles essentielles, ce dernier a été testé vis-à-vis des deux souches bactériennes afin de vérifier son pouvoir antimicrobien avec une concentration de 10 µl. Les résultats obtenus se sont révélés négatifs, ce qui prouve qu'il n'y a aucun effet inhibiteur.

IV.1. Résultats des analyses de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

IV.1.1. Résultats de l'aromatogramme

Les résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles de *Mentha longifolia* et de *Ballota nigra* sont regroupées au niveau du tableau 12. Les valeurs indiquées sont des moyennes de trois répétitions.

D'après les résultats obtenus nous remarquons que l'huile essentielle de *Mentha longifolia* a montré une très forte activité sur les deux souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa* (54,33mm), *Staphylococcus aureus* (58,33mm), tandis que l'huile essentielle de *Ballota nigra* a révélé une activité modérée sur les deux bactéries testées (figures 26, 27).

Les résultats de l'aromatogramme montrent que l'huile essentielle de *Ballota nigra* a montré une activité microbienne modérée vis à vis des deux souches bactériennes avec une zone d'inhibition moyenne de 10,66mm pour la souche *Staphylococcus aureus* et 11 mm pour la souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau12. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les huiles essentielles étudiées.

Souches	Diamètres d'inhibition (mm)	
	Huile essentielle	
	Menthe sylvestre	Ballote noire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54,33±2,88	11±1,73
<i>Staphylococcus aureus</i>	58,33±1,15	10,66±1,52

Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions.



Figure 26. Zones d'inhibitions de l'huile essentielle de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

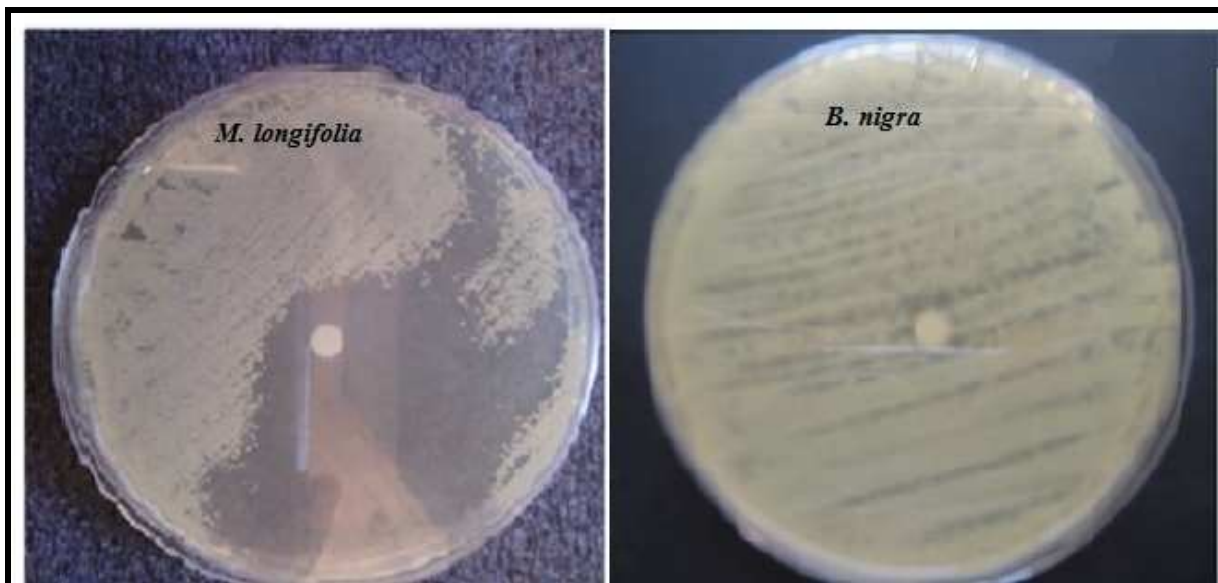


Figure 27. Zones d'inhibitions de l'huile essentielle de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Staphylococcus aureus*.

IV.1.2. Détermination de la CMI par méthode de dilution

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion en disque nous ont conduits à confirmer quantitativement l'activité antibactérienne de l'huile essentielle vis-à-vis des deux souches bactérienne (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*).

L'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'huile a été effectuée par la détermination de la CMI par la méthode de dilution en milieu liquide. Les résultats obtenus sont consignés au niveau du tableau 13.

Tableau 13. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles étudiées.

Microorganismes	Huiles essentielles	CMI (µl/ml)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Ballota nigra</i>	$5,048 \times 10^{-5}$
	<i>Mentha longifolia</i>	$7,322 \times 10^{-6}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Ballota nigra</i>	$7,321 \times 10^{-6}$
	<i>Mentha longifolia</i>	$1,788 \times 10^{-6}$

L'étude a révélé des valeurs des CMI relativement élevées pour l'huile essentielle de *Ballota nigra*, ce qui témoigne d'un pouvoir antibactérien modéré avec des valeurs de $7,322 \times 10^{-6}$ et $1,788 \times 10^{-6}$ respectivement pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

L'huile essentielle de *Mentha longifolia* a présenté un effet sur la croissance bactérienne après plusieurs dilutions.

L'huile essentielle de *Ballota nigra*, malgré son potentiel antibactérien modéré atteint la concentration minimale inhibitrice la plus faible. La souche qui s'est montrée la plus sensible est *Staphylococcus aureus*, avec une CMI de $7,321 \times 10^{-6}$ mg/ml, et *Pseudomonas aeruginosa* dont la croissance a été inhibée à une concentration de $5,048 \times 10^{-5}$ mg/ml.

En comparant la susceptibilité des deux souches vis-à-vis des huiles essentielles testées, nous constatons que l'efficacité des deux huiles est pratiquement semblables pour les deux bactéries.

L'ensemble des résultats montre que les huiles essentielles étudiées sont douées d'une activité antibactérienne vis-à-vis des deux souches utilisées dans cette étude. Cette importante bioactivité des huiles essentielles étudiées est en relation avec leur composition chimique. En effet, Oussalah et ses collaborateurs (2006) ont rapporté que l'effet antibactérien des huiles essentielles est attribué aux monoterpènes.

D'autre part, nous avons constaté que l'essence de *Mentha longifolia* présente une efficacité plus importante que celle de *Ballota nigra*. Cette divergence peut être attribuée à sa teneur en menthol. Ce composé est connu pour ses propriétés antibactériennes. Les terpénoïdes ont été précédemment rapportés également pour être actifs contre les bactéries (Ahmed et al., 1993 ; Amaral et al., 1998), les champignons (Harrigan et al., 1993), des virus (Hasegan et al., 2006), et les protozoaires. Cependant, le mécanisme d'action des terpènes

n'est pas entièrement élucidé, mais est supposé impliqué dans la rupture de la membrane par les composés lipophiles (Cowan, 1999).

En effet, Al-Bayati (2009), a isolé le menthol (qui est un terpénoïdes) de *Mentha longifolia* et a testé ses propriétés antibactériennes. Il a montré que le menthol est seulement actif contre les bactéries Gram positif. Il a fréquemment été rapporté que les bactéries Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif (Mann et al., 2000).

La bactérie Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa* a résisté à toutes les concentrations du menthol et a été inhibée par l'utilisation du médicament standard. Plusieurs études ont rapporté que les bactéries Gram négatif, *Pseudomonas*, et en particulier *Pseudomonas aeruginosa*, semblent être moins sensibles à l'action des huiles essentielles (Dorman et al., 2000). Par contre, dans notre étude nous avons montré que nos huiles essentielles sont bioactives contre *Pseudomonas aeruginosa*, en effet, l'huile essentielle de *Mentha longifolia* a révélé une activité remarquable sur cette souche (54mm).

En outre, plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques sont reportés sur une variété de genres bactériens. Tout d'abord, l'organisme peut acquérir des gènes codant pour des enzymes, telles que les β -lactamases, qui détruisent l'agent antibactérien avant qu'il ne puisse avoir un effet. Les bactéries peuvent acquérir des mutations qui limitent l'accès des agents antimicrobiens pour le site cible intracellulaire *via* la régulation négative de gènes (Tenover, 2004).

Les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. En effet, avec les progrès de la science et les moyens actuels d'analyse, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des huiles essentielles d'authentiques médicaments (Loziene et al., 2007).

IV.2. Résultats des analyses de l'activité antibactérienne des polyphénols

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des polyphénols des deux plantes étudiées sont représentés par les figures 28, 29, 30, 31, 31, 32 et 33 et les tableaux 14 et 15. Les valeurs indiquées sont les moyennes et les écarts types des trois répartitions.

