

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ MOULOU MAMMERI, TIZI-OUZOU

FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



**THÈSE DE DOCTORAT Es-Sciences**

Spécialité: Sciences biologiques

Présentée par :

**Mme KHEMKHAM Aicha**

Sujet :

**Caractérisation morphologique, phytochimique et biologique des huiles essentielles et des extraits de plantes (*Salvia verbenaca*, *Ajuga iva* et *Thymus algeriensis*) de la région de Djelfa.**

Soutenue publiquement le : 24 /03/ 2022

Devant le jury d'examen composé de :

Mr. HOUALI Karim	Professeur	U.M.M. Tizi-Ouzou	Président
Mme BELHADJ Safia	Professeur	U.Z.A. Djelfa	Rapporteur
Mr. MEDDOUR Rachid	Professeur	U.M.M. Tizi-Ouzou	Co- Rapporteur
Mr. AIT SAID Samir	M.C.A.	U.M.M. Tizi-Ouzou	Examineur
Mme ACHEUK Fatma	Professeur	U.M.B. Boumerdes	Examinatrice
Mr. TOUATI Mostefa	M.C.A.	U.Z.A. Djelfa	Examineur

Année universitaire 2021/2022

# *Dédicace*

C'est avec une joie immense et le cœur ému que je dédie cette thèse

*A mes chers parents*

*A mes chers frères et mes chères sœurs*

*A mon cher époux et mon cher enfant*

*A ma chère grand-mère*

*A mes chères nièces et mon cher neveu*

*A mes chères belles-sœurs*

*A toute ma famille*

*A tous qui m'aiment*

# Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la patience pour pouvoir réaliser ce travail de recherche.

D'après Abou Houreira (qu'Allah l'agrée), le Prophète (que la prière d'Allah et Son salut soient sur lui) a dit: « **Celui qui ne remercie pas les gens ne remercie pas Allah** ». (Rapporté par Abou Daoud dans ses Sounan n°4811 et authentifié par Cheikh Albani dans sa correction de Sounan Abi Daoud).

J'exprime mes remerciements et ma gratitude à ma directrice de thèse Madame **BELHADJ Safia**, Professeur à l'université Ziane Achour de Djelfa, pour m'avoir guidée et encouragée pendant toute la durée de mon travail.

J'adresse de chaleureux remerciements à mon co-encadrant de thèse, Monsieur **MEDDOUR Rachid**, Professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour ses conseils et critiques.

Je tiens à remercier Professeur **ASAKAWA Yoshinori**, directeur de l'institut de pharmacie, université de Tokushima, Japon, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire. Je tiens à remercier tous les membres de l'équipe du laboratoire pour leur aide et leur bonne humeur, et en particulier Monsieur **KENMOKU Hiromichi**. C'est un honneur et un privilège immense d'avoir pu inscrire mes recherches dans cet environnement-là.

De plus, je remercie infiniment Professeur **WINK Michael**, directeur de l'institut de pharmacie et biotechnologie moléculaire, université de Ruperto Carola Heidelberg, Allemagne, pour son accueil chaleureux, l'aide et l'assistance. Mes remerciements vont également à tout le personnel que j'ai contacté, et en particulier Madame **BACKHOUS Astrid**.

Je tiens à remercier Professeur **YOUSFI mohamed**, directeur du laboratoire des sciences fondamentales. Université de Laghouat pour ses conseils et critiques.

Je remercie l'équipe du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie université de Djelfa, **Omar, Zeineb, Aissa** et **Amina** pour l'aide et l'assistance.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **HOUALI Karim**, Professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury

Je remercie sincèrement chacun des membres de jury qui a gracieusement consacré de son temps et de son expertise pour évaluer et commenter le présent travail. Je remercie Monsieur **AIT SAID Samir**, maitre de conférences à l'université Mouloud Mammeri de Tizi- Ouzou, Madame **ACHEUK Fatma**, Professeur à l'université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Monsieur **TOUATI Mostefa**, maitre de conférences à l'université Ziane Achour de Djelfa.

Enfin,- last but not least- je remercie mes chers parents, mes frères, mes sœurs et mon époux pour leur encouragement, leur soutien indéfectible et leur enthousiasme à l'égard de mes travaux comme de la vie en générale.

# Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
-----------------------------------	----------

## Chapitre I. Description des Lamiacées

Introduction.....	4
I.1. Description botanique.....	4
I.2. Répartition géographique.....	4
I.3. Usage et propriétés.....	5
I.4. Classification.....	6
I.5. Genre <i>Salvia</i> .....	6
I.5.1. Description botanique.....	6
I. 5.2. Répartition géographique.....	7
I.5.3. Usage et propriétés.....	8
I.6. <i>Salvia verbenaca</i> L. ....	8
I.6.1. Description botanique.....	8
I.6.2. Répartition géographique.....	10
I.6.3. Usages et propriétés.....	10
I.7. Genre <i>Ajuga</i> .....	10
I.7.1. Description botanique.....	11
I.7.2. Répartition géographique.....	11
I.7.3. Usage et propriétés.....	11
I.8. <i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb.....	12
I.8.1. Nom vernaculaire .....	12
I.8.2. Description botanique.....	12
I.8.3. Répartition géographique.....	12
I.8.4. Usages et propriétés .....	12
I.9. Genre <i>Thymus</i> .....	14
I.9.1. Description botanique .....	14
I.9.2. Répartition géographique .....	15
I.9.3. Ecologie .....	16
I.9.4. Usage et propriétés .....	16
I.10. <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut. ....	17
I.10.1. Description botanique .....	17
I.10.2. Répartition géographique .....	18
I.10.3. Propriétés et usages .....	18

## Chapitre II. Etude du milieu physique

II.1. Présentation de la région d'étude .....	19
II.1.1. Généralités Sur la wilaya de Djelfa .....	19
II.1.2. Situation géographique et administrative des stations étudiées .....	19
II.1.3. Géologie .....	24
II.1.4. Hydrologie .....	24

II.1.5. Pédologie .....	24
II.2. Caractère climatique .....	24
II.2.1. Pluviométrie .....	25
II.2.1.1. Régime saisonnier .....	25
II.2.2. Température .....	25
II.2.3. Humidité relative .....	26
II.2.4. Vent .....	26
II.2.5. Gelée .....	26
II.2.6. Pluviométrie, régime saisonnier et température des sites d'échantillonnage.....	26
II.2.6.1. Pluviométrie .....	26
II.2.6.1.1. Régime Saisonnier .....	27
II.2.6.2. Température .....	28
II.2.7. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен .....	29
II.2.8. Quotient pluviothermique d'Emberger .....	30
II.2.9. Etagement bioclimatique de Rivas-Martinez : thermotypes et ombrotypes .....	32
II.2.9.1. Indice de thermicité .....	32
II.2.9.2. Indice ombrothermique annuel de Rivas-Martinez .....	33
II.2.9.3. Indice ombrothermique estival de Rivas-Martinez .....	34

### **Chapitre III. Caractérisation morphologique**

Introduction .....	35
III.1. Matériel et méthodes .....	35
III.1.1. Matériel végétal .....	35
III.1.2. Méthodes .....	36
III.1.2.1. Biométrie des feuilles .....	36
III.1.2.2. Empreinte épidermique pour l'étude des stomates .....	36
III.1.2.3. Observation microscopique .....	36
III.1.2.4. Analyses statistiques .....	37
III.1.2.5. Etude qualitative des trichomes observés en microscopie électronique à balayage.....	37
III.2. Résultats et discussion .....	38
III.2.1. Variabilité morphologique des feuilles de <i>S.verbenaca</i> .....	38
III.2.1.1. Morphométrie des feuilles de <i>S. verbenaca</i> .....	38
III.2.1.2. Densité stomatique des feuilles de <i>S.verbenaca</i> .....	39
III. 2.2. Variabilité morphologique des feuilles de <i>T. algeriensis</i> .....	40
III.2.2.1. Morphométrie des feuilles de <i>T.algeriensis</i> .....	40
III.2.2.2. Densité stomatique des feuilles de <i>T.algeriensis</i> .....	41
III.2.3. Etude qualitative des trichomes observés au M.E.B. ....	44

### **Chapitre IV. Caractérisation phytochimique**

Introduction .....	54
IV.1. Matériel et méthodes .....	55
IV.1.1. Récolte et séchage .....	55
IV.1.2. Méthodes d'extraction .....	55
IV.1.2.1. Extraction de l'huile essentielle (HE) .....	55
IV.1.2.2. Préparation de l'extrait aqueux .....	56
IV.1.2.3. Préparation de l'extrait méthanolique .....	56
IV.1.2.4. Calcul du rendement .....	56
IV.1.3. Criblage phytochimique .....	56

IV.1.4. Dosage des phénols totaux .....	58
IV.1.5. Dosage des flavonoïdes .....	58
IV.1.6. Analyse chimique par CG/SM .....	58
IV.1.7. Analyse chimique par headspace-SPME/CGSM .....	59
IV.2. Résultats et discussion .....	59
IV.2.1. Rendement d'extraction .....	59
IV.2.1.1. Rendement d'extraction de <i>S.verbenaca</i> .....	60
IV.2.1.2. Rendement d'extraction d' <i>A.iva</i> .....	61
IV.2.1.3. Rendement d'extraction de <i>T.algeriensis</i> .....	62
IV.2.2. Criblage phytochimique .....	64
IV.2.3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes .....	66
IV.2.4. Analyse par CG/SM .....	69
IV.2.4.1. Analyse de l'HE de <i>S. verbenaca</i> .....	69
IV.2.4.2. Analyse de l'HE de <i>T. algeriensis</i> .....	73
IV.2.5. Analyse par headspace et micro-extraction en phase solide .....	77
Conclusion .....	83

## Chapitre V. Caractérisation biologique

Introduction .....	84
V.1. Matériel et méthodes .....	84
V. 1.1. Récolte et préparation des extraits .....	84
V.1.2. Caractérisation biologique .....	84
V.1.2.1. Activité antioxydante .....	84
V.1.2.2. Activité antibactérienne .....	86
V.1.2.3. Activité antidiabétique .....	87
V.2. Résultats et discussion .....	87
V.2.1. Activité antioxydante .....	87
V.2.1.1. Activité antioxydante de la vitamine C .....	88
V.2.1.2. Activité antioxydante de <i>S.verbenaca</i> .....	88
V.2.1.3. Activité antioxydante d' <i>A. iva</i> .....	91
V.2.1.4. Activité antioxydante de <i>T.algeriensis</i> .....	93
V. 2.2. Activité antimicrobienne .....	96
V.2.2.1. Activité antimicrobienne de <i>S.verbenaca</i> .....	96
V.2.2.2. Activité antimicrobienne d' <i>A.iva</i> .....	98
V.2.2.3. Activité antimicrobienne de <i>T.algeriensis</i> .....	99
V.2.3. Activité antidiabétique .....	102
Conclusion.....	103
<b>Conclusion Générale.....</b>	<b>104</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>108</b>
<b>Résumé</b>	

## Liste des abréviations

*A.iva* : *Ajuga iva*

*B.cereus*: *Bacillus cereus*

*C.albicans*: *Candida albicans*

**CPG/SM**: chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

**DNS**: l'acide de dinitrosalicylique

**DO** : densité optique

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

*E.aqueux*: Extrait aqueux

*E.coli*: *Escherichia coli*

*E.méthanolique*: Extrait méthanolique

**EQ**: équivalent Quercetine

**FID**: flame ionisation detector

**GAE**: équivalents d'acide gallique

**ha**: hectare

**HE**: huile essentielle

**Headspace SPME CG/SM**: headspace microextraction en phase solide headspace et microextraction en phase solide couplée à la chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse

**IC<sub>50</sub>** : concentration d'inhibition de 50%

*P.aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*

**PDMS**: poly dimethyl siloxane

**SD**: standard deviation

*St. aureus*: *Staphylococcus aureus*

*S.verbenaca*: *Salvia verbenaca*

*T.algeriensis*: *Thymus algeriensis*

**ZI**: zone d'inhibition

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b> Distribution géographique de la famille des Lamiacées (zones vertes).....	5
<b>Figure I.2.</b> Centres de diversité de <i>Salvia</i> .....	7
<b>Figure I.3.</b> Photographie illustrant l'aspect général des feuilles de <i>S. verbenaca</i> .....	9
<b>Figure I.4.</b> Photographie montrant les parties aériennes de <i>S. verbenaca</i> dans l'herbier.....	9
<b>Figure I.5.</b> Photographie illustrant l'aspect général des feuilles d' <i>A. iva</i> .....	13
<b>Figure I.6.</b> Photographie montrant les parties aériennes d' <i>A. iva</i> dans l'herbier.....	13
<b>Figure I.7.</b> Répartition du genre <i>Thymus</i> dans le monde.....	16
<b>Figure I.8.</b> Photographie illustrant l'aspect général des feuilles de <i>T. algeriensis</i> .....	17
<b>Figure I.9.</b> Photographie montrant les parties aériennes de <i>T. algeriensis</i> dans l'herbier.....	18
<b>Figure II.1.</b> Localisation géographique de la forêt Senelba Gharbi .....	20
<b>Figure II.2.</b> Localisation de la Zone d'étude .....	22
<b>Figure II.3.</b> Photographies montrant les trois stations d'étude .....	23
<b>Figure II.4.</b> Situation géographique des trois stations.....	23
<b>Figure II.5.</b> Variation des précipitations mensuelles (période 1999-2018) pour les trois stations.....	27
<b>Figure II.6.</b> Variation des températures moyennes mensuelles (période 1999-2018) pour les trois stations.....	28
<b>Figure II.7.</b> Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson des trois stations .....	29
<b>Figure II.8.</b> Situation des trois stations dans le climagramme d'Emberger .....	31
<b>Figure III.1.</b> Micrographies au microscope électronique à balayage des feuilles de <i>S.verbenaca</i> de la station de Toghersane.....	45
<b>Figure III.2.</b> Micrographies au microscope électronique à balayage des feuilles d' <i>A.iva</i> de la station d'Elfeidja.. ..	46
<b>Figure III.3.</b> Micrographies au microscope électronique à balayage des feuilles de <i>T. algeriensis</i> de la station de Toghersane.....	47
<b>Figure IV.1.</b> Profil chimique (CG/SM) de l'huile essentielle de <i>S.verbenaca</i> .....	71
<b>Figure IV.2.</b> Profile chimique (CG/SM) de l'huile essentielle de <i>T.algeriensis</i> .....	74
<b>Figure IV.3.</b> Profile chimique (Head-space SPME) d' <i>A. iva</i> .....	79
<b>Figure IV.4.</b> Profile chimique (Head-space SPME) de <i>S. verbenaca</i> .....	80
<b>Figure IV.5.</b> Profile chimique (Head-space SPME) de <i>T. algeriensis</i> .....	80
<b>Figure V.1.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'acide ascorbique.....	88
<b>Figure V.2.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait aqueux de <i>S.verbenaca</i> ....	89
<b>Figure V.3.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait méthanolique de <i>S.verbenaca</i> .....	89
<b>Figure V.4.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait aqueux d' <i>A.iva</i> .....	91
<b>Figure V.5.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait méthanolique d' <i>A.iva</i> .....	92
<b>Figure V.6.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait aqueux de <i>T. algeriensis</i> ..	93
<b>Figure V.7.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait méthanolique de <i>T. algeriensis</i> .....	93
<b>Figure V.8.</b> Activité de piégeage des radicaux libres de l'huile essentielle de <i>T.algeriensis</i> ...94	
<b>Figure V.9.</b> Comparaison de l'activité antioxydante des extrait aqueux et méthanolique.....96	



## Liste des tableaux

<b>Tableau II.1.</b> Paramètres géographiques des stations d'étude .....	21
<b>Tableau II.2.</b> Moyenne des précipitations annuelles de période allant de 1999 à 2018 de la Wilaya de Djelfa. ....	25
<b>Tableau II.3.</b> Moyenne des précipitations mensuelles de période allant de 1999 à 2018 de la Wilaya de Djelfa. ....	25
<b>Tableau II.4.</b> Régime saisonnier des précipitations de la période allant de 1999 à 2018 de la Wilaya de Djelfa. ....	25
<b>Tableau II.5.</b> Données climatiques pour la période 1999-2018 (cas de la wilaya de Djelfa)	26
<b>Tableau II.6.</b> Moyenne des précipitations mensuelles P (mm) pour la période allant de 1999 à 2018 dans les trois stations (corrigées). ....	27
<b>Tableau II.7.</b> Régime Saisonnier des précipitations de la période allant de 1999 à 2018 pour les trois stations .....	27
<b>Tableau II.8.</b> Moyenne de la température mensuelle de la période 1999-2018 pour les trois stations .....	28
<b>Tableau II.9.</b> Tableau récapitulatif des données climatiques des stations d'échantillonnage	30
<b>Tableau II.10.</b> Valeurs de l'indice de thermicité et thermotype pour les trois stations .....	33
<b>Tableau II.11.</b> Valeurs de l'indice ombrothermique annuel et ombrotype pour les trois stations .....	34
<b>Tableau II.12.</b> Valeurs de l'indice ombrothermique estival et bioclimat pour les trois stations .....	34
<b>Tableau III.1.</b> Caractéristiques des variables quantitatives mesurées pour les feuilles de <i>S.verbenaca</i> .....	38
<b>Tableau III.2.</b> Analyse de la variance des caractères mesurés des feuilles de <i>S.verbenaca</i> .	39
<b>Tableau III.3.</b> Test HSD de Tukey pour la longueur des feuilles de <i>S.verbenaca</i> provenant des trois stations étudiées. ....	39
<b>Tableau III.4.</b> Test HSD de Tukey pour la largeur des feuilles de <i>S.verbenaca</i> provenant des trois stations étudiées .....	39
<b>Tableau III.5.</b> Test HSD de Tukey pour la longueur du pétiole des feuilles de <i>S.verbenaca</i> provenant des trois stations étudiées. ....	39
<b>Tableau III.6.</b> Analyse de la variance pour la densité des stomates sur les deux faces des feuilles de <i>S.verbenaca</i> .....	40
<b>Tableau III.7.</b> Test HSD de Tukey pour le nombre de stomates sur les faces, supérieure et inférieure, des feuilles de <i>S.verbenaca</i> provenant des trois stations. ....	40
<b>Tableau III.8.</b> Caractéristiques des variables quantitatives mesurées pour les feuilles de <i>T.algeriensis</i> .....	41
<b>Tableau III.9.</b> Analyse de la variance des caractères mesurés des feuilles de <i>T.algeriensis</i> .	41
<b>Tableau III.10.</b> Analyse de la variance pour la densité des stomates sur les deux faces des feuilles de <i>T. algeriensis</i> .....	42

<b>Tableau III.11.</b> Test HSD de Tukey pour la densité stomatique sur la face supérieure et inférieure des feuilles de <i>T. algeriensis</i> provenant des trois stations étudiées.....	43
<b>Tableau IV.1.</b> Caractéristiques climatiques et localisation des stations d'échantillonnage.	55
<b>Tableau IV.2.</b> Rendement et caractéristiques des extraits et huile essentielle de <i>S.verbenaca</i> .....	59
<b>Tableau IV.3.</b> Comparaison des rendements d'extraction des espèces du genre <i>Salvia</i> .....	60
<b>Tableau IV.4.</b> Rendement et caractéristiques des extraits d' <i>A. iva</i> .....	61
<b>Tableau IV.5.</b> Comparaison du Rendement d'extraction de l'espèce <i>A. iva</i> .....	62
<b>Tableau IV.6.</b> Rendement et caractéristiques des extraits et HE de <i>T. algeriensis</i> .....	62
<b>Tableaux IV.7.</b> Comparaison du rendement d'extraction de <i>T. algeriensis</i> .....	63
<b>Tableau IV.8.</b> Résultats du criblage phytochimique de l'extrait aqueux .....	65
<b>Tableau IV.9.</b> Résultats du criblage phytochimique de l'extrait méthanolique .....	65
<b>Tableau IV.10.</b> Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes .....	67
<b>Tableau IV.11.</b> Composition chimique de l'HE de <i>S. verbenaca</i> .....	70
<b>Tableau IV.12.</b> Composition chimique de l'HE de <i>T.algeriensis</i> .....	74
<b>Tableau IV.13.</b> Composés majoritaires dans les HE des espèces du genre <i>Thymus</i> .....	77
<b>Tableau IV.14.</b> Composés volatils d' <i>A. iva</i> .....	78
<b>Tableau IV.15.</b> Composés volatils de <i>S. verbenaca</i> .....	78
<b>Tableau IV.16.</b> Composés volatils de <i>T. algeriensis</i> .....	79
<b>Tableau IV.17.</b> Classes des composés chimiques des trois espèces .....	81
<b>Tableau V.1.</b> IC <sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits de <i>S. verbenaca</i> .....	89
<b>Tableau V.2.</b> IC <sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits d' <i>A.iva</i> .....	92
<b>Tableau V.3.</b> IC <sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits et HE de <i>T. Algeriensis</i> .....	94
<b>Tableau V.4.</b> Résultats de l'aromatogramme des extraits de <i>S. verbenaca</i> .....	97
<b>Tableau V.5.</b> Résultats de l'aromatogramme des extraits d' <i>A. iva</i> .....	99
<b>Tableau V.6.</b> Résultats de l'aromatogramme des extraits et HE de <i>T. algeriensis</i> .....	99
<b>Tableau V.7.</b> Inhibition de l'activité $\alpha$ -amylase par les extraits d' <i>A.iva</i> et l'acarbose .....	102
<b>Tableau V.8.</b> La concentration inhibitrice de 50% de l'activité d' $\alpha$ -amylase des extraits d' <i>A.iva</i> et l'acarbose .....	103

## Introduction générale

Dans plusieurs régions d'Afrique, les plantes médicinales représentent pratiquement le seul arsenal thérapeutique à disposition des guérisseurs traditionnels qui soignent dans certains cas plus de 90% de la population. Il est donc indispensable d'étudier ces plantes et de donner une base scientifique pour leur utilisation (**Sofowora, 2010**).

L'Algérie possède un patrimoine végétal considérable, il existe plus de 3000 espèces végétales, dont 15% sont endémiques. Parmi ces ressources naturelles, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales spontanées, riches en composés bioactifs comme les Lamiacées, sont largement utilisées dans la vie quotidienne (**Mouheb et al., 2018**). Les Lamiaceae ou Labiatae sont une famille de plantes à fleurs avec une distribution cosmopolite contenant environ 236 genres ; cette famille renferme entre 6900 et 7200 espèces (**Tamokou et al., 2017**). Parmi ses plus grands genres on en compte le genre *Salvia*, le genre *Thymus* et le genre *Ajuga*.

Alors que *Thymus* est l'un des genres les plus étudiés, en raison de l'utilisation de ces plantes comme remède en médecine populaire et comme condiment, principalement dans la zone méditerranéenne (**Morales, 2002**), le genre *Salvia* reste le plus grand genre de la famille des Lamiaceae avec environ 800 espèces à travers le monde. La plupart des plantes de ce genre sont bien connues pour leurs constituants biologiquement actifs (**Hao et al., 2015**). Quant au genre *Ajuga*, il comprend plus de 300 espèces de plantes à fleurs herbacées annuelles et vivaces principalement réparties dans les régions tempérées d'Asie, d'Europe, d'Australie, d'Amérique du Nord et d'Afrique. Ces espèces ont été utilisées comme plantes d'intérieur communes et sont appelées bugle ou bugleweed (en anglais), bugle herbacée (en français) (**Qing et al., 2017**).

L'une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides et acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Dans l'objectif de valoriser la flore algérienne et en vue de substituer les molécules chimiques à visées thérapeutiques ou industrielles par des molécules naturelles sans effets adverses, ce travail de thèse s'inscrit dans cette optique et vise à élargir les connaissances quant aux plantes aromatiques et médicinales. L'approche de la thèse s'articule autour de trois

principaux volets : le premier volet présente une étude qui s'intéresse à la caractérisation morphologique, le deuxième volet présente une étude qui concerne la caractérisation phytochimique et le troisième volet concerne la caractérisation biologique des trois plantes étudiées qui appartiennent à la famille des Lamiacées de la région de Djelfa à savoir : *Salvia verbenaca*, *Ajuga iva* et *Thymus algeriensis*. Ces plantes sont réputées pour leur diverses vertus, elles sont utilisées comme antioxydant, antirhumatismal, antiseptique, antispasmodique, antimicrobien, carminatif, diurétique et expectorant (Canzoneri et al., 2011, Ayari et al., 2013 ; Nikolić et al., 2014).

Nous avons choisi la région de Djelfa comme lieu d'étude. La Wilaya de Djelfa est constituée de vastes parcours steppiques évalués à plus de deux millions d'hectares représentant plus de 65% de sa superficie totale, localisée en plein cœur de l'espace steppique, elle constitue une zone de transition entre les hautes plaines steppiques de l'Atlas Tellien et les débuts désertiques de l'Atlas Saharien, une zone intermédiaire entre le Nord du pays au climat humide, subhumide ou semi-aride et le sud du pays au climat aride et saharien. C'est une zone agro-écologique particulière.

Des motifs nous ont amené à porter la réflexion sur cette étude. Ces motifs sont aussi pertinents les uns que les autres : absence de travaux sur la caractérisation morphologique des trois espèces, insuffisance de travaux sur les études chimique et biologique de ces espèces récoltées dans la wilaya de Djelfa.

La présente thèse est structurée en cinq chapitres précédés par une introduction générale :

- Le premier chapitre présente des généralités sur la famille des lamiacées, les genres *Salvia*, *Ajuga* et *Thymus*, ainsi que les trois espèces étudiées : *Salvia verbenaca*, *Ajuga iva* et *Thymus algeriensis* ;
- Le deuxième chapitre présente une étude du milieu physique ; dans ce chapitre une description générale de la zone d'étude, sa géologie, son hydrologie, sa pédologie et le caractère climatique des stations échantillonnées sont abordés;
- Le troisième chapitre présente une étude macro-morphologique et micro-morphologique des feuilles, des stomates et des trichomes glandulaires et non glandulaires;
- Le quatrième chapitre présente une étude phytochimique des extraits et des huiles essentielles, le criblage phytochimique, le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'analyse par CPG/SM, HS/SPME CPG-SM ;

- Le cinquième chapitre présente une étude des activités biologiques comme l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne et l'activité antidiabétique.

Chaque chapitre est précédé d'une introduction, ensuite le matériel et les méthodes sont exposés, suivis des résultats et discussion et clôturé par une conclusion.

Enfin une conclusion générale, viendra reprendre nos principaux résultats suivis de nos perspectives d'avenir.

# Chapitre I. Description des Lamiacées

## Introduction

La famille des Lamiaceae, communément appelée « la famille de la menthe », compte quelques 236 genres et environ 7000 espèces (**Worning, 2014a et 2014b**). Dans la flore de l'Algérie, les Lamiaceae, représentées par 27 genres, est l'une des plus importantes familles dans la flore de l'Algérie. Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Quezel et Santa, 1963**). La famille des Lamiacées est bien connue pour sa production en huiles essentielles. Elle inclue plusieurs espèces d'herbes connues telles que la sauge (*Salvia*), la lavande (*Lavendula*), la menthe (*Mentha*), l'origan (*Origanum*), le thym (*Thymus*), le romarin (*Rosmarinus*) et le Basilic (*Ocimum*) (**Olson, 2003**).

## I.1. Description botanique

Les Lamiacées possèdent quelques caractères leur imprimant un faciès si caractéristique que la famille a été l'une des premières distinguées par les botanistes (**Reille, 2018**). Cette famille doit son nom à la structure des fleurs, qui se caractérise par une lèvre supérieure et une lèvre inférieure (**Fischer et al., 2017**). Ces Eu-Dicotylédones sont caractérisées le plus souvent par des tiges quadrangulaires, des feuilles opposées, des fleurs réunies en pseudovercilles, des corolles bilabées aux couleurs variées et des tétrakènes. Ces plantes sont très souvent pourvues de poils sécréteurs et de glandes qui les rendent aromatiques, avec des odeurs parfois fortes et rudes, mais, dans la plupart des cas, agréables (**Gonard, 2015**).

## I.2. Répartition géographique

Les espèces de la famille des Lamiaceae sont presque cosmopolites, mais absentes des régions les plus froides de haute latitude ou d'altitude (**Harley et al., 2004**). Les espèces de ce groupe croissent principalement dans l'ancien continent. On en trouve beaucoup dans les pays qui entourent la Méditerranée (**Reille, 2018**). Elle est très répandue dans les régions tempérées surtout méditerranéenne (**Guignard et al., 2004**). La famille des Lamiaceae avec environ 200 genres et 3000 espèces (essentiellement des herbacées et des arbustes) est cosmopolite et colonise surtout les milieux ouverts (**Gonard, 2015**). On rencontre les lamiacées dans le monde entier et sous tous les climats (**Fischer et al., 2017**)



**Figure I.1.** Distribution géographique de la famille des Lamiacées (zones vertes) (**Bonifacino et Rossado, 2017**)

### **I.3. Usage et propriétés**

Les plantes de la famille des Lamiaceae sont des plantes ornementales, médicinales et aromatiques, dont beaucoup produisent des huiles essentielles utilisées en médecine traditionnelle et moderne, ainsi que dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (**Mamadaliyeva et al., 2017**). Les lamiacées comprennent de nombreuses plantes bien connues, des herbes, des arbustes et des arbres d'importance économique et médicinale (**Harley et al., 2004**). De nombreuses espèces sont riches en huiles essentielles et sont odorantes. Elles sont donc utilisées comme épices, plantes aromatiques et médicinales, dont par exemple la menthe verte (*Mentha spicata*), le basilic (*ocimum basilicum*) ou la lavande vraie (*Lavandula angustifolia*) (**Fischer et al., 2017**).

Très utilisées en cuisine, en parfumerie, en phytothérapie ou à titre ornemental, de nombreuses espèces font l'objet de cultures. La variabilité chez une même espèce peut être importante. Certains de ces végétaux sont très populaires : menthes, thyms, romarin, origans, basilic, sauges, mélisse (**Gonard, 2015**).

#### **I.4. Classification**

La position systématique de cette famille très homogène et reconnue depuis longtemps, a été récemment révisée. Après avoir appartenu au grand ordre des Tubiflorales, la classification moléculaire moderne (**APGIII, 2009**), la situe dans le nouvel ordre des Lamiales qui contient plus de 22 000 espèces réparties en 21 familles (**Reille, 2018**). La nouvelle classification de la famille des Lamiaceae selon l'**APGIV (2016)** est comme suit :

Clade : Angiospermes

Clade : Eudicotylédones

Clade : Core eudicotylédones

Clade : Pentapétales (pentapetalae)

Clade : Superastéridées

Clade : Astéridées

Clade : Lamiidées

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae.

#### **I.5. Genre *Salvia***

*Le genre Salvia* est l'un des genres les plus importants et répandus de la famille des Lamiaceae (plus de 900 espèces de l'ancien et du nouveau monde). Il figure en bonne place dans les pharmacopées de nombreux pays du monde (**Kintzios, 2000 ; Walker et al, 2004**). Le nom du genre, *Salvia*, dérive du latin *salvere*, qui signifie «guérir ou être sain et indemne», en référence aux propriétés curatives de certaines plantes du genre, qui étaient jadis célébrées comme plantes médicinales. Ce nom a été traduit en Sauja et Sauge (forme française), en ancien anglais, 'Sawge', qui est devenu notre nom actuel de Sage (**Grieve, 1984 ; Walker et al., 2004**).

##### **I.5.1. Description botanique**

Ce sont des arbustes de 30-70 cm ou des plantes annuelles, ou vivaces à tiges herbacées. Les feuilles sont linéaires plus de 10 fois plus longues que larges fortement sinuées ou denticulées sur les marges. Les feuilles ovales ou ovales-lancéolées planes, gaufrées, tomenteuses en dessous, longues de 5-10 cm.

Calice finement pubescent, fendu en 2 lèvres profondes (bilabiée variable), à lèvre supérieure tridentée, et à lèvre inférieure bidentée. La corolle de plus de 2 cm, est bilabiée, elle comporte 2 étamines, à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une



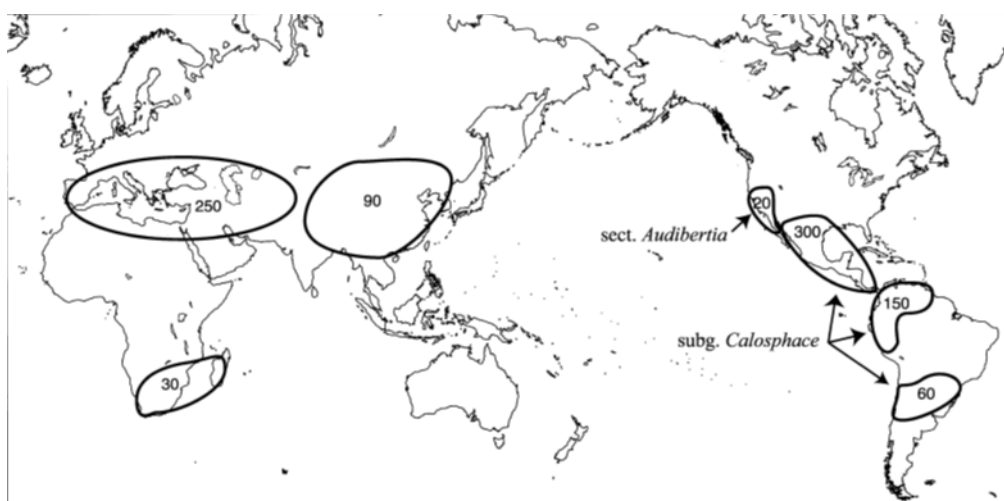
portant une loge de l'anthere, et l'autre la plus courte une écaille, ou terminée en pointe (**Quezel et Santa, 1963**).

### I. 5.2. Répartition géographique

Le genre *Salvia* représente un groupe d'espèces cosmopolites, qui montre une diversité remarquable en formes de croissance, composés secondaires, morphologie florale, écologie, caryologie et biologie de la pollinisation (**Will et al., 2015**).

*Salvia* est le plus grand membre des Lamiaceae famille avec près de 1000 espèces réparties dans les différentes régions du monde (figure I.2), principalement l'Amérique centrale et du sud (500 espèces), Asie occidentale et Méditerranée (200 à 250 espèces) et Asie orientale (90 à 100 espèces) (**Walker et al., 2004 ; Kivrak et al., 2009**).