Tableau 14. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les composés phénoliques étudiés

Classes phénoliques	Diamètres d'inhibition (mm)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Menthe sylvestre	Ballote noire	Menthe sylvestre	Ballote noire
Anthocyanes	11±2,516	11±1,00	20,66±3,055	11±1,00
C-glycosides	15,333±1,527	13,00±4,932	19,66±3,055	10,33±1,155
Aglycones	12,33±1,527	11,66±4,723	14,33±0,577	10,66±1,527

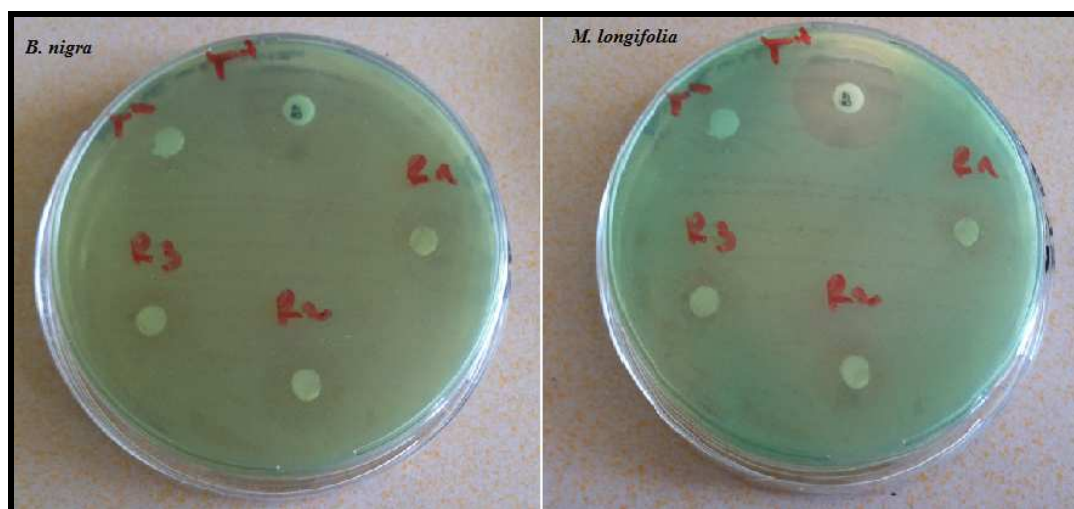


Figure 28. Zones d'inhibitions des anthocyanes de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

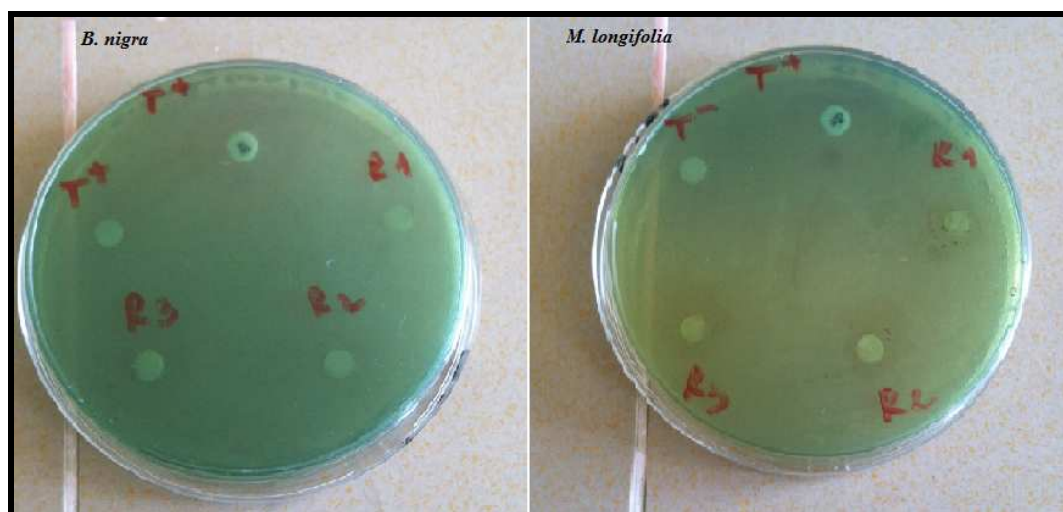


Figure 29. Zones d'inhibitions des c-glycosides de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

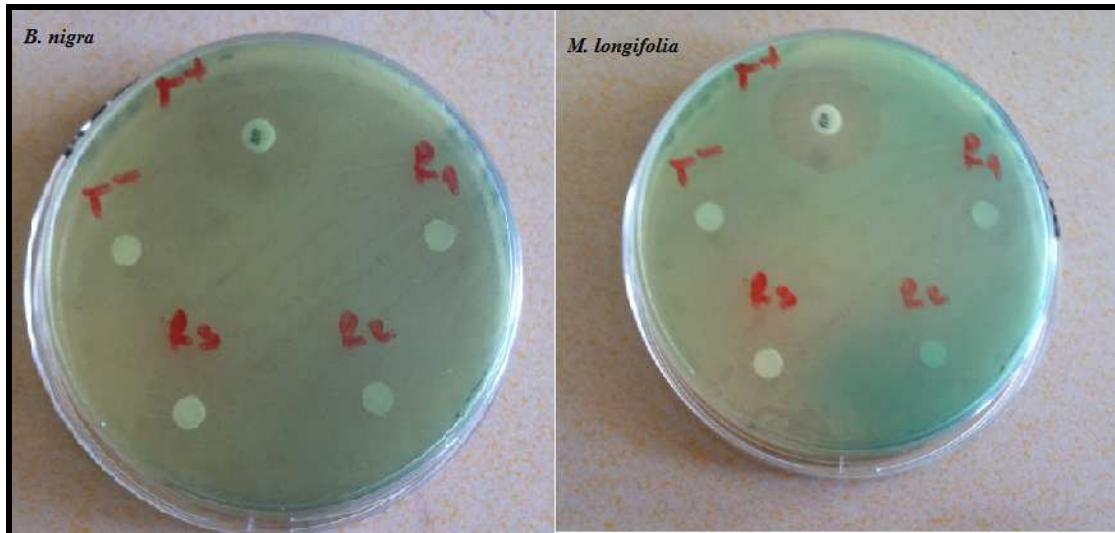


Figure 30. Zones d'inhibitions des aglycones de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure 31. Zones d'inhibitions des aglycones de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Staphylococcus aureus*



Figure 32. Zones d'inhibitions des c-glycosides de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Staphylococcus aureus*



Figure 33. Zones d'inhibitions des anthocyanes de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* sur *Staphylococcus aureus*.

Les résultats consignés dans les tableaux 14 et 15 montrent que tous les classes phénoliques des deux plantes étudiées ont réagi positivement pour les deux souches microbiennes testées.

Nous avons remarqué aussi que la plante *Mentha longifolia* est douée de propriétés antimicrobiennes appréciables. En plus, *Ballota nigra* a montré aussi une certaine activité inhibitrice de la croissance microbienne mais moins intéressante.

Les Anthocyanes et les Aglycones de *Mentha longifolia* ont révélé une activité moyenne contre *Pseudomonas aeruginosa* avec des valeurs de $11 \pm 2,516$ mm et $12,33 \pm 1,527$ mm respectivement pour les deux classes citées, tandis que les C-glycosides ont montrés une activité élevée avec un diamètre de la zone d'inhibition de 15mm.

Par ailleurs, *Staphylococcus aureus* s'avère la plus sensible aux différents flavonoïdes extraits de la menthe sylvestre. Ils ont montrés une forte activité spécialement les Anthocyanes (20,6mm) et les C-glycosides (19,6mm), alors que les Aglycones révèlent une activité modérée avec une zone d'inhibition de 14,3mm.

Les polyphénols de *Ballota nigra* ont révélé une activité moyenne contre les deux souches testées avec des valeurs comprises entre 11 et 13mm.

Tableau 15. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés phénoliques étudiés.

Composés phénoliques	CMI (µl/ml)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Menthe sylvestre	Ballote noire	Menthe sylvestre	Ballote noire
Anthocyane	$5,55 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-3}$	$6,93 \times 10^{-4}$
C-glycoside	$6,64 \times 10^{-4}$	$6,64 \times 10^{-4}$	$1,32 \times 10^{-3}$	$3,32 \times 10^{-4}$
Aglycone	$1,38 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-3}$	$2,77 \times 10^{-3}$	$6,93 \times 10^{-4}$

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'ensemble des classes phénoliques étudiées, ont manifesté des propriétés actives sur les deux souches testées.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'une classe phénolique à une autre. Les polyphénols de *Mentha longifolia* ont révélé une activité élevée sur *Staphylococcus aureus* comparée à *Pseudomonas aeruginosa* qui n'a eu qu'une activité modérée, et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme remède antibactérien. *Ballota nigra* a montré une activité moyenne sur les deux souches testées.

Toutes les plantes de la famille des Lamiaceae, connues pour leurs composés phénoliques, ont prouvé une activité contre divers micro-organismes (Gortzi et al., 2007).

Les flavonoïdes et les tri-terpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique ou groupes hydroxyles libres, qui sont classés comme composés antibiotiques très actifs

(Rojas et al. 1992 ; Marjorie, 1999). La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. Nous avons confirmé cela avec le test t, qui a révélé une différence hautement significative entre l'activité antibactérienne des anthocyanes et les c-glycosides des deux plantes étudiées ($0,001 < P \leq 0,01$) vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. Tandis que, l'analyse statistique concernant la souche *Pseudomonas aeruginosa* le test t a révélé une différence significative seulement pour la classe des aglycones ($P = 0,386 \leq 0,05$).

Il est bien connu que les composés phénoliques contribuent à la qualité et la valeur nutritionnelle en termes de modification de la couleur, goût, arôme et saveur et aussi en fournissant des effets bénéfiques à la santé. Ils servent aussi dans les mécanismes de défense des plantes pour lutter contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) afin de survivre et de prévenir les dommages moléculaires et les dommages causés par des micro-organismes, insectes et herbivores (Gomez et al., 2006 ; Gurib-Fakim, 2006).

V. Activités insecticides

V.1. Effet répulsif des huiles essentielles de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* contre *Tribolium castaneum*

Les résultats obtenus mettent en évidence un effet dose de nos huiles essentielles. Le nombre moyen des insectes sont recensés dans chaque partie de papier filtre à différentes doses de nos substances (huiles essentielles, polyphénols) testés.

Les résultats obtenus pour le test de répulsivité montrent que l’huile essentielle extraite de *Mentha longifolia* présente une répulsivité très élevée, dès la dose 5µl le taux de répulsivité atteint les 73,33%, cet effet croît avec l’augmentation de la dose. En effet, à la dose de 15µl le taux de répulsivité est de 100%. L’huile essentielle de *Ballota nigra* a montré une activité moyennement répulsive avec un taux faible de 13,33% pour la dose 5µl et de 93,33% pour les doses 15µl et 20 µl (tableau 16 et la figure 34).

Tableau 16. Taux de répulsivité (%) des huiles essentielles testées à l’égard des adultes de *T. castaneum*

Doses (µl) Huiles essentielles	Doses (µl)				Répulsivité moyenne(%)
	5µl	10µl	15µl	20µl	
Menthe	73,33	80	100	100	88,33
Ballote	13,33	40	93,33	93,33	60

Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions.

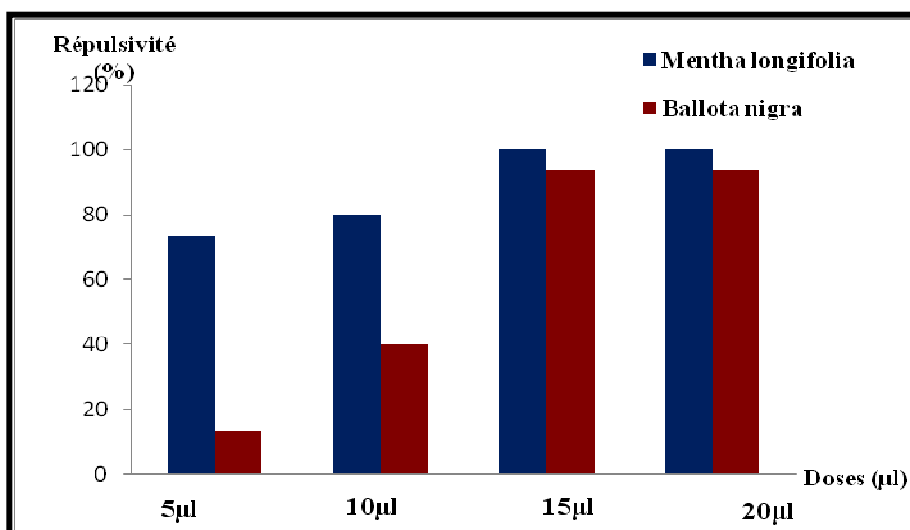


Figure 34. Taux de répulsivité de l’huile essentielle de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* contre *Tribolium castaneum*

La menthe sylvestre s'est révélée très répulsive avec un taux de répulsivité moyen de 88.33%. Elle est classée dans la classe V (selon Mc Donald et al.1970), tandis que, la ballote noire à montré une répulsivité moyenne modérée avec un taux de 60% (classe III) (tableau 17).

Tableau 17. Classification de la répulsivité de l'huile essentielle testée selon MC Donald et al (1970).

Huiles essentielles	Classes	Effet
Menthe sylvestre	V	Très répulsive
Ballote noire	III	Modérément répulsive

La présente étude a révélé que les huiles essentielles testées sont bioactives à l'égard de *Tribolium castaneum*, et ce en fonction de la dose utilisée.

Peu d'études ont été rapportées précédemment sur les activités insecticides de l'huile de *Mentha longifolia* contre *Tribolium castaneum*. En outre, nous avons noté l'absence des travaux sur l'activité insecticide de l'huile de *Ballota nigra*, ou sur d'autre espèces de *Ballota*.

Les résultats auxquels nous sommes arrivés dans le test de répulsivité pour *Mentha longifolia* concordent avec les résultats de Mahmoodavands et Shakarami (2014), qui ont montré une forte activité de *Mentha longifolia* contre *Tribolium castaneum*, avec un taux de répulsivité de 86,7% à la dose de 6µl.

Les travaux de Khani et Asghari (2012), ont étudié la toxicité de huile *Mentha longifolia* contre *Tribolium castaneum*, ils ont montré une forte activité insecticide de cette huile à l'égard de *Tribolium castaneum*. Ceci laisse pensé que cette huile pourrait être utilisé comme agents de contrôle potentiels pour les insectes des denrées entreposées.

Divers travaux ont été effectués sur d'autres espèces du genre *Mentha* qui ont montré une forte activité contre plusieurs ravageurs de denrées stockés. En effet, Taleb-Toudert, (2015) en testant l'activité de l'huile de *Mentha spicata* sur *Callosobruchus maculatus* a révèle une répulsivité moyenne de 68,75% à la dose 4µl, et Benayad, (2013) a évalué la toxicité des huiles essentielles extraites de trois espèces de *Mentha* (*M. suaveolen*, *M. piperita* et *M. pulgum*) sur *Rhyzopertha. dominica* et *Sitophilus. oryzae*. Ils se sont avérées efficaces quelle que soit la dose utilisée avec une mortalité de 100%.

Les activités biologiques des huiles essentielles sont attribuées aux monoterpènes. ils sont utilisés comme des fumigants actifs, répulsifs et biocides contre les insectes ravageurs des denrées entreposées (Papachristos et al., 2004 ; Kellouche et al., 2010). En effet, Aggarwal

et *al.*, (2001) ont montré que le 1-menthol, isolé de l'huile essentielle de menthe, est fortement répulsif (82-100%) à la dose de 0.53 µl/50g de graines de niébé vis-à-vis de *C.maculatus*.

Saljoqi et *al.*, (2006) a rapporté que les huiles et les extraits de *Mentha longifolia* avaient une activité insecticide contre plusieurs insectes. Par exemple, le menthol extrait à partir des feuilles de *Mentha longifolia* a révélé une activité insecticide avec un maximum de mortalité de 70% six jours après la pollution de grain ; le menthol serait donc le principe actif de cette plante.

Les huiles essentielles de ces plantes pourraient devenir une alternative viable aux stratégies de lutte chimique classiques. Cependant, d'autres études doivent être menées afin d'évaluer la sécurité de ces huiles avant l'utilisation pratique dans des denrées stockées pour le contrôle des insectes.

V.2. Effet répulsif des polyphénols de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* contre *Tribolium castaneum*

Les résultats obtenus pour l'action répulsive des différentes classes phénoliques des deux plantes étudiés sur *T. castaneum* sont regroupés dans les tableaux de 18 à 21 et les figures 35 à 36.

Nous avons remarqué que les aglycones des deux plantes testés ne sont pas répulsif à l'égard de *T. castaneum*.

V.2.1. Anthocyanes

D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'au fur et à mesure que la dilution augmente, le taux de répulsivité diminue. La répulsivité moyenne de *Mentha longifolia* est de 63,33%, se classe dans la classe V selon Mc Donald et *al.* (1970), et *Ballota nigra* se classe dans la classe III (51,66%) (Tableau 18). Les anthocyanes de la menthe sylvestre atteint 100% de répulsivité à la première dilution, tandis que, la ballote noire, le taux le plus élevé est enregistré à la dilution 1/2 et 1/8 avec un taux de 66,66%.

Tableau 18. Taux de répulsivité (%) des anthocyanes testés à l'égard des adultes de *T. castaneum*.