En Afrique, le plus grand nombre d'espèces se trouve dans le nord-ouest et en Afrique du Sud (**Hedge, 1974**). Il existe quelques espèces en Afrique de l'Est dans les zones d'altitude modérée et il est probable que *Salvia* ait atteint l'Afrique du Sud par cette voie. Alors que les espèces du nord-ouest sont communes ou affiliées à des espèces du sud de l'Europe ou de l'Asie du sud-ouest, la plupart des espèces d'Afrique du Sud sont endémiques et ne présentent que des similitudes étroites avec d'autres espèces sud-africaines. Sur les 26 espèces recensées en Afrique du Sud, 19 sont endémiques de la province du Cap, une zone d'endémisme floristique extrêmement élevée et d'intérêt (**Paton, 1991**).



**Figure. I.2.** Centres de diversité de *Salvia* (**Walker et al., 2004**).

### **I.5.3. Usage et propriétés**

De l'Extrême-Orient à l'Europe et au nouveau monde, plusieurs espèces de *Salvia* (près de 1000 espèces) ont été utilisées de nombreuses manières, par exemple: huiles essentielles utilisées en parfumerie, les feuilles utilisées pour les varices, l'huile de graines comme émoullient, les racines comme tranquillisant. La gamme des applications traditionnelles de la plante en médecine domestique semble infinie : elle a été utilisée comme médicament contre la transpiration et la fièvre, comme carminatif, un spasmolytique, un antiseptique/bactéricide, un astringent, comme gargarisme ou bain de bouche contre l'inflammation de la bouche, de la langue et de la gorge; un agent cicatrisant, dans les soins de la peau et des cheveux; et contre les rhumatismes dans le traitement des affections mentales et nerveuses ainsi que des insecticides (**Kintzios, 2000**).

Les propriétés bioactives/pharmacologiques du genre font l'objet d'un examen approfondi : activités antimicrobiennes, antivirales, cardiovasculaires, rénales, antioxydantes, anti-inflammatoires, préventives de la tumorigenèse, antimutagènes, anti-ulcéreuses, antispasmodiques, hypoglycémiques et hépatoprotectrices, ainsi que les effets toxiques. L'extension de l'utilisation de la sauge comme additif alimentaire ou médicament à base de plantes a été empêchée principalement en raison des effets toxiques des terpénoïdes cétoniques dans l'huile volatile, à savoir le camphre et la thuyone (**Kintzios, 2000**).

De nombreuses sauges, sinon toutes, font partie intégrante de la guérison traditionnelle en Afrique du Sud, en particulier dans les régions où elles se produisent en abondance. Plusieurs espèces sont utilisées pour traiter les infections microbiennes, le cancer, le paludisme, l'inflammation, la perte de mémoire et pour désinfecter les maisons après une maladie (**Kamatou et al., 2008**). D'autres espèces sont importantes en tant que plantes ornementales (**Haque, 1981**). En effet, le genre *Salvia* est assez connu pour son horticulture et ainsi que pour une importance commerciale (**Bhattacharya, 1978**).

## **I.6. *Salvia verbenaca* L.**

### **I.6.1. Description botanique**

La sauge verveine (figure I.3 et I.4), encore appelée Vervain sage, wild clary, oculus Christi, wild English clary en Anglais (**Allen, 2010**). C'est une herbacée vivace commune

partout dans la région méditerranéenne. Sa racine est longue et fibreuse, sur laquelle pousse une ou deux tiges grêles, un peu velues, presque simples et hautes de 5 dm.

Les feuilles sont pétiolées, oblongues, assez glabres, veinées en dessous, obtuses à leur sommet, fortement crénelées en leur bord, et même un peu sinuées à leur base ; elles sont presque pinnatifides, les fleurs sont fort petites, à peine pédonculées, et forment un épi très-menu ; elles sont d'une couleur bleue, bleuâtres, bleu-pâle ou rosées et leurs verticilles sont un peu écartés. Le calice est hérissé de longs poils blanchâtres, très denses (Quezel et Santa, 1963).



**Figure I.3.** Photographie illustrant l'aspect général des feuilles de *S. verbenaca* (photo originale)



**Figure I.4.** Photographie montrant les parties aériennes de *S. verbenaca* dans l'herbier (photo originale)

### **I.6.2. Répartition géographique**

Une très large distribution géographique de *S. verbenaca* a été signalée sur tout le pourtour du bassin méditerranéen : du Maroc jusqu'aux Canaries, l'Algérie, la Tunisie, la Lybie, l'Égypte, Chypre, la Turquie jusqu'en Transcaucasie, sud et ouest de l'Europe jusqu'au nord de la Grande-Bretagne. Elle a été naturalisée dans le sud-ouest de l'Afrique, l'Australie et en Amérique du Nord (**Hedge, 1974**).

Cette plante croit dans les prés secs et montagneux. Elle préfère souvent les terrains calcaires et argileux; elle se trouve en général à basse altitude; elle peut s'élever jusqu'à 865 m (**Aymonin, 1990**). Elle pousse sur les talus, les bords de chemins, les pelouses arides et sèches de garrigue (**Reille, 2018**).

### **I.6.3. Usages et propriétés**

*S. verbenaca* est une plante herbacée vivace connue dans la médecine traditionnelle sicilienne sous le nom de "spaccapetri". Elle est utilisée pour traiter les calculs rénaux par la mastication de feuilles fraîches ou leur décoction (**Canzoneri et al., 2011**).

*S. verbenaca* est également appliquée en cataplasme, sur les plaies et les abcès vidés pour faciliter leur cicatrisation (**Hamel et al., 2018**). Les feuilles et les sommités fleuries sont stomachiques et stimulantes (**Aymonin, 1990**). Bien que moins efficace que la sauge officinale, cette espèce sert à faire des infusions toniques et stimulantes. *S. verbenaca* a des propriétés similaires à la sauge sclérée (Garden Clary), mais la variété sauvage est considérée comme plus puissante. La graine est mucilagineuse et le mucilage a été utilisé pour apaiser les yeux (**Potterton, 1983**). Dans une autre référence, le mucilage est utilisé pour nettoyer les yeux. Les feuilles sont utilisées en infusion pour leur action diurétique et stomachique (digestive) (**Grieve, 1984**).

## **I.7. Genre *Ajuga***

*Ajuga* faisant partie des 266 genres de la famille des Lamiaceae, renferme au moins 301 espèces avec de nombreuses variantes (**Israili et Lyoussi, 2009**). La demande pour les espèces d'*Ajuga* a fortement augmenté en raison de leurs propriétés médicinales, ornementales et pharmacologiques (**Park et al., 2017**). Le genre *Ajuga* est d'une grande importance médicinale et économique (**Coll et al., 2008**). *Ajuga* contient au moins trois classes de composés

potentiellement bioactifs : les diterpènes de clérodane, les phytoecdystéroïdes et les glycosides iridoïdes.

### **I.7.1. Description botanique**

Les plantes du genre *Ajuga* sont des espèces herbacées vivaces, plus rarement annuelles rhizomateuses et à souche stolonifère, à tiges dépassant rarement 25 cm. Les espèces de ce genre sont communes des prairies et des forêts. Leurs feuilles sont persistantes, radicales lancéolées obtuses plus ou moins crénelées, opposées-croisées. Les inflorescences sont en grappes denses terminales avec des fleurs bleues. Le calice est nu pendant la maturation, il possède un tube muni de dix nervures ; à cinq dents presque égales. La corolle est à deux lèvres ; la supérieure très petite, à deux dents ; l'inférieure très grande, à trois lobes, dont celui du milieu est grand, en forme de cœur renversé. Etamines 4, didynames, ascendantes, saillantes sous la lèvre supérieure. Les fruits (caryopses), réticulés par des rides proéminentes, sont composés de 4 akènes se désarticulant par une grande aréole latérale (**Quezel et Santa, 1963 ; Israili et Lyoussi, 2009**).

### **I.7.2. Répartition géographique**

Le genre *Ajuga* est largement répandu dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie, d'Australie, d'Amérique du Nord et d'Afrique (**Cai et al., 2009 ; Israili et Lyoussi, 2009 ; Qing et al., 2017**). La plupart des plantes sont originaires d'Europe, d'Asie et d'Afrique, mais poussent aussi en Australie et en Amérique du Nord (**Flora, 1994 ; Coll et Tendrón, 2008**). Le genre *Ajuga* est composé de plus de 40 espèces largement réparties dans les régions tempérées des deux hémisphères (**Hedge, 1992**).

### **I.7.3. Usage et propriétés**

Le genre *Ajuga* a une grande importance médicinale et économique. Ces plantes sont utilisées dans les jardins comme couvre-sol ou bordure pour leur feuillage et leurs belles fleurs. On peut aussi, les employer à orner les rocailles. Des enquêtes ethnopharmacologiques ont révélé, également, qu'une vingtaine d'espèces de ce genre sont traditionnellement utilisées pour leurs vertus médicinales dans de nombreuses régions du monde utilisées en médecine douce, principalement en Afrique, en Asie et en Chine. Les parties utilisées de la plante en médecine traditionnelle sont les feuilles, les tiges et les racines. Elles sont, toutes, astringentes, apéritives et vulnérables (**Israili et Lyoussi, 2009 ; Jan et al., 2014**). Beaucoup d'entre elles ont été

utilisées comme remède contre la fièvre, les maux de dents, la dysenterie, le paludisme, l'hypertension artérielle, le diabète, la pneumonie, la pharyngite aiguë et chronique, les troubles gastro-intestinaux, comme anthelminthiques, diurétiques, antifongiques, anti-inflammatoires et antimycobactériens (Liu et al., 2001 ; Hilaly et Israili, 2004 ; Israili et Lyoussi, 2009).

## **I.8. *Ajuga iva* (L.) Schreb.**

### **I.8.1. Nom vernaculaire**

Selon la langue et la région, plusieurs noms sont attribués à cette plante. L'Ivette musquée, en français est aussi appelée « Chendgoura ou meusk el qobour » en Arabe et « Touftolba » en targui ou berbère. « Bugle iva, herb ivy ou encore musky bugle » est le nom donné à la plante en Anglais (Lamnouer, 2005; Beloued, 2014).

### **I.6.2. Description botanique**

Plante vivace, étalée, diffuse, velue, à odeur musquée; tiges de 5 à 15 cm épaisses fleuries presque de la base ; rameaux nombreux et étalés, munis de feuilles touffues, entières ou dentées; fleurs généralement plus courtes que les feuilles, roses, rarement blanches ou jaunâtres, longues de 18 à 24 mm à lobe terminal large, obcordé; graines oblongues, à hile très grand, finement réticulées, alvéolées (figure I.5 et I.6) (Kaddem, 1999 ; Lamnouer, 2005 ; El Hilaly, 2007; Beloued, 2014). La floraison de la plante a lieu entre mars et juin (Lamnouer, 2005).

### **I.8.3. Répartition géographique**

La plante à tiges, en général, florifères seulement dans le haut, se rencontre dans les pelouses, les forêts de basses montagnes et les rocailles dans toute l'Algérie (Quezel et Santa, 1963 ; Beloued, 2014). La plante pousse à une altitude de 0 à 1600 m et même jusqu'à 2700 m, dans les régions arides où elle croît dans les champs. Elle est commune dans la région méditerranéenne, l'Afrique du Nord et l'Afrique de l'Est (Lamnouer, 2005 ; El Hilaly, 2007).

### **I.8.4. Usages et Propriétés**

L'ivette musquée possède une saveur amère et résineuse et une odeur forte, qui se rapproche du musc. On emploie les tiges feuillées sèches, en infusion théiforme, comme antispasmodique, tonique, fébrifuge, diurétique, antiarthrique et apéritive. *Elle est* utilisée dans la pharmacopée traditionnelle, pour des troubles gastro-intestinaux, le diabète et comme hypocholestérolémiant (Rouibi et al., 2012) . On l'utilise avantageusement contre

les affections fébriles, comme la grippe ; elle stimule légèrement les organes en qualité de léger antiseptique. Egaleme nt utilisée contre les maux de tête, des reins et de la vessie (Beloued, 2014).



**Figure I.5.** Photographie illustrant l'aspect général des feuilles d'*A. iva* (photo originale)



**Figure I.6.** Photographie montrant les parties aériennes d'*A. iva* dans l'herbier (photo originale).



Il apparaît que *A. iva* est douée d'un large spectre d'activités pharmacologiques; elle est diurétique, hypoglycémique (**Chabane et al., 2013**), hypolipidémique, antihypertensive et vasodilatatrice. Ceci justifie, à fortiori, l'usage empirique de cette plante comme panacée et offre alors une base scientifique à son utilisation (**El Hilaly, 2007**). En Afrique du Nord, les plantes du genre *Ajuga* sont utilisées pour traiter le diabète et l'hypertension, les troubles gastro-intestinaux et en tant qu'anthelminthique (**Israili et Lyoussi, 2009**). L'ivette jouit d'une grande popularité en Algérie, si bien qu'elle est considérée comme une véritable panacée (**Kaddem, 1999**). Toutefois nous pouvons retenir seulement quelques emplois traditionnels considérés comme principaux, consommé avec du miel pour surmonter son goût amer, sous forme d'infusion (1 cuillère à dessert par tasse) est le mode d'utilisation populaire pour traiter les troubles hépatobiliaire, l'ictère et les coliques intestinales. En macération aqueuse de plusieurs jours comme hypoglycémiant. En usage externe elle est souvent employée en applications locales contre les rhumatismes, et comme antiseptique et cicatrisante sur les plaies. D'autre part, la macération ou l'infusion serait utile pour débarrasser le cuir chevelu de parasites. Il faut savoir cependant, que l'ivette n'est pas dépourvue de toxicité. Il est recommandé donc de l'utiliser avec circonspection. *A. iva* connaît pratiquement la même popularité au Maroc, en Tunisie elle est signalée comme anti gastralgique, anti diabétique et hypotenseur (**Kaddem, 1999**).

## **I.9. Genre *Thymus***

Plusieurs explications existent concernant l'origine du nom "*Thymus*". Certains auteurs supposent que le nom latin *Thymus* vient du grec thyo (parfum). Une autre interprétation de son étymologie considère le mot grec thymos (courage, force) (**Morales, 2002 ; Beloued, 2014**).

Au sein de la famille des Lamiaceae, avec environ 220 genres, le genre *Thymus* fait partie des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces incluses, bien que ce nombre varie en fonction du point de vue taxonomique (**Morales, 2002**). Si on choisit des critères pour minimiser la variabilité, les données disponibles font état de 215 espèces pour le genre (**Jalas, 1974**).

### **I.9.1. Description botanique**

Le genre *Thymus* est l'un des genres les plus importants des Lamiaceae. Il appartient à la tribu Mentheae de la sous-famille Nepetoideae. Les genres les plus apparentés sont



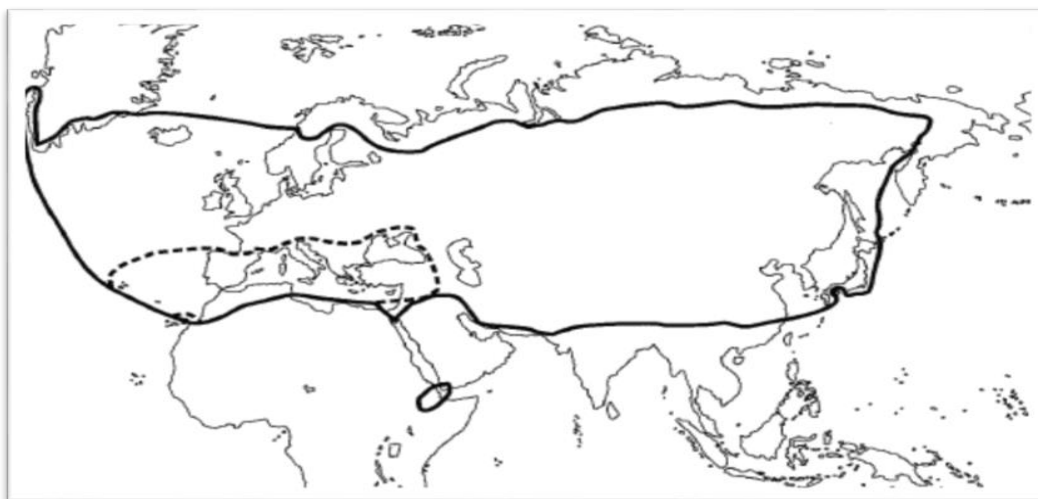
*Origanum, Satureja et Thymbra*. *Thymus* est considéré comme un genre bien défini, basé sur les caractéristiques morphologiques et chimiques de son espèce (**Morales, 2002**).

Genre de détermination toujours délicate, en raison de l'extrême variabilité des espèces et des hybridations interspécifiques. Les espèces algériennes à feuilles linéaires constituent en particulier un complexe qu'il est souvent illusoire de chercher, en l'état actuel des connaissances, à déterminer d'une façon précise. Seule une révision générale des espèces nord-africaines permettra peut-être de résoudre ces questions.

Plantes sous-ligneuses érigées ou prostrées, odorantes. Arbrisseau rigide à feuilles linéaires ou linéaires-lancéolées ciliolées. Inflorescences en faux verticilles, en glomérules courts et très denses. Feuilles plus ou moins contractées. Le calice, comprimé latéralement, est fortement rétréci à son extrémité, en forme d'utricule, à dents serrées les unes contre les autres. Le calice, tubuleux, à 2 lèvres, la supérieure à 3 dents, l'inférieure à 2, ciliées dentées. La corolle de 8-10 mm, est longuement saillante, plus de 2 fois plus longue que le calice. La corolle plus ou moins exserte à 2 lèvres, à 2 et 3 lobes. Les étamines, en nombre de 4, saillantes, sont plus ou moins divergentes. Carpelles lisses (**Quezel et Santa, 1963 ; Morales, 2002**).

### **I.9.2. Répartition géographique**

Le genre *Thymus* est largement distribué dans le monde (Figure I.7). La région méditerranéenne peut être décrite comme le centre de spéciation du genre. Quinze espèces (dont 12 endémiques) poussent dans le nord-ouest de l'Afrique, au nord du désert du Sahara (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), dont trois seulement dans la péninsule ibérique. Deux espèces sont communes dans les montagnes d'Éthiopie (*T. serrulatus*, *T. schimperi*) et une est présente au sud-ouest des montagnes d'Arabie (*T. laevigatus*). En Grèce, 18 espèces ont été répertoriées, 36 en Turquie et 17 dans la Flora Iranica. Plus à l'Est, *Thymus* se trouve dans la péninsule du Sinaï (*T. bovei* et *T. decussatus*), et dans les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, aux limites de la région tropicale jusqu'à l'Asie orientale et au Japon. En Chine, 11 espèces ont été répertoriées. Au nord, il est présent en Sibérie et en Europe du Nord. On sait que les populations introduites qui poussent actuellement à l'état sauvage existent dans des régions aussi éloignées que le Canada (*T. serpyllum* et *T. pulegioides*), le Chili (*T. vulgaris*) ou la Nouvelle-Zélande (*T. pulegioides* et *T. vulgaris*) (**Morales, 2002**).



**Figure I.7.** Répartition du genre *Thymus* dans le monde. La ligne en pointillés représente toutes les sections (cf. classification du genre *Thymus*) excepté la section *Serpyllum* et la section *Hyphodromi* subsect. *Serpyllastrum* (Morales 2002).

### I.9.3. Ecologie

Selon Morales, (2002) les espèces du genre *Thymus* sont des plantes héliophiles et aiment le soleil, ce qui reflète l'écologie du genre. Les plantes de *Thymus* vivent souvent sur des roches ou des cailloux et il est très important que les sols soient bien drainés. Mais différentes espèces de *Thymus* nécessitent des substrats très différents. Ce sont des plantes très résistantes, ce qui leur permet de résister à des conditions climatiques extrêmes en matière de température et d'approvisionnement en eau. Ils n'évitent ni le froid ni l'aridité. Les poils denses et tomenteux ainsi que les feuilles aciculaires permettent à certaines espèces de supporter des conditions très sèches. La forte production d'huiles essentielles peut également être une caractéristique adaptative au climat sec, car les substances volatiles s'évaporent et produisent une atmosphère saturée autour de la plante qui rend la perte d'eau plus difficile.

### I.9.4. Usage et propriétés

Le genre *Thymus* est connu dans plusieurs pays comme des épices et conservateurs, aussi bien qu'un remède protecteur et curatif pour beaucoup de maladies (Ben El Hadj Ali et al., 2014). Les propriétés aromatiques et médicinales du genre *Thymus* l'ont rendu l'une des plantes les plus populaires dans le monde. De nombreuses études ont été réalisées sur des espèces de ce genre non seulement à des fins pharmacologiques, mais aussi pour une meilleure connaissance de la composition chimique des huiles essentielles pour la classification des différents chémotypes (Belmalha, 2015). *Thymus*, connu localement sous le nom de «zaatar»,

est la plante médicinale la plus largement utilisée au Maroc pour ses propriétés expectorantes, antitussives, antibroncholitiques, antispasmodiques, anthelminthiques, carminatives et diurétiques.

## **I.10. *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut.**

### **I.10.1. Description botanique**

Le Thym, Djertil/Zater (Hamria, Hamzoucha, khieta, mezouqach, Mougecha ou encore appelé Mazoukcha) en Arabe (**Morales, 2002 ; Beloued, 2014 ; Guesmi et al., 2014**) et Azoukni, Rebba, Djouchchen ou Touchna en Targui ou Berbère (**Beloued, 2014**) est une plante ligneuse formant souvent des coussinets (figure I.8 et I.9). La plante à entre-nœuds longs de 4 à 7 mm naissant en touffe de la souche courte et ligneuse. Tiges, au moins sur les rameaux jeunes, à pilosité répartie uniformément tout au long de l'entre-nœud.

Elle possède des rameaux serrés, grêles, plus ou moins dressés et velus, recouverts de feuilles opposées, effilées, courtement pétiolées, glabres, mais légèrement ciliées à la base, un peu enroulées sur les bords, limbe ponctué (vue à la loupe) très glanduleux, mesurant 1 à 2 cm de long sur 2 à 3 mm de large. Les feuilles florales, lancéolées et égalant ou dépassant les calices, sont différentes des feuilles caulinaires en général fortement dilatées à leur portion inférieure (**Quezel et Santa, 1963 ; Benabid, 2000 ; Beloued, 2014**).

C'est une plante à épis florifères larges de 16- 20 mm avec des fleurs rosées, plus grandes que la corolle (en capitule terminaux), avec un calice glanduleux, glabre ou légèrement velu, long de 5 à 6 mm à 2 lèvres égales. Une corolle qui dépasse de très peu le calice, bilabée, à lobe médian plus grand (**Quezel et Santa, 1963 ; Beloued, 2014**).



**Figure I.8.** Photographie illustrant l'aspect général des feuilles de *T. algeriensis* (photo originale)



### I.10.2. Répartition géographique

En Afrique continentale, plusieurs espèces de *Thymus* sont inventoriées. Néanmoins, *Thymus algeriensis* est l'espèce la plus répandue en Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye) où elle pousse spontanément et est considérée comme prolifique et endémique des zones semi-arides et arides (Morales, 2002; El Ajjouri, 2010; Guesmi et al., 2014) ou endémique de la Tunisie et de l'Algérie (Le Floc'h et Boulos, 2010).

### I.10.3. Propriétés et usages

Le thym est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les maladies de l'estomac (Guesmi et al., 2014). Il est astringent, stomachique, diaphorétique, antispasmodique, expectorant, cicatrisant et stimulant. La tisane des sommités et les jeunes rameaux fleuris réveille les fonctions digestives surtout chez les affaiblis et évite les fermentations de l'estomac et de l'intestin. L'infusion est aussi utile contre toutes les maladies infectieuses, comme la grippe, la pneumonie et les affections de l'appareil respiratoire. La distillation des tiges fraîches donne une essence riche en thymol. Cet extrait entre dans la composition de gouttes contre la coqueluche. On utilise en friction dans les cas de névralgies et de sciatique et comme odontalgique sur les maux de dents cariées (Beloued, 2014).

## Chapitre II. Etude du milieu physique

### II.1. Présentation de la région d'étude

#### II.1.1. Généralités Sur la wilaya de Djelfa

La Wilaya de Djelfa est située dans la partie centrale de l'Algérie du Nord au-delà des piémonts Sud de l'Atlas Tellien en venant du Nord, dont le chef-lieu de Wilaya est à 300 km au Sud de la capitale. Elle est comprise entre 2° et 5° de longitude Est et entre 33° et 35° de latitude Nord. La wilaya de Djelfa s'étend sur une superficie totale de 32 256,35 km<sup>2</sup> représentant 1,36% de la superficie totale du pays.

La wilaya de Djelfa est l'une des rares wilayas steppiques, possédant un patrimoine forestier assez important. Il constitue un rempart de lutte contre l'avancée du désert, et contribue dans l'équilibre écologique de la région, et dans la protection du milieu naturel. Le massif forestier de Senalba constitue aussi l'une des plus importantes forêts naturelles de Pin d'Alep des zones arides et désertiques de l'Atlas saharien algérien. Face à la désertification qui menace les terres du nord de l'Algérie, ce massif forestier représente la dernière barrière naturelle contre l'avancée du désert (**Guit et al., 2015**).

Selon **Cherfaoui (2019)**, le patrimoine forestier de la wilaya s'étend sur une superficie de:

- 152.753 ha entre forêts naturelles de Pin d'Alep et maquis (52.650 ha);
- 62429 ha de reboisement réalisés depuis l'indépendance du Pays;
- 350.000 ha de nappes alfatières, dont 50.000 ha jugés exploitables (en 1988).

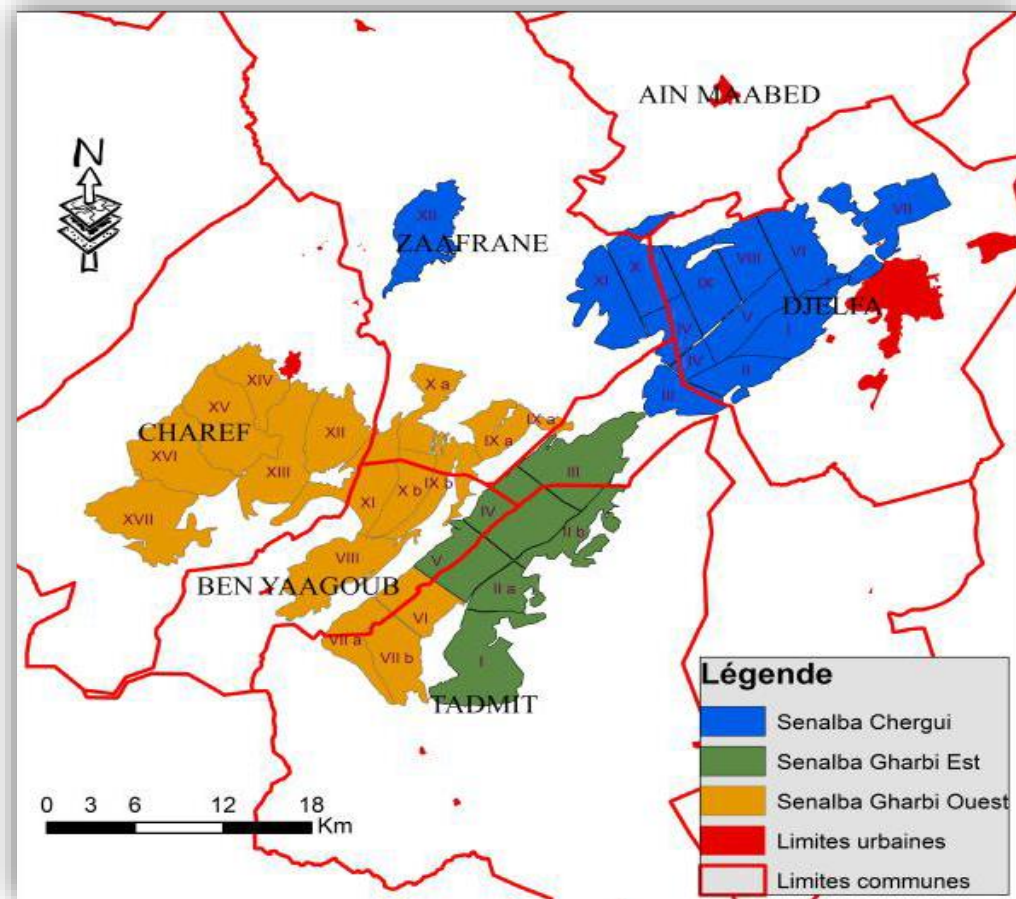
#### II.1.2. Situation géographique et administrative des stations étudiées

La forêt domaniale du Senalba fait partie du patrimoine forestier de la Wilaya de Djelfa située à 350 Km au sud de la capitale Alger, sur les Monts des Ouled Nail, dans une zone à climat semi-aride caractérisé par des hivers froids et rigoureux et des étés chauds et secs.

La situation géographique de cette zone considérée comme la porte du Grand Sahara fait d'elle une région à importance majeure dans la lutte contre la désertification et la protection des sols contre l'érosion éolienne. Les massifs du Senalba Chergui sont les plus proches de la

ville de Djelfa vers l'ouest et nord-ouest, tandis que ceux du Senalba Gharbi se trouvent au sud-ouest de cette ville (**Benhanifia 2015**).

La région de Senalba (figure II.1.) est en grande partie une zone forestière bien que les bas versants soient utilisés pour l'agriculture et le pastoralisme. La forêt domaniale de Senalba est située sur les collines des hauts plateaux de l'Atlas saharien, 4 Km à l'ouest du chef-lieu de la commune de Djelfa, dont les coordonnées sont 2° à 3° 5' de longitude Est et 34° 34' à 34° 45' de latitude Nord. Occupant une superficie de 62 170 ha, elle est constituée principalement de Pin d'Alep à l'état naturel. Les pentes, de l'ordre de 40 % au niveau des sommets sont plus douces (5 à 20 %) sur le bas des versants (**Guit et al., 2015**). Elle est gérée par la Conservation des Forêts, circonscriptions d'Ain El-Ibel et Charef. Elle est constituée de 22 cantons, domaniaalisée et soumise au régime forestier arrêté gouvernemental du 21 mars 1985.



**Figure II.1.** Localisation géographique de la forêt Senalba Gharbi (**Gacemi, 2015**)

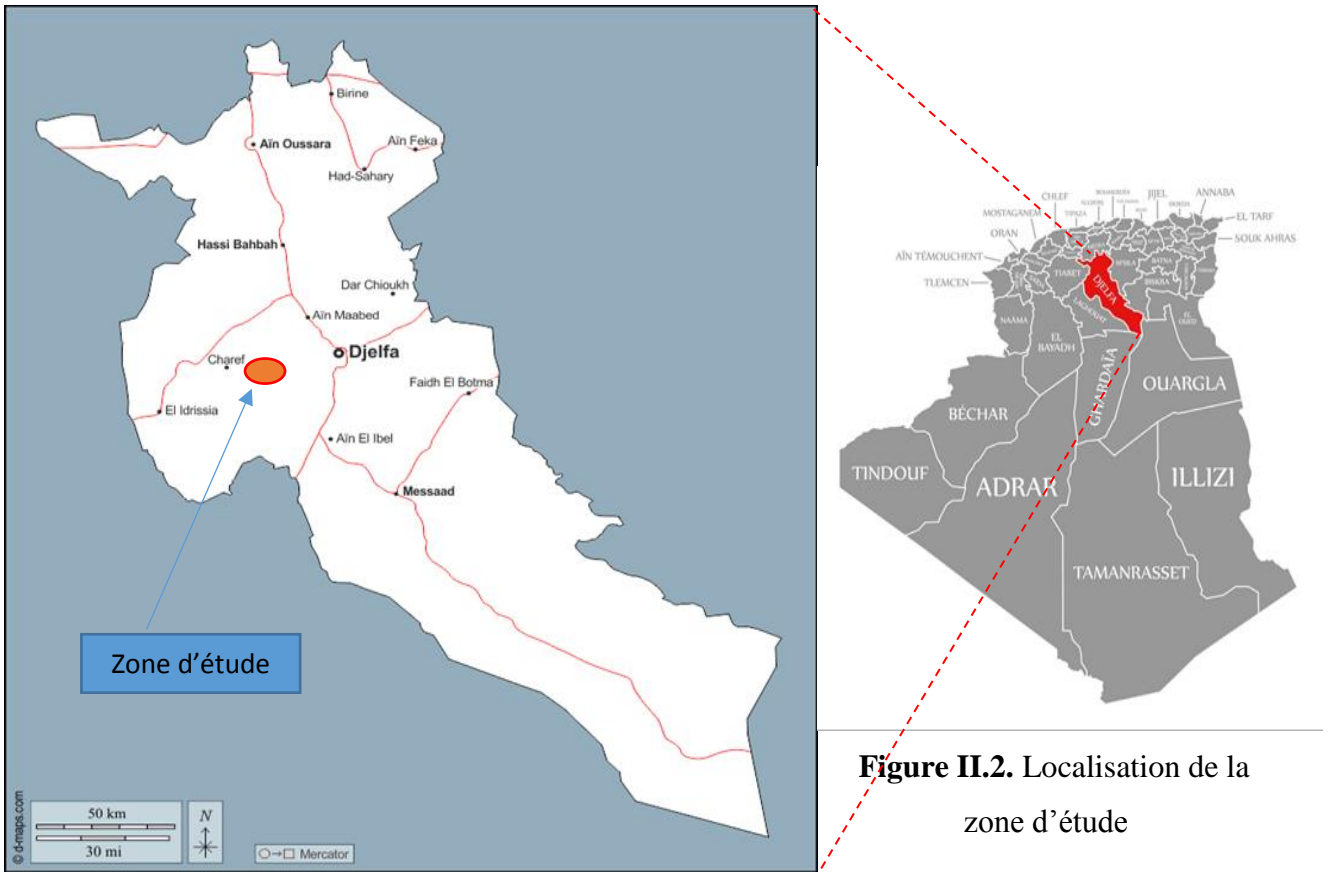
L'échantillonnage a concerné trois stations (figure II.2 et tableau II.1) localisées dans la forêt de Senalba Gharbi:

- Station de Gotaya : Elle est composée de 17 séries ; la série de Gotaya est la série 13, et dépend administrativement de la commune de Charef, elle couvre une superficie de 2591,00 ha. Les sols sont bruns calcaires et des rendzines, le sol est peu profond à superficiel ;
- Station d'ElFeidja : Elle dépend administrativement de la commune d'El-Gueddid, elle couvre une superficie de 3554,90 ha ;
- Station de Toghersane : Elle dépend administrativement de la commune de Taadmit, elle couvre une superficie de 7749.51ha.