Anthocyanes \ Dilutions (µl)	Taux de répulsivité (%)				Répulsivité moyennes (%)
	1/ 16µl	1/8µl	1/4µl	1/2µl	
Menthe	13,33	46,66	93,33	100	63,33
Ballote	33,33	66,66	40	66,66	51,66

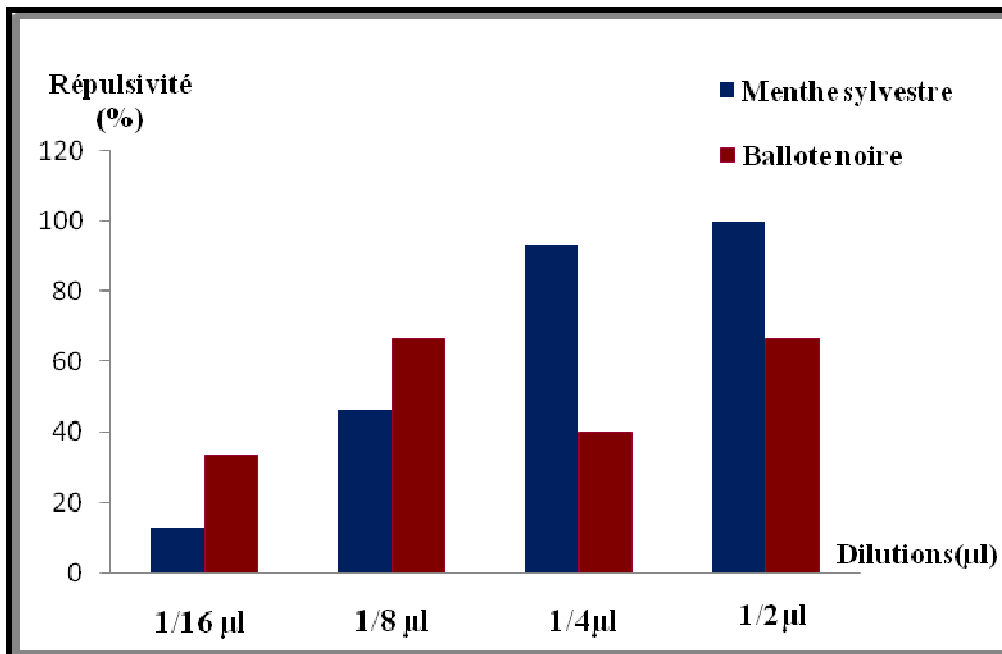


Figure 35. Taux de répulsivité des anthocyanes des deux plantes étudiées sur les adultes de *Tribolium castaneum*.

Tableau 19. Classification de la répulsivité des anthocyanes testée selon MC Donald et al. (1970).

Anthocyanes	Classes	Effet
Menthe sylvestre	V	Répulsive
Ballote noire	III	Modérément répulsive

V.2.2. C-Glycoside

La classe des C-glycosides a montré une faible activité vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum* avec une répulsivité moyenne de 40% et 20% pour *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* respectivement. Nous avons enregistré un taux de répulsivité important chez la menthe sylvestre à la première dilution (73,33%).

En effet, la figure 36 montre que la menthe sylvestre et la ballote noire agissent en synchronisation avec les dilutions. Le taux de répulsivité diminue en diluant l'extrait.

Tableau 20. Taux de répulsivité (%) des c-glycosides testées à l'égard des adultes de *T. castaneum*

C-glycosides	Taux de répulsivité (%)				Répulsivité moyennes (%)	
	Dilutions (µl)	1/ 16µl	1/8µl	1/4µl		1/2µl
Menthe		6,66	33,33	26,66	73,33	40
Ballote		40	0	20	20	20

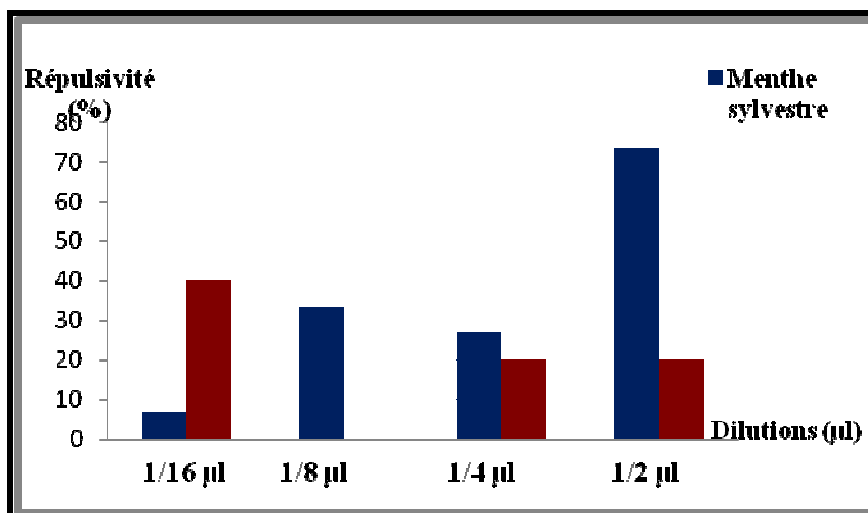


Figure 36. Taux de répulsivité des c-glycosides des deux plantes étudiées sur les adultes de *T. castaneum*.

Selon MC Donald et *al.* (1970), nous avons classé les c-glycosides dans les classes répulsives qui sont regroupé dans tableau 19.

Tableau 21. Classification de la répulsivité de c-glycosides testée selon MC Donald et *al* (1970).

C-glycosides	Classes	Effet
Menthe sylvestre	II	Faiblement répulsive
Ballote noire		

D'après les résultats obtenus, nous avons pu enregistrer des taux de répulsivité très élevé, et moyenne (100% *Mentha longifolia*, 75% *Ballota nigra* pour les anthocyanes et 55% et 50% respectivement pour la classe des C-glycosides) et cela coïncide avec le fait que les constituants ou les classes phénoliques majoritaires de la menthe sylvestre et la ballote noire sont des anthocyanes et des C-glycosides.

Ces résultats peuvent être expliqués par une présence d'une corrélation entre les teneurs en polyphénols et l'activité biologique.

Nous n'avons enregistré aucune activité répulsive des aglycones contre *T. castaneum*, c'est probable que cette classe joue un rôle dans l'attraction des insectes pollinisateurs, ou elle est bioactif contre d'autres insectes ravageurs.

Chez les végétaux, certains métabolites secondaires ont la capacité d'une part d'attirer des insectes par émission de certaines substances, ils favorisent ainsi leur pollinisation, et d'autre part, ils les repoussent pour se protéger. Comme porté dans la littérature, les flavonoïdes jouent un rôle protecteur, dissuasif ou toxique vis-à-vis de microorganismes pathogènes ou des insectes ravageurs (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

Les travaux de Regnault-Roger et *al.*, (2008) montrent que les polyphénols ubiquitaires dans la nature, provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte. La toxicité des polyphénols est corrélée positivement au pouvoir attractif du composé.

Conclusion

Les produits naturels étaient et restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses vu le rôle que peuvent jouer certains composés purs dans beaucoup d'applications, à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, la parfumerie et dans le domaine agricole.

Dans notre présent travail, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne et insecticide des huiles essentielles et des trois classes phénoliques extraites de deux espèces de la famille des Lamiacées: *Mentha longifolia*, *Ballota nigra*.

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, de la partie aérienne de menthe sylvestre et ballote noire, a permis d'obtenir des rendements appréciables. Les teneurs de nos plantes en flavonoïdes sont également satisfaisantes.

Par la suite, notre travail s'est consacré à l'observation des coupes histologiques des feuilles des deux plantes étudiées afin d'identifier et de localiser les structures responsables de la production et du stockage des huiles essentielles. Les deux plantes de la famille des lamiacées (*Mentha longifolia* et *Ballota nigra*), détiennent des trichomes glandulaires (poils sécréteurs) spécifiques à cette famille.

L'évaluation de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle et les polyphénols de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra*, selon la méthode de diffusion sur disque, a permis d'affirmer qu'elles ont un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des deux souches testés indépendamment de leurs Gram.

L'huile essentielle de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra* ont donnés de bons résultats pour une inhibition de la croissance bactérienne qui cause des infections nosocomiales provoquées par la souche *Staphylococcus aureus*, les infections alimentaires et les troubles digestifs causés par la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Contre *Staphylococcus aureus*, l'huile essentielle de *Mentha longifolia* montre une efficacité inhibitrice avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 58 mm. Pour *P. aeruginosa*, qui présentent généralement de fortes résistances, nous avons trouvé un diamètre d'inhibition très remarquable (54 mm). L'activité de l'huile essentielle de la ballote noire s'est montrée moins importante que celle de *M. longifolia* sur les deux souches testées.

Les composés phénoliques de nos plantes, ont montrés une activité antibactérienne moyenne contre les deux souches testés. Les diamètres des zones d'inhibition de nos deux plantes sont compris entre 10,33-20,66mm pour *S. aureus* et 11-15,33mm pour *P. aeruginosa* (les valeurs élevés sont enregistré pour la menthe sylvestre).

Pour clore ce travail, l'activité insecticide a été évaluée en utilisant le test de répulsivité de nos substances à l'égard de *Tribolium castaneum*. L'effet répulsif de l'huile essentielle de

la menthe sylvestre sur *Tribolium castaneum* s'est révélé très important avec un taux de répulsivité de 100% dès la dose 15 μ l.

L'huile essentielle de *B. nigra* a montré une répulsivité modérée avec un taux de répulsivité moyen de 60%.

Les anthocyanes des deux plantes sont révélés les plus répulsifs parmi les autres classes phénoliques, avec un taux de répulsivité moyen de 63,33% pour *M. longifolia* et un taux modéré pour *B. nigra* (51,66%).

En conclusion, l'huile essentielle de *B. nigra* a des activités assez intéressantes sur les bactéries pathogènes ainsi que sur l'insecte testé. Tandis que l'huile de *M. longifolia* est pourvue d'un pouvoir antibactérien et insecticide assez remarquable. Il a été constaté que ces activités varient en fonction de la souche microbienne testée et de la dose de l'huile appliquée. Ces caractéristiques importantes font de cette plante un patrimoine à préserver et à valoriser.

L'orientation des recherches afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail, également l'exploration d'autres propriétés biologiques de ces deux plantes pourrait être réalisée. Ainsi un certain nombre de perspectives peuvent être envisagées :

- ✓ évaluation de l'activité antioxydante de ces substances.
- ✓ une étude de l'activité anticytotoxique sur des cellules cancéreuses.
- ✓ déterminer les fractions les plus actives et éventuellement de caractériser les molécules responsables de ces activités.
- ✓ application des huiles essentielles ou leurs vapeurs directement sur les denrées alimentaires durant le stockage.
- ✓ soumettre les extraits à une analyse quantitative à savoir la chromatographie (HPLC pour les polyphénols et à une CG/MS pour les huiles essentielles).

Références bibliographiques

- 📖 **AFNOR, 2000.** Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR, Paris, 440 p.
- 📖 **Agelet A, Vallès J., 2003.** Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). Part II. New or very rare uses of previously known medicinal plants. J Ethnopharmacol. Vol 84:211–27p.
- 📖 **Aït Youssef, 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. Préface du docteur Jean-Philippe Brette. Ibis Press, Paris. 204-207p.
- 📖 **Al-Ankari AS., Zaki MM., Al-Sultan SI., 2004.** Use of Habek Mint (*Mentha longifolia*) in Broiler Chicken Diets. International Journal of Poultry Science. Vol 3 (10): 629-634p.
- 📖 **Al-Bayati FA., 2009.** Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. Ann Clin Microbiol Antimicrob. Vol 8:20p.
- 📖 **Ali Boutlelis DJ., 2014.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, anti-hépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 98p.
- 📖 **Aouadhi S., 2010.** Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- 📖 **Baudoux D., 2001.** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Luxembourg, Inspir S.A.
- 📖 **Beecher GR., 2003.** Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. J. Nutr, Vol 133:3248p.
- 📖 **Belaiche P., 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1: l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- 📖 **Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaili-alaoui M. et Ayadi A., 1986.** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé, Plantes médicinales et phytothérapie, Tome XX, n° 2, 155-167p.
- 📖 **Benkhniq O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., RochdiA., DouiraA., 2011.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Bot. Barc, Vol 53: 191-216p.
- 📖 **Bensalah F., 2014.** Contribution à l'étude phytochimiques et l'effet hémolytique de l'extrait brut hydroalcoolique de la partie aérienne de *Marrubium vulgare* L. Thèse de master, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 40p.

- 📖 **Blanca G., Gabezubo B., Cueto M., Lopez CF., Torres CM., 2009.** Flora Vasculaire de Andalucía oriental. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, Vol 4 :51p.
- 📖 **Botineau M., 2010.** Botanique Systématiques et appliquée des plantes à fleurs. Tec& doc- Lavoisier, 1021p.
- 📖 **Bouchra C, Achouri M, Idrissi H LM, Hmamouchi M. 2003.** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 89: 165-169p.
- 📖 **Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F., Hakim Y., 2010.** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature&technologie*. Vol 3: 37-41p.
- 📖 **Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., 2007.** Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique SCIENCE*, Vol 03(2) : 232 – 242p.
- 📖 **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. Tec& doc- Lavoisier, Paris, 915p.
- 📖 **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. Tec& doc- Lavoisier, Vol 3 :484-487p.
- 📖 **Bruneton J., 2002.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 1^{ère} Edition, Lavoisier, Paris.
- 📖 **Bruneton J., 2008.** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. Tec& doc- Lavoisier.
- 📖 **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. Tec& doc- Lavoisier, Vol 4 : 787-788 p.
- 📖 **Calixto J. B., 2005.** Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 131 – 134p.
- 📖 **Catier O., Roux D., 2007.** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. Wolters Kluwer, Vol 3 : 81p.
- 📖 **Combrinck S., Du Plooy GW., Mccrindle RI., Botha BM., 2007.** Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. Vol 99 (6) : 1111–1119p.

- 📖 **Coste A., 1937.** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des Contrées limitrophes. Librairie des sciences et des arts, Pris, France.
- 📖 **Cox SD., Mann CM., Markham JL., Bell HC., Gustafson JE., Warmington JR., Wyllie SG., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. Vol 88: 170-175p.
- 📖 **Crozier A., Del Rio D., Clifford MN., 2010.** Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Molecular Aspects of Medicine*, Vol 31: 446–467p.
- 📖 **Cushine TP., Hamilthoh VES., Lamb AJ., 2003.** Assessment of antimicrobial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. Microbiol. extract of *M. longifolia* may be due to its high content Res., Vol 158(4): 281p.
- 📖 **Dacosta, Y., 2003.** Les phytonutriments bioactifs. *Ed Yves Dacosta. Paris.* 317 p.
- 📖 **Darwish RM, Aburjai TA., 2010.** Effect of ethnomedicinal plants used in folklore medicine in Jordan as antibiotic resistant inhibitors on *Escherichia coli*. *BMC Complement Altern Med*. Vol 10-9p.
- 📖 **Decoussera JW., Lamyb B., Pinac P, Allouchd PY., 2010.** The Collège de bactériologie virologie hygiène study Group (ColBVH). Trends in antibiotic susceptibility of blood stream pathogens in hospitalized patients in France, 1996 to 2007. *Diag Microbiol Infect Dis*. Vol 66:292–300p.
- 📖 **Donald MC., Guy RH., Speirs RD., 1970.** Preliminary evolution of new candidate materials as tosicants, repellent and attractants against stored products insects. *Marketing. Res.* 189p.
- 📖 **Dragana M., Stanisavljević DM., Stojičević SS., Đorđević S M., Zlatković B P., Veličković D T., Karabegović I T., Lazić M L., 2012.** Antioxidant activity, the content of total phenols and flavonoids in the ethanol extracts of *Mentha longifolia* (L.) Hudson dried by The Use of different techniques. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. Vol 18 (3):411–420p.
- 📖 **Dupont F., Guignard J.L., 2007.** Botanique, Systématique moléculaire. Elsevier Masson. Vol 14 : 221-223 p.
- 📖 **Dupont F., Guignard J.L., 2012.** Botanique, Les familles des plantes. Elsevier Masson. Vol 15 : 237p.
- 📖 **Dwivedi S, Dwivedi A, Dwivedi SN., 2008.** Folk lore uses of some plants by the tribes of Madhya Pradesh with special reference to their conservation. *Ethnobotanical Leaf*. Vol 12:763–71p.

- 📖 **Eccles, R. 1994.** Menthol and related cooling compounds. *J. Pharm. Pharmacol*, Vol 46 : 618-630p.
- 📖 **Eichhorn RE., 2007.** Biologie végétale. Ed. Boeck Université.
- 📖 **Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M., 2007.** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*. Vol 68:939 – 953p.
- 📖 **Erdoğan-Orhan I., Sever-Yılmaz B., Altun ML., Saltan G., 2010.** Radical quenching activity, ferric reduction antioxidant power, and ferrous ion-chelating capacity of *Ballota* species and their total phenol and flavonoid contents, *J Med Food*, Vol 13(6), 1537-1543p.
- 📖 **Fahn A., 1979.** Secretory Tissues in Plants. Academic Press London.
- 📖 **Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. and Guo Z., (1985).** Medicinal plants in therapy, *Bull World Health Organ*, Vol 63 (6) : 965-81p.
- 📖 **Foster, S. and J. Duke, 1999.** A Field Guide to Medicinal Plants and Herbs of Eastern and Central North America. Houghton Mifflin Co., Boston, MA, USA, 411p.
- 📖 **Garneau FX., 2001.** Le matériel végétal et les huiles essentielles. Laseve UQAC, Chicoutimi (Québec), 3-4p.
- 📖 **Gee JM., Johnson I.T., 2001.** Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. Vol 8 : 1-182p.
- 📖 **Gershenzon J., Maffei M., Croteau R., 1989.** Biochemical and Histochemical Localization of Monoterpene Biosynthesis in the Glandular Trichomes of Spearmint (*Mentha spicata*). *Plant Physiol*, Vol 89: 1351 – 1357p.
- 📖 **Gómez - Caravaca A. M, Gómez - Romero M, Arráez - Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A., 2006.** Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. *Journal of Pharmacology and Biomedicine Analysis*. Vol 41: 1220p.
- 📖 **Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., & Tsaknis, J. (2007).** Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules*. Vol 12, 932-945p.
- 📖 **Gravot A., 2008.** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Support de cours sur le métabolisme secondaire d'Antoine Gravot Université de Rennes 1 – L2 UE PHR.
- 📖 **Guignard JL., 1996.** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. 254p.
- 📖 **Guignard JL., 2000.** Biochimie végétale. Dunod, Masson, Paris, vol 2.