**Tableau II.1.** Paramètres géographiques des stations d'étude

<b>Station</b>	<b>longitude</b>	<b>latitude</b>	<b>Altitude (m)</b>
<b>Toghersane</b>	2° 57' 17" E	34° 28' 42" N	1393
<b>Elfeidja</b>	2° 54' 15" E	34° 29' 55" N	1305
<b>Gotaya</b>	2° 47' 10" E	34° 35' 6" N	1328





**Figure II.2.** Localisation de la zone d'étude





a. Station Gotaya



b. Station Elfeidja



c. Station Toghersane

**Figure II.3.** Photographies montrant les trois stations d'étude



**Figure II.4.** Situation géographique des trois stations (Source Google earth, 2019).

### **II.1.3. Géologie**

La géologie de la wilaya de Djelfa s'intègre, dans sa totalité, dans la géologie globale du domaine atlasique et de la marge septentrionale de la plateforme saharienne. Tandis que sur le plan géomorphologique, elle est marquée par la présence des ensembles morfo-structuraux (**Cherfaoui, 2019**). Les formations quaternaires sont dominantes, elles couvrent les fonds de dayas, les lits des oueds et sont constitués de croûtes calcaires, de dépôts d'alluvions. Les autres formations sont peu rencontrées : Aptien, Albien et Turonien (**Foufou et al., 2013**).

### **II.1.4. Hydrologie**

La région de Djelfa présente un réseau hydrographique endoréique, plusieurs d'autres Oueds comme Koreich, Messrane et Zirez descendent des zones montagneuses et constituent le principal agent de salinisation des solutions du sol de ces zones arides.

### **II.1.5. Pédologie**

Les sols sont peu évolués et de très faible profondeur. Ils sont formés soit sur des roches dures (grès et calcaires) dans le cas des reliefs montagneux, soit sur des roches tendres (sables) rencontrés sur une grande partie des plateaux. Selon **Benhanifia (2015)**, trois types de sols sont distingués à savoir:

- Sols peu évolués : se localisent le long des oueds sur les terrasses récentes provenant de l'alluvionnement. La texture est généralement sableuse à sablonneux-limoneuse ;
- Sols calcimagnésiques : cette série prend naissance sur les calcaires et comprend notamment les rendzines. Les sols bruns avec ou sans encroutement ;
- Rendzines : sont situés sous les peuplements de Pin d'Alep à Romarin et Chêne vert rabougri avec la présence de l'Alfa. Ces sols sont profonds à peu profonds.

## **II.2. Caractère climatique**

Les données climatiques utilisées sont celles publiées par l'office national météorologique (O.N.M) de Djelfa. Ces données sont recueillies sur une période de 20 ans, allant de 1999 à 2018 pour la wilaya qui se trouve à une altitude de 1180 m. L'altitude des sites échantillonnés varie très peu (Toughersane, 1393m ; Elfeidja, 1305m et Gotaya, 1328m).

### II.2.1. Pluviométrie

Les précipitations annuelles observées de la période (1999 à 2018) sont présentées dans le tableau II.2. Les valeurs observées varient de 160,4mm à 462mm. La moyenne des précipitations mensuelles pour la même période sont présentées dans le tableau II.3. Il en ressort que Novembre est le mois le plus pluvieux avec 36,4 mm et le mois le plus sec est celui de Juillet avec 8,8mm.

**Tableau II.2.** Moyenne des précipitations annuelles de période allant de 1999 à 2018 de la Wilaya de Djelfa.

Année	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
P(mm)	177	160,1	238,9	212,8	295,3	376	376	288	355,1	337,3
Année	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
P(mm)	238,2	306,7	306,7	236	239	280,2	277,5	190,2	176,5	462

Source : O.N.M. Djelfa

**Tableau II.3.** Moyenne des précipitations mensuelles de période allant de 1999 à 2018 de la Wilaya de Djelfa.

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Out	Sep	Oct	Nov	Déc
Moyenne P. mensuelle (mm)	24.1	23.8	24.3	29.4	32.7	14.9	8.8	23.5	33.7	26.1	36.4	25.2

Source: O.N.M. Djelfa

#### II.2.1.1. Régime saisonnier

A partir du tableau II.4, on distingue un régime saisonnier de type A.H.P.E donc la période la plus arrosée est l'Automne (96,1mm) alors que l'été est la saison la moins arrosée (47,1mm).

**Tableau II.4.** Régime saisonnier des précipitations de la période allant de 1999 à 2018 de la Wilaya de Djelfa.

Saison	Automne	Hiver	Printemps	Eté	total	Régime saisonnier
P (mm)	96,1	73,1	86,3	47,1	302,6	A.P.H.E

### II.2.2. Température

L'analyse du tableau II.5 montre que le mois le plus froid est celui de janvier avec une température minimale de 1,13°C contre le mois le plus chaud (mois de juillet) avec une température maximale de 29,6°C.

### II.2.3. Humidité relative

Le mois le plus humide correspond au mois de décembre avec un taux d'humidité de 79,8% et le mois de juillet est le plus sec (32,8%).

### II.2.4. Vent

D'après le tableau II.5, le mois le plus venteux est avril (4,8/s) et la valeur minimale a été enregistrée durant le mois d'août (3,1m/s). Les vents dominants sont de direction sud-ouest, les vents ouest apportent les pluies et les vents sud, le sirocco, qui se produit en été pendant une quarantaine de jours et plus fréquemment en juillet, c'est un vent chaud qui contribue au dessèchement du sol et accentue l'évaporation, son effet se ressent beaucoup.

### II.2.5. Gelée

La fréquence des gelées est enregistrée durant la période de novembre jusqu'à avril avec une valeur maximale au mois de janvier (12,6 jours) (tableau II.5).

**Tableau II.5.** Données climatiques pour la période 1999-2018 (Cas de la wilaya de Djelfa)

Mois	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Out	Sep	Oct	Nov	Déc
P (mm)	24.1	23.8	24.3	29.4	32.7	14.9	8.8	23.5	33.7	26.1	36.4	25.2
Max (°C)	8,08	9,59	12,58	16,43	20,47	25,5	29,6	28,3	23,2	19,3	12,3	8,6
min (°C)	1,13	1,18	3,18	5,88	9,48	12,57	16,9	15,9	11,9	8,8	6,4	1,3
T.moy (°C)	4,61	5,34	7,88	11,16	14,98	19,04	23,25	22,1	17,6	14,1	9,4	4,95
H.moy %	75,5	72	64,1	56,9	51,4	39,7	32,8	41,4	52,7	61,7	72,5	79,8
Vit.Moy vent (m/S)	4,03	4,4	4,2	4,8	4,4	3,4	3,5	3,1	3,5	3,5	3,9	3,9
N.j. gelée	12,6	10,1	4,8	0,75	00	00	00	00	00	00	6,05	10,1

Source: O.N.M. Djelfa (2018)

### II.2.6. Pluviométrie, régime saisonnier et température des sites d'échantillonnage

L'altitude des trois sites échantillonnés (Toghersane, Elfeidja, et Gotaya) varie entre 1393m, 1305m et 1328m respectivement. La dénivelée est de 213m, 125m et 148m, respectivement. Des corrections sur la pluviométrie et la température ont été réalisées en prenant en compte cette différence.

#### II.2.6.1. Pluviométrie

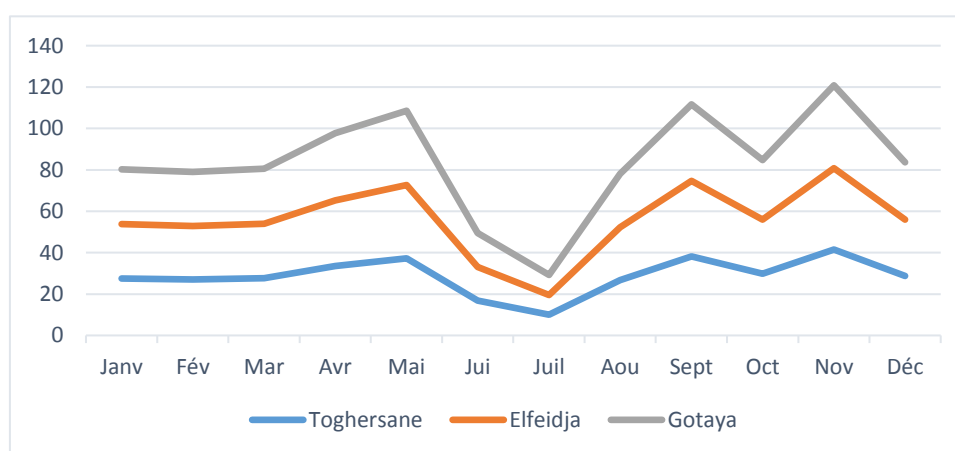
Nous avons adapté le gradient pluviométrique de **Djebaili (1984)** pour la steppe sud algéroise qui est de 20mm pour 100m de dénivelée. Les résultats sont présentés dans le tableau II.6 et figure II.5, on constate que novembre est le mois le plus pluvieux (41,5mm pour

Toghersane, 39,3mm pour Elfeidja et 40,04mm pour Gotaya), alors que juillet est le mois le plus sec (10,03mm pour Toghersane 9,5mm pour Elfeidja et 9,7mm pour Gotaya).

**Tableau II.6.** Moyenne des précipitations mensuelles P (mm) pour la période allant de 1999 à 2018 dans les trois stations (corrigées).

Station	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec
Toghersane	27,5	27,1	27,7	33,5	37,3	16,9	10,03	26,8	38,2	29,8	41,5	28,7
Elfeidja	26,03	25,7	26,2	31,8	35,3	16,1	9,5	25,4	36,4	26,2	39,3	27,2
Gotaya	26,5	26,2	26,7	32,4	35,9	16,4	9,7	25,9	37,1	28,7	40,04	27,7

Source : O.N.M. Djelfa



**Figure II.5.** Variation des précipitations mensuelles (période 1999-2018) pour les trois stations

### II.2.6.1.1. Régime Saisonnier

Le maximum de précipitation est atteint en automne, de ce fait, les régimes saisonniers des trois stations sont de type A.P.H.E., donc la période la plus arrosée est l'automne alors que la saison la moins arrosée est l'été (tableau II.7).

**Tableau II.7.** Régime Saisonnier des précipitations de la période allant de 1999 à 2018 pour les trois stations

P (mm)	Automne	Hiver	Printemps	Eté	Total	Régime saisonnier
<b>Toghersane</b>	110,97	83,3	98,5	53,73	346,5	A.P.H.E
<b>Elfeidja</b>	104,67	78,93	93,3	51	327,9	A.P.H.E
<b>Gotaya</b>	105,1	80,4	95	52	332,5	A.P.H.E

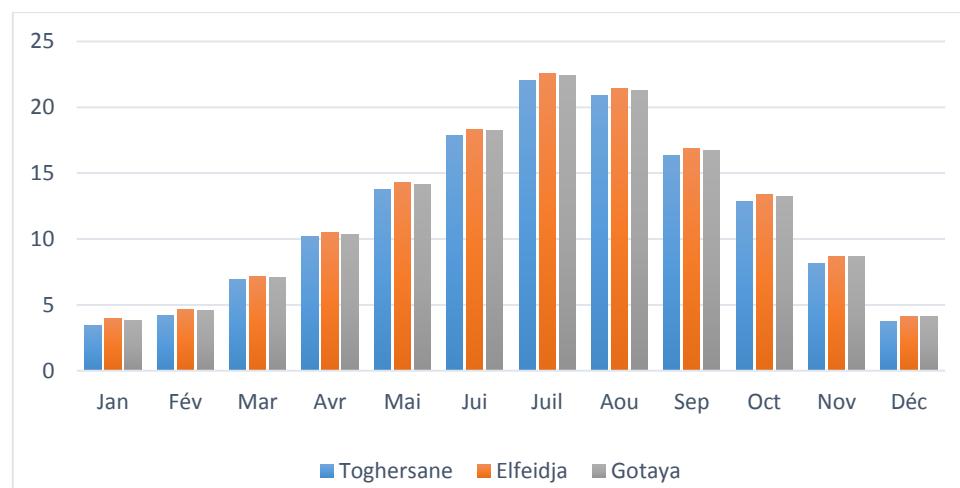
## II.2.6.2. Température

Concernant les températures, les données enregistrées dans le tableau II.8, figure II.6 sont corrigées en fonction de la formule de **Seltzer (1946)**. Le mois le plus froid correspond au mois de janvier avec une température minimale de 0,23°C pour Toghersane, 0,2°C pour Elfeidja et 0,53°C pour Gotaya. Par contre, le mois le plus chaud est celui de juillet avec une température maximale de 28,1°C, 28,7°C et 28,56°C, respectivement pour Toghoresane, Elfeidja et Gotaya.

**Tableau II.8.** Moyenne de la température mensuelle de la période 1999-2018 pour les trois stations

Station	T (°C)	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
Toghersane	M	6,58	8,09	11,5	14,93	18,97	24	28,1	26,8	21,7	17,8	10,8	7,1
	m	0,23	0,28	2,28	5,38	8,58	11,67	16	15	11	7,9	5,5	0,4
	T.moy	3,41	4,19	6,89	10,16	13,78	17,84	22,05	20,9	16,35	12,85	8,15	3,75
Elfeidja	M	7,8	8,69	11,68	15,53	19,57	24,6	28,7	27,4	22,3	18,4	11,4	7,5
	m	0,2	0,69	2,68	5,38	8,98	12,07	16,4	15,4	11,4	8,3	5,9	0,8
	T.moy	3,99	4,67	7,18	10,46	14,28	18,34	22,55	21,4	16,85	13,35	8,65	4,15
Gotaya	M	7,04	8,55	11,54	15,39	19,43	24,46	28,56	27,26	22,16	18,26	11,26	7,56
	m	0,53	0,58	2,58	5,28	8,88	11,97	16,3	15,3	11,3	8,2	5,8	0,7
	T.moy	3,79	4,57	7,06	10,34	14,16	18,22	22,43	21,28	16,73	13,23	8,68	4,13

Source : O.N.M. Djelfa (2018)

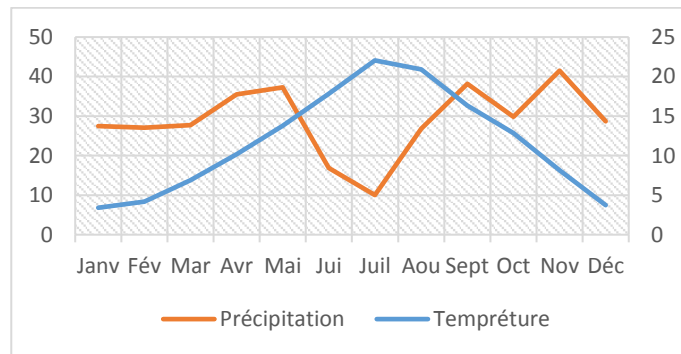


**Figure II.6.** Variation des températures moyennes mensuelles (période 1999-2018) pour les trois stations

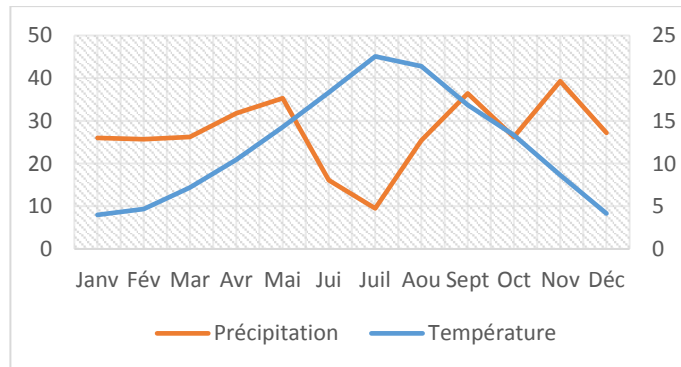


### II.2.7. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен

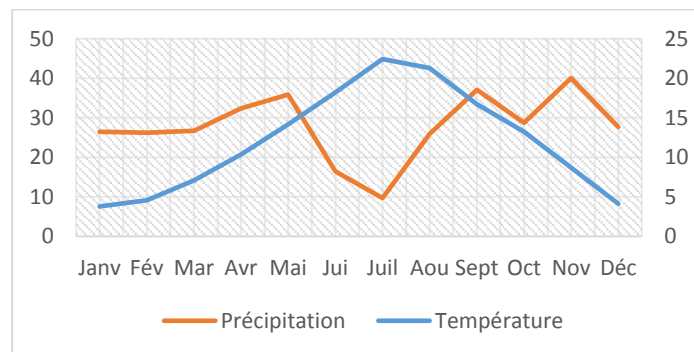
L'utilisation des données corrigées de précipitations et des températures, nous a permis de tracer le diagramme ombrothermique de **Bagnouls et Gausсен (1953)** (Figure II.7.) pour les stations étudiées, et enfin, de dégager la période sèche. Le diagramme ombrothermique montre qu'il y a une alternance de deux périodes, l'une humide et l'autre sèche et ce pour les trois stations: la période humide s'étale de Septembre jusqu'à mi- Mai et la période sèche s'étale de fin Mai à fin Août.



a. Station Toghersane



b. Station Elfeidja



c. Station Gotaya

**Figure II.7.** Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен des trois stations

## II.2.8. Quotient pluviothermique d'Emberger

Pour définir l'étage bioclimatique de la région méditerranéenne, **Emberger (1955)** a développé une expression synthétique du climat et a établi le quotient pluviothermique d'Emberger ( $Q_2$ ). Ce dernier a une valeur écologique différente suivant les températures minimales, en degrés Kelvin, qui interviennent :  $Q_2=1000P/(M+m)(M-m)$

P: Précipitations annuelles totales (mm) ;

M: Moyenne des maxima du mois le plus chaud ( $K^\circ$ );

m: Moyenne des maxima du mois le plus froid ( $K^\circ$ ).

Les températures sont exprimées en Kelvin (K) :  $T_K=T_C+273,15$ .

Cette formule est adaptée par **Stewart (1969)** relativement à la région Nord-Africaine :

$Q_3=3.43P/(M-m)$ , avec :

$Q_3$  : Quotient pluviométrique en  $mm/^\circ C$  ;

3.43 : Constante relative à la région : Algérie-Maroc ;

P : Pluviométrie moyenne annuelle en mm ;

M : Moyenne des températures maximales du mois le plus chaud en  $^\circ C$ ;

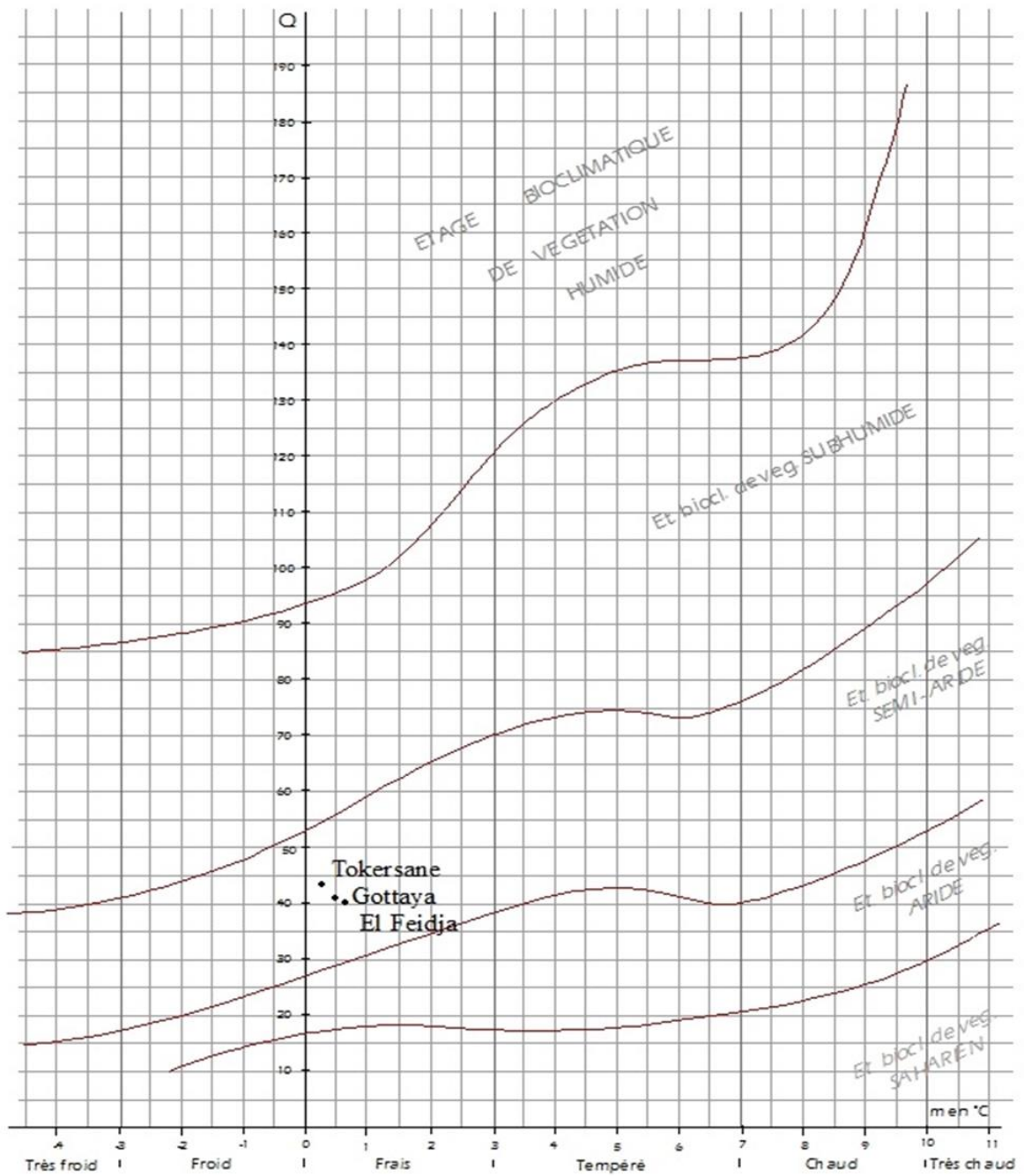
m : Moyenne des températures minimales du mois le plus froid en  $^\circ C$ .

Le climagramme d'Emberger fait intervenir deux facteurs essentiels, d'une part la sécheresse représentée par le quotient pluviothermique  $Q_2$  en ordonnées et d'autre part la moyenne des températures minimales du mois le plus froid en abscisses. L'application de la formule précédente de Stewart et en rapportant les valeurs de  $Q_3$  et m ( $^\circ C$ ) sur le climagramme d'Emberger, permet de localiser la zone d'étude dans l'étage bioclimatique semi-aride à variante thermique à hiver frais (Tableau II.9 et figure II. 8).

**Tableau II.9.** Tableau récapitulatif des données climatiques des stations d'échantillonnage

Station	Altitude (m)	M ( $^\circ C$ )	m ( $^\circ C$ )	$Q_3$	Etage bioclimatique
Toghersane	1393	28,1	0,23	42,62	Semi-aride frais
Elfeidja	1305	28,7	0,2	40,13	
Gotaya	1328	28,56	0,53	40,86	





**Figure II.8.** Situation des trois stations dans le climagramme d'Emberger

### II.2.9. Etagement bioclimatique de Rivas-Martinez : thermotypes et ombrotypes

La notion d'étagement est utilisée en montagnes pour rendre compte des discontinuités liées à l'altitude. Elle a donné lieu à de multiples représentations graphiques, dont les principales se manifestent sous forme de bloc-diagramme et de coupes phytogéographiques. Le concept d'étage bioclimatique est une notion botanique qui a été créée pour associer la répartition des êtres vivants à des schémas climatiques mondiaux liés à la géographie et l'altitude. Dans la pratique, on définit les limites d'un étage donné (étage climatique) par une plage de valeur des variables climatiques moyennes (température, précipitation, etc.) ; puis, on associe une végétation type, l'ensemble constituant alors l'étage bioclimatique (**Nassiri, 2000**).

Selon **Rivas-Martinez (2005)**, la délimitation des étages bioclimatiques se fait en fonction des facteurs thermoclimatiques (thermotypes : Indice de thermicité *It*, Indice de thermicité compensé *Itc*) et des facteurs ombroclimatiques (ombrotypes : Indice ombrothermique annuel *IOA* ou mensuel *IOm*).

Un thermotype correspond à une catégorie thermique de climat, prenant en compte différents paramètres de température et des indices tels que l'indice de thermicité (*It*), l'indice de thermicité compensée (*Itc*) et la température annuelle positive (*Tp*). Afin de rendre compte des variations de climat et de végétation à l'échelle régionale, un gradient en altitude ou en latitude de thermotypes (les thermostades) est reconnu dans chacun des macrobioclimats, y compris le bioclimat méditerranéen.

Les ombrotypes sont des catégories correspondant à différents niveaux de pluviométrie, parce qu'ils ont une bonne valeur prédictive de la relation entre le climat et la végétation, l'indice ombrothermique annuel (*To*), l'indice ombrothermique mensuel (*Tom*) et les indices ombrothermiques estivaux (*Tos*) sont les plus souvent utilisés pour établir les ombrotypes. Les types ombriques reconnus sont les suivants : ultrahyperaride, hyperaride, aride, semi-aride, sec, subhumide, humide, hyperhumide et ultrahyperhumide.

#### II.2.9.1. Indice de thermicité

L'indice de thermicité *It*, qui est basé sur les considérations thermiques, est un facteur limitant pour beaucoup de plantes et communautés végétales selon l'intensité du froid. C'est la somme de *T* (température moyenne annuelle), *M'* (température moyenne des maxima du mois le plus froid) et *m* (température moyenne des minima du mois le plus froid) (**Rivas-Martinez, 2005**). Le calcul de cet indice est basé sur la formule suivante :  **$It = (T + M' + m) 10$** .

Pour le calculer, une autre valeur de thermicité compensée (*Ci*) variant selon le degré continentalité thermique *A* (°C) doit être ajoutée à la formule précédente comme suit :  **$Itc = It +$**

**Ci.** Ce nouvel indice *I<sub>tc</sub>* est appelé l'indice de thermicité compensée. Si l'indice de continentalité (A) est compris entre 8 et 18 °C, la valeur d'*I<sub>tc</sub>* est considérée comme égale à celle d'*I<sub>t</sub>* ( $I_t = I_{tc}$ ).

Dans les territoires extratropicaux de la Terre (latitude > 23° N et S) avec un indice de continentalité ( $A \geq 21$ ) et un indice de thermicité ou thermicité compensée ( $I_t$  ou  $I_{tc} < 120$ ), le calcul des thermotypes se fait par la somme des températures moyennes mensuelles positives ( $T_p$ ) de chaque localité (**Rivas-Martinez, 2005**).

Pour un bioclimat méditerranéen, Rivas-Martinez (2005) a défini 7 thermotypes allant de l'Inframéditerranéen jusqu'au glacial. Les valeurs de l'indice de thermicité et thermotypes correspondants sont présentés dans le tableau II.10 donc l'*I<sub>tc</sub>* des trois stations est égal à 213,2 pour la station de Toghersane ; 219,4 pour la station d'Elfeidja et 215,6 pour la station de Gotaya. Selon la classification de Rivas-Martinez (2005) le thermo-type de la région est situé dans le supraméditerranéen.

**Tableau II.10.** Valeurs de l'indice de thermicité et thermotype pour les trois stations

Station	Alt (m)	A(C)	T	M'	m	I <sub>tc</sub>	Thermotype
Toghersane	1393	18,64	14,51	6,58	0,23	213,2	Supraméditerranéen inférieur
Elfeidja	1305	18,51	13,94	7,8	0,2	219,4	Supraméditerranéen inférieur
Gotaya	1328	18,64	13,99	7,04	0,53	215,6	Supraméditerranéen inférieur

Alt, altitude en m ; A= (T max-T min), amplitude thermique annuelle moyenne en °C ; T, moyenne annuelle en °C ; M', moyenne des maxima du mois le plus froid ; m, moyenne des minima du mois le plus froid en C ; I<sub>t</sub>, Indice de thermicité de Rivas-Martinez (2005) ; I<sub>tc</sub>, Indice de thermicité compensé de Rivas-Martinez (2005).

### II.2.9.2. Indice ombrothermique annuel de Rivas-Martinez

Cet indice se définit par le rapport  $I_O$  entre la somme en mm des précipitations moyennes des mois P<sub>p</sub> dont les températures moyennes du même mois sont supérieures à 0 (Positive rainfall ou pluviométrie positive) et la somme en °C de ces températures moyennes positives ( $T_p$ ). Cet indice est défini à l'échelle annuelle par le quotient ( $I_{OA} = P_p / T_p$ ) (Rivas-Martinez, 2005). Les résultats obtenus (tableau II.11) montrent que les trois stations sont caractérisées par un bioclimat semi-aride supérieur avec des valeurs d' $I_{OA}$  de 1,99 pour la station de Toghersane ; 1,96 pour la station d'Elfeidja et 1,98 pour la station de Gotaya.

**Tableau II.11.** Valeurs de l'indice ombrothermique annuel et ombrotype pour les trois stations.

Station	Alt (m)	Pp (mm)	Tp (°C)	IOA	ombrotype
Toghersane	1393	346,5	174,12	1,99	Semi-aride supérieur
Elfeidja	1305	327,9	167,29	1,96	
Gotaya	1328	332,5	167,93	1,98	

*Alt.* Altitude (m) ; *Pp*, somme des précipitations des mois dont les températures moyennes de même mois sont positives en mm ; *Tp*, somme des températures moyennes mensuelles positives en °C ; *IOA*, indice ombrothermique annuel de Rivas-Martinez (2005)

### II.2.9.3. Indice ombrothermique estival de Rivas-Martinez

**Rivas-Martinez (2005)** a adopté un autre indice ombrothermique estival «*Ios* » pour évaluer le critère de méditerranéité d'une station donnée, qui est le rapport entre la somme des précipitations moyennes des trois mois estivaux (*Pps3*) et la somme des températures moyennes mensuelles de ces mêmes mois (*Tps3*). Donc un territoire est considéré comme méditerranéen à la condition que la valeur de cet indice ombrothermique soit inférieure à 2. Les résultats montrent l'application de l'indice ombrothermique estival (Tableau II.12) et confirment le caractère méditerranéen pour nos sites avec ( $0,82 \leq Ios \leq 0,88$ ).

**Tableau II.12.** Valeurs de l'indice ombrothermique estival et bioclimat pour les trois stations

Station	Pps3 (mm)	Tps3	Ios	Bioclimat
Toghersane	53,73	60,79	0,88	Méditerranéen
Elfeidja	51	62,29	0,82	
Gotaya	52	61,93	0,84	

*Pps3*, somme des précipitations moyennes des trois mois estivaux en mm ; *Tps3*, somme des températures moyennes mensuelles des trois mois estivaux en °C ; *Ios*, Indice ombrothermique estival de Rivas-Martinez.

# Chapitre III. Caractérisation morphologique

## Introduction

La morphologie descriptive des plantes est importante dans la taxonomie moderne pour la compilation des flores, des clés, des atlas et d'autres matériaux de référence (Aguiri, 2002). Les feuilles constituent l'organe de la plante, le plus adapté à manipuler et à exploiter dans ce contexte d'étude. Particulièrement, les caractères morphologiques foliaires définis et organisés de manière structurée par les botanistes pour déduire l'identité des espèces de feuilles, constituent des informations à priori importantes pour construire des systèmes d'identification automatiques plus fiables et intelligents. La description chiffrée de la forme du limbe d'une espèce botanique se heurte à de nombreuses difficultés à tel point que nos connaissances actuelles ont régressé par rapport à celles du siècle précédent. Cela tient essentiellement au fait que physiologistes et écologistes ont mis l'accent sur la variabilité du système foliaire aux dépens de la stabilité des caractères mis en évidence par les systématiciens (Mouton, 1976 ; Mzoughi, 2017).

L'étude morphologique des Lamiacées en général et des espèces étudiées n'a pas fait l'objet d'études poussées dans la région et en steppe plus précisément. Vu l'importance de ces plantes aromatiques et médicinales, nous nous sommes intéressés à cet aspect pour afin d'obtenir de nouvelles informations sur les plantes sujettes de cette étude. Nos présentes recherches portent sur l'analyse biométrique de quelques variables quantitatives des feuilles [(longueur et largeur), longueur du pétiole et densité stomatique (nombre de stomates par mm<sup>2</sup> de surface foliaire)] et des variables qualitatives telle que le type de trichomes (glandulaires, non glandulaires, simples, ramifiés,...).

## III.1. Matériel et méthodes

### III.1.1. Matériel végétal

L'étude morphologique (macro et micromorphologique) s'est portée sur des feuilles et des stomates de *Thymus algeriensis* et *Salvia verbenaca*. L'échantillonnage a été réalisé sur 20 plantes (individus) de chaque site de façon aléatoire. Pour chaque individu, on a récolté 20 feuilles pour étudier la variabilité morphologique, et 10 feuilles pour étudier les stomates. L'échantillonnage a été effectué durant les campagnes (2018-2020). Ces collectes ont été séchées et montées sur des planches d'herbier.

D'autres échantillons de feuilles de *T.algeriensis*, *S.verbenaca* et *A.iva* ont aussi été choisis aléatoirement pour l'étude au microscope électronique à balayage (MEB). Les trichomes, les surfaces foliaires et les stomates sont observés. Les feuilles sont séchées à l'air libre et conservés dans des sachets en papier au laboratoire.

### **III.1.2. Méthodes**

#### **III.1.2.1. Biométrie des feuilles**

Les mesures sont réalisées à l'aide d'une règle graduée, pour chaque feuille on mesure les paramètres suivants : la plus grande longueur, Ln (de la pointe à la base du limbe), la plus grande largeur, Lr (en restant sensiblement perpendiculaire à la hauteur), le rapport Ln/Lr est calculé à la suite de ces mesures et enfin, la longueur du pétiole, P.

Le nombre d'individus de chaque espèce, choisis aléatoirement, est de 20 individus par station. Par la suite, 20 feuilles ont été prélevées de chaque individu (trois stations avec un total de 1200 feuilles pour chaque espèce).

#### **III.1.2.2. Empreinte épidermique pour l'étude des stomates**

On étale une goutte de vernis incolore sur la face supérieure de la feuille. On sèche la feuille quelques minutes, si le vernis est sec, on applique un adhésif transparent, on gratte la surface puis on soulève le bord d'une couche de vernis et on la décolle délicatement. On dépose sur une lame, l'empreinte ainsi réalisée en la retournant face décollée sur le dessus et on marque, au feutre sur la lame, l'origine du prélèvement (supérieure ou inférieure). On répète la manipulation avec l'épiderme de la face inférieure. Vingt (20) individus de chaque espèce ont été choisis aléatoirement pour chaque station. Pour chaque individu, 10 feuilles ont été prélevées, 5 feuilles pour la face supérieure et 5 feuilles pour la face inférieure (trois stations au total 600 échantillons pour chaque espèce).