- 📖 **Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A., 2007.** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia L. ssp. longifolia*. Food Chem, Vol 103:1449–56p.
- 📖 **Gurib-Fakim A., 2006.** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol 27: 1 – 93p..
- 📖 **Hajlaoui H, Snoussi M, Ben Jannet H, Mighri Z, Bakhrouf A., 2008.** Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia L. ssp. longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid) Ann Microbiol. Vol 58:513–20p.
- 📖 **Hajlaoui H, Snoussi M, BenJannet H , Mighri Z, Bakhrouf A. 2008.** Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia L. sp. longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). Annals of Microbiology. Vol 58(3):103-110p.
- 📖 **Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., Bakhrouf A., 2009.** Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. World J Microbiol Biotechnol. Vol 25:2227–2238p.
- 📖 **Hamayun M, Khan SA, Sohn EY, Lee IJ., 2006.** Folk medicinal knowledge and conservation status of some economically valued medicinal plants of District Swat, Pakistan. Lyonia. Vol 11:101–113p.
- 📖 **Hami H., Soulaymani A., Skalli S., Mokhtari A., Sefiani H. et Soulaymani R., (2011).** Poisoning by *Atractylis gummifera L.* Morocco poison control center data, *Bultin de la société de Pathologie Exotique*, Vol 104 (1) : 53-57p.
- 📖 **Hamid AA., Aiyelaagbe OO., Usman LA., 2011.** Essential oils: ITS medicinal and pharmacological uses. International Journal of Current Research. Vol 33(2) :086-098p.
- 📖 **Hamon G., 2012.** Flore : la menthe à feuilles longues. Nature Flore : faune et paysages.
- 📖 **Hilan C., Sfeir R., Jawish D., Aitour S., 2006.** Huiles Essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des *LAMIACEAE*. Institut de Recherche Agronomique du Liban (IRAL). Lebanese Science Journal. Vol 7(2) : 17p.
- 📖 **Hopkins W G., 2003.** Physiologie végétale. De Boeck & Larcier, Paris. Vol 2.
- 📖 **Iscan G, Kirimer N, Kurkcuoglu M, Baser KHC., 2002.** Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. J Agric Food Chem, Vol 50(14):3943–3946p.
- 📖 **Iserin P., 2007.** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse-Bordas.232p.

- 📖 **Janifer Raj X., Phani Kumar G., Pal Murugan M., Jitendra K., Chaurasia OP., Shashi Bala S., 2012.** Determination of Total Phenols, Free Radical Scavenging and Antibacterial Activities of *Mentha longifolia* Linn. Hudson from the Cold Desert, Ladakh, India. *Phcog J*, Vol :2 (12) :470–475p.
- 📖 **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P., 2002.** Botanique systématique, Une perspective phylogénétique. Paris et Bruxelles, Vol 1 : 369-384p.
- 📖 **Kaddem SE., 1990.** Les plantes médicinales en Algérie. Le monde des pharmaciens, 109p.
- 📖 **Karousou R, Balta M, Hanlidou E, Kokkini S., 2007.** “Mints”, smells and traditional uses in Thessaloniki (Greece) and other Mediterranean countries. *J Ethnopharmacol*. Vol 109:248–57p.
- 📖 **Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. et al., 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*. Vol 30: 338–343p.
- 📖 **Kempf M M., Eveillard F., Kowalczyk E., Rossines G., Panhelleux ML., Joly-Guillou., 2011.** Antibacterial activity against 224 clinical bacterial strains of JCA 250 and JCA 251 compounds containing essential oils provided from Aroma Technologies research; *Pathologie Biologie* 59 39–43p.
- 📖 **Khani A., Asghari J., 2012.** Insecticide Activity of Essential Oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* Against Two Stored Product Pests, the Flour Beetle, *Tribolium castaneum*, and the Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus*. *J Insect Sci*, Vol 12: 73p.
- 📖 **Khenaka K., 2011.** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l’ovin. Thèse de magister, Université Mentouri, Constantine, 81p.
- 📖 **Khodjet El Khil M., 2015.** Etude de marché, Consommation d’huiles essentielles en Guyane Française. Guyarome Sarl, 5p.
- 📖 **Kim, S., C. Park, M. OHH, H. CHO AND Y. AHN., 2003.** Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae). *J. Stored Prod. Res.*, N° 29, pp. 11-19p.
- 📖 **Kivanc M., Akgul A., 1986.** Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus, *Flavour Frag*, Vol 1: 175-179p.

- 📖 **Koechlin-Ramonatxo C. 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. Vol 20 : 165-177p.
- 📖 **Kokkini S, Karousou R, Lanaras T., 1995.** Essential oils of spearmint (carvone-rich) plants from the Island of Crete (Greece). *Biochem Syst Ecol*, Vol 23:287–297p.
- 📖 **Lahlou M., 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils, *Phytother.Res.* N°18, pp. 435-448p.
- 📖 **Laouer H., 2004.** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- 📖 **Lee H-S., Kang D-G., Yun C-K., 2003.** Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 87:231-236p.
- 📖 **Leonard S. et Ngamo T., 2004.** Conseil phytosanitaire interafricain, bulletin d'informations phytosanitaires. ed. F.A.O Rome, N°44, 58 p.
- 📖 **Lieutaghi P., 1996.** Le livre des bonnes herbes. Ed. Robert Morel. 295-298p.
- 📖 **Linden G., Lorient D., 1994.** Biochimie agro-industrielle. Ed. Masson, Paris. 360 p.
- 📖 **Macheix JJ., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*. 121-216p.
- 📖 **Maffei M., Berteà C., Mucciarelli M., 2006.** Anatomy, Physiology, Biosynthesis, Molecular Biology, Tissue Culture, and Biotechnology of Mint Essential Oil Production, in Lawrence B. (Ed.), *Mint. The Genus Mentha*. CRC Press, Boca Raton: 41 – 85p.
- 📖 **Mahmoodavands S., Shakarami J., 2014.** Repellency effects of essential oils and powders of four plant species on *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Tribolium confusum* (Du Val) (Col: Tenebrionidae). *International Journal of Agriculture and Biosciences*. Vol 3 (2):49-59p.
- 📖 **Manach, C., Mazur, A., Scalbert, A., 2005.** Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*. Vol 16 : 1–8p.
- 📖 **Marjorie M. C., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 564-582p.

- 📖 **Mehani M., Segni L., 2012.** Antimicrobial Effect of Essential oil of Plant *Trigonella focnum greacum* on some Bacteria Pathogens. World Academy of Science, Engineering and Technology. Vol 6: 314p.
- 📖 **Meyer S., Reed C., Bosdeveix R., 2008.** Botanique, Biologie et physiologie végétale. Ed. Maloine.
- 📖 **Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Mihajlovic B, Matavulj M., 2003.** Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Med*, Vol 69:413–9p.
- 📖 **Mkaddem M, Bouajila J, Ennajar M, Lebrihi A, Mathieu F, Romdhane M., 2009.** Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha (longifolia* L. and *viridis*) essential oils. *J Food Sci*. Vol 74:358–363p.
- 📖 **Mongold JJ., Camillieri S., Serrano JJ., Taillade C., Masse JP., Susplugas P., 1991.** Etude expérimentale de l'activité psychotrope de *Ballota nigra*. *Revue de l'institut national français de phytothérapie*.
- 📖 **Moreno L, Bello R, Primo-Yufera E et al (2002)** Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Phytother Res*. Vol 16:10–13p.
- 📖 **Moro Buronzo A., 2008.** Grand guide des Huiles Essentielles, Santé, Beauté, Bien-être. Hachette Pratique. 21p.
- 📖 **Morot- Gaudry JF., Roger P., Bohr-Courseau I., Julien M., Parcy F., Perrot-Rechenmam C., Reisdorf-Cren M., Richard L., Savouré A., 2009.** Biologie végétale, Croissance et Développement. Ed. Dunod, Paris.
- 📖 **Nabors M., 2008.** biologie végétale, Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie. Ed. Pearson Education France.
- 📖 **Naghibi F, Mosaddegh M, Motamed SM, Ghorbani A., 2005.** Labiatae family in folk medicine in Iran: From ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharm Res*. Vol 4:63–79p.
- 📖 **Najafian S., Rowshan V., 2013.** Polyphenolic compounds of *Mentha longifolia* and Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) in Iran. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. Vol 4(3): 606-612p.
- 📖 **Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M., 2000.** The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Report*. Vol 17: 215 – 234p.
- 📖 **Newman D. J. and Cragg G. M., (2007).** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years, *J Nat Prod*, Vol 70 (3): 461-77p.