#### **III.1.2.3. Observation microscopique**

Les lames ont été observées avec un microscope photonique (grossissement x 40). Pour obtenir le nombre de stomates par surface foliaire (densité stomatique), on prend la moyenne des dix champs par feuille, divisé par  $0,19 \text{ mm}^2$  (surface du champs microscopique), par la suite, pour obtenir le nombre de stomates par  $\text{mm}^2$  de surface foliaire (**D'Ambrogio de Argüeso 1986**). Pour faire le comptage des stomates, dix champs d'observation par empreinte ont été examinés. Dans chaque champ observé, on compte le nombre de stomates. Au total 600 champs ont été examinés.

#### **III.1.2.4. Analyses statistiques**

L'interprétation des résultats obtenus a été possible après avoir effectué des analyses statistiques qui consistent, à comparer les espèces étudiées (comparaison interpopulations) entre les différentes stations. Les statistiques descriptives, l'analyse de la variance et la comparaison des moyennes (test Tukey) ont été réalisés avec le logiciel «Statistica, version 8».

#### **III.1.2.5. Etude qualitative des trichomes observés en microscopie électronique à balayage**

Des échantillons de feuilles ont été préparés avec la procédure standard pour le microscope électronique à balayage (MEB) (Belhadj et al., 2007 ; Belhadj et al., 2011). Les feuilles ont été traitées au préalable à l'alcool à 90° durant 2 heures sous ultrasons puis séchées à l'air libre à température et humidité ambiante avant d'être utilisés pour le MEB. Cette partie a été réalisée à l'université de Provence, Marseille (France). La méthode consiste à rendre conducteur l'échantillon à observer afin d'éviter toute accumulation de charges électriques à sa surface. La présence de ces charges nuirait à l'obtention d'images fines, nettes et stables. L'écoulement de ces charges est réalisé en assurant la continuité électrique entre la surface de l'échantillon et le porte-échantillon métallique relié par construction à la masse du microscope.

C'est pour cette raison que les matériaux utilisés pour le montage des échantillons sont tous conducteurs: support en aluminium ("stub"), pastille de carbone collante double face et pâte de carbone. La surface des échantillons ainsi montés doit être rendue conductrice. Ceci est réalisé en effectuant un dépôt d'une mince couche d'or. La "technique d'évaporation" ou "métallisation par évaporation" permet de réaliser ce dépôt. Le principe consiste à créer sous vide un arc électrique entre deux crayons de carbone par passage d'un courant électrique. Cet arc électrique vaporise le carbone dans l'ensemble de l'enceinte sous vide où sont placés les échantillons. La couche d'or ainsi déposée d'une épaisseur moyenne d'une vingtaine de nanomètres épouse fidèlement la surface des échantillons. Les échantillons ainsi préparés peuvent être observés à différents grossissements. Des surfaces abaxiales et adaxiales des feuilles des différentes espèces sont observées. Les caractéristiques des surfaces épidermiques (stomates et trichomes) ont été étudiées.

## III.2. Résultats et discussion

### III.2.1. Variabilité morphologique des feuilles de *S. verbenaca*

#### III.2.1.1. Morphométrie des feuilles de *S. verbenaca*

Les statistiques élémentaires (moyenne, minimum, maximum, étendue, variance et écart-type) ont été calculées pour l'espèce *S. verbenaca* (tableau III.1). Pour les feuilles de *S. verbenaca*, la longueur (Ln) est en moyenne de 6,35 cm pour l'espèce provenant d'Elfeidja, 5,08 cm pour la station Toghersane et de 4,78 cm pour la station Gotaya.

Concernant la largeur (Lr) des feuilles de *S. verbenaca*, les résultats montrent que les feuilles provenant de la station de Toghersane et Gotaya ont une moyenne de 0,66 et 0,63 cm, respectivement, tandis que les feuilles provenant de la station d'Elfeidja sont plus larges avec une moyenne de 2,03 cm. La longueur du pétiole des feuilles est de 1,35 cm pour la station d'Elfeidja, 1,76 cm pour la station de Toghersane et 0,83 cm pour la station de Gotaya.

L'analyse de la variance montre qu'il n'existe aucune différence significative au seuil  $\alpha=0,05$  entre les différentes populations de *S. verbenaca* pour la variable longueur des feuilles. Cependant, il existe une différence significative au seuil  $\alpha=0,05$  entre les différentes populations de *S. verbenaca* pour les variables mesurées (largeur, rapport longueur/largeur et longueur du pétiole avec  $p>0,05$  (tableau III.2). L'ANOVA a un facteur nous a permis de conclure que le facteur station a un effet sur les caractères mesurés (largeur, rapport Ln/Lr et longueur du pétiole) des feuilles de *S. verbenaca*.

**Tableau III.1.** Caractéristiques des variables quantitatives mesurées pour les feuilles de *S. verbenaca*

	Variables	Moy	min	Max	Eten.	Vari.	E.T.
<b>Elfeidja</b>	<b>Ln (cm)</b>	6,35	5,28	7,65	2,37	0,52	0,72
	<b>Lr(cm)</b>	2,03	1,70	2,42	0,72	0,03	0,18
	<b>Ln/Lr</b>	3,15	2,23	3,80	1,57	0,22	0,47
	<b>P(cm)</b>	1,35	0,97	1,88	0,91	0,07	0,27
	<b>Toghersane</b>	<b>Ln(cm)</b>	5,08	4,14	6,40	2,26	0,68
<b>Lr(cm)</b>		0,66	0,58	0,76	0,18	0,001	0,03
<b>Ln/Lr</b>		7,67	6,21	9,84	3,63	1,38	1,17
<b>P(cm)</b>		1,76	1,45	2,01	0,56	0,03	0,17
<b>Gotaya</b>	<b>Ln(cm)</b>	4,78	2,36	6,21	3,85	0,92	0,96
	<b>Lr(cm)</b>	0,63	0,36	0,89	0,53	0,015	0,12
	<b>Ln/Lr</b>	7,77	5,11	13,80	8,69	3,30	1,82
	<b>P(cm)</b>	0,83	0,28	1,76	1,48	0,21	0,46



**Tableau III.2.** Analyse de la variance des caractères mesurés des feuilles de *S. verbenaca*

Test de Levene pour l'Homogénéité des Variances Effet : station Degrés de liberté pour tous les F : 2, 57				
	MC effet	MC erreur	F	p
<b>Ln (cm)</b>	0,107	0,217	0,494	0,612
<b>Lr (cm)</b>	0,080	0,005	14,853	0,000006
<b>Ln/Lr</b>	3,168	0,764	4,148	0,021
<b>P(cm)</b>	0,293	0,029	9,982	0,0001

Les résultats obtenus pour la largeur des feuilles par la comparaison multiple avec le Test de Tukey (HSD) à un risque  $\alpha=0,05$  révèle la présence de deux groupes homogènes (tableau III.4) : groupe A avec une moyenne de 0,62cm (Gotaya), 0,66cm (Toghersane) et groupe B avec une moyenne de 2,02cm (Elfeidja). Pour la longueur du pétiole (tableau III.5) on a obtenu trois groupes homogènes avec les moyennes suivantes 0,82cm (Gotaya) ; 1,35cm (Elfeidja) et 1,76cm (Toghersane).

**Tableau III.4.** Test HSD de Tukey pour la largeur des feuilles de *S.verbenaca* provenant des trois stations étudiées

Test HSD de Tukey ; variable Lr (Feuille de données13) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,01590, dl = 57,000				
	station	Lr (cm)	1	2
<b>3</b>	Gotaya	0,627000	****	
<b>2</b>	Toghersane	0,662000	****	
<b>1</b>	Elfeidja	2,026500		****

**Tableau III.5.** Test HSD de Tukey pour la longueur du pétiole des feuilles de *S. verbenaca* provenant des trois stations étudiées.

Test HSD de Tukey ; variable P (Feuille de données13) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,10496, dl = 57,000					
	station	P	1	2	3
<b>3</b>	Gotaya	0,825500	****		
<b>1</b>	Elfeidja	1,354000		****	
<b>2</b>	Toghersane	1,762500			****

### III.2.1.2. Densité stomatique des feuilles de *S.verbenaca*

L'ANOVA à deux facteurs (tableau III.6) montre qu'il existe une différence significative au seuil  $\alpha=0,02$  (avec  $p = 0,04 < \alpha$ ) c'est-à-dire que le facteur face de la feuille a une influence sur le nombre de stomates. Cette analyse montre également que le facteur station n'a pas d'effet sur le nombre de stomates ( $p=0,3 > \alpha$ ).

**Tableau III.6.** Analyse de la variance pour la densité des stomates sur les deux faces des feuilles de *S. verbenaca*.

Tests Univariés de Significativité personnalisés pour S (Feuille de données1) Erreur basée sur : station*face Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	D.D.L.	MC	F	p
station	352,308	2	176,154	2,23390	0,309225
face	3243,760	1	3243,760	41,13571	0,023458
station*face	157,710	2	78,855		

Les résultats obtenus pour le nombre de stomates des feuilles de *S.verbenaca*, par la comparaison multiple avec le Test de Tukey (HSD) à un risque  $\alpha = 0,05$ , révèle la présence de deux groupes homogènes pour le nombre de stomates par rapport au facteur face des feuilles (tableau III.7) : groupe A avec une moyenne de 42,85st/mm<sup>2</sup> de surface foliaire et groupe B avec une moyenne de 63,64 st/mm<sup>2</sup> de surface foliaire.

**Tableau III.7.** Test HSD de Tukey pour le nombre de stomates sur les faces, supérieure et inférieure, des feuilles de *S. verbenaca* provenant des trois stations.

Test HSD de Tukey ; variable S (Feuille stomate) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 39,913, dl = 28,000				
	face	S (nombre de stomates/mm <sup>2</sup> de surface foliaire)	1	2
1	Face supérieure	42,85000	****	
2	Face inférieure	63,64667		****

### III. 2.2. Variabilité morphologique des feuilles de *T. algeriensis*

#### III.2.2.1. Morphométrie des feuilles de *T. algeriensis*

Les statistiques élémentaires (moyenne, minimum, maximum, étendue, variance et écart-type) ont été calculées pour l'espèce *T. algeriensis* (tableau III.8).

Pour les feuilles de *T. algeriensis*, la longueur (Ln) est en moyenne de 0,44 cm pour l'espèce provenant de la station d'Elfeidja, 0,43 cm de la station de Toghersane et Gotaya. Concernant la largeur (Lr) des feuilles de *T. algeriensis*, les résultats montrent que les feuilles provenant des trois stations ont pratiquement la même moyenne de 0,02 cm.

**Tableau III.8.** Caractéristiques des variables quantitatives mesurées pour les feuilles de *T.algeriensis*

Station	Statistiques descriptives						
		Moy.	Min	Max	Eten	Vari	E.T.
Elfeidja	Ln (cm)	0,44	0,33	0,54	0,21	0,0018	0,043
	Lr (cm)	0,02	0,01	0,03	0,02	0,00002	0,005
	Ln/Lr	21,58	15,60	31,10	15,50	10,19	3,19
Toghersane	Ln (cm)	0,43	0,41	0,52	0,11	0,0008	0,028
	Lr (cm)	0,02	0,01	0,03	0,02	0,00002	0,0045
	Ln/Lr	22,48	18,70	31,10	12,40	9,85	3,14
Gotaya	Ln (cm)	0,43	0,37	0,52	0,15	0,0016	0,0398
	Lr (cm)	0,02	0,02	0,03	0,01	0,00001	0,0037
	Ln/Lr	19,57	15,60	24,20	8,60	5,56	2,36

L'analyse de la variance montre qu'il n'existe pas de différence significative au seuil  $\alpha=0,05$  entre les différentes populations de *T. algeriensis* pour toutes les variables mesurées (longueur, largeur et le rapport longueur/largeur avec  $p>0,05$ ) (tableau III.9). L'ANOVA à un facteur nous a permis de conclure que le facteur station n'a pas d'effet sur les caractères mesurés des feuilles de *T. algeriensis*, non plus.

**Tableau III.9.** Analyse de la variance des caractères mesurés des feuilles de *T. algeriensis*

Test de Levene pour l'Homogénéité des Variances Effet : station Degrés de liberté pour tous les F : 2, 57				
	MC effet	MC erreur	F	p
<b>Longueur</b>	0,001275	0,000681	1,870900	0,163318
<b>Largeur</b>	0,000005	0,000013	0,382433	0,683937
<b>Longueur/Largeur</b>	1,900542	3,078615	0,617337	0,542946

### III.2.2.2. Densité stomatique des feuilles de *T. algeriensis*

L'ANOVA à deux facteurs (tableau III.10) montre qu'il existe une différence significative au seuil  $\alpha=0,05$  avec  $p=0,04<\alpha$  c'est-à-dire que le facteur face de la feuille a une influence sur le nombre de stomates. Cette analyse montre également que le facteur station n'a pas d'effet sur le nombre de stomates où  $p=0,7>\alpha$ .

**Tableau III.10.** Analyse de la variance pour la densité des stomates sur les deux faces des feuilles de *T. algeriensis*

Tests Univariés de Significativité pour stom Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	D.D.L.	MC	F	p
<b>ord. origine</b>	1642,800	1	1642,800	400,6829	0,000000
<b>Stat</b>	2,600	2	1,300	0,3171	0,731282
<b>Face</b>	19,200	1	19,200	4,6829	0,040637
<b>Stat*Face</b>	45,000	2	22,500	5,4878	0,010898
<b>Erreur</b>	98,400	24	4,100		

Les résultats obtenus pour le nombre des stomates des feuilles de *T. algeriensis* par la comparaison multiple avec le Test de Tukey (HSD) à un risque  $\alpha = 0,05$  révèle la présence de deux groupes homogènes pour le nombre de stomates par rapport au facteur face des feuilles (tableau III.11) : groupe A avec une moyenne de 31,84st/mm<sup>2</sup> et groupe B avec une moyenne de 36,14st/mm<sup>2</sup>.

**Tableau III.11.** Test HSD de Tukey pour la densité stomatique sur la face supérieure et inférieure des feuilles de *T. algeriensis* provenant des trois stations étudiées.

Test HSD de Tukey ; variable stomate Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 26,035, dl = 28,000				
	Face de la feuille	Densité stomatique (nombre de stomates/mm <sup>2</sup> de surface foliaire)	1	2
<b>1</b>	supérieure	31,84	****	
<b>2</b>	inférieure	36,14		****

Le manque d'études sur la variabilité morphologique des trois espèces, nous a amené à comparer nos résultats avec d'autres espèces appartenant au même genre. Citons l'exemple de l'étude menée par **Dajić-Stevanović et al. (2008)**. Ces auteurs ont rapporté que les feuilles de *Thymus glabrescens*, originaire de Serbie, ont une longueur de 0,85 à 1,31mm et une largeur de 0,22 à 0,28mm.

D'autre part, pour le genre *Salvia*, selon **Mossi et al. (2011)**, la longueur et la largeur des feuilles de *Salvia sclarea* sont de l'ordre de 17,5 à 22,5cm. Concernant l'espèce *S. verbenaca*, la moyenne de la longueur des feuilles est égale à 11,5cm, bien supérieure à celles trouvées par **Font Quer (2000)** qui sont de l'ordre de 2 à 3cm. Pour *Salvia officinalis* les valeurs moyennes enregistrées pour la longueur des feuilles sont les suivantes : 6,5, 6,25 et 5,0cm, avec 2 cm de largeur.

Les caractéristiques morphologiques telles que la taille des feuilles et les caractéristiques de la corolle sont taxonomiquement importantes pour identifier l'espèce. *Salvia indica* diffère

morphologiquement des autres espèces de *Salvia* par ses grandes feuilles. La feuille mesure 15-30 x 10-24 cm, alors que le pétiole mesure entre 2-12 mm (**Kahraman et al., 2010**).

**Kaplan et Çakır (2019)** ont rapporté que *Salvia sclarea* L. possède des feuilles simples de dimensions de 5,5-18,2cm et 3,6-13,5cm et le pétiole entre 0.9 et 17cm. *Salvia virgata* Jacq. possède des feuilles simples, inférieures à 4,8-13,5 x 2,1-8,7cm et un pétiole entre 0,2-8,5cm. Quant à *Salvia tomentosa* Mill., elle possède des feuilles simples, entre 4,6-11,5cm x 1,5-4,6cm et un pétiole entre 0,5 et 4,3cm. Pour *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. les feuilles sont de 2,5-8,2 x 0,9-5,4cm et un pétiole entre 0,3 et 6cm. La raison de ces différences dans les mesures biométriques peut s'expliquer par la variation des espèces, le nombre d'échantillons examinés, l'altitude et les périodes de végétation (**Kaplan et Çakır, 2019**). L'intensité de la lumière a un effet certain sur la morphologie des feuilles, cela a été prouvé par **Resai (2019)**, lequel a rapporté que *Salvia officinalis* cultivée pendant 5 mois en plein soleil (0% d'ombre) ainsi qu'à des niveaux d'ombre de 30%, 50% ou 70% en appliquant différents traitements d'ombrage, que la taille des feuilles était plus grande sous un niveau d'ombre de 50%, les feuilles cultivées en plein soleil étaient les plus petites.

En ce qui concerne la densité des stomates, elle est ainsi souvent très différente sur la face supérieure et la face inférieure des feuilles, avec, chez de nombreuses plantes, une absence totale de stomates sur la face supérieure. Mais le cas inverse existe aussi, comme chez les Nymphéa et les nénuphars, où seule la face supérieure de la feuille est au contact de l'air ambiant. De même, la densité des stomates peut être équivalente sur les deux côtés, par exemple pour des feuilles verticales. La densité est également très différente selon les espèces : importante chez les plantes de milieu humide, beaucoup plus faible chez les plantes adaptées à un climat aride comme les plantes xérophytes, voire totalement absente pour les feuilles immergées (**Prat, 2013**).

Les caractères stomatiques sont largement utilisés pour la caractérisation des plantes appartenant à différents écotypes (**Belhadj et al., 2011**) et à différentes espèces. Les stomates chez les lamiacées sont généralement de type diacytique, (c'est-à-dire que les cellules de garde du stomate sont entourées par deux cellules annexes, perpendiculaires aux cellules de garde) (**Judd et al., 2002**). Dans la même optique, **Ozcan et Eminagaoglu (2014)** ont rapporté le nombre de stomates de la surface adaxiale (supérieure) des feuilles de trois espèces différentes appartenant à la famille des *Lamiacées* : *Origanum rotundifolium* (56,25st/mm<sup>2</sup>), *Origanum vulgare* ssp. *Viride* (65st/mm<sup>2</sup>), *Teucrium hircanum* (0st/mm<sup>2</sup>). Cependant, le nombre de stomates de la face abaxiale (inférieure) des trois espèces est de 121st/mm<sup>2</sup>, 335st/mm<sup>2</sup> et 430st/mm<sup>2</sup>, respectivement. **Inamdar et Bhatt (1972)** ont étudié 33 espèces dans 17 genres de

*Lamiaceae* ; ils ont constaté que dans la majorité des espèces, les stomates se trouvaient exclusivement sur la face inférieure des feuilles. **Cantino (1990)** reporta des feuilles hypostomatiques (stomates exclusivement sur la face inférieure de la feuille) et amphistomatiques (stomates sur les deux faces de la feuille) chez les espèces de cette famille, la présence de ce dernier type de feuilles étant légèrement plus fréquent.

Les stomates sont de type diacytique ou rarement anomocytaire chez les deux taxons d'*Origanum*, alors qu'il est de type anomocytaire chez *Teucrium hircanum*. Les stomates sont densément présents sur les surfaces abaxiales de tous les taxons. Selon la dimension, *Teucrium hircanum* a beaucoup plus de stomates survenus qu'à la surface abaxiale. Par contre, entre les taxons d'*Origanum*, le nombre de stomates chez *O. vulgare* ssp. *viride* est trois fois plus élevé que celui de *O. rotundifolium* (**Ozcan et Eminagaoglu, 2014**). Chez *Ajuga reptans*, les stomates sont présents sur la face abaxiale, alors que chez *A. reptans* et chez *A. orientalis*, les stomates se trouvent sur les deux faces (**Çali, 2014**).

Selon **Fahn (1967)**, **Bondada et Oosterhuis (2000)** et **Yiotis et al. (2006)** cités dans **Belhadj et al. (2011)**, l'amphistomatie est une caractéristique commune chez les végétaux des habitats secs, et c'est considéré comme une adaptation afin d'augmenter au maximum la conductance au CO<sub>2</sub>. Ces caractéristiques sont corrélées négativement chez la plupart des végétaux, il n'existe pas de relations strictes entre la taille des stomates ou leur densité avec la régularité de la disponibilité de l'eau. En plus, tel que reporté **Roselli et al. (1989)**, **Botti et al. (1998)**, **Sharma et al. (2001)** et **Lawson et al. (2002)** cités dans **Belhadj et al. (2011)**, d'autres facteurs environnementaux tels que la salinité du sol, la concentration du CO<sub>2</sub>, le gel et la tolérance à certaines maladies peuvent affecter ces caractéristiques foliaires. D'autres auteurs, tels que **Elfadl et Luukkanen (2006)** cité dans **Belhadj et al. (2011)**, ont utilisé la taille des stomates et leur densité pour caractériser des lignées qui se développent sur différents sites, généralement, les plantes répondent au stress hydrique par des changements qui s'opèrent au niveau morphologique, physiologique, biochimique et métabolique.

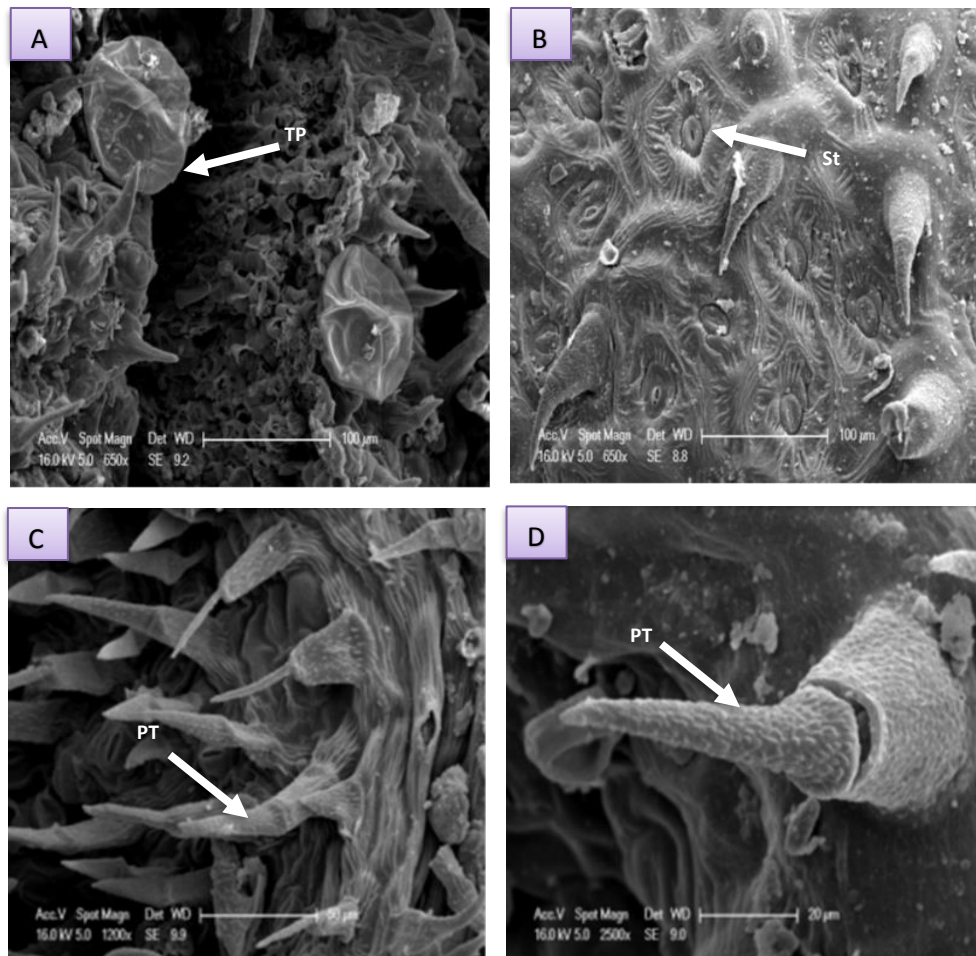
### **III.2.3. Etude qualitative des trichomes observés au M.E.B.**

L'observation des feuilles au microscope électronique à balayage nous a permis de mettre en évidence la présence de poils tecteurs ou de recouvrement uni- et pluricellulaires et des poils sécréteurs capités et peltés ; ils sont présents dans les feuilles des trois espèces (figures

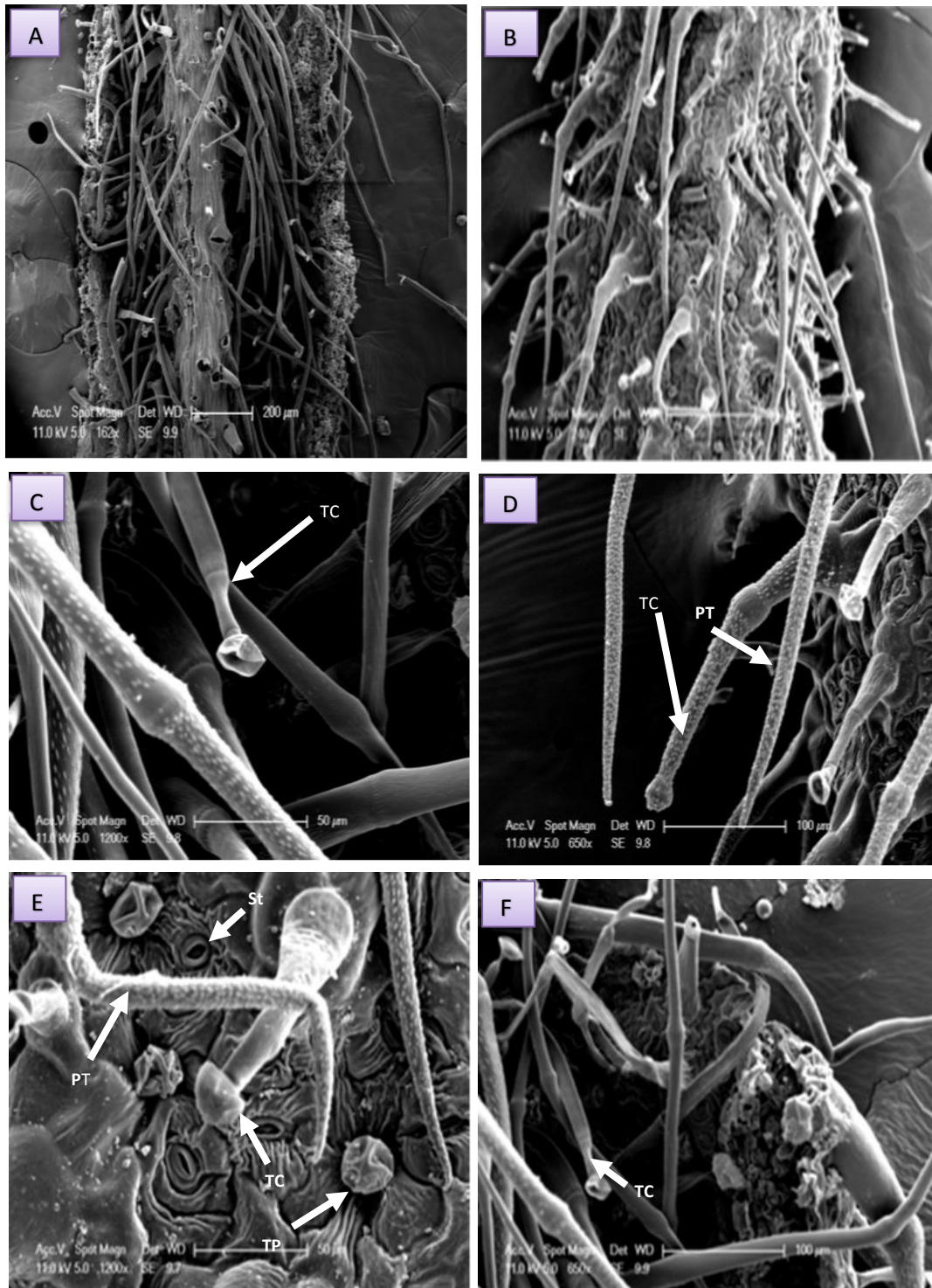
III.1, III.2 et III.3). La seule variabilité se trouve au niveau de la fréquence des poils tecteurs qui sont très nombreux chez *A. iva* et qui présentent un aspect différent chez les trois espèces.

On constate également l'abondance des poils sur la face supérieure par rapport à la face inférieure et ceci est montré clairement sur les micrographies de *T. algeriensis* (figure III.3). La surface est recouverte de poils tecteurs uni- et pluricellulaires et de poils sécréteurs capités et peltés. Les poils sécréteurs capités sont très nombreux chez *T. algeriensis*.

Quant à l'espèce *A.iva*, l'observation montre que notre espèce possède des poils tecteurs pluricellulaires filiformes et longs (figure III.2). On note également la présence de poils pourvus d'une vésicule basale et d'une pointe rigide et fragile. Ce sont les poils urticants connus chez *A. iva*. Quant à *T. algeriensis*, elle possède plus de poils peltés par rapport aux deux autres espèces, cela pourrait expliquer le fait que la plante soit connue pour sa haute teneur en huile essentielle, un rendement en huile essentielle supérieur aux deux autres espèces.

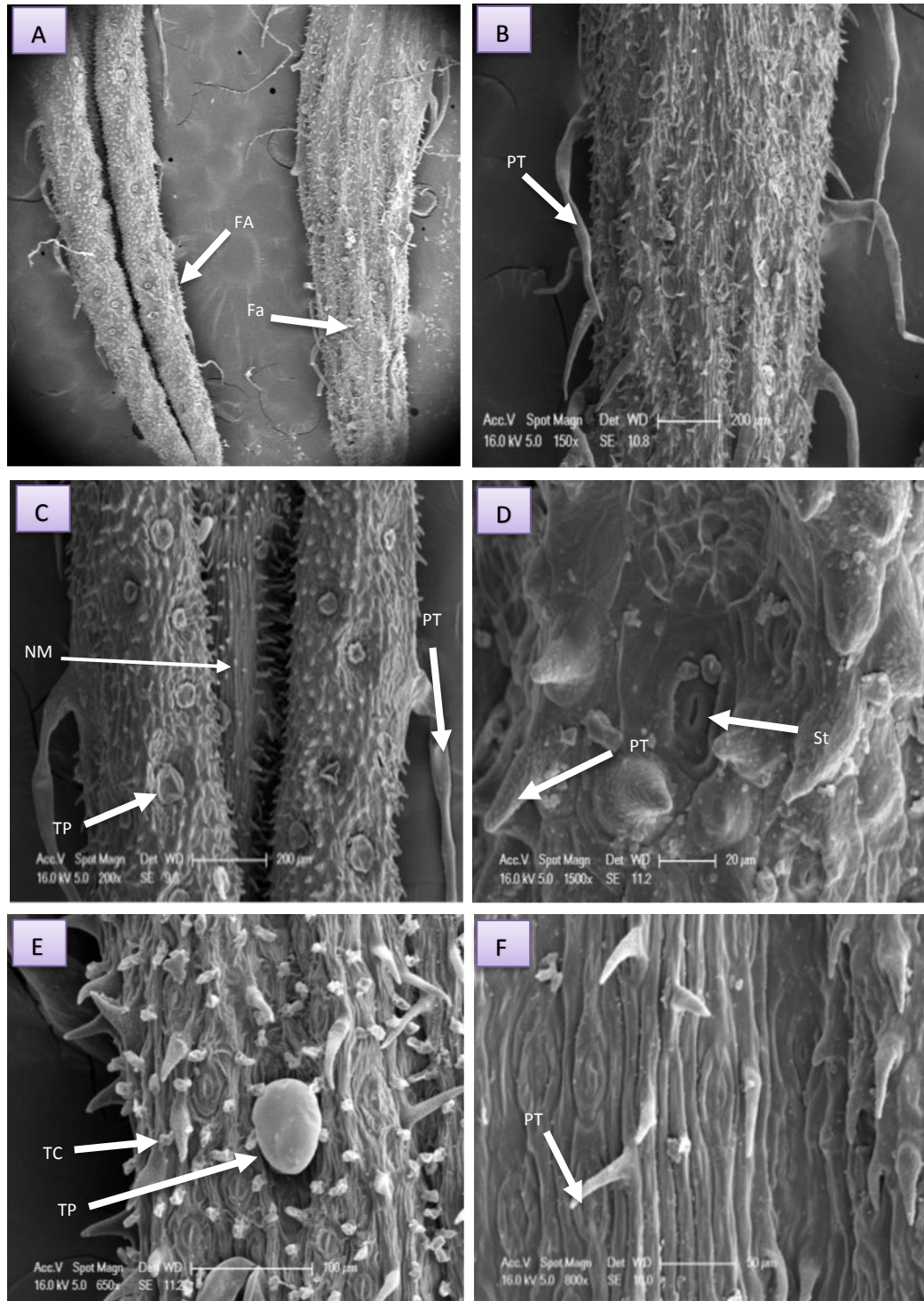


**Figure III.1.** Micrographies au microscope électronique à balayage des feuilles de *S.verbenaca* de la station de Toghersane. Micrographies A et B : face abaxiale, Micrographies C et D : face adaxiale. Détails montrant les poils tecteurs (PT), les trichomes peltés (TP) et les stomates (St).



**Figure III.2.** Micrographies au microscope électronique à balayage montrant des feuilles d'*A. iva* de la station d'Elfeidja. Micrographie A: face abaxiale avec la nervure médiane (NM), micrographies B: face adaxiale, micrographies C, D, E et F montrant les détails : poils tecteurs (PT), les stomates (St), trichome capité (TC), trichome pelté (TP)





**Figure III.3.** Micrographies au microscope électronique à balayage des feuilles de *T. algeriensis* de la station de Toghersane. Micrographies A : les deux faces adaxiale (Fa) et abaxiale (FA), micrographie B : face adaxiale, micrographie C : face abaxiale avec la nervure médiane (NM), micrographies D, E et F montrant les poils tecteur (Pt), les trichomes peltés (TP) et capités (TC), les stomates (St).

Les poils tecteurs unicellulaires sont en forme de papilles, pourvus d'une paroi peu épaisse, et sont présents exclusivement sur l'épiderme supérieur de la feuille. Les types de poils sécréteurs capités et peltés observés dans nos échantillons sont communs à d'autres espèces appartenant aux genres *Thymus*, *Salvia* et *Ajuga*.