- 📖 **Nolen H W., Friend DR., 1999.** Menthol- β - D- glucuromide: a potential prodrug for treatment of the irritable bowel syndrome. *Pharm. Res*, Vol11 : 1707- 1711p.
- 📖 **Nusier MK, Bataineh HN, Bataineh ZM, Daradka HM., 2007.** Effects of *Ballota nigra* on blood biochemical parameters and insulin in albinorats. *Neuro Endocrinol. Lett.* Vol 28:473-476p.
- 📖 **Oyedeji OA, Afolayan A J. 2006.** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from South African *Mentha longifolia* (L.) subsp. *capensis* (Thunb.) Briq. *Journal of Essential Oil Research.* Vol 18: 57-59p.
- 📖 **Ozenda P., 2004.** Flore et végétation des Sahara. 3^{ème} Ed : CNRS édition. Paris. 399-402p.
- 📖 **Ozgen U, Kaya Y, Houghton P., 2012.** Folk medicines in the villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey) *Turk J Biol*, Vol 36:93–106.
- 📖 **Padrini F., Lucheroni M.T., 2003.** Le grand livre des Huiles Essentielles, guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté grâce aux essences. De Vecchi S.A, 11p.
- 📖 **Pharmacopée Européenne, 2010.** 7^e édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe.
- 📖 **Pharmacopée française, 1989.** *Ballota foetida* pour préparations homéopathiques.
- 📖 **Pinar Sahin F., Cihat Toker M., Ezer N., 2005.** Botanical properties of mild sedative: *Balllota nigra* L.subsp. *nigra*. *Fabad J. Pharm. Sci*, Vol 30: 94-99p.
- 📖 **Pirbalouti AG, Malekpoor F, Enteshari S, Yousefi M, Momtaz H, Hamed B., 2010.** Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by Bakhtiari tribal in Southwest Iran. *Int J Biol*, Vol 2:55–63p.
- 📖 **Pottier-Alapetite G., 1981.** Flore de la Tunisie. Angiospermes-Dicotyledones Gamopetales. Publication scientifiques Tunisiennes.
- 📖 **Quezel P., Santa, S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS. Paris. 360-361 p.
- 📖 **Rameau JC., Mansion D., Dumé G., Gauberville C., 2008.** Flore forestière françaises, guide écologique illustré 3 régions méditerranéennes.
- 📖 **Rasamimanana S., 2009.** Evaluation de l'activité répulsive de l'huile essentielle de pulpe de rotra, *Syzygium cumini* L. (Myrtaceae), contre l'insecte dévoreur de graines *Myocalandra signatella*. Thèse de doctorat, Université d'Antananarivo, Madagascar, 55p.
- 📖 **Roger CR., Philogene B., Vincent C., 2002.** Biopesticides d'origine végétales. Ed. Lavoisier.331p.

- 📖 **Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., Mata R., 1992.** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. Vol 35 :275-283p.
- 📖 **Rombi M., Robert D., 2007.** 120 Plantes médicinales, composition, mode d'action et intérêt thérapeutiques. Alpey, 287p.
- 📖 **Sever Yilmaz B., Ergene B., Saltan Çitoğlu G., 2015.** Determination of Total *Ortho*-Dihydroxycinnamic Acid Derivatives and Flavonoid Contents of *Ballota* Species Growing in Turkey. *Turk J Pharm Sci*, Vol 12 (1) : 67-74p.
- 📖 **Sousa PJ, Magalhães PJ, Lima CC, Oliveira VS, Leal-Cardoso JH., 1997.** Effects of piperitenone oxide on the intestinal smooth muscle of the guinea pig. *Braz J Med Biol Res*. Vol 30:787–91p.
- 📖 **Spiridon I, Bodirlau R, Teaca CA., 2011.** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent Eur J Biol*, Vol 6:388–396p.
- 📖 **Taleb K., 2015.** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- 📖 **Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques, Epices, Aromates, condiments et huiles essentielles. Tec& doc, Lavoisier. 6p.
- 📖 **The angiosperm phylogeny group, 2009.** An update of the angiosperm classification for orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*. Vol 161 (2): 105-121p.
- 📖 **Toma C., Niță M., Rugină R., Ivănescu L., Costică N., 2000.** *Morfologia și anatomia plantelor, (Manual de lucrări practice)*. Edit. Univ. “Al. I. Cuza” Iași: 100 – 108p.
- 📖 **Tsao R., 2010.** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols.
- 📖 **Turner G., Gershenzon J., Croteau R. 2000.** Development of Peltate Glandular Trichomes of Peppermint. *Plant Physiol*. Vol 124: 215 – 223p.
- 📖 **Tuzlacı E, Doğan A., 2010.** Turkish folk medicinal plants, IX: Ovacık (Tunceli) *Marmara Pharm J*, Vol 14:136–43p.

- 📖 **Vasconcelos Silva De M. G., Craveiro A. A., Abreu Matos F. J., Machado M. I. L. and Alencar J. W. 1999.** Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. *Fitoterapia*. Vol 70 : 32-34p.
- 📖 **Werker E. et al., 1993.** Glandular Hairs and Essential Oil in Developing Leaves of *Ocimum basilicum* L. (*Lamiaceae*), *Annals of botany*, Vol 71 (1) : 43-50p.
- 📖 **Wichtl M., Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2e Ed : TEC & DOC. Paris.
- 📖 **Willem JP., 2004.** Les huiles essentielles médecine d'avenir. Ed. Lavoisier, Paris. 318p.
- 📖 **Yigit D, Yigit N, Ozgen U., 2009.** An investigation on the anticandidal activity of some traditional medicinal plants in Turkey. *Mycoses*. Vol 52:135–140p.
- 📖 **Zhiri A. et Baudoux D., 2005.** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies, *Aromathérapie scientifique*, 79p.

Annexes

Annexe 1. Les différents organes de la ballote noire.

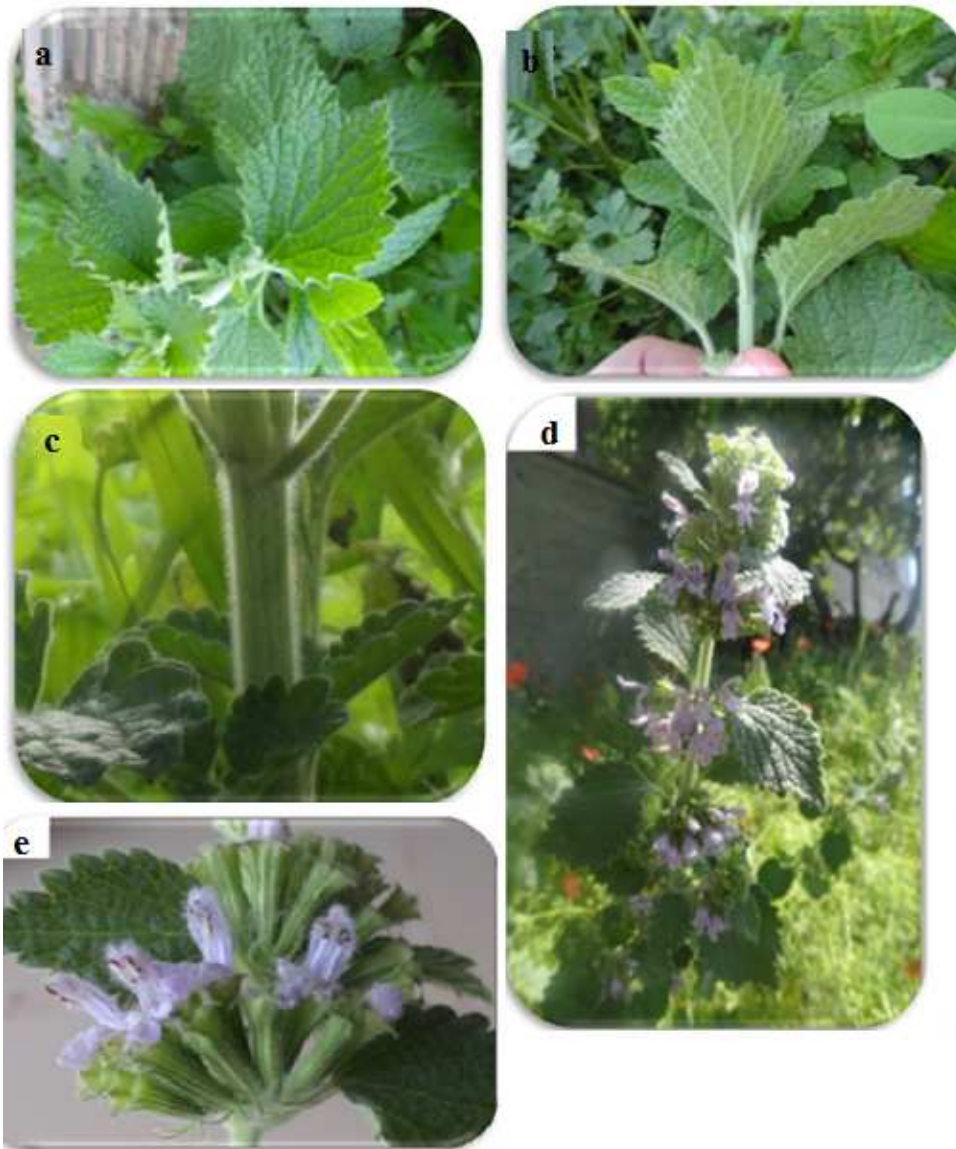


Planche 1. Morphologie de la ballote noire. **a** : Feuilles supérieures, **b** : Feuilles inférieures, **c** : la tige, **d** : les fleurs, **e** : disposition des fleurs en glomérule unilatéral (Original, 2015).