Les poils sécréteurs en particulier possèdent une grande valeur taxonomique, que ce soit au niveau spécifique ou subs spécifique (**Mráz, 1998**). Aucune donnée n'est disponible dans la littérature concernant ces espèces, nos résultats constituent les premières données disponibles pour les espèces étudiées. Toutefois, quelques rapports sur la micromorphologie des plantes appartenant au genre *Salvia*, *Ajuga* et *Thymus* existent.

Concernant les espèces appartenant au genre *Salvia*, **El-Gazzar et al. (2019)** ont signalé la présence de poils non glandulaires et de poils glandulaires sessiles sur les feuilles de *Salvia sclarea* L. et *Salvia palaestina* Benth., et l'absence de poils glandulaires pédonculés et de poils ramifiés. Ils ont signalé également la présence de poils non glandulaires chez *Salvia spinosa* L., *Salvia multicaulis* Vahl., *Salvia dominica* L., *Salvia lanigera* Poir., *Salvia deserti* Decne et *Salvia aegyptiaca* L. De plus, les poils tecteurs et les poils sécréteurs capités et peltés sont plus nombreux chez *Salvia willeana* (**Arnold et Bellomaria, 1993**).

Dans une autre étude menée par **Kahraman et al., (2010)** sur *Salvia chrysophylla*, trois types principaux de trichomes, peltés, glandulaires et non glandulaires, ont été observés sur la tige, l'axe d'inflorescence, les surfaces des feuilles et du calice. Les trichomes glandulaires sont présents en abondance sur l'axe d'inflorescence et le calice. Cependant, ceux non glandulaires étaient principalement situés sur la feuille et la tige. **Janošević et al., (2016)** ont rapporté que les feuilles de *Salvia aegyptiaca* L., contiennent des trichomes non ramifiés non glandulaires et deux types de trichomes glandulaires, peltés et capités, sur les deux faces. La face abaxiale est couverte de nombreux trichomes peltés et capités, tandis que les trichomes capités sont plus abondants sur la face adaxiale, où les trichomes peltés sont rarement observés. Les trichomes non glandulaires sont des papilles unicellulaires et multicellulaires, unisériées, de deux à six cellules, dressées ou légèrement inclinées vers l'épiderme. Les trichomes peltés sont composés d'une cellule basale, d'une courte tige cylindrique et d'une large tête de huit cellules sécrétoires disposées en un seul cercle. Les trichomes capités sont constitués d'une tête glandulaire unicellulaire, sous-tendue par une tige de longueur variable, et classés en deux types: trichomes capités de type I (ou trichomes glandulaires à pédoncule court) et trichomes capitulés de type II (ou trichomes glandulaires à longue tige). Chez notre espèce, on a observé des trichomes peltés (figure III.1).

Selon **Svidenko et al. (2018)**, les deux faces de feuilles de *Salvia officinalis* avaient approximativement la même densité des trichomes glandulaires. Cependant, il a été noté que la face adaxiale de *Salvia sclarea* n'avait pas du tout de trichomes glandulaires de type *Lamiacées*. Une telle différence pourrait s'expliquer par un rendement moindre en huile essentielle (0,19–0,38%) pour *Salvia sclarea*. Concernant d'autres espèces du même genre, *Salvia argentea* possède deux types de trichomes glandulaires morphologiquement distincts, les peltés et les capités. Les trichomes glandulaires capités forment une base à 1–7 cellules, une tige à 1–5 cellules ou pas de tige et une tête uni- ou bicellulaire de différents types. Les trichomes capités sont présents en abondance sur tous les organes aériens de cette plante. Les trichomes glandulaires peltés avaient une grosse tête sécrétoire formant 1–5, 8 cellules centrales et 8–10, 12, 14 cellules périphériques. Les trichomes peltés sont présents sur tous les organes aériens, à l'exception du pétiole, étant le plus abondant sur le calice et la corolle (**Baran et al., 2010**).

**Corsi et Bottega (1999)** ont étudié la structure et l'histochimie des poils glandulaires des parties végétative et reproductrice de *Salvia officinalis* originaires de Pise (Italie). *Salvia officinalis* n'a qu'un seul type de poil pelté composé d'une courte tige unicellulaire et d'une tête sécrétoire composée de 12 cellules. Ce type de poils se trouve sur les organes végétatifs, principalement les feuilles, et les organes reproducteurs, principalement les calices. Sur les feuilles, ils ont été observés sur la face supérieure, essentiellement sur les protubérances délimitées par des nervures secondaires et en grand nombre sur la face abaxiale, notamment sur les nervures secondaires. Trois types de poils capités ont été observés sur les feuilles (I, II et III). Les poils non glandulaires étaient multicellulaires, non ramifiés et constitués de trois à quatre cellules allongées. Ils ont été observés sur les feuilles et les calices.

D'autres auteurs, tels **Eiji et Salmaki (2016)** ont étudié les caractéristiques des trichomes de 46 espèces de *Salvia* en Iran. Trois formes de trichomes glandulaires sont reconnues dans leur étude : la première forme est composée de trichomes glandulaires capités subsessiles et sessiles, avec une cellule basale, une cellule pédonculaire et une tête unicellulaire, ce qui est observé chez la plupart des espèces étudiées. La deuxième forme est constituée de trichomes glandulaires à pédoncule court et la dernière forme est de trichomes glandulaires à pédoncule long. Selon **Lemberkovics et Marczal (2003)**, la feuille de *Salvia pratensis* est pauvre en trichomes. Il existe quelques trichomes multicellulaires et des trichomes glandulaires à tête unicellulaire. Sur les feuilles de *Salvia nemorosa* se trouve des trichomes glandulaires et non glandulaires. Les trichomes non glandulaires sont multicellulaires et ont une extrémité pointue, mais il existe également des trichomes unicellulaires coniques. Sur la feuille de *Salvia officinalis* se trouve des trichomes non glandulaires et glandulaires. La majorité des trichomes

glandulaires possèdent une tête composée de 8 cellules à cuticule commune. La cellule basale des trichomes non glandulaires, constituée de plusieurs cellules, est enflée et sa cellule terminale est étroite et en forme de fouet. Les cellules basales sont incluses dans la cellule épidermique et sont mobiles. Les trichomes non glandulaires sont repliés sur l'épiderme et protègent les trichomes glandulaires.

Selon **Talebi et al. (2018)**, pour *Salvia nemorosa* L. originaire d'Iran, treize types de trichomes ont été identifiés, dont les principaux étaient peltés et capités. Les différents types enregistrés chez *Salvia nemorosa* sont des trichomes (1) glandulaires (capités à pédoncule court, capités à pédoncule long, digité glandulaire, pelté, sessile à deux cellules). Des trichomes (2) non glandulaires (conidiens, unicellulaires, bicellulaires, tricellulaires, quadri-cellulaires). Leurs résultats ont confirmé que les paramètres écologiques d'un habitat ont de forts effets sur la morphologie et la densité des trichomes. D'autres auteurs tels **Svidenko et al. (2018)** ont rapporté que la face adaxiale des feuilles de *Salvia sclarea* L. n'avait aucun trichome glandulaire de type lamiacée, à l'exception de la face abaxiale.

Peu d'études ont été rapportées sur la micromorphologie des espèces appartenant au genre *Ajuga*. Citons l'exemple de l'étude menée par **Akcin et al. (2006)**, les auteurs ont montré que les espèces *Ajuga reptans* et *Ajuga chamaepitys* subsp *chia* possèdent des poils tecteurs (poils non glandulaires) et sécréteurs (poils glandulaires).

Les poils glandulaires sont répartis sur les organes aériens végétatifs et reproducteurs des Lamiacées. Ils produisent des huiles essentielles qui protègent contre les herbivores et les agents pathogènes. D'un point de vue fonctionnel, en raison du mode et du moment de la sécrétion, les poils glandulaires peuvent être classés en deux types: a) les poils glandulaires à *court terme*, qui déclenchent et arrêtent rapidement la sécrétion, et qui servent à la protection des jeunes organes; et (b) des poils glandulaires à *long terme*, dans lesquels les matières sécrétoires s'accumulent progressivement sous une cuticule élevée et qui servent à la protection des organes matures (**Werker, 1993**).

Concernant les espèces appartenant au genre *Thymus*, dans une étude sur *Thymus caespititius* cultivé en plein champ, **Mendes et al. (2010)** ont reporté des trichomes non glandulaires et glandulaires (peltés et capités). **El-Gazzar et al., (2019)** ont signalé la présence de poils glandulaires sessiles sur les feuilles de *Thymus decussatus* Benth. et *Thymus capitata* (L.) Cav. Les poils non glandulaires sont présents sur les feuilles de *Thymus decussatus* Benth. et *Thymbra capitata* (L.), tandis que les feuilles de *Thymus bovei* Benth. sont dépourvues de poils glandulaires et non glandulaires. Selon **Svidenko et al. (2018)**, il a été noté que *Thymus*

*serpyllum* avait significativement moins de ces trichomes glandulaires par rapport à *Thymus vulgaris*, ce qui pourrait s'expliquer par un rendement moindre en huile essentielle.

Concernant, la distribution des trichomes glandulaires, la face adaxiale des feuilles de *Thymus vulgaris* a plus de trichomes glandulaires de type *Lamiacées* que la face abaxiale de celles-ci. Tandis que les deux faces des feuilles de *Thymus serpyllum* ont approximativement la même densité de ces trichomes glandulaires. Dans une autre étude menée par **Jia et al. (2013)**, la distribution et les types de trichomes glandulaires et la chimie des huiles essentielles de *Thymus quinquecostatus* ont été étudiés. Les trichomes glandulaires sont répartis à la surface de la tige, des feuilles, du rachis, du calice et de la corolle, à l'exception du pétiole, du pistil et des étamines. Trois types de trichomes glandulaires morphologiquement distincts sont décrits. Les trichomes peltés, constitués d'une cellule basale, d'une tige et d'une tête à 12 cellules, sont répartis sur la tige, la feuille, la corolle et la face externe du calice. Les trichomes capités, constitués d'une base unicellulaire, d'une tige à 1–2 cellules et d'une tête unicellulaire, sont distribués de manière plus diffuse que ceux peltés, existant sur la tige, la feuille, le rachis et le calice. Les trichomes digitiformes se retrouvent sur la face externe de la corolle, consistant en une cellule basale, 3 cellules pédonculées et 1 cellule tête. Les trois types de trichomes glandulaires peuvent sécréter de l'huile essentielle qui est stockée dans un grand espace sous-cuticulaire, libérée par la rupture des cuticules, tandis que, dans d'autres trichomes capités, l'huile essentielle traverse la fine cuticule.

Selon **Marin et al. (2008)**, deux types de trichomes glandulaires sont identifiés : peltés et capités dans *Thymus lykæ* Degen & Jav (Serbie: Belgrade). **Bruni et Modenesi (1983)** ont étudié de manière intensive les trichomes et leur développement chez *Thymus vulgaris* par microscopie conventionnelle, fluorescente et électronique. Les trichomes glandulaires peltés sont composés d'une cellule pédonculaire basale, d'une cellule «endodermique» qui empêche le reflux de substances sécrétées à travers l'apoplaste et d'une tête de glande formée de 10 à 14 cellules sécrétoires dont les principales caractéristiques cytologiques sont un noyau relativement gros et de petites vacuoles osmiophiles. Les huiles essentielles sont produites dans les cellules sécrétrices et sont sécrétées dans l'espace sous-cuticulaire, où elles sont stockées.

La signification écologique des trichomes peltés est liée à leur mécanisme de défense constitutif, car ils accumulent les substances sécrétées. En revanche, les trichomes capités présentent des mécanismes consécutifs/induits, car certains d'entre eux peuvent émettre les substances qu'ils produisent directement dans l'environnement (**Maffei, 2018**).

Selon **Maleci et Giuliani (2006)**, la composition chimique de la sécrétion est indépendante de la morphologie des trichomes. Les trichomes peltés sont généralement considérés comme le site de synthèse et de stockage de l'huile essentielle, mais ils peuvent produire plusieurs autres substances comme les polysaccharides, les polyphénols, les diterpènes, les triterpènes, etc. Une huile essentielle peut être également produite et stockée par les poils capités qui, dans plusieurs cas, doivent être considérés comme aussi importants que les poils peltés dans la production d'huile essentielle.

Les espèces appartenant à la famille des *Labiatae* se caractérisent par la présence de trichomes glandulaires. Les glandes les plus communes et les plus décrites sont les poils peltés et capités. Les premiers sont considérés comme le site de stockage des huiles essentielles; concernant le second, il existe une incertitude sur la composition chimique de la sécrétion, qui contient probablement des polysaccharides et de petites quantités d'huile essentielle. Cependant, il existe des plantes, dépourvues de trichomes peltés, qui produisent de l'huile essentielle dans certains types de trichomes capités (**Kasiol, 1998**).

Chez les lamiacées, les huiles essentielles sont stockées dans des trichomes glandulaires peltés. Ils sont situés sur la surface épidermique des deux côtés des feuilles et présentent une anatomie très typique (**Stahl-Biskup et Saez, 2002**). Dans de nombreuses lamiacées, on trouve deux principaux types de trichomes glandulaires, les capités et les peltés, décrits selon la forme de la tête de la glande. La tête des poils capités se compose de 1 à 4 cellules sécrétoires plus ou moins arrondies, généralement orientées horizontalement, sous-tendues par une tige, une à plusieurs cellules longues et une cellule basale. La cellule de la tête peut parfois être très grande, comme chez certaines espèces de *Salvia* (**Werker et al., 1985**). La tête des poils peltés (écailles glandulaires) se compose de 4 à 18 cellules plus aplaties sur un plan horizontal, sous-tendues par une cellule pédonculaire et une cellule basale. Ainsi, des formes intermédiaires peuvent être observées (**Callow et al., 2000**). Il est probable que les poils peltés interviennent surtout dans la production d'huile essentielle. Quant aux poils sécréteurs capités du type I, ils joueraient un rôle dans la croissance des jeunes organes de la plantule (**Arnold et Bellomaria, 1993**).

## **Conclusion**

En conclusion, dans le présent chapitre, les caractéristiques macro- et micro-morphologiques des trois espèces étudiées (*S. verbenaca*, *A.iva* et *T. algeriensis*,) ont été déterminées. Ces caractères ont été étudiés pour la première fois, pour les espèces récoltées en Algérie et plus précisément dans la région de Djelfa, connue pour être une région steppique des hauts plateaux, et les résultats obtenus lors de cette étude peuvent constituer une base de données pouvant servir à identifier morphologiquement les espèces étudiées.

## Chapitre IV. Caractérisation phytochimique

### Introduction

Les phytoconstituants sont les composés bioactifs naturels trouvés dans les plantes. La phytochimie, une discipline distincte quelque part entre la chimie organique et la biochimie végétale, est étroitement liée aux produits naturels.

Les plantes peuvent être considérées comme un laboratoire de biosynthèse, non seulement leurs composés chimiques tels que les glucides, les protéines et les lipides, sont utilisés comme nourriture par les hommes, mais aussi une multitude de composés comme les glycosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, etc. sont utilisés comme médicaments, par l'homme de diverses manières et moyens. Avec le développement de la chimie des produits naturels, le potentiel de la chimiotaxonomie est de plus en plus évident. L'application de données chimiques à la systématique (les substances isolées ont un intérêt primordial en chimiotaxonomie, certaines d'entre elles, substances fondamentales, sont communément répandues dans le règne végétal pour avoir un intérêt systématique), a reçu une attention sérieuse d'un grand nombre de biochimistes et botanistes. Les constituants chimiques peuvent être thérapeutiquement actifs ou inactifs. Plusieurs enquêtes phytochimiques ont été menées pour détecter divers groupes de composés phytochimiques naturels. L'approche de recherche est considérée comme efficace pour découvrir le profil bioactif des plantes d'importance thérapeutique (**Masih et Singh, 2012**).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur l'espèce *Thymus algeriensis* (**Dob et al., 2006 ; Giordani et al., 2008 ; Hazzit et al., 2009 ; Mehalaine et al., 2017**) en Algérie, issues des régions de Médéa, Souk aharas, Ain Beida et Chlef. Par contre, très peu se sont intéressés à la l'espèce originaire de la région de Djelfa. Citons l'exemple de l'étude menée par **Benabed et al. (2017)**. De la même manière, il y a un manque d'études menées sur les deux autres espèces (*Ajuga iva* et *Salvia verbenaca*) originaires de la région de Djelfa. Cette raison nous a amené à choisir ces trois espèces.

L'objectif de notre travail est de mener une étude phytochimique sur les trois espèces *Salvia verbenaca* (*S.verbenaca*), *Ajuga iva* (*A.iva*) et *Thymus algeriensis* (*T.algeriensis*). Cette étude comporte la préparation des extraits et des huiles essentielles, le criblage phytochimique, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, l'analyse par CG/SM et l'analyse par head space SPME CG/SM. Headspace CG /SM est une technique CG /SM spéciale utilisée pour analyser les composés volatils. Un échantillon est placé dans un récipient d'échantillonnage scellé,



chauffé en utilisant un profil de température connu, et la vapeur dans le récipient est échantillonnée pour analyse.

## IV.1. Matériel et méthodes

### IV.1.1. Récolte et séchage

Dans notre étude on s'est intéressé aux parties aériennes de trois plantes aromatiques et médicinales de la région de Djelfa à savoir : *S. verbenaca*, *A. iva* et *T. algeriensis*. La partie aérienne de chaque plante a été récoltée durant le mois de mai des années 2017 et 2018, et du mois de mars de l'année 2019. *S. verbena* et *T.algeriensis* ont été récoltées de la station de Toghersane, alors que la plante *A.iva* a été récoltée de la station d'Elfeidja (tableau IV.1.).

**Tableau IV.1.** Caractéristiques climatiques et localisation des stations d'échantillonnage

Stations	Longitude	Latitude	Altitude (m)	Etage bioclimatique	Date de récolte	Analyse phytochimique
Toghersane	2° 47'10"E	34° 35'6"N	1393	Semi-aride frais	2017	Criblage+ dosage
					2018	CG/ SM
Elfeidja	2° 54'15" E	34° 29'55" N	1305		2019	Headspace/CG/SM

Après la récolte du matériel végétal, nous avons procédé au séchage à température ambiante et à l'air libre. Ensuite, les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### IV.1.2. Méthodes d'extraction

#### IV.1.2.1. Extraction de l'huile essentielle (HE)

Les HEs de la partie aérienne de *S. verbaneca*, *A. iva* et *T. algeriensis* ont été extraites par hydrodistillation, selon la méthode décrite par **Clevenger (1928)**. Elle consiste à immerger directement la matière végétale broyée (60g) dans un ballon rempli d'eau distillée (600ml) surmonté d'une colonne reliée à un réfrigérant. Le tout est ensuite porté à ébullition pour une durée de 3h. Les vapeurs sont condensées sur une surface froide. Le distillat est récupéré, puis la phase organique est séparée de la phase aqueuse par ether diéthylique. L'huile essentielle a été stockée à froid à l'obscurité jusqu'à son utilisation.

#### **IV.1.2.2. Préparation de l'extrait aqueux**

L'extrait aqueux de la partie aérienne de la plante a été préparé selon la méthode de **Ljubuncic et al. (2005)**. Brièvement, 30g de la partie aérienne de la plante sont mis à bouillir dans 300ml d'eau distillée pendant 20mn. Après filtration, l'extrait récupéré est soumis à une centrifugation. La solution obtenue est lyophilisée pour obtenir une poudre jaune qui est conservée à froid jusqu'à son utilisation.

#### **IV.1.2.3. Préparation de l'extrait méthanolique**

Pour l'extrait méthanolique, 30g de la partie aérienne de la plante sont mis à macérer dans 250ml de méthanol absolu pendant 24h avec agitation, puis filtration et évaporation par Rotavapor, l'extrait obtenu est conservé à froid jusqu'à son utilisation.

#### **IV.1.2.4. Calcul du rendement**

Le pourcentage en extraits a été calculé par la formule suivante :  $R (\%) = M / M_0 \times 100$

**R** : Rendement exprimé en % ;

**M**: Masse en gramme de l'extrait ;

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

#### **IV.1.3. Criblage phytochimique**

Le criblage phytochimique a été effectué, selon le protocole de **Trease (1980)**, sur les extraits aqueux et méthanoliques de chaque plante; cette étude consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs :

- a. Test des alcaloïdes** : Une quantité de 2mg du matériel végétal est mise dans un bécher de 50mL avec 10mL d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (10%), l'ensemble est porté sur un agitateur pendant 3h. Ensuite, le mélange est filtré et réparti dans deux tubes. On ajoute, dans le premier tube, 1mL de filtrat plus 5 gouttes du réactif de Mayer, un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité blanc-jaunâtre. Dans le deuxième tube, 1 mL de filtrat plus 5 gouttes du réactif de Wagner. S'il apparait un précipité brun, donc on est en présence d'alcaloïdes.

**b. Anthraquinones libres (Réaction de Borntrager):** On ajoute 2,5mL d'une solution de l'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ , 20%), à 5mL de l'extrait méthanolique ou aqueux puis on agite le mélange. L'apparition d'une coloration plus ou moins rouge indique la présence des anthraquinones libres.

**c. Triterpènes (Test de Libermann-Burchard):** Addition de trois gouttes d'anhydride acétique (98.5%), après agitation on rajoute 1goutte  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré (98%). Le changement est observé en une heure : la coloration rouge- violet indique la présence des triterpènes.

**d. Flavonoïdes :** La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 2,5mL de l'extrait méthanolique ou aqueux avec 0,5mL d' $\text{HCl}$  concentré et quelques copeaux de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est mise en évidence si la couleur rose ou rouge se développe après 3mn.

**c. Tanins:** La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1mL de l'extrait méthanolique ou aqueux, 2mL d'eau et 3 gouttes de solution de Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) diluée à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (Tanins galliques), vert ou bleu-verte (Tanins catéchiques).

**d. Composés réducteurs :** La détection des composés réducteurs consiste à traiter 1mL de l'extrait méthanolique ou aqueux avec 2mL d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis on chauffe le mélange. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.

**e. Détection des Stérols :** On met quelques millilitres d'extrait des trois espèces, méthanolique ou aqueux, dans des boites de Pétri et on laisse sécher pendant 24h à la température ambiante, puis on dissout le produit dans 12ml de chloroforme, puis on répartit le filtrat dans deux tubes à essais : Tube 1 (témoin) et Tube 2 (Test de Salkowski). On ajoute quatre gouttes  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , le changement de coloration est immédiat, un anneau rouge indique la présence des stérols insaturés.

**f. Saponosides :** La détection des saponosides est réalisée en ajoutant quelques gouttes d'eau à 2mL de l'extrait aqueux, puis on agite le mélange. Après 20mn, la teneur en saponosides est évaluée selon les critères suivants : Pas de mousse = Test négatif ; Mousse de 1-2 cm = Test positif.

#### **IV.1.4. Dosage des phénols totaux**

La quantité de composés phénoliques totaux dans les extraits a été déterminée par la procédure Folin-Ciocalteu (**Zairi et al., 2018**), en utilisant l'acide gallique comme standard. 0,25mL de l'échantillon a été combiné avec 1,25mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois) et 1mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 mg/mL). Après incubation à 40°C pendant 40mn, l'absorbance du mélange a été mesurée à 765 nm contre un blanc sans l'échantillon. Toutes les déterminations ont été effectuées en triple et la quantification a été effectuée sur la base de la courbe standard de l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extraits.

#### **IV.1.5. Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode rapportée par **Jia et al. (1999)**, en utilisant la quercétine comme composé de référence. Les extraits (250µl), l'eau distillée (1250µl) et l'iodure de sodium Na<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> (75µl à 5%) ont été agités. Ensuite, 150µl d'AlCl<sub>3</sub> (10%) ont été ajoutés et laissés au repos pendant 6mn avant d'ajouter 500µl de NaOH (1M) et 250µl d'eau distillée. Le mélange est maintenu à température ambiante pendant 15mn; l'absorbance a ensuite été enregistrée à 510nm. La teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en milligrammes d'équivalent Quercétine (EQ) par gramme d'extrait. L'analyse de chaque échantillon a été réalisée en triple.

#### **IV.1.6. Analyse chimique par CG/SM**

L'analyse a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (CG) (Agilent technologies 7890A Gas) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), utilisée pour les séparations de composés avec une colonne capillaire HP5 (30m × 0,32mm, épaisseur de film 0,40µm). Le programme de température du four était le suivant : 2mn à 80°C, de 80°C à 200°C à raison de 5°C/min, puis 5mn à 200°C, puis de 200°C à 260°C à raison de 20°C/mn, puis 5mn à 260°C. Les températures du détecteur et de l'entrée étaient de 280°C. L'hydrogène a été utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 1mL/mn avec un rapport de division 70/1. Les injections sont de 1µL d'huile essentielle dans le chlorure de méthylène (50mg d'huile essentielle dans 1mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Les indices de rétentions des constituants sont calculés par rapport à une série d'alcane (C<sub>8</sub> à C<sub>26</sub>) analysée dans les mêmes conditions opératoires que celles des échantillons.

#### IV.1.7. Analyse chimique par headspace-SPME/CGSM

Les trois plantes ont été soumises à l'analyse par headspace et micro-extraction en phase solide couplée à la chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse HS-SPME/CGSM selon le protocole **Asakawa et al. (2017)** avec une légère modification. Les parties aériennes séchées d'*A. iva*, *S. verbenaca* et *T. algeriensis* ont été coupées en petits morceaux (environ 0,1g) et conservées dans un flacon (20ml) complètement fermé. Le gaz HS a été absorbé sur une fibre de type PDMS (épaisseur de film de 100µm, Supelco) à 25°C pendant 1h. Ensuite, la fibre a été introduite dans un injecteur du système 6890 GC (Agilent Technologies) équipé d'une colonne DB-1MS (60m × 0,25mm de diamètre intérieur, 0,25 µm d'épaisseur de film, Agilent Technologies). Le programme de température du four a été réglé à 60°C avec 3mn de maintien initial puis augmenté à 100°C à un taux de 10°C/mn puis augmenté à 200°C à un taux de 5°C/mn et maintenu à 3mn et augmenté à 260°C à un taux de 15°C/mn, puis porté à 300°C à un taux de 20°C/mn. Le programme de température du four après analyse a été réglé à 310°C avec un maintien de 3mn. Le gaz vecteur était de l'hélium avec un débit constant de 1mL/mn sans séparation. Un détecteur sélectif de masse 5973 (Agilent Technologies) a été utilisé dans des conditions d'impact d'électrons à une énergie d'ionisation de 70 eV en mode de balayage à m/z 40-500 avec 3 balayages. Les températures de l'injecteur, de la ligne de transfert et de la source d'ions ont été fixées à 250°C, 280°C et 230°C, respectivement.

### IV.2. Résultats et discussion

#### IV.2.1. Rendement d'extraction

##### IV.2.1.1. Rendement d'extraction de *S. verbenaca*

Les résultats de rendement en huile essentielle, extrait aqueux et extrait méthanolique de *S. verbenaca* sont présentés dans le tableau IV.2 :

**Tableau IV.2.** Rendement et caractéristiques des extraits et huile essentielle de *S.verbenaca*

	<b>Nature physique</b>	<b>Couleur</b>	<b>Rendement (%)</b>
<i>Extrait aqueux</i>	solide	Jaune marron	7,66
<i>Extrait méthanolique</i>	Semi-solide	Vert	5,33
<i>Huile essentielle</i>	liquide	Jaune	0,09

D'après les résultats mentionnés ci-dessus, on constate que les différentes méthodes d'extraction ont donné un rendement de 7,66% de l'extrait aqueux et 5,33% de l'extrait méthanolique. Alors que l'hydrodistillation a donné un rendement faible en huile essentielle de 0,09%. En comparant nos résultats avec ceux trouvés dans la littérature (tableau IV.3), on

constate que le rendement en HE de notre plante s'accorde avec les résultats de **Ben Taarit et al. (2009)** qui ont étudié la composition chimique de l'espèce *S. verbenaca* originaire de trois régions de la Tunisie, l'extraction par hydrodistillation a donné un rendement de 0,09 ; 0,1 et 0,12%, respectivement pour Sabelet Ben Ammar, Sers et Soma. Selon **Senatore et al. (1997)**, le pourcentage de rendement en HE des parties aériennes de *S. verbenaca* permet l'attribution de cette espèce à un représentant pauvre en huile essentielle de la famille des Lamiacées.

De même, peu d'études ont été rapportées sur l'extraction de l'HE de *S. verbenaca*, **Al-Howiriny (2002)** a rapporté un rendement de 0,12% d'une plante originaire d'Arabie Saoudite. Une autre étude menée par **Aissaoui et al. (2014)** sur une plante de *S. pseudojamaniaca* originaire d'Algérie a rapporté un rendement de 0,25% tenant en compte que ce dernier a été obtenu par la méthode d'entraînement à la vapeur.

La variation de rendement en HE peut être influencée par plusieurs facteurs ce qui a été prouvé par les études suivantes : **Chalchat et al. (1998)** ont signalé l'effet de l'origine de la plante sur la teneur en HE dans une étude effectuée sur une plante appartenant au même genre (*S. officinalis*) récoltée de plusieurs endroits [France (2,05%), Roumanie (2,30%), Hongrie (2,50%) et Portugal (2,90%)]. De même pour **Perry et al. (1999)** qui ont rapporté que le rendement en HE de différentes parties de *S. officinalis* originaire de Nouvelle Zélande est variable selon la partie soumise à l'extraction, les tiges (0,05%), les feuilles (1,11%) et fleurs (1,56%). Les auteurs ont rapporté que le rendement en HE dépend de la quantité du matériel utilisé et qu'il ne varie pas considérablement avec la saison.

**Tableau IV.3.** Comparaison des rendements d'extraction des espèces du genre *Salvia*

Espèce	Origine	date de récolte	Partie utilisée	E. aqueux (%)	E. méthanolique (%)	HE (%)	Références
<i>S.verbenaca</i>	Arabie Saoudite	février	Partie aérienne	-	-	0,12%	Al-Howiriny (2002)
<i>S.verbenaca</i>	Tunisie	Avril	Partie aérienne	-	-	0,09-0,12	Ben Taarit et al. (2008)
<i>S.pseudojamaniaca</i>	Algérie	Avril	Partie aérienne	-	-	0,25	Aissaoui et al. (2014)
<i>S.africana-caerulea</i>	Johannesburg (Afrique du Sud)	-	-	-	-	0,17%	Fischer (2005)
<i>S.africana-lutea</i>	Johannesburg (Afrique du Sud)	-	-	-	-	0,32	Fischer (2005)

#### IV.2.1.2. Rendement d'extraction d'*A. iva*

Les résultats des rendements en HE, extrait aqueux et extrait méthanolique sont présentés dans le tableau IV.4. On constate que l'extrait aqueux a donné un rendement de 24,3% trois fois plus que l'extrait méthanolique, ce dernier a donné un rendement de 7%. Cependant, il convient de signaler que notre espèce n'a donné aucun rendement en huile essentielle après l'épuisement avec l'hydrodistillation.

**Tableau IV.4.** Rendement et caractéristiques des extraits d'*A. iva*

	<b>Nature physique</b>	<b>couleur</b>	<b>Rendement (%)</b>
<i>Extrait aqueux</i>	solide	Jaune marron	24,3
<i>Extrait méthanolique</i>	Semi-solide	vert	7
<i>Huile essentielle</i>	-	-	00

En revanche, peu d'études ont été faites sur l'extraction de l'huile essentielle de cette plante (tableau IV.5), à titre d'exemple, l'étude menée par **Chouitah et al. (2017)** rapporte un rendement en HE de 0,33% d'*A. iva* originaire de Mascara (Algérie). De plus, le rendement en extrait méthanolique de notre espèce est inférieur à celui rapporté par **Makni et al. (2013)**. Le rendement en extrait aqueux de notre espèce est supérieur à celui rapporté par **Makni et al. (2013)** et **Mouheb et al. (2018)**, sachant que **Makni et al. (2013)** ont utilisé l'extraction fractionnée des feuilles d'*A. iva*. Cependant, ce rendement en extrait aqueux est proche de ceux rapporté par **Taleb-Senouci, (2009)** et **Bahi et Nacib (2014)**.

On peut voir que l'extrait aqueux d'*A. iva* originaire d'Algérie présentait le rendement le plus élevé (15,66%) par rapport à celui obtenu avec 80% de méthanol (9,42%) (**Medjeldi et al., 2018**). Cette constatation est conforme à certaines études qui démontrent que les taux de rendement d'extraction des polyphénols effectués avec de l'eau sont supérieurs à ceux atteints avec des solvants (**Khelifi et al., 2011 ; Kallel et al., 2014**). A titre d'exemple, les rendements d'extraction déterminés à partir d'*A. iva* cités dans les travaux de **Bendif et al. (2017)** étaient, respectivement, de l'ordre de 2,3%, 2,6% et 24% d'extraits d'acétone, d'éthanol et d'eau. Dans la plupart des cas, le rendement d'extraction semble être influencé par le degré de polarité du solvant, ainsi que par le degré de polarité des différents composants de l'extrait tels que les constituants phénoliques (**Medjeldi et al., 2018**).

**Tableau IV.5.** Comparaison du Rendement d'extraction de l'espèce *A. iva*

Origine	date de récolte	Partie utilisée	E. aqueux (%)	E. méthanolique (%)	HE (%)	Références
Algérie	Avril-juillet	Partie aérienne	16	-	-	Mouheb et al. (2018)
Tunisie	-	feuilles	12,4	15	-	Makni et al. (2013)
-	-	-	25	-	-	Taleb-Senouci (2009)
Algérie (Mascara)	Mai	feuilles	-	-	0,33	Chouitah et al. (2017)
Algérie (Colo)	-	Plante entière	25	-	-	Bahi et Nacib (2014)

**IV.2.1.3. Rendement d'extraction de *T. algeriensis***

Les résultats du rendement en huile essentielle, extrait aqueux et extrait méthanolique sont présentés dans le tableau IV.6. On constate que le rendement en extrait méthanolique est proche de celui de l'extrait aqueux. En revanche, l'hydrodistillation a donné un rendement de 1,5%.

x

**Tableau IV.6.** Rendement et caractéristiques des extraits et HE de *T. algeriensis*

	Nature physique	Couleur	Rendement%
<i>Extrait aqueux</i>	solide	Jaune marron	13
<i>Extrait méthanolique</i>	Semi-solide	Vert	11
<i>Huile essentielle</i>	liquide	jaune	1,5

En comparant séparément les rendements en HE et extraits obtenus au cours de notre étude avec ceux rapportés dans la littérature (tableaux IV.7), nous avons fait les constatations suivantes:

Le rendement en HE de notre plante est supérieur à ceux rapportés par **Dob et al. (2006)** (1,13%) et **Hazzit et al. (2009)** (0,4%). **El Ouariachi et al. (2014)** a signalé un rendement égal à 0,5%, sachant que ce dernier a été obtenu par l'extraction des feuilles de la même espèce. Une autre étude (**Amarti et al., 2010**), rapporte un rendement de 0,3%. En ce qui concerne notre résultat, celui-ci est proche de celui rapporté par **Ouakouak et al. (2015)** (1,3%), en revanche, le rendement en HE est inférieur à celui de **Zayyad et al. (2014)** (2,96%) originaire du Maroc. En Tunisie, l'extraction a donné un rendement de 2,36 à 10,82 % (**Guesmi et al., 2014**) ; de 2,4 à 17% (**Guesmi et al., 2019**). En libye, un rendement de 2,5% a été rapporté (**Giweli et al., 2013**).



**Tableaux IV.7.** Comparaison du rendement d'extraction de *T. algeriensis*

Origine	date de récolte	Partie utilisée	E. aqueux (%)	E. méthanolique (%)	HE (%)	Références
Maroc	Avril-mai	aérienne	-	-	2,96	Zayyad et al. (2014)
Tunisie	mars	aérienne (fleurs)	-	15-24,2	2.36-10.82	Guesmi et al. (2014)
M'sila (Algérie)	Avril	aérienne (feuilles+fleurs)	-	-	1,3	Ouakouak et al. (2015)
Tunisie	-	aérienne	-	-	2,4-17	Guesmi et al. (2019)
Libye	Avril	aérienne	-	-	2,5	Giweli et al. (2013)
-	-	-	-	-	0,4	Hazzit et al. (2009)
-	-	-	-	-	1,13	Dob et al. (2006)
Maroc	Mai	aérienne	18	-		Beyi et al. (2015)
Maroc	Mars	feuilles	-	-	0,5	El-Ouariachi et al. (2014)
Maroc	Avril	aerienne	-	-	0,3	Amarti et al. (2010)
Tunisie (jbel Orbata-Gafsa)	-	aérienne	-	-	2,3	Guesmi et al. (2014)

Pour l'HE notre résultat est du même ordre de grandeur que les études rapportées sur des espèces appartenant au genre *Thymus* à savoir *T. zygis* et *T. bleicherianus* originaire du Maroc (0,3% et 1,8%, respectivement) (Zayyad et al. 2014) ; *T. broussonetti* a donné un rendement de 1,5% (Maroc). *T. satureioides* de 1,35% à 2,32% en relation avec l'altitude (Salhi et al., 2018).

Quant à l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique, peu d'études ont fait état des rendements qui s'y rapportent, citons l'étude menée par Guesmi et al. (2014) qui ont montré que le rendement en extrait méthanolique varie entre 15 et 24,2% d'une espèce originaire de Tunisie, en utilisant le procédé de soxlet. Concernant l'extrait aqueux, le rendement de notre échantillon est plus proche de celui obtenu au Maroc (18%) (Beyi et al., 2015).

McGimpsey et al. (1994) ont montré que la variation saisonnière a un effet significatif sur le rendement de l'huile de *T. vulgaris*. Le rendement en huile est culminé après la fin de la floraison. L'augmentation du rendement en herbes fraîches et de la teneur en huile de la plante au printemps a coïncidé avec la croissance de nouvelles feuilles et le début de la floraison. La séparation du matériel foliaire (plus les fleurs et les capsules de graines en saison) de la tige par séchage et frottement a montré que le rapport feuille/tige a atteint un pic de 0,24% de rendement en novembre contre un minimum de 0,12% en mai. Salhi et al. (2018) ont rapporté qu'il y a un

effet positif de l'altitude sur le rendement en huile essentielle de *T. satureioides* Cosson originaire du Maroc à savoir 1240m (2,32%), 1050m (2,16%), 1020 m (2,02%), 850 m (1,35%). **Messaoudi et al. (2019)**, quant à eux, ont rapporté que l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* a un rendement de 9,42%. Les différences obtenues au niveau des rendements peuvent être attribuées aux conditions climatiques et/ou édaphiques (facteur écologique lié au sol) ainsi qu'au stade végétatif de la plante (**Moldão et al., 1999**). La teneur en HE dépend aussi de la technique d'extraction, le cycle végétatif (la période de la cueillette de la plante) et l'origine de la plante (**Fellah et al., 2006**). L'altitude, l'état édaphique du sol et le stade bioclimatique affectent la variation du rendement en pourcentage (**Guesmi et al., 2019**).

Les différences de rendement en HE d'un organe à un autre ou d'une espèce à une autre ont été rapportées. Selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en HE (**Vekiari et al., 2002 ; Karousou et al., 2005 ; Kouamé-Bi, 2012**). Le début de floraison est la période la plus propice à l'obtention du meilleur rendement en HE et de la teneur la plus élevée en thymol chez *T. vulgaris* (**Badi et al., 2004 ; Sefidkon et al., 2009**). Les variations du rendement et du polymorphisme chimique des HE entre les trois plantes, peuvent être dues à divers conditions, l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte et le stade végétatif de la plante (**Smallfield, 2001**).

#### **IV.2.2. Criblage phytochimique**

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des différents extraits a permis de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques représentés dans les tableaux IV.8 et IV.9. La mise en évidence de divers groupes de substances existants dans les trois espèces étudiées a été basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactions spécifiques.

**Tableau IV.8.** Résultats du criblage phytochimique de l'extrait aqueux

Composés	<i>S.verbaneca</i>	<i>T.algeriensis</i>	<i>A.iva</i>
Les alcaloïdes	++	++	-
Les Stérols	-	-	-
Flavonoïdes	+++	+++	+++
Les Triterpènes	-	-	-
Tanins	+++	+++	+++
Les saponosides	-	-	-
Composés réducteurs	+	+	-
Antraquinones	-	+++	-

(+++) Très abondant, (++) Moyenne, (+) Faible, (-) Absent.

**Tableau IV.9.** Résultats du criblage phytochimique de l'extrait méthanolique

Composés	<i>S.verbaneca</i>	<i>T.algeriensis</i>	<i>A.iva</i>
Les alcaloïdes	+++	+++	-
Les Stérols	-	-	-
Flavonoïdes	+++	+++	+++
Les Triterpènes	-	-	-
Tanins	+++	+++	+++
Les saponosides	-	-	-
Composés réducteurs	++	++	-
Antraquinones	-	+++	-

(+++) Très abondant, (++) Moyenne, (+) Faible, (-) Absent.

D'après les résultats présentés dans les deux tableaux ci-dessus, on constate que les stérols, les saponosides et les triterpènes sont absents dans les extraits aqueux et méthanolique des trois plantes alors que les flavonoïdes et les tannins sont très abondants. De même, les anthraquinones sont très abondantes dans les extraits aqueux et méthanolique de *T. algeriensis*. Les composés réducteurs sont absents dans les extraits aqueux et méthanolique d'*A. iva*, alors qu'ils sont présents en teneur moyenne dans les extraits méthanoliques et en teneur faible dans les extraits aqueux de *S. verbaneca* et *T. algeriensis*. Les alcaloïdes sont absents dans les extraits aqueux et méthanolique d'*A. iva*. Ils sont très abondants dans les extraits méthanoliques de *S. verbaneca* et *T. algeriensis* alors qu'ils sont présents en teneur moyenne dans les extraits aqueux de *S. verbaneca* et *T. algeriensis*.

**Belmekki et al. (2012)** ont signalé la présence d'une petite quantité de tanins et l'absence de saponines, d'amidon dans l'extrait aqueux de *S. verbenaca*. Ils ont également signalé la présence de flavonoïdes (+++) dans l'extrait éthanolique, la présence de tanins (+), l'absence d'alcaloïdes, de coumarines, d'antracénosides, d'anthocyanosides et de composés réducteurs.

**Sayout et al. (2015)**, quant à eux, ont révélé l'abondance de tannins, de flavonoïdes, de sucres réducteurs, de quinones, de terpenoïdes, de stéroïdes et de diterpenoïdes chez les espèces étudiées originaires du Maroc. Par contre, l'absence des alcaloïdes, d'anthocyanines, et de leucoanthocyanines a été signalée. Cependant, les composés coumarins ont été uniquement détectés dans les feuilles et tiges de *T. broussonetti* Boiss. et les tiges de *T. maroccanus* Ball. ; l'absence de caroténoïdes dans les tiges de *T. pallidus* Batt. et de saponines dans les tiges de *T. broussonetti* et des feuilles de *T. maroccanus*, a été rapportée.

**Rezzoug et al. (2019)** ont rapporté l'abondance des tanins dans l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique et l'abondance des saponines dans l'extrait aqueux. Cependant, l'absence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes, des carbohydrates, des protéines a été signalée, alors que pour l'extrait chloroformique, on a absence totale des composés testés ; les flavonoïdes ont été présents dans l'extrait éthanolique et l'extrait ethyl acetate, les stéroïdes ont été présents dans l'extrait éthanolique. D'autres auteurs tels que **Zairi et al. (2018)**, ont rapporté la présence de saponines, de coumarines, de terpenoïdes, de carbohydrates dans l'extrait méthanolique des fleurs de *T. algeriensis* originaire de Tunisie, et la présence de saponines, de terpenoïdes, de carbohydrates dans les feuilles de l'extrait méthanolique. Cependant, l'extrait aqueux des fleurs de cette plante est riche en saponines, alcaloïdes, anthocyanines et coumarines, alors que les terpenoïdes et les carbohydrates sont absents dans le même extrait. L'extrait aqueux des feuilles a révélé la présence de saponines, d'alcaloïdes et de coumarines et l'absence d'anthocyanines, de terpenoïdes, et de carbohydrates dans le même extrait. Selon les mêmes auteurs, l'extrait méthanolique des fleurs donne les mêmes résultats que l'extrait méthanolique de *T. capitatus*.

#### **IV.2.3. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes**

Les analyses quantitatives (tableau IV.10) des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EAG/g ES. Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la quercétine comme standard. Ils sont exprimés en termes de mg EQ/g ES.

**Tableau IV.10.** Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes

	E. méthanolique			E. aqueux		
	<i>T.algeriensis</i>	<i>A.iva</i>	<i>S.verbenaca</i>	<i>T.algeriensis</i>	<i>A.iva</i>	<i>S.verbenaca</i>
Phénols totaux (mg EAG/g ES)	32,7± 0,5	50,6±0,1	41,5±0,9	17,3±0,1	40,2±0,3	29,3±0,7
Flavonoïdes (mg EQ/g ES)	20,5±0,8	71,4±0,2	21,3±0,2	9,5±0,3	55,6±0,5	42,5±0,3

Le dosage des phénols totaux dans l'extrait méthanolique des trois espèces montre que la teneur la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait de l'espèce *Ajuga iva*, avec une valeur de 50,6mg EAG/g ES suivi par *S.verbenaca* et *T.algeriensis* avec 41,5mg EAG/g ES et 32,7mg EAG/g ES, respectivement. Le dosage des flavonoïdes a révélé que l'extrait méthanolique de l'espèce *Ajuga iva* renferme un maximum de flavonoïdes, avec un taux de 71,4 mg EQ/g ES. Cependant, les extraits de *S.verbenaca* et *T.algeriensis* renferment un minimum de flavonoïdes, avec des teneurs de 21,3 mg EQ/g ES et 20,5 mg EQ/g ES, respectivement. Quant à l'extrait aqueux, les résultats montrent que l'extrait d'*A. iva* contient une teneur en phénols totaux supérieure à celles de *S.verbenaca* et *A.iva*. De plus, les extraits d'*A. iva* et de *S.verbenaca* contiennent des valeurs de 55,6mg EAG/g ES et 42,5mg EAG/g ES, respectivement. Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait aqueux de *T.algeriensis* (9,5 mg EQ/g ES).

D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction et de l'espèce étudiée. **Saad et al. (2019)** rapportent que la différence est certainement due à la polarité de chaque solvant pour entraîner les composés phénoliques. En comparant nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature, on remarque que le taux en phénols totaux s'accorde avec ceux rapportés par **Jaouadi et al. (2019)** qui ont montré que l'extrait méthanolique de *T.algeriensis* originaire de Tunisie contient une teneur en composés phénoliques totaux variant de 8,9 à 34,4mg GAE/gMS. Toutefois, ils rapportent des teneurs moindres en flavonoïdes que celles dans nos extraits variant de 2,8 à 10,6 mg ER/g MS qui restent inférieurs à notre résultat. Nos résultats ne s'accordent pas avec ceux rapportés par **Messaoudi et al. (2019)**. Ces auteurs ont rapporté que la teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique de *T.algeriensis* originaire d'Algérie est égal à 79,45 mg EAG/g, alors que dans l'extrait éthanolique elle est de l'ordre de 67,13 mg EAG/g. La teneur en flavonoïdes est égale à 36,18 (mg EQ/g) dans l'extrait méthanolique, cependant elle est égale à 25,04 (mg EQ/g) dans l'extrait éthanolique. **Ziani et al. (2018)**, ont démontré que, contrairement aux extraits aqueux (dominés par les flavones), l'extrait hydroalcoolique de *T.*

*algeriensis* était principalement riche en acide rosmarinique. En outre, **Rezzoug et al. (2019)** ont rapporté une teneur en phénols totaux et en flavonoïdes, dans l'extrait éthanolique de *T.algeriensis*, égale à 125mg/g d'extrait et 118mg/g d'extrait, respectivement. **Brahmi et al. (2015)** ont trouvé, dans l'extrait méthanol/eau, 248,8 mg EAG/g ES de phénols totaux et 240,3 mg EAG/g ES dans *T. capitatus*. **Sayout et al. (2015)** ont reporté une variabilité de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux et méthanoliques de quatre espèces appartenant au genre *Thymus* à savoir : la teneur la plus élevée en polyphénols totaux a été enregistrée dans l'extrait méthanolique des tiges de *T.broussonetti* (219,87mg EAG/g ES) et *T. maroccanus* (125,87mg EAG/g ES). La teneur la plus élevée en flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait méthanolique des tiges *T.broussonetti* (24,46 mg EQ/g). Les mêmes auteurs ont également rapporté une variabilité de la teneur en flavonoïdes, en polyphénols et en tannins dans les tiges et les feuilles des espèces étudiées dont la majorité des teneurs élevées ont été enregistrées dans les extraits des tiges supérieures à celles des feuilles.

L'étude de **Zairi et al. (2018)** rapporte que le décocté des fleurs de *T.algeriensis* de Tunisie contient 195,26 mg EAG/g en phénols totaux et 168,55 mg EC/g en flavonoïdes. Cependant le décocté des feuilles contient 197,74 mg EAG/g et 297,15 EC/g. De plus, l'extrait méthanolique des fleurs contient 133,04 mg EAG/g en phénols totaux et 155,58 EC/g en flavonoïdes, cependant l'extrait méthanolique des feuilles contient 220,45 EAG/g en phénols totaux et 246,13 EC/g en flavonoïdes. La teneur en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et méthanolique est supérieure à celle contenue dans les fleurs de *T.algeriensis*.

Quant à l'espèce *S. verbenaca*, notre résultat est inférieur à celui de **Ben Farhat et al. (2015)** qui ont démontré un effet de la date de récolte sur la variation du taux de phénols totaux dans l'extrait méthanolique de cette espèce originaire de Tunisie à savoir : la teneur la plus élevée a été détectée dans la plante collectée en pleine floraison avec une teneur de l'ordre de 58,36 mg EAG/g MS, et celle récoltée au stade de fructification précoce (29,78 mg EAG/g MS) tandis que la plante récoltée au stade de fructification tardive a donné un taux de 41,36 mg EAG/g MS. Selon **Generalic et al. (2012)**, la teneur variable de composés phénoliques dans les extraits de *S. verbenaca* pourrait être liée aux changements physiologiques au cours de la croissance en réponse au stress environnemental. La saison, la durée d'ensoleillement, le rayonnement U.V. et la température sont connus pour influencer le métabolisme des plantes car certains composés peuvent s'accumuler à une période particulière pour répondre aux changements environnementaux.

Comme il existe très peu de rapports sur la détermination des fractions phytochimiques dans l'espèce *S.verbenaca*, nos résultats ont été comparés à ceux d'autres plantes du genre *Salvia*. Par exemple, la teneur en flavonoïdes de cinq espèces de *Salvia* variait de 8,58 à 53,16 mg EQ/g MS (Nickavar et al., 2007). Selon Ben Farhat et al. (2015), il est connu que les espèces appartenant au genre *Salvia* sont une source riche en polyphénols. Quant à l'espèce *A. iva*, la richesse de cette dernière en composés phénoliques, dans notre étude, est en accord avec les travaux de Saad et al. (2019) qui se sont intéressés aux extraits méthanolique et aqueux de l'espèce marocaine ; ils rapportent des teneurs en polyphénols de 65,3 mg EAG/g d'extrait et de 44,41mg EAG/g d'extrait pour l'extrait méthanolique et aqueux, respectivement. La teneur en flavonoïdes est égale à 132,6mg d'ER/g d'extrait méthanolique et 128,4 mg ER /g d'extrait aqueux. En revanche nos résultats ne s'accordent pas avec ceux rapportés par Medjeldi et al. (2018) qui ont démontré que la teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique d'*A. iva* d'origine algérienne est égale à 28,3 mg EAG/g ES. Alors que Bouyahya et al. (2016), qui se sont intéressés à l'extrait éthanolique de cette espèce, ont montré une valeur de l'ordre de 50 mg EAG/g ES).

En comparant nos résultats avec d'autres espèces appartenant au genre *Ajuga*, telle que l'étude réalisée par Turkoglu et al. (2010) sur l'espèce *A. chamaepitys* où le taux de phénols totaux dans l'extrait méthanolique est égal à 77mg équivalent pyrocatechol /g ES. Cependant, Göger et al. (2015) ont rapporté un taux de 32 mg EAG/g ES. Senhaji et al. (2020), quant à eux, ont rapporté que l'extrait méthanolique de l'espèce *A. iva* subsp. *Pseudoiva* est riche en polyphénols (25, 26µg EAG/mgES). Cependant, l'extrait acétate d'ethyl est riche en flavonoïdes (821,43 µg de quercetine par milligramme d'extrait).

Selon Medjeldi et al. (2018), la concentration des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est égale à 10,5 mg EQ/g ES ce qui est légèrement inférieure à celle enregistrée par Bouyahya et al. (2016) pour l'extrait d'éthanol *A. iva* (12 mg EQ/g ES). Makni et al. (2013) ont trouvé un taux de phénols totaux de 16,5 mg EAG/g et en flavonoïdes de 1,1 mg EQ/g dans l'extrait de *A. iva*. Bendif et al. (2017) ont révélé la présence d'importante charge de polyphénols totaux 46 mg EAG/g extrait et 50 mg EAG/g extrait.

#### IV.2.4. Analyse par CG/SM

##### IV.2.4.1. Analyse de l'HE de *S. verbenaca*

La composition de l'HE de *S.verbenaca* est présentée dans le tableau IV.11, figure IV.1. Les composés sont classés par ordre de leur indice de rétention (IR). L'analyse par la chromatographie couplée à la spectrophotométrie de masse (CG-SM) de l'HE de *S.verbenaca*

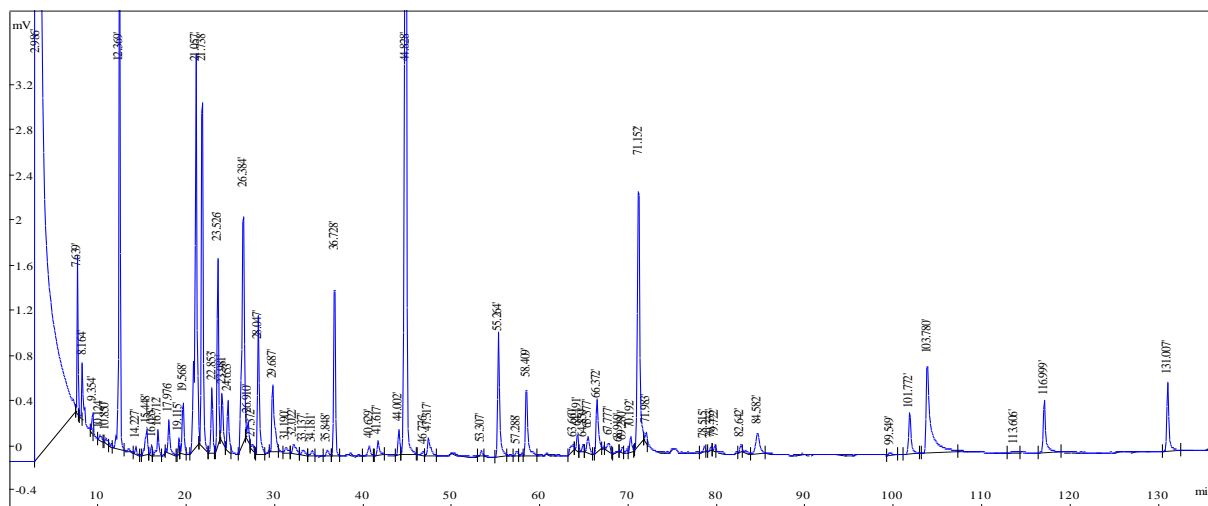
nous a permis d'isoler et d'identifier 17 composés qui représentent 77,2% de la composition totale de l'HE. Cet échantillon est principalement constitué d'un mélange d'hydrocarbures monoterpéniques (10,8%), de monoterpènes oxygénés (48,34%), de sesquiterpènes (3,9%) et autres composés (11,99%). Il est principalement riche en  **$\alpha$ -terpinyl acetate** qui représente le composant majeur avec un taux de **34,58%**. D'autres constituants sont également présents à des teneurs appréciables : acide dodecanoïque (6,83%), salicylate de benzyle (3,64%), myrtenol (5,43%), acetate de bornyle (4,42%), cis-verbinol (3,42%),  $\beta$ -bisabolene (2,73%), terpene-1-ol (2,29%), 3-octanol (2,17%), oxide de trans-limonene (2,07%),  $\alpha$ -terpineol (1,86%), isoborneol (1,55%),  $\gamma$ -eudesmol (1,52%), limonene (1,47%),  $\delta$ -elemene (1,03%), lavandulol (1,02%),  $\alpha$ -ylangene (1,17%).

Peu de travaux ont été consacrés à l'étude du profil chimique de l'huile essentielle de *S.verbenaca*. Cependant, certains rapportent que cette plante ne produit pas de l'HE essentielle et par conséquent l'analyse par CPG était impossible à réaliser, même pour l'espèce *S. chamelaeagnea*. Le composé majoritaire dans notre huile est l' $\alpha$ -terpinyl acetate ceci ne s'accorde pas avec les résultats de **Al-Howiriny (2002)** qui a rapporté que l'HE de *S. verbenaca* originaire d'Arabie Saoudite est riche en sabine (16%). Alors que les autres composés majoritaires sont l' $\alpha$ -pinene (7,3%), le  $\beta$ -pinene (6,3%), le  $\delta$ -3-carene (4%), le limonene (6,7%), le linalool (3,1%), le 4-terpineol (7,4%), l' $\alpha$ -copaene (3%), le  $\beta$ -elemene (3,4 et le  $\beta$  - caryophyllene.

**Tableau IV.11.** Composition chimique de l'HE de *S. verbenaca*

Composés	Temps de rétention	Indice de rétention (IR)	Taux (%)
3-octanol	9,81	994	2,17
limonene	11,98	1028	1,47
Terpine-1-ol	20,16	1134	2,29
trans-limonene oxide	20,46	1137	2,07
cis-verbinol	21,14	1145	3,42
isoborneol	22,25	1156	1,55
$\alpha$ -terpineol	22,87	1162	1,86
lavandulol	23,99	1168	1,02
myrtenol	25,71	1192	5,43
acetate de bornyle	35,91	1282	4,42
$\delta$ -elemene	43,11	1343	1,03
<b><math>\alpha</math>-terpinyl acetate</b>	<b>44,12</b>	<b>1351</b>	<b>34,58</b>
$\alpha$ -ylangene	46,41	1370	1,17
$\beta$ -bisabolene	63,14	1508	2,73
acide dodecanoïque	69,82	1565	6,83
$\gamma$ -eudesmol	77,31	1630	1,52
salicylate de benzyle	102,44	1866	3,64





**Figure IV.1.** Profil chimique (CG/SM) de l'huile essentielle de *S.verbenaca*

De même pour l'étude menée par **Ben Taarit et al. (2009)** où les composés majoritaires des HE provenant de trois régions de Tunisie sont le tricyclène (18,8%), le nonane (10,3%), le methyl eugenol (7,7%) et le terpinolène (7,3%) (région Soma). Le viridiflorol (21,8%), le camphène (17,6%), le methyl eugenol (9,4%) et le  $\beta$ -caryophyllène (7,1%) (région Ben Ammar). Le (Z)- $\beta$ -ocimène (29,5%), le  $\beta$ -phellandrene (8,2%), le  $\beta$ -thujone (7,9%) et l' $\alpha$ -pinène (5,5%) (région Sers).

D'autres résultats contradictoires issus d'une étude réalisée sur la même espèce de provenance de Tunisie (**Ben Farhat et al., 2015**), montrent que les composés majoritaires sont l' $\alpha$ -pinène (15,9%) (région Touiref) et (14,7%) (région Sers), le p-cymène (8,4%) (région Rass Zebib), le 1,8-cineol (12,8%) (région Chott Meriem), le  $\beta$ -caryophyllène (15,3%) (région Bir Mroua) et (15,3%) (région Beja), le viridiflorol (17,7%) (région Tunis) et (10%) (région Hancha) et 10,5% (région Enfida).

Nos résultats sont également contradictoires par rapport à ceux rapportés par **Canzoneri et al. (2011)** qui ont travaillé sur l'espèce *S.verbenaca* originaire de Sicily (Italie), dont les composés majoritaires sont l'acide hexadécanoïque (23,1%), le (Z)-9-acide octadécanoïque (11,1%), le  $\beta$ -phellandrene (5,9%) et Benzaldéhyde (7,3%). **Al-Jaber (2015)** a montré que l'HE de *S.verbenaca* originaire de Jordanie est riche en linalool (30,72%), en germacrene D (25,92%), en bicyclogermacrene (14,7%), en  $\beta$ -caryophyllène (7,42%) et en  $\alpha$ -copaène (5,13%).

La majorité des composés identifiés par CPG ne sont pas communs avec les travaux antérieurs à l'exception de quelques composés avec des proportions variables à savoir :

- Limonène (6,7%),  $\alpha$ -terpéneol (1,2%), acétate de bornyle (0,3%) (**Al-Howiriny, 2002**);

- Limonene (2,3%),  $\delta$ -elemene (0,1-0,8%),  $\alpha$ -ylangene (0,4%),  $\beta$ -bisabolene (0,2 et 0,4%),  $\gamma$ -eudesmol (0,1-0,2%) (**Ben Taarit et al., 2009**);
- Limonene (0,7-3,4%),  $\alpha$ -terpineol (0,2-3%), acetate de bornyle (0,1-3,2%),  $\alpha$ -ylangene (0,1%),  $\beta$ -bisabolene (0,1-0,9%) (**Ben Farhat et al., 2015**);
- Limonene (2%),  $\alpha$ -terpineol (0,5%), acide dodecanoïque (0,4%) (**Canzoneri et al., 2011**) ;
- $\delta$ -elemene (1,01 et 0,84 %),  $\gamma$ -eudesmol (0,4%) (**Al-Jaber, 2015**).

L' $\alpha$ -terpinyl acetate n'a été détecté comme composé majoritaire que dans l'HE de *S. sclarea* originaire d'Italie (**Peana et Moretti, 2002**), avec un taux de 30,7% à 38,5%. Cependant, il est présent en faible pourcentage dans l'huile essentielle de *S. verbenaca* originaire de Tunisie 0,3, 0,9 et 3,5% (**Ben Taarit et al., 2009**) et de 0,1, 0,2 et 0,4% (**Ben Farhat et al., 2015**). Ce composé est absent dans l'HE de *S. verbenaca* (**Canzoneri et al., 2011 ; Al-Jaber, 2015**).

**Fisher (2005)** a étudié la composition chimique des espèces appartenant au genre *Salvia* collecté du Witwatersrand (Johannesburg, Afrique du Sud). L'auteur a rapporté que les composés majoritaires de *Salvia africana-caerulea* sont l' $\alpha$ -pinene, le 1,8-cineole, le (E)- $\beta$ -ocimene, le  $\rho$ -cymene et le  $\beta$ -caryophyllene. Pour *S. africana-lutea*, les composés majoritaires sont :  $\rho$ -cymene, caryophyllene oxide, humulene epoxide II,  $\gamma$ -eudesmol,  $\alpha$ -eudesmol,  $\beta$ -eudesmol. Pour *Salvia disermas*, les composés majoritaires sont le linalool, l'acétate de linalyle, le shyobunone et l'epi-isoshyobunone. Pour une autre espèce, à savoir, *Salvia dolomitica*, les composés majoritaires sont :  $\alpha$ -pinene,  $\delta$ -3 carene, limonene, 1,8-cineole,  $\beta$ -caryophyllene, borneol. Pour *Salvia lanceolata*, il s'agit du sabinene, l'(E)- $\beta$ -ocimene, l'oxide de caryophyllene et le spathulenol. Les composés majoritaires de *Salvia namaensis* sont l' $\alpha$ -pinene, le camphene, 1,8-cineole, camphor, acetate de bornyle. Ceux de *Salvia runcinata*, sont :  $\beta$ -caryophyllene, l' $\alpha$ -humulene, l' $\alpha$ -bisabolol, le cis-lanceol. Et enfin ceux de *Salvia stenophylla*, sont :  $\delta$ -3 carene, myrcene,  $\alpha$ -bisabolol, manool. Le même auteur a rapporté que *S. verbenaca* ne produit pas d'huile essentielle ainsi que l'espèce *S. chamelaeagnea*.

A la lumière des travaux réalisés sur la composition chimique de l'HE de *S. verbenaca* on constate que le profil chimique de cette espèce appartenant à des régions géographiques différentes a montré des différences qualitatives et quantitatives très remarquable (**Ben Taarit et al., 2010 ; Canzoneri et al., 2011**). Ces différences peuvent être affectées directement ou indirectement par des facteurs comme le stade phénologique ainsi que le site géographique de la collecte, ce qui a été confirmé par l'étude menée par **Ben Farhat et al. (2015)**. Ces auteurs

ont rapporté que le stade de développement de la plante a un effet sur la variation de la composition chimique de *S.verbenaca* à savoir :

- stade de floraison : p-cymene (11,4%) >  $\alpha$ -pinene (8,1%) > 1,8-cineole (7,7%) > viridiflorol (7,0%) ;
- stade de fructification précoce: caryophyllene oxide (12,4%) > viridiflorol (9,1%) > 1,8-cineole (6,3%) >  $\beta$ -caryophyllene (5,6%) > pcymene (5,6%) ;
- stade de fructification tardive:  $\beta$ -caryophyllene (14,2%) > viridiflorol (13,5%) >  $\alpha$ -thujone (8,2%) > epi-13-manool (7,1%) >  $\alpha$ -humulene (6,7%).

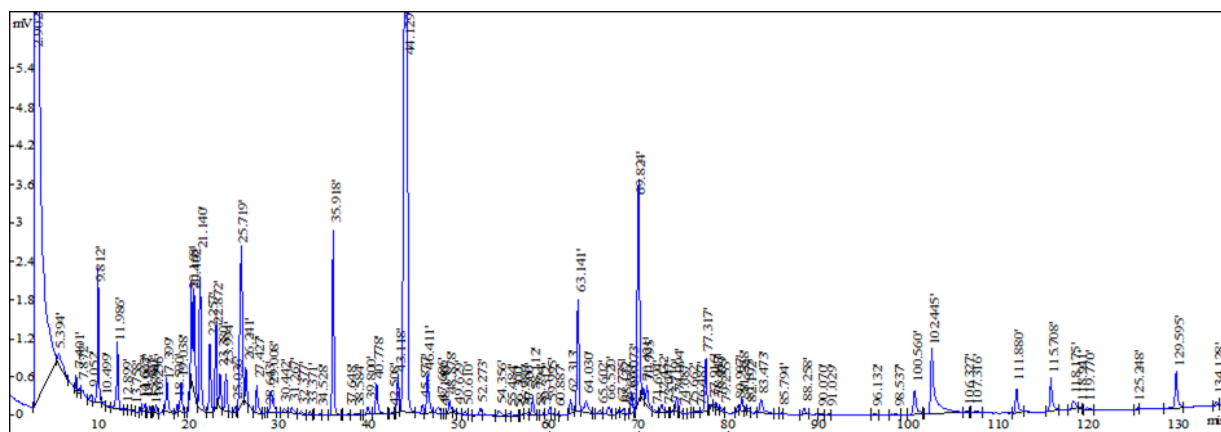
Selon **Perry et al. (1999)**, ces résultats montrent que de nombreux facteurs affectent le rendement et la composition des huiles essentielles de la sauge de dalmatie (*Salvia officinalis*), y compris la source végétale, les chémotypes végétaux individuels, le moment de la récolte et les proportions des parties des plantes distillées. Comprendre ces facteurs peut faire la différence entre un bon rendement d'une huile de haute qualité et un mauvais rendement d'une huile indésirable. Les effets environnementaux n'étaient importants qu'indirectement, en déterminant le développement des plantes et donc les proportions et les âges des parties distillées. L'état de la plante utilisée (fraîche ou sèche) influe considérablement sur la composition chimique de *S.verbenaca*, ce qui a été confirmé par **Al-Jaber (2015)**. Cet auteur a rapporté que l'HE de la plante fraîche est riche en composés monoterpéniques oxygénés (61,32%) dont le composé majoritaire est l'alcool linalol, alors que la plante séchée à l'air est dominée par les composés sesquiterpéniques (62,66%) avec comme composé majoritaire le germacrène D.

#### **IV.2.4.2. Analyse de l'HE de *T. algeriensis***

La composition de l'HE de *T.algeriensis* est présentée dans le tableau IV.12. Les composés sont classés par ordre de leur IR. L'analyse par la CG-SM de l'HE de *T.algeriensis* (figure IV.2) nous a permis d'isoler et d'identifier 20 composés qui représentent 86,37% de la composition totale de l'HE. Cet échantillon est principalement constitué d'un mélange d'hydrocarbures monoterpéniques (1,69%), de monoterpènes oxygénés (64,91%), de sesquiterpènes (12,72%) et d'autres composés (7,02%). Il est principalement riche en **acétate de thymol** qui représente le composant majeur avec un taux de **19,41%**.