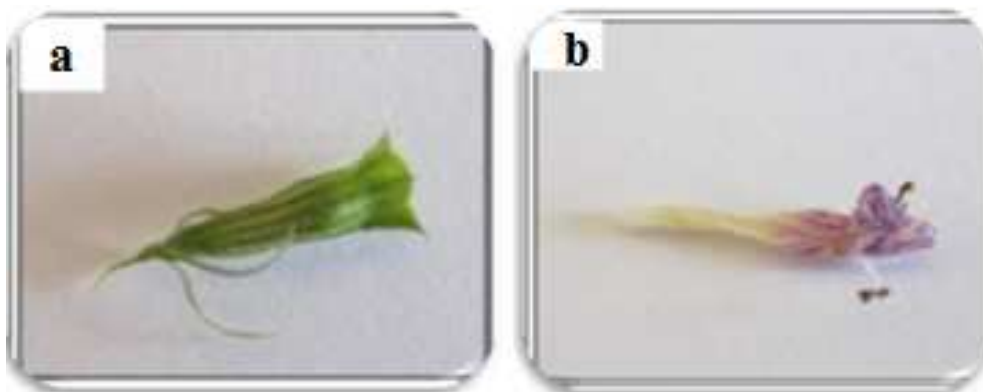


Planche 2. a : Calice, b : corolle de *Ballota nigra* (Original, 2015).



Planche 3. Les différences morphologiques entre la ballote noire et le marrube blanc. a : fleurs de *Ballota nigra*. b : fleurs du *Marrubium vulgare*. c : feuilles de *Ballota nigra*. d : feuilles du *Marrubium vulgare* (Original, 2015).

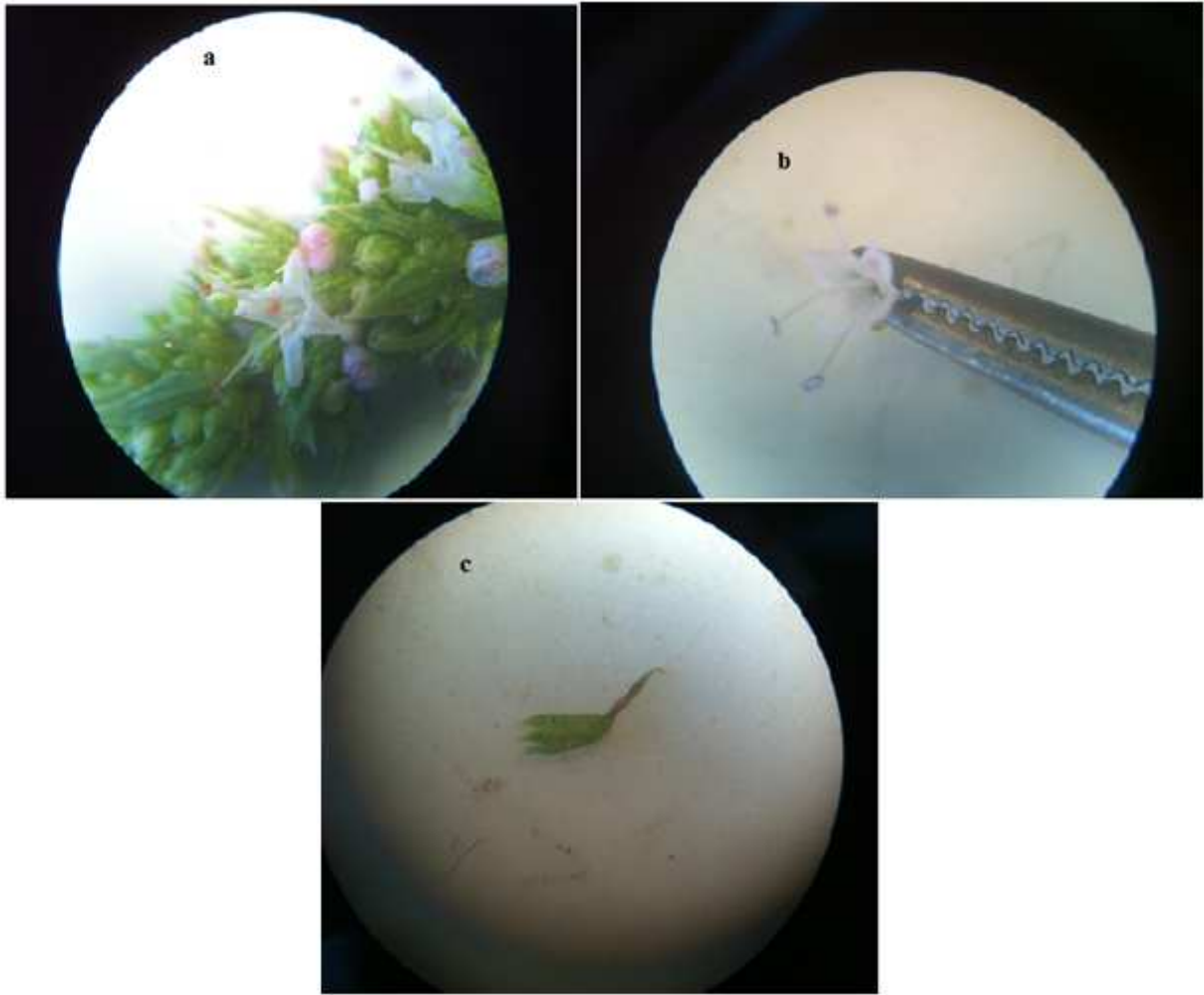
Annexe 2. Les différents organes de la menthe sylvestre.

Planche 1. Morphologie de la menthe sylvestre **a** : organisation des fleurs, **b** : corolle et les étamines, **c** : calice. Observés à la loupe binoculaire (G : 2×10) (Laboratoire CIV, UMMTO, 2015)

**Thème : Extraction des huiles essentielles et des polyphénols, de deux Lamiacées :
Evaluation de leurs activités antimicrobiennes et insecticides.**

Résumé

Notre étude est consacrée pour la valorisation de l'huile essentielle et les composés phénoliques de *Mentha longifolia* et *Ballota nigra*, et de tester leurs activités biologiques (antibactériennes, insecticides). La partie aérienne de ces plantes à été récoltée dans la région de Tizi-Rached au mois d'Avril 2015.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation, le rendement en huile était de 2,34% pour la menthe sylvestre et 1,12% pour la ballote noire. Les composés phénoliques ont été obtenus par la technique d'hydrolyse acide à chaud.

Les coupes microscopiques au niveau des feuilles par la technique de la double coloration (Vert de méthyle-rouge Congo) ont révélé la présence de deux types de poils sécréteurs des huiles essentielles.

L'activité antibactérienne a été testée sur deux souches bactériennes par la méthode de diffusion en disque : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Les souches bactériennes testés ont été trouvés sensibles à l'huile essentielle. Les composés phénoliques ont révélés une activité acceptable sur les deux souches testés.

Par la suite, l'évaluation de l'activité insecticide par le test de répulsivité contre *Tribolium castaneum*, a montré que l'huile essentielle de la menthe sylvestre avait une activité très intéressante par rapport à celle de la ballote noire avec un taux de répulsivité de 100% à partir d'une dose de 15µl. Les anthocyanes de la menthe et la ballote, ont une activité plus marquée que celle des c-glycosides. La classe des aglycones s'est 'révélée non répulsive sur *Tribolium castaneum*.

Mots clé : *Mentha longifolia*, *Ballota nigra*, huiles essentielles, polyphénols, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Tribolium castaneum*.

Theme: extraction of essential oils and polyphenols, both Lamiacées: Assessment of their antimicrobial activities and insecticides.

Summary

Our study is devoted to the enhancement of the essential oil and phenolic compounds *Mentha longifolia* and of *Ballota nigra*, and tests their biological activities (antibacterial, insecticides). The aerial part of these plants harvested in the Tizi-Rached region in the month of April 2015.

The extraction of the essential oil was conducted by steam distillation; the oil yield was 2.34% for the *Mentha longifolia* and 1.12% for black horehound. Phenolic compounds were obtained by hot acid hydrolysis technique.

The microscopic sections in the leaves by the double staining technique (Methyl green-Congo red) revealed the presence of two types of secretory hairs essential oils. The antibacterial activity has been tested on two bacterial strains by disc diffusion method: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. The bacterial strains tested were found sensitive to the essential oil. Phenolic compounds have proven an acceptable activity on both tested strains.

Subsequently, the evaluation of the insecticidal activity by the test repellency against *Tribolium castaneum* showed that the essential oil of *Mentha longifolia* had a very interesting activity compared to that of black horehound with a repellency rate 100% from a dose of 15µl. Anthocyanins peppermint and black horehound have a greater activity than that of c-glycosides. The class of aglycone was' not proven repellent on *Tribolium castaneum*.

Key words: *Mentha longifolia*, *Ballota nigra*, essential oils, polyphenols, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Tribolium castaneum*.