**Tableau IV.12.** Composition chimique de l'HE de *T. algeriensis*

Composés	Temps de rétention	Indice de rétention (IR)	Pourcentage (%)
$\alpha$ -pinene	7,64	938	1,69
1,8-cineol	12,37	1034	8,63
<i>trans</i> -rose oxide	19,57	1128	1,11
<i>trans</i> -verbenol	21,05	1144	8,61
menthone	21,73	1151	7,09
<i>cis</i> -chrysanthenol	22,85	1162	1,29
lavandulol	23,52	1169	3,19
<i>trans</i> -1(7),8-p-menthadien-2-ol	24,65	1181	1,01
<i>trans</i> -dihydrocarvone	26,38	1199	6,59
iso-dihydrocarveol	28,04	1213	2,7
Nerol	29,68	1228	1,89
acétate de lavandulyle	36,72	1289	3,42
<b>acétate de thymol</b>	<b>44,82</b>	<b>1357</b>	<b>19,41</b>
$\beta$ -humulene	55,26	1443	2,7
$\gamma$ -decalactone	58,40	1469	1,74
(E)- $\alpha$ -bisabolene	66,37	1536	1,33
Spathulenol	71,15	1576	6,95
benzyl salicylate	101,722	1859	1,15
1-hexadecanol	103,78	1879	4,39
13-epi-manool	116,99	2005	1,48



D'autres constituants sont également présents dans l'HE de notre échantillon à des teneurs appréciables : 1,8-cineol (8,63%), trans-verbenol (8,6%), menthone (7,09%), spathulenol (6,95%), trans-dihydrocarvone (6,59%), 1-hexadecanol (4,39%), acétate de lavandulyl (3,42%), lavandulol (3,19%),  $\beta$ -humulene (2,7%), iso-dihydrocarveol (2,7%), nerol (1,89%),  $\gamma$ -decalactone (1,74%),  $\alpha$ -pinene (1,69%), 13-epi-manool (1,48%), (E)- $\alpha$ -bisabolene (1,33%), cis-chrysanthenol (1,29%), benzyl salicylate (1,15%), trans-rose oxide (1,11%), trans-1(7), 8-p-menthadien-2-ol (1,01%) (Tableau IV.12).

En comparant nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature, nous avons fait les constatations suivantes : dans notre échantillon, le composé majoritaire est représenté par l'acétate de thymol avec un pourcentage de 19,41%. Ce résultat ne s'accorde pas avec ceux rapportés dans la littérature où les HE sont riches en linalool (47,3%) (**Dob et al., 2006**) d'une espèce originaire de Médéa (Algérie), d' $\alpha$ -pinène qui varie de 27,14 à 25,52% (**Giordani et al., 2008**) originaire de Khedara, Fatoum souda ; Souk aharas (Algérie), de thymol (29,5%) (**Hazzit et al., 2009**) et 62,7% (**Houmani et al., 2002**), de terpinyl acetate 18% (**Hazzit et al., 2009**) ou 27,32% (**Benabed et al., 2017**). Dans une étude menée par **Hazzit et Baaliouamer (2007)**, la composition de l'HE de *T. algeriensis* est dominée par le geranyl acetate (16,4%). *Ce composé n'a pas été identifié par Houmani et al. (2002), Dob et al. (2006), Hazzit et Baaliouamer (2007), Giordani et al. (2008), Hazzit et al. (2009) et enfin Benabed et al. (2018).*

*Cependant, ce composé a été identifié dans l'étude menée par Giweli et al. (2013) qui ont travaillé sur la même espèce originaire de Lybie et qui ont rapporté un pourcentage de 2,75%. Nous citerons également d'autres espèces appartenant au genre Thymus pour lesquelles l'acétate de thymol a été identifié comme composé minoritaire à savoir : Thymus vulgaris (0,92%) originaire du Yemen (Maqtari et al., 2011), Thymus haussknechtii Velen (0,4%) originaire de Turquie (Sevindik et al., 2016), Thymus satureioides (de 0,03 à 0,07%) (Salhi et al., 2018). En revanche, ce composé a été identifié parmi les composés majoritaires selon Hussain et al. (2013) dans l'HE de Thymus linearis (7,3%) originaire du Pakistan alors qu'il est absent dans l'huile essentielle de Thymus serpyllum. Le même composé a été identifié autant que majoritaire dans l'HE de Thymus caespititius originaire du Portugal (11-15%) (Mendes et al., 2013). Pour l'HE de Thymus persicus (Turquie), il présente un taux de 5,3% (Rasooli, 2003). Cependant, ce composé été identifié majoritaire pour deux espèces appartenant à d'autres genres. C'est le cas de Blumea gariepina (85,4%) et de Lippia thymoides (33,81% à 21,44%) originaires du Brésil (Chisowa et al., 1998 ; Silva et al., 2019).*

On remarque que nos résultats diffèrent de ceux rapportés dans les études mentionnées (tableau IV.13), à l'exception de quelques composés qui sont en communs à savoir le 1,8-Cineole et  $\alpha$ -pinène. De plus, ces études montrent une très grande variabilité de la composition chimique des HE de la même espèce de la même provenance.

Concernant la composition des huiles de *Thymus*, **Stahl-Biskup (1991)** a cité un certain nombre d'études contradictoires des effets saisonniers sur le rendement en huile des espèces de *Thymus*. La plupart des huiles ont été produites à partir de plantes à fleurs, car la teneur en huile atteignait généralement un pic à ce stade de développement. Cependant, il y a des rapports de contenu d'huile culminant à un autre moment, ou montrant seulement des variations saisonnières mineures. Pour les huiles contenant du phénol, il semble que la teneur en phénols ait culminé au début de la floraison ou lorsque les plantes étaient en pleine floraison.

Cependant, dans un rapport **Piccaglia et Marotti (1991)** sur *Thymus vulgaris*, cultivé dans le nord de l'Italie, ont indiqué que la teneur en phénols en pleine floraison variait d'une année à l'autre. Le principal composant était le *p*-cymène (25,3%) en 1986 et le Thymol (38,2%) en 1987. **McGimpsey et al. (1994)** ont montré que la variation saisonnière a un effet significatif sur la composition de l'huile de *Thymus vulgaris*, la teneur en phénols a culminé après la fin de la floraison. **Mehalaine et al. (2017)** ont rapporté que l'huile essentielle de *T. algeriensis* originaire d'Algérie est riche en camphor (13,62%), en 1,8-cineol (6,00%), en borneol (5,74%), en viridiflorol (4,00%), et en linalool (3,93%).

Des facteurs environnementaux et génétiques (**Werker et al., 1985 ; Mathe et al., 1992**) peuvent causer des variations dans la composition des HE des autres espèces appartenant à la famille des lamiacées. Un autre facteur important à considérer dans la production d'huile de thym est la variation saisonnière de l'HE dans le rendement et la composition (**McGimpsey et al., 1994**). Les variations de la composition chimique des HE des thyms peuvent être dues, également, à diverses conditions : l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, la durée et le mode de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001**). Les méthodes d'analyses (colonne capillaire, phase stationnaire, température de programmation et épaisseur du film) (**Hazzit et Baaliouamer, 2007**), ont également citées.

**Tableau IV.13.** Composés majoritaires dans les HE des espèces du genre *Thymus*

Espèce	Origine	Composés majoritaires	Références
<i>T. algeriensis</i>	Algérie (Médéa)	linalool (47,3%), Thymol (29,2%) and carvacrol (1,7%), p-cymene (6,8%)	Dob et al. (2006)
	Algérie	$\alpha$ -terpinyl acetate (47,4%), neryl acetate (9,6%), and $\alpha$ -pinene (6,8%).	Rezoug et al. (2019)
	Khedara et Fatoum Souda; Souk ahras (Algérie)	$\alpha$ -pinène (27,14-25,52 %) qu'en camphre (8,77-8,45 %), en plus du 1,8-cinéole (7,69-7,68 %), du sabinène (5,25 -5,61 %) et du $\alpha$ -pinène (2,66-3,12 %)	Giordani et al. (2008)
	parc national de Chrea 1500m (Algérie)	p-cymene (13 %), $\gamma$ -Terpinene (6,9%), thymol (29,5%)	Hazzit et al. (2009)
	parc national de Chrea 800m (Algérie)	$\alpha$ -pinene, (11,1%) , camphene (5,9%), borneol (9,0%), acetate de bornyle (7,7%), terpinyl acetate (18,0%), (trans)-Nerolidol (12,6%)	
	Chlef (Algérie)	$\alpha$ -pinene (6,5%), p-cymene (9,9%), 1,8 cineol (6,5%), $\gamma$ - Terpinene(5,5%), camphor (10,1%), Terpinen-4-ol (10,6%)	
<i>T. algeriensis</i>	Maroc	borneol (18,3%), camphene (11,8%), camphre (10%), myrcene (8,6%)	El Ouariachi et al. (2014)
		thymol (37,78%), d' $\alpha$ terpinène (15,13%), d'E- $\beta$ -cymène (11,72%) et de carvacrol (8,1%)	Zayyad et al. (2014)
		Camphre (27,7 %) et l' $\alpha$ -pinène (20,5 %), $\alpha$ -thujène (9,64 %), $\beta$ -pinène (8,02 %), 1,8-cinéole (7,69 %), limonène (4,85 %), sabinène (3,84 %) et bornéol (2,53 %).	Amarti et al. (2010)
		borneol (23,4%), linalool (8,9%), carvacrol (7,8%) et b-caryophyllene (6,4%)	Ait-Ouazzou et al. (2011)
		borneol (28%), camphene (20,9%) and camphre (15,7%). Thymol est absent.	Hamdani et al. (2015)
		Camphor (22,61 %), Camphene (12,78 %), Borneol (11,16 %), 1,8-Cineole (5,94 %), Acorenone (5,84 %) and $\alpha$ -Pinene (5,01 %).	(Hamza Ouakouak et al. (2015)
	Tunisie	Linalool (18,05%), Camphor (13,03%), 4-carvomenthenol (11,2%) et Viridiflorol (11,71%)	Guesmi et al (2014)
		eucalyptol (9,36 – 13,37%) et camphor (6,50 – 17,64%)	Guesmi et al. (2019)
		1,8-cineole (17,7%), $\alpha$ -pinene (15,5%), and camphor (8,2%). Camphre (0,2–14,0%), linalol (0,2–22,4%), bornéol (<0,01–24,3%), oxyde de caryophyllène (<0,01–18,8%), thymol (<0,01–54,9%), $\gamma$ - terpinène (0,4– 6,5%), l' $\alpha$ - copaène (0,4–7,6%), l'acétate de linalyle (<0,01–6,4%) et le méthyleugénol (<0,01–6,9%)	Ben El Hadj Ali et al. (2010)
		1,8-cineole (17,99%), -pinene (13,94%), camphor (8,05%) et thymol (7,15%).	Ben El Hadj Ali et al. (2012)
		$\alpha$ -pinene (7,41-13,94%), 1,8-cineole (7,55-22,07%), cis-sabinene hydrate (0,10-12,95%), camphor (1,55-11,86%), terpenyl acetate (0–14,92%) et viridiflorol (0–11,49%).	Zouari et al. (2012)
<i>T. algeriensis</i>	Libye	Thymol (38,50%), p-cymene, terpinene, acetate de bornyle et borneol (8,91%, 7,19%, 7,03% et 6,07%, respectivement).	Nikolić et al. (2014)
<i>T. vulgaris</i>	Khedara et Fatoum Souda ; Souk aharas (Algérie)	(26,36-25,57%) p-cymene et thymol	Giordani et al. (2008)
		Thymol (66,31-57,2%)	
<i>T. broussonetii</i>		borneol(27,6%), p-cymene (20,9%) , carvacrol(15,7%)	El Ouariachi et al. (2014)

#### IV.2.5. Analyse par headspace et micro-extraction en phase solide

Les composés volatils identifiés dans les espèces *A. iva*, *S. verbenaca* et *T. algeriensis* sont répertoriés dans les tableaux IV.14, IV.15 et IV.16, respectivement, dans lesquels les temps de rétention, les pourcentages et les indices de rétention des composés sont indiqués.

Le profil chimique d'*A. iva*, de *S. verbenaca* et de *T. algeriensis* est présenté dans les figures IV.3, IV.4 et IV.5, respectivement.

L'identification totale des composés dans l'espèce *A. iva* est de 81% (8 composés), de *S.verbenaca* est de 69,3% (18 composés) et de *T. algeriensis* est de 93,4% (20 composés). Cinq composés apparaissent chez les trois plantes, à savoir l' $\alpha$ -pinène, le camphène, l'acétate de 1-octène-3-yle, l'acétate de bornyle et le 2,3-déhydro-1,4-cinéol. Trois composés apparaissent chez *A.iva* et *T.algeriensis* (le p-cymène, le 1,8-cinéol et le camphre), six composés apparaissent chez *T.algeriensis* et *S. verbenaca* (le  $\beta$ -pinène, le bornéol, l' $\alpha$ -gurjunène, le  $\beta$ -caryophyllène, l' $\alpha$ -cubébène et le cis-muurola-3,5-diène).

**Tableau IV.14.** Composés volatils d'*A. iva*

Nombre de pic	Composés	Temps de rétention	Indice de rétention	Taux (%)
1	$\alpha$ -pinene	9,95	935	9,7
2	camphene	10,26	950	6,4
3	<i>p</i> -cymene	10,84	977	2,8
<b>4</b>	<b>1,8-cineol</b>	<b>11,94</b>	<b>1025</b>	<b>27,3</b>
5	1-octen-3-yl acetate	13,53	1092	1,5
6	camphor	14,42	1128	9,2
7	Inconnu	14,84	1145	1,7
8	acetate de bornyle	18,10	1274	8,0
9	2,3-dehydro-1,4-cineol	19,65	1335	16,1

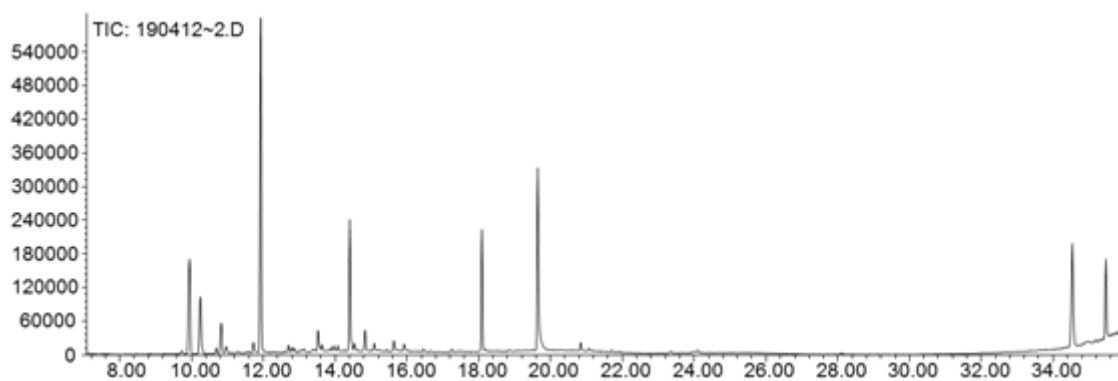
**Tableau IV.15.** Composés volatils de *S. verbenaca*

Nombre de pic	Composés	Temps de rétention	Indice de rétention	Taux (%)
1	$\alpha$ -pinene	9,95	935	2,8
2	camphene	10,69	970	0,7
3	$\beta$ -sabinene	10,83	976	3
4	$\beta$ -pinene	10,96	982	4,2
5	limonene	11,93	1125	2,8
6	borneol	14,41	1128	0,5
7	1-octen-3-yl acetate	15,92	1188	0,7
8	acetate de bornyle	18,09	1274	0,8
9	2,3-dehydro-1,4-cineol	19,65	1335	3,7
10	Bicycloelemene	19,77	1340	4,3
11	$\gamma$ -amorphene	20,85	1383	10,5
12	$\gamma$ -cadinene	21,09	1392	4,8
13	$\alpha$ -gurjunene	21,72	1417	2,3
14	$\beta$ -ylangene	21,87	1423	1,2
15	$\beta$ -caryophyllene	21,93	1426	2,6
16	inconnu	22,08	1432	2,6
17	$\alpha$ -cubebene	22,36	1443	3,0
18	inconnu	22,91	1466	10,5
<b>19</b>	<b>cis-muurola-3,5-diene</b>	<b>23,33</b>	<b>1483</b>	<b>14,6</b>
20	bicyclogermacrene	23,69	1497	6,8

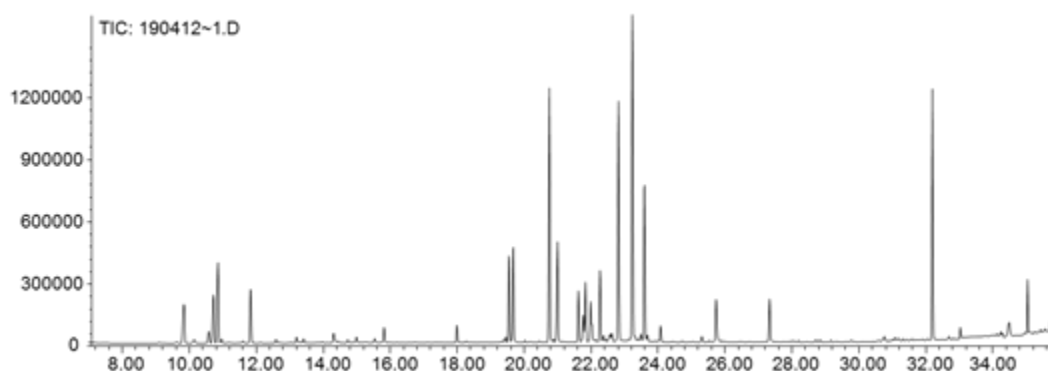


**Tableau IV.16.** Composés volatils de *T. algeriensis*

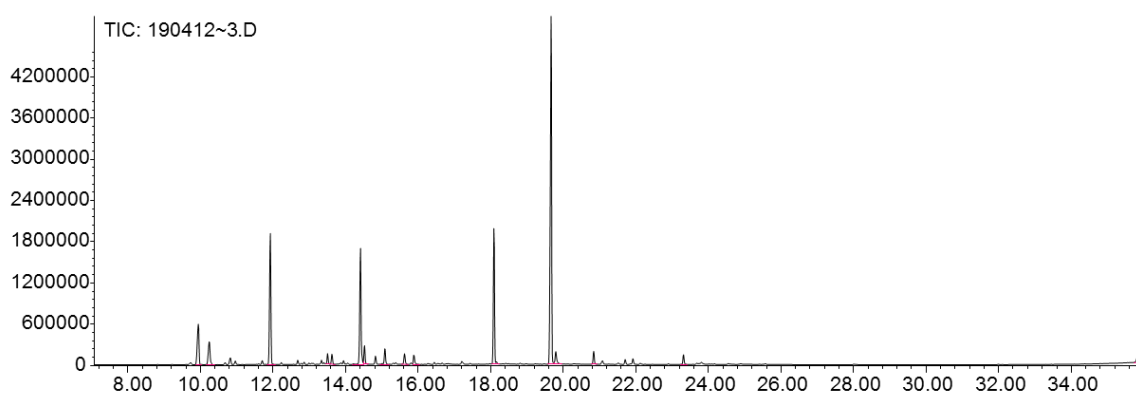
Nombre de pic	Composés	Temps de rétention	Indice de rétention	Taux (%)
1	$\alpha$ -pinene	9,96	935	5,3
2	camphene	10,26	950	3,2
3	$\beta$ -pinene	10,83	977	0,8
4	dehydro-1,8-cineol	10,98	983	0,4
5	<i>p</i> -cymene	11,72	1016	0,4
6	1,8-cineol	11,94	1025	13,3
7	<i>trans</i> -sabinene hydrate	12,7	1057	0,4
8	Inconnu	13,35	1274	0,4
9	1-octen-3-yl acetate	13,52	1092	1,0
10	Inconnu	13,64	1340	0,9
11	$\alpha$ -campholenal	13,96	1110	0,4
12	camphor	14,42	1128	11,9
13	Inconnu	14,53	1133	1,8
14	Inconnu	14,84	1145	0,7
15	borneol	15,1	1156	1,6
16	$\alpha$ -terpineol	15,64	1177	1,1
17	verbenone	15,9	1188	1,0
18	Inconnu	17,22	1240	0,4
19	acetate de bornyle	18,1	1274	11,7
<b>20</b>	<b>2,3-dehydro-1,4-cineol</b>	<b>19,68</b>	<b>1336</b>	<b>36,0</b>
21	Neryl isobutyrate	19,81	1341	1,7
22	$\alpha$ -cubebene	20,85	1382	1,2
23	Inconnu	21,09	1392	0,5
24	$\alpha$ -gurjunene	21,72	1417	0,5
25	$\beta$ -caryophyllene	21,93	1426	0,6
26	<i>cis</i> -muurola-3,5-diene	23,32	1482	0,9



**Figure IV.3.** Profil chimique (Head-space SPME) d' *A. iva*



**Figure IV.4.** Profile chimique (Head-space SPME) de *S. verbenaca*



**Figure IV.5.** Profile chimique (Head-space SPME) de *T. algeriensis*

Les résultats ont montré que les principaux composés d'*A. Iva*, de *S.verbenaca* et de *T.algeriensis* sont le 1,8-cinéol (27,3%), le cis-muuro-la-3,5 diène (14,6%) et le 2,3-déshydro-1, 4-cinéol (36,0%), respectivement. Les différentes classes de composés sont présentées dans le tableau IV.17. Les résultats ont révélé que les monoterpènes oxygénés sont la principale classe de composés chez *A. iva* et *T. algeriensis* représentant, respectivement 62,1% et 78,4%, suivis des hydrocarbures monoterpéniques représentant 18,9% chez *A. iva* et 10,1% chez *T. algeriensis*. Les hydrocarbures sesquiterpéniques sont la principale classe de composés de *S. verbenaca* représentant 50,1%, suivis des hydrocarbures monoterpéniques représentant 13,5% et des monoterpènes oxygénés 5,7%.

**Tableau IV.17.** Classes des composés chimiques des trois espèces

	<i>A. iva</i> %	<i>S. verbenaca</i> %	<i>T. algeriensis</i> %
Identification totale	81,0	69,3	93,4
hydrocarbures monoterpéniques	18,9	13,5	10,1
Monoterpenes oxygénés	<b>62,1</b>	5,7	<b>78,4</b>
hydrocarbures sesquiterpéniques	-----	<b>50,1</b>	4,9

La comparaison de nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature existante, ne fait pas état d'études réalisées pour nos espèces sur l'analyse HS/SPME GC/MS de plantes appartenant aux genres *Salvia* et *Thymus*. **Hashemi et al. (2010)**, ont rapporté la composition de la partie aérienne de la plante *Thymus daenensis* originaire d'Iran, 20 composés ont été identifiés et quantifiés dans l'extrait HSME. Les principaux composants étaient le géraniol (37,2%), l'acétate de géranyle (18,7%), le géraniol (11,2%), le nérol (8,3%) et le néral (9,3%). Les composés majoritaires dans l'HE de cette plante sont le thymol (9,1%), le carvacrol (20,25%) et le  $\beta$ -caryophyllène (17,98%) (**Karami-Osboo et al., 2015**). Néanmoins plusieurs composés détectés sont en communs avec notre plante selon plusieurs sources :

- $\alpha$ -pinène (2,6%), camphène (2,9%),  $\beta$ -pinène (0,3%), camphor (2,6%), borneol (3,5%), acétate de bornyle (0,4%) (**Hashemi et al., 2010**);
- $\alpha$ -pinène (0,3-29,4%), camphène (0,1-03,5%),  $\beta$ -pinène (0,1-11,1%), p-cymène (0,2-27,8%) camphor (0,6-1%), borneol (0,1-0,7%),  $\alpha$ -terpineol (0,1-9,8%), acétate de bornyle (0,3%) (**Stojanović et al., 2014**);
- $\alpha$ -pinène (5,5 et 14,5%), camphène (3,2 et 3,7%),  $\beta$ -pinène (0,5%), p-cymène (1 et 1,3%), 1,8-cineol (0,8 %), 1-otén-3-yl acétate (4,6 et 5,7%), camphor 1,2%, borneol 0,8%, acétate de bornyle (0,9%) (**Vidic et al., 2010**);
- 1,8-cineol (0,31%) borneol (0,46%) *Thymus daenensis* (**Rouhollah Karami-Osboo et al., 2015**).

**Vidic et al. (2010)** ont identifié l'acétate de linalyle (36,7%) et le Linalol (22,7%) comme principaux constituants du HSV de *Thymus praecox* subsp. *polytrichus*, tandis que dans le HSV de *Thymus praecox* subsp. *skorpilii*, l'acétate de linalyle (52,4%) et l' $\alpha$ -pinène (14,5%) prédominaient. De leur côté, **Stojanović et al. (2014)** ont étudié quelques espèces originaires de Serbie. Le composé le plus abondant chez *Thymus glabrescens* HSV était du p-cymène (27,8%), suivi du  $\gamma$ -terpinène (18,4%). La composition du HSV des deux populations de *Thymus praecox* est similaire, mais essentiellement différente de celle du HSV de *Thymus*

*glabrescens* avec de l' $\alpha$ -pinène, du  $\beta$ -pinène, du myrcène et du limonène comme composants les plus représentés. L'acétate de linalyle prédomine chez *Thymus pulegioides* (42,4%); l'acétate de géranyle, l'(E)-caryophyllène et le 1-octène-3-ol étaient présents avec des pourcentages inférieurs (16,2%, 11,1% et 5,8%, respectivement).

La composition chimique des HE de thym, examinées étaient différentes de celles précédemment étudiées et ne peuvent donc pas être classées comme l'un des chémotypes particuliers signalés. Un polymorphisme chimique élevé de *Thymus glabrescens*, *Thymus pulegioides* et *Thymus praecox*, a été noté, même au niveau des mêmes taxons/échantillons. Il existe une différence entre la composition qualitative et quantitative du HSV et des huiles essentielles correspondantes, la différence dans la composition quantitative pour la plupart des composés étant plus visible que dans la composition qualitative (Stojanović et al., 2014). De même, les différences entre la composition de Headspace et l'huile hydrodistillée sont dans la distribution des sesquiterpènes principalement oxygénés, où l'HE avait 38,7%, tandis que dans l'échantillon de Headspace n'était que de 0,7% (Vidic et al., 2010).

Selon D'Auria et Racioppi (2015), les principaux composés de *Salvia officinalis* provenant d'Italie sont le 1,8-cinéole (22,3%), le  $\beta$ -thujone, le camphre (11,2%), le  $\beta$ -pinène (8,9%) et le trans-caryophyllène (5%). Une autre étude menée sur les mêmes espèces en Iran (Meshkatsadat et al., 2009), citent les principaux composés dont le benzoate de n-hexyle (40,2%), le benzoate de benzyle (24,1%), le linalool (7,4%) et le benzoate de butyle (5,4%).

Pour des espèces de *Salvia* échantillonnées en Pologne, les principaux composés de la fraction volatile sont les suivants:  $\alpha$ -pinène, camphène,  $\beta$ -pinène, thujol, camphre,  $\beta$ -chamigrène et cadina-3,9-diène (Rzepa et al., 2009). En outre, l'analyse a révélé que le 1-octène-3-ol (46,5%), le 2-hexénal (18,0%), le benzaldéhyde (8,8%) et l'aromadendrène (7,2%) sont les principaux composés des parties aériennes de *Salvia farinacea* Benth. recueillies d'Egypte (El-Sakhawy et al., 2018). Les principaux composés de *Thymus serpyllum* (Italie) sont le p-cymène (30,3%) et le  $\gamma$ -terpinène (11,8%) (D'Auria et Racioppi, 2015). Selon Almeida et al. (2006), le linalol est le composé le plus important chez *Thymus mastichina* originaire de Sesimbra (Portugal) (26-30%) et 1,8-cinéol ou eucalyptol dans l'espèce originaire d'Algarve (Portugal) (23-33%).

## Conclusion

La présente étude s'est proposé de réaliser l'extraction de trois espèces médicinales et aromatiques de la flore algérienne à savoir : *S.verbenaca*, *A.iva* et *T.algeriensis* et le criblage phytochimique de leurs extraits, la quantification des composés polyphénoliques et des flavonoïdes ainsi que l'analyse chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ainsi que l'analyse par headspace micro-extraction en phase solide. Les résultats obtenus nous permettent de déduire les principales constatations suivantes, à savoir, le rendement d'extraction ainsi que le polymorphisme chimique varient en fonction de plusieurs facteurs. Le 2,3-déshydro-1,4-cinéol, est un produit naturel très rare, il a été identifié **pour la première fois** dans les trois espèces. De plus, l'HS-SPME peut être suggérée comme une méthode d'analyse rapide et sans solvant pour l'extraction des substances volatiles d'autres espèces de la famille des Lamiacées.

Enfin, cette caractérisation phytochimique permet de présenter une base de données pour les trois espèces, et qui encourage à mener d'autres travaux de recherches scientifiques sur les espèces de Lamiacées.

## Chapitre V. Caractérisation biologique

### Introduction

En raison de l'émergence de nouveaux agents pathogènes résistants aux antibiotiques les plus connus et en raison des effets secondaires des médicaments utilisés, les plantes médicinales continuent d'être les sources naturelles les plus précieuses de métabolites biologiquement actifs (Hassawi et Kharma, 2006).

Les effets nocifs et les problèmes causés par le stress oxydant et augmentation de la production d'oxygène réactif peuvent être améliorés par des antioxydants. A cette fin, les antioxydants synthétiques sont couramment utilisés. Cependant, des inquiétudes quant à la sécurité de ces composés a conduit à un intérêt accru pour les antioxydants naturels (Yanishlieva et Marinova, 2001).

De nombreuses plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae* ont fait l'objet de recherches dans le cadre de traitements contre nombreuses maladies entre autre, le diabète. Ces dernières années, la recherche sur les plantes médicinales pour la gestion du diabète et d'autres maladies a suscité l'intérêt des scientifiques (McCue et al., 2005).

L'objectif de ce volet est d'évaluer les activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne et antidiabétique) des extraits et des HE des trois plantes étudiées.

### V.1. Matériel et méthodes

#### V. 1.1. Récolte et préparation des extraits

Dans notre étude on s'est intéressé seulement aux parties aériennes des trois plantes étudiées de la région de Djelfa (*A. iva*, *S. verbenaca* et *T. algeriensis*). La récolte et la préparation des extraits ont été déjà relatées en détails dans le chapitre précédent (cf., chap. III, caractérisation chimique. page 2).

#### V.1.2. Caractérisation biologique

##### V.1.2.1. Activité antioxydante

- **Principe :** Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé

à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**). La réaction peut être résumée sous forme de l'équation suivante:



Où, (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Brand-William et al., 1995**).

- **Protocole :** Le dosage est réalisé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517nm. Un (1) ml de solution méthanolique de DPPH (8%) est ajouté à 1ml de la solution d'extraits, le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30mn.

Le blanc est représenté par le méthanol, le témoin négatif est composé de 1ml de la solution méthanolique de DPPH et 1ml de méthanol; le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard: la vitamine C.

- **Calcul de l'activité anti-radicalaire :** l'activité anti-radicalaire est évaluée selon l'équation suivante :

$$\text{I\%} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle} \times 100$$

Où :

Abs contrôle : absorbance du blanc contenant tous les réactifs sauf le composé à tester ;

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon, qui contient les réactifs et le composé à tester ;

I% : pourcentage inhibition.

- **Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC<sub>50</sub> :** L'IC<sub>50</sub> (Concentration inhibitrice 50) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC<sub>50</sub> sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (**Torres et al., 2006**). Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne des trois essais.

### V.1.2.2. Activité antibactérienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits et de l'HE, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (De Zoysa et al., 2019). Les souches utilisées pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits font partie de cinq genres de microorganismes, il s'agit de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*St. aureus*), *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*), *Bacillus cereus* ATCC 1457 (*B. cereus*) et enfin *Candida albicans* ATCC 10231 (*C. albicans*).

- **Préparation des disques** : Des disques absorbants de 6mm de diamètre, sont déposés dans des tubes à essai, puis stérilisés à l'étuve pendant 20mn à 120°C.

- **Préparation de la suspension microbienne** : A partir des cultures jeunes, on prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques par une pipette Pasteur, puis, on les transferts dans des tubes à vis contenant 9ml d'eau physiologique stérile, suivi d'une agitation au vortex pendant quelques secondes.

La standardisation de la suspension à  $10^8$  UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre après son étalonnage par la solution mère (eau physiologique) réglé sur une longueur d'onde de 625nm. La DO comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  germes/ml, l'ajustement de la suspension à cette densité se fait par l'addition d'eau physiologique si c'est trop chargé ou de culture si c'est trop faible.

- **Ensemencement** : On trompe un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, on l'essore (en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum), puis on le frotte sur la surface gélosée (Muller Hinton).

- **Imprégnation des disques** : A l'aide d'une pince stérile, on dépose et on presse le disque imbibé d'une quantité d'HE et d'extrait sur le milieu gélosé.

- **Incubation** : Les souches dans l'étuve sont incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.



### **V.1.2.3. Activité antidiabétique**

La détermination de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase a été réalisée en quantifiant le sucre réducteur (équivalent maltose) libéré dans les conditions du dosage.

L'activité inhibitrice de l'enzyme a été exprimée par une diminution des unités de maltose libérées. Une méthode modifiée à l'acide de dinitrosalicylique (DNS) a été adoptée pour estimer le maltose équivalent (**Miller, 1959**). Un (1) ml de l'extrait a été préalablement incubé avec de l' $\alpha$ -amylase 1U/ml pendant 30mn, puis 1ml (1% m/v) d'une solution d'amidon a été ajoutée. Le mélange est incubé à 37°C pendant 10 mn. Ensuite, on arrête la réaction en ajoutant 1ml de réactif DNS (12g de tartrate de sodium et de potassium tétrahydraté dans 8ml de NaOH,2M et une solution d'acide 3,5- dinitrosalicylique à 96mM) et on chauffe le contenu dans un bain-marie bouillant pendant 5mn.

Un blanc a été préparé sans extrait et un autre sans enzyme amylase, remplacés par des quantités égales de tampon (tampon au phosphate de sodium 20mM avec du chlorure de sodium à 6,7mM, pH 6,9 à 20°C). L'absorbance a été mesurée à 540nm. Le sucre réducteur libéré par l'amidon a été estimé en maltose équivalent à partir d'un graphique standard. L'acarbose a été utilisé comme contrôle positif.

L'extrait a été dilué dans un tampon pour donner une concentration finale de 50, 100, 150, 200, 250 $\mu$ g/ml. L'activité antidiabétique a été déterminée par l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée à l'aide des équations suivantes:

- % de réaction = test (maltose) / contrôle (maltose)  $\times$  100 ;
- % d'inhibition = 100% de réaction.

Toutes les analyses ont été effectuées en triple et les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart type (SD).

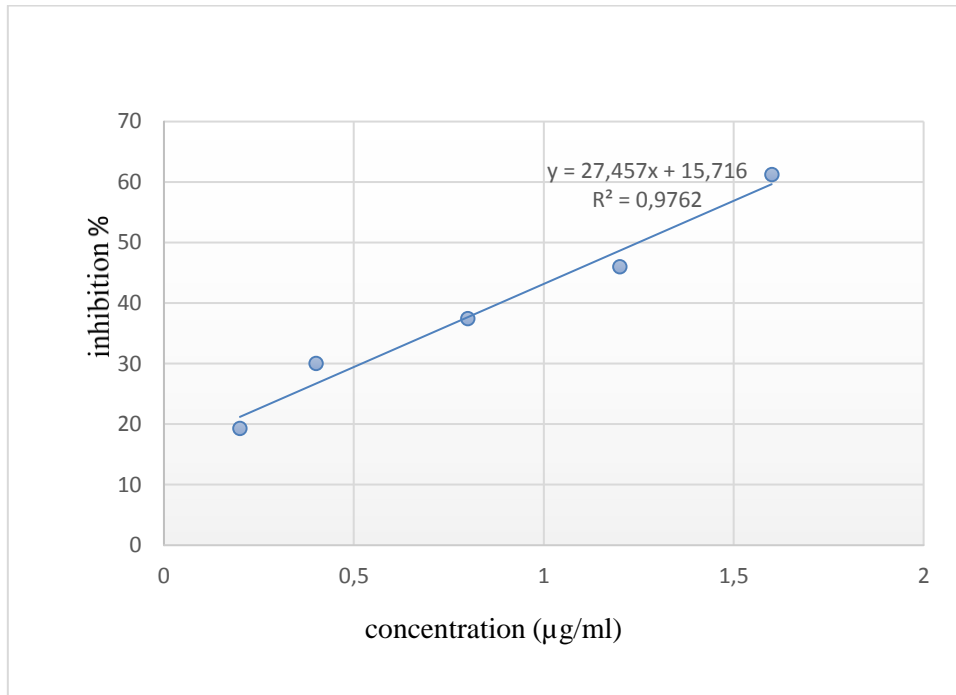
## **V.2. Résultats et discussion**

### **V.2.1. Activité antioxydante**

L'activité antioxydante a été évaluée au moyen du test DPPH. Dans le test DPPH, la capacité d'élimination des radicaux des extraits testés a augmenté de manière dépendante de la concentration.

### V.2.1.1. Activité antioxydante de la vitamine C

L'activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'acide ascorbique est présentée dans la figure V.1.

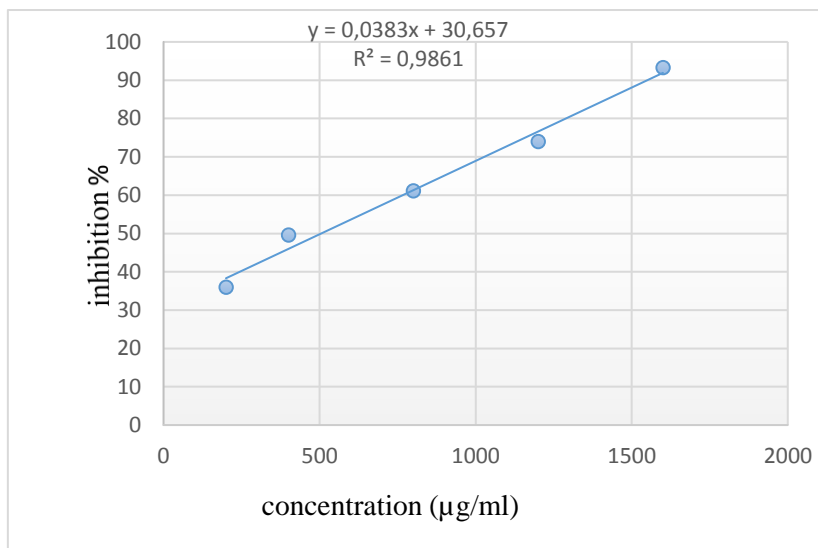


**Figure V.1.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'acide ascorbique

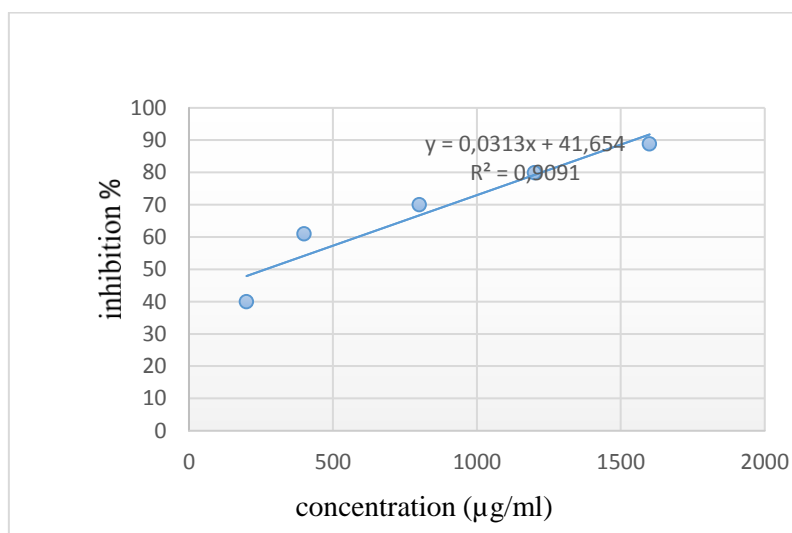
La concentration qui fournit 50% d'inhibition est calculée à partir de la courbe de la figure ci-dessus, elle est égale à 1,25µg/ml.

### V.2.1.2. Activité antioxydante de *S.verbenaca*

Les activités de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait aqueux et de l'extrait méthanolique de *S.verbenaca* sont présentées dans les figures V.2., V.3., respectivement.



**Figure V.2.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait aqueux de *S.verbenaca*



**Figure V.3.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait méthanolique de *S.verbenaca*

Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition sont calculées à partir des courbes des figures V.2 et V.3 et sont représentées dans le tableau V.1. :

**Tableau V.1.** IC<sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits de *S. verbenaca*

	<b>E. méthanolique</b>	<b>E. aqueux</b>
<b>IC<sub>50</sub> (µg/ml)</b>	266,64	505,04

L'extrait méthanolique de *S.verbenaca* a donné un IC<sub>50</sub> égal à 266,64µg/ml, cependant, l'extrait aqueux a donné une valeur de 505,04 (µg/ml). Cette valeur est supérieure à celles

rapportées par **Ben Farhat et al. (2015)**, qui ont démontré que l'extrait méthanolique de *S. verbenaca* provenant de plusieurs habitats de la Tunisie montre une variation de la valeur de l'IC<sub>50</sub> entre 24,47 et 40,91µg/ml. De plus, ils ont rapporté une variabilité de l'activité antioxydante en fonction de l'habitat. En revanche, **Bel Hadj Salah et al. (2006)**, ont étudié l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de trois espèces appartenant au genre *Salvia* collectées en Tunisie : *Salvia aegyptiaca*, *S. verbenaca* et *Salvia argentea*, en utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle et le 2,20-azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) qui ont donné des résultats positifs. Les extraits de *Salvia aegyptiaca* (IC<sub>50</sub> 43,6 µg/ml) ont été les plus actifs, suivis de ceux de *S. verbenaca* (IC<sub>50</sub> 86,9µg/ml) puis de *Salvia argentea* (IC<sub>50</sub> 374,4µg/ml). Dans la même année, **Khelifi et al. (2006)** ont étudié l'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne (feuilles et tiges) de *S. verbenaca* avec trois méthodes (peroxydation des LDL humaines, oxydation de l'acide linoléique et oxydation de l'acide linoléique) qui a montré un effet antioxydant 100µg/ml. Les résultats obtenus montrent que l'extrait de plante présente des degrés différents, mais efficaces, d'activité antioxydante. **Tepe (2008)** a évalué les activités antioxydantes et les taux d'acide rosmarinique *invitro* des extraits méthanoliques de *Salvia virgata*, *Salvia staminea* et *S. verbenaca* (Turquie). Les extraits ont été sélectionnés pour déterminer leur éventuelle activité antioxydante par deux méthodes complémentaires systèmes de test, nommément systèmes de purification de radicaux libres et de β-carotène/acide linoléique et de DPPH. Dans le premier cas, la plante la plus active était *S.verbenaca* (14,30 ± 1,42µg/mg), suivi de *S. virgata* (65,70 ± 2,12µg/mg). *Salvia staminea* présentait l'activité antioxydante la plus faible (IC<sub>50</sub> de 75,40 ± 0,57µg/mg). Dans le système de test β-carotène/ acide linoléique, l'extrait de *S. verbenaca* était supérieur aux autres extraits étudiés (la valeur d'inhibition est de 77,03% ± 0,42 µg/mg).

Les extraits de notre plante montrent une variabilité de l'activité antioxydante ce qui est en accord avec les résultats rapportés par **Belkheiri et al. (2017)**, qui ayant étudié l'activité antioxydante des différents extraits de *S. verbenaca* (par la méthode de DPPH), ont enregistré une valeur de 8,6µg/ml pour l'extrait d'acetate d'ethyl ; 33,6µg/ml pour l'extrait hydro-méthanolique, 38,9µg/ml pour l'extrait aqueux et 72,5µg/ml pour l'extrait chloroformique.

Une forte activité antioxydante a donc été rapportée pour *S. verbenaca*. L'acide rosmarinic et ses dérivés et le taux élevé des composés phénoliques sont plus susceptibles d'être responsables de cette activité (**Khelifi et al., 2006 ; Tepe, 2008 ; Ben Farhat et al., 2015**).

Selon **Kamatou (2006)**, *Salvia albicaulis*, *Salvia runcinata* et *Salvia muiirii* sont particulièrement riches en acide rosmarinique alors que *S. verbenaca* est la seule espèce dépourvue d'acide rosmarinique. L'acide rosmarinique est un phénylpropanoïde aux propriétés

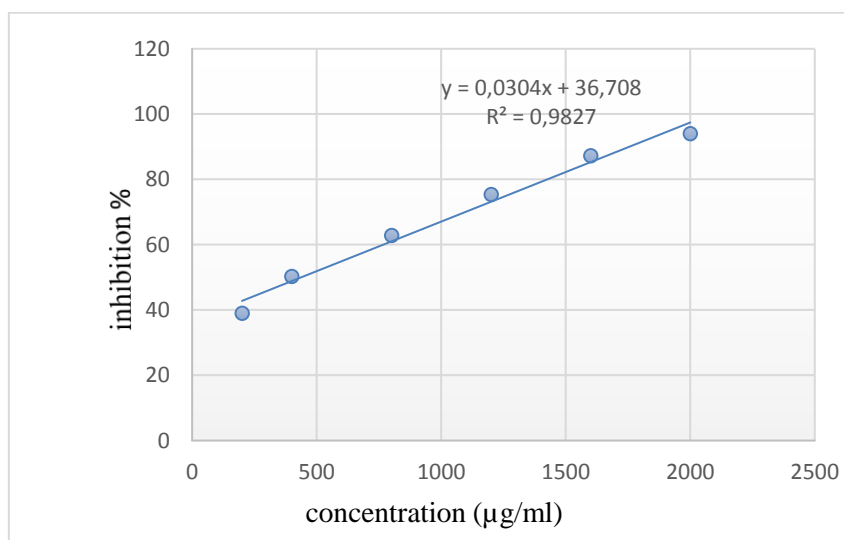
antioxydantes, et ses sous-produits sont présents dans plusieurs espèces du genre *Salvia*, telles que *Salvia officinalis* et *Salvia fruticosa*. L'acide rosmarinique montre une grande intensité pour le piégeage des radicaux libres et l'activité antioxydante (Hao et al., 2015).

Les acides salvianoliques tels que les acides salvianoliques A, B et K présentent une action protectrice contre les dommages peroxydants aux biomembranes. Ils ont des radicaux anti-oxygènes et une activité antioxydante. On les retrouve dans les racines de *Salvia miltiorrhiza* et dans *Salvia deserta*. L'acide salvianolique B est l'un des composés efficaces dans la racine et le rhizome de *Salvia miltiorrhiza* Bunge, et il est officiellement répertorié dans la pharmacopée chinoise (Zhao et al., 2008). Il montre également une grande activité de piégeage des radicaux libres et d'antioxydant (Guo et al., 2014).

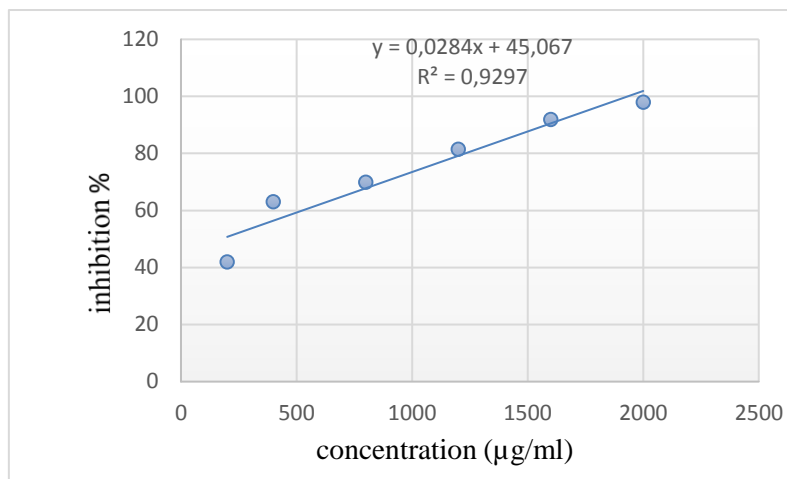
### V.2.1.3. Activité antioxydante d'*A. iva*

Les activités de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique d'*A.iva* sont présentées dans les figures V.4., V.5., respectivement.

Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition sont calculées à partir des courbes des figures V.4 et V.5 et sont représentées dans le tableau V.2. :



**Figure V.4.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait aqueux d'*A.iva*



**Figure V.5.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait méthanolique d'*A.iva*

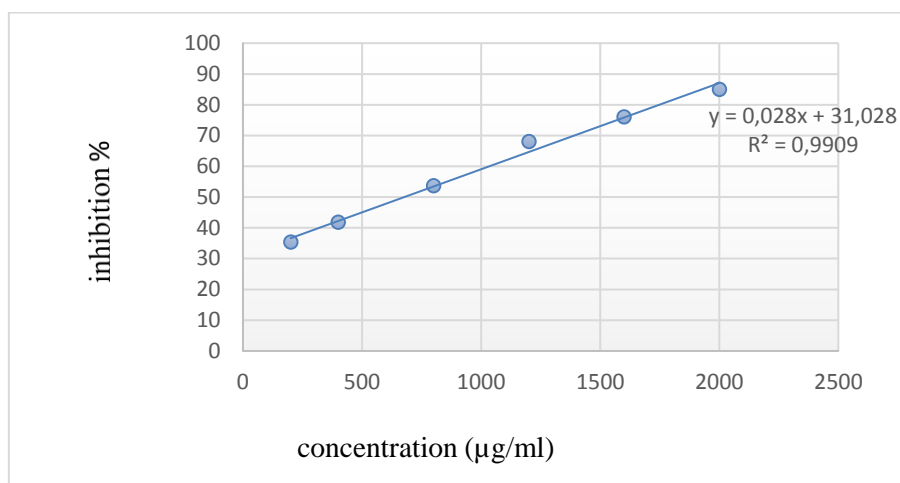
**Tableau V.2.** IC<sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits d'*A.iva*

	<b>E. méthanolique</b>	<b>E. aqueux</b>
<b>IC<sub>50</sub> (µg/ml)</b>	173,69	437,24

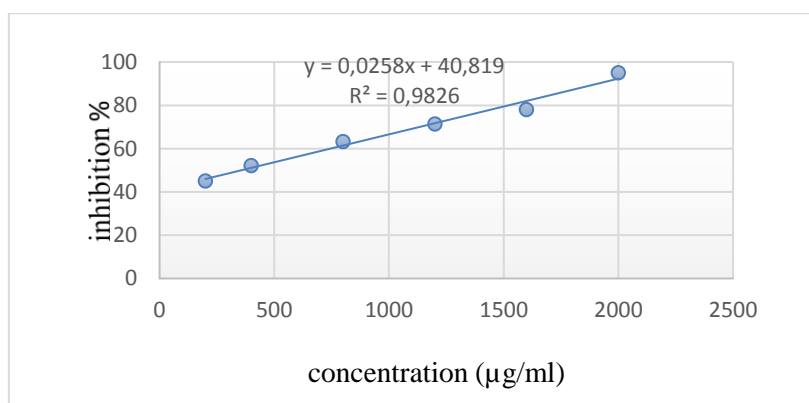
D'après le tableau ci-dessous on constate que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'espèce *A.iva* est plus importante que celle de l'extrait aqueux ceci se traduit par une valeur d'IC<sub>50</sub> de 173,69 µg/ml qui est inférieure à celle de l'extrait aqueux qui est égale à 437,24 µg/ml. **Medjeldi et al. (2018)** ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*A.iva* originaire d'Algérie possède un pouvoir antioxydant égal à 0,43µg/ml. Selon **Saad et al. (2019)**, l'extrait méthanolique d'*A.iva* du Maroc possède une activité antioxydante supérieure à celle de l'extrait aqueux avec un IC<sub>50</sub> égal à 62,19 ± 0,45mg ET/g d'extraits et 49,72 ± 0,24mg ET/g d'extraits, respectivement. Cette importante activité est due à la présence d'une charge importante de composés phénoliques comme les polyphénols et les flavonoïdes. La corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques a été établie par des études antérieures (**Cai et al., 2004**). **Makni et al. (2013)** ont utilisé des extraits d'*A.iva*, d'origine tunisienne, obtenus par différents solvants polaires. Selon ces auteurs, l'extrait au méthanol a montré les activités antioxydantes les plus élevées dans tous les tests, suivis des extraits aqueux de chloroforme et d'hexane. Selon les mêmes auteurs, les extraits au méthanol d'*A.iva* présentent des activités antibactériennes et antifongiques prometteuses.

#### V.2.1.4. Activité antioxydante de *T. algeriensis*

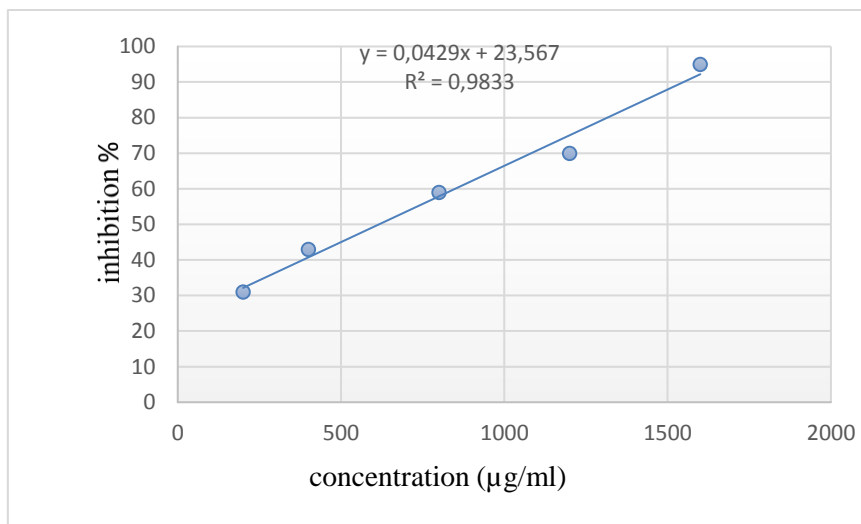
Les activités de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle sont présentées dans les figures V.6, V.7 et V.8, respectivement.



**Figure V.6.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait aqueux de *T. algeriensis*



**Figure V.7.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'extrait méthanolique de *T. algeriensis*



**Figure V.8.** Activité de piégeage des radicaux libres (%) de l'huile essentielle de *T. algeriensis*

Les concentrations, qui fournissent 50% d'inhibition, sont calculées à partir des courbes des figures V.6, V.7 et V.8, elles sont représentées dans le tableau V.3.

**Tableau V.3.** IC<sub>50</sub> de l'activité antioxydante des extraits et HE de *T. algeriensis*

	<b>E. méthanolique</b>	<b>E. aqueux</b>	<b>H.E.</b>
<b>IC 50 (µg/ml)</b>	355,85	677,57	616,15

Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> représentées dans le tableau ci-dessus, révèlent une variabilité du taux d'inhibition du radical DPPH par les extraits de l'espèce étudiée. Parmi les extraits testés, l'extrait méthanolique arrive en tête des résultats avec une IC<sub>50</sub> de 355,85µg/ml, qui correspond à la capacité antiradicalaire la plus élevée, suivi par l'huile essentielle avec une IC<sub>50</sub> de 616,15 µg/ml et l'extrait aqueux avec une IC<sub>50</sub> de 677,57µg/ml.

En comparant nos résultats de l'huile essentielle de l'espèce *T. algeriensis* avec ceux rapportés dans la littérature, on remarque que la valeur d'IC<sub>50</sub> de notre huile essentielle est supérieure à celle obtenue par **Nikolić et al. (2014)** qui ont montré que l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *T. algeriensis* (originaire de Zentan, Libya) est de 1,64µg/ml. Cependant cette valeur est inférieure à celle rapportée par **Megdiche-Ksour et al. (2015)**, l'huile essentielle de cette plante provenant de Tunisie possède une IC<sub>50</sub> de 4400µg/ml. Ceci est due au fait que l'huile essentielle de l'espèce originaire de Tunisie est pauvre en composés phénoliques voire absence totale de composés comme le carvacrol. L'étude rapportée par **El Ouariachi et al. (2014)** qui ont testé l'activité antioxydante de l'huile essentielle de



*T.algeriensis* montre que cette huile possède une activité antioxydante faible de l'ordre de 1800 $\mu$ g/ml. En outre, en comparant nos résultats avec l'activité antioxydante des huiles essentielles d'autres espèces du genre *Thymus*, on remarque que l'activité antioxydante de l'huile essentielle de cette plante est inférieure à celle de *Thymus broussonetii* et son IC<sub>50</sub> est égale à 90 $\mu$ g/ml (El Ouariachi et al., 2014), cette activité est peut être due selon ces auteurs à la présence du carvacrol. Amarti et al. (2016) ont obtenu un pouvoir antioxydant élevé pour *Thymus ciliatus* et de *Thymus bleicherianus*, avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 74,025 $\mu$ g/ml et de 77,8  $\mu$ g/ml, respectivement.

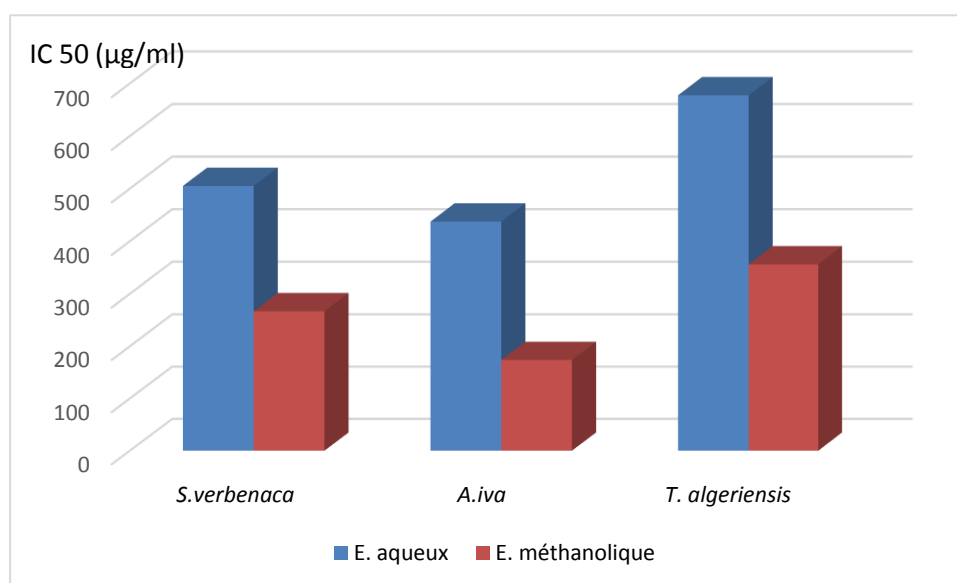
Dans la majorité des résultats rapportés, l'huile essentielle de *T. algeriensis* possède un pouvoir antioxydant faible, ceci est peut être due à la présence de faibles quantités de composés phénoliques ce qui induit une faible activité (Nikolić et al., 2014). Cette faible activité antioxydante peut être attribuée à l'absence de quelques composés tels le thymol et le carvacrol (Sokmen et al., 2004 ; Hazzit et al., 2009). Certains auteurs (Sokmen et al., 2004) ont démontré que la présence de composés phénoliques, en particulier le thymol et le carvacrol, influe positivement sur le pouvoir antioxydant, cependant, Hazzit et al. (2009) rapportent que même les échantillons de *T. algeriensis* dépourvus de ces composés démontrent une activité antioxydante forte. Selon ces auteurs, la présence d'autres composés, autres que le thymol et le carvacrol, semble également jouer un rôle important. Par ailleurs, d'autres études ont montré que l'activité antioxydante des huiles essentielles semble être liée à la présence de certains composés en particulier les monoterpènes oxygénés tels que les alcools et les phénols (Skotti et al., 2014 ; Bourgou et al., 2008). L'activité antioxydante de l'huile essentielle peut être influencée par la période de sa récolte : l'huile essentielle récoltée pendant la phase de floraison et après floraison possède une activité antioxydante plus forte que celle de la période végétative (Bounatirou et al., 2007).

Quant à l'extrait méthanolique de *T. algeriensis*, peu d'études ont été rapportées ; néanmoins, Jaouadi et al. (2019) ont fait état d'un pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de *T.algeriensis* (Tunisie) variant entre 8,9 et 68,8 $\mu$ g/ml. Ceci ne s'accorde pas avec nos résultats où l'IC<sub>50</sub> est égale à 125,59 $\mu$ g/ml. Combien même, la valeur d'IC<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique reste supérieure à celle reportée par Megdiche-Ksour et al. (2015) qui ont enregistré une valeur égale à 7 $\mu$ g/ml. Ceci est peut-être dû à la richesse de ces extraits en composés phénoliques. Pour Zairi et al. (2018), l'extrait méthanolique des feuilles de *T. algeriensis* de Tunisie a une IC<sub>50</sub> égale à 3,13 $\mu$ g/ml, alors que celle de l'extrait méthanolique des fleurs est égale à 4,27 $\mu$ g/ml.

Par ailleurs, on voulait comparer l'activité antioxydante des autres extraits par solvants organiques de la même espèce. La bibliographie reporte celle de l'extrait éthanolique, qui a une activité antioxydante égale à 1,56 mg/ml (Rezzoug et al., 2019). Selon Hazzit et al. (2009), l'activité antioxydante (DPPH) de l'huile essentielle de *T. algeriensis* du parc de Chréa récolté à 800m est entre 8,3% et 53,4%. Celle issue du même site récoltée à 1500m d'altitude varie entre 3,1% et 6,3%. L'huile essentielle de *T. algeriensis* issue de Chlef varie entre 1,6% et 7,8%. Quant à Zairi et al. (2018), ils ont rapporté une IC<sub>50</sub> de *T. algeriensis* de Tunisie, d'une valeur de 3,74µg/ml pour l'infusé des feuilles et de 3,46µg/ml pour le décocté.

En conclusion, les huiles essentielles sont des mélanges complexes et la détermination du ou des composants responsables de l'activité reste difficile.

Pour comparer entre l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques des trois espèces *A.iva*, *S. verbenaca* et *T.algeriensis* (figure V.9), on constate que les extraits aqueux des trois plantes ont des valeurs d'IC<sub>50</sub> supérieures à celles des extraits méthanoliques. Ce qui montre que les extraits méthanoliques ont un pouvoir antioxydant.



**Figure V.9.** Comparaison de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique.

## V. 2.2. Activité antimicrobienne

### V.2.2.1. Activité antimicrobienne de *S. verbenaca*

Les résultats de l'aromatogramme des extraits de *S. verbenaca* sont présentés dans le tableau V.4.

**Tableau V.4.** Résultats de l'aromatogramme des extraits de *S. verbenaca*

	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. albicans</i>
E. aqueux	6	6	6	7,2±0,8	6
E. méthanolique	6	6	9±0,6	10,32±1,2	6

Le diamètre des disques de 6 mm est inclus. Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM

On constate que l'extrait aqueux de *S.verbenaca* n'exerce aucun effet sur les souches *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* et *C.albicans*. Cependant, *B. cereus* a été légèrement inhibée par l'extrait aqueux avec une ZI de 7,2mm de diamètre. De même, pour l'extrait méthanolique qui a seulement exercé un effet contre les deux souches *St. aureus* et *B.cereus* avec des ZI de 9 et 10,32mm, respectivement. Nos résultats s'accordent avec ceux de **Fisher (2005)** en utilisant la méthode de diffusion du disque, cet auteur a également constaté que les extraits méthanolique de *Salvia africana – lutea*, *Salvia africana – caerulea* inhibaient la croissance des bactéries Gram positif (*St. aureus* et *B. cereus*) (ZI allant de 1 à 7mm), tandis qu'ils étaient résistants aux bactéries Gram négatif (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Yersinia enterocolitica*). L'HE de *S. verbenaca* montre une bonne activité inhibitrice de la croissance des bactéries Gram positif (**Canzoneri et al., 2011**). **Bel Hadj Salah et al. (2006)** ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques de trois espèces appartenant au genre *Salvia* des plantes collectées en Tunisie. Les extraits ont inhibé la croissance des dermatophytes et des bactéries responsables des odeurs désagréables à des degrés divers; les levures pathogènes *C. albicans* et *Cryptococcus neoformans*, les champignons filamenteux *Aspergillus fumigatus* et les bactéries d'otite de chien sélectionnées étaient toutes résistantes à chacun des extraits. **Belkheiri et al. (2017)** ont testé l'activité antimicrobienne des extraits de *S. verbenaca* originaire de Bordj-Bou-Arerridj (Algérie). L'extrait d'acétate d'éthyle (EAE) a inhibé la croissance de neuf souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *St. aureus*, *B. cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii* et *Listeria Monocytogenes*), avec des diamètres de ZI allant de 9 à 12mm pour une concentration de 100mg/ml et de 12 à 16mm avec une concentration de 200mg/ml. Alors que l'extrait aqueux n'a aucun effet inhibiteur sur les souches bactériennes. Les mêmes auteurs ont rapporté que l'extrait d'acétate d'éthyle, l'extrait aqueux et l'extrait chloroformique n'ont aucun effet sur les souches fongiques. **Gono-Bwalya (2003)** a démontré que les extraits méthanoliques de *Salvia stenophylla*, de *Salvia repens* et de *Salvia runcinata* présentaient une faible activité contre les bactéries Gram négatif, les levures et les moisissures. Cependant, les

extraits au méthanol des trois espèces collectées à divers endroits ont inhibé la croissance des bactéries Gram-positives avec une ZI allant de 1 à 7mm. Selon **Ahmad et Aqil (2007)**, l'analyse phytochimique des extraits de plantes indique que la présence d'un ou plusieurs groupes de phytoconstituants comme les flavonoïdes, les tanins, les glycosides, les phénols, la saponine, etc. est responsable de l'activité antibactérienne seule ou en combinaison. L'action inhibitrice des plantes aromatiques comprend éventuellement la granulation du cytoplasme, la lésion de la membrane cytoplasmique et l'inhibition et/ou l'inactivation des enzymes extracellulaires et intercellulaires (**Pinto et al., 2006**). Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs tels que la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, le choix des plantes, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée et le type des microorganismes ciblés.

#### **V.2.2.2. Activité antimicrobienne d'*A. iva***

Les résultats de l'aromatogramme des extraits d'*A. iva*, présentés dans le tableau V.5, ont montré que l'extrait méthanolique possède une propriété inhibitrice intermédiaire contre *St. aureus* avec une zone d'inhibition de 11,2mm, contre *B. cereus* (ZI de 8,1mm), contre *E.coli* (ZI de 7,1mm). Cependant, l'extrait aqueux est actif sur la souche *B. cereus* (ZI de 7,3mm). La différence constatée pourrait s'expliquer par le fait que le méthanol a extrait les groupes de composés (les quinones, les flavonoïdes, les saponines et les tanins) présents dans la poudre brute en teneur plus importante que celle de l'extrait aqueux.

Au cours de cette étude, un champignon a été testé, *C. albicans*, ce dernier est largement présent dans les infections humaines et, dans certains cas, ce champignon peut causer de graves problèmes aux patients. *A. iva* a montré une efficacité antifongique pour l'inhibition de la croissance des champignons. L'extrait brut de méthanol s'est révélé plus actif que l'extrait aqueux avec une ZI de 8,2mm. Selon **Chouitah et al. (2017)**, l'huile d'*A. iva* a montré des activités contre *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *St. aureus*, *Bacillus subtilis* et *P. aeruginosa*. **Zerroug et al. (2011)** ont rapporté que l'extrait d'*A. iva* inhibait seulement la croissance de *Paracoccus paratrophus*, donnant une ZI de 3mm. Selon **Mouheb et al. (2018)** l'effet de l'extrait aqueux d'*A. iva* est faible vis-à-vis des souches testées. Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait ont révélé une très faible activité contre toutes les souches microbiennes (la ZI est inférieure à  $8,88 \pm 1,23$ mm).

**Tableau V.5.** Résultats de l'aromatogramme des extraits d'*A. iva*

	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. albicans</i>
E. aqueux	6	6	6	7,3±0,1	6
E. méthanolique	7,1±0,2	6	11,2±0,4	8,1±0,3	8,2±0,5

Le diamètre des disques de 6 mm est inclus. Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM

L'activité antimicrobienne des extraits pourrait être due aux composants anioniques tels les chlorures, le thiocyanate, le nitrate et les sulfates, en plus d'autres constituants hydrosolubles qui sont naturellement présents dans la matière végétale (**Darout et al., 2000**).

### V.2.2.3. Activité antimicrobienne de *T. algeriensis*

Les résultats de l'aromatogramme des extraits et de l'huile essentielle de *T. algeriensis* sont présentés dans le tableau V.6.

**Tableau V.6.** Résultats de l'aromatogramme des extraits et HE de *T. algeriensis*

	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B.cereus</i>	<i>C.albicans</i>
E.aqueux	6	6	6	6	6
E. méthanolique	6	6	6	6	6
H.E.	7,33±0,1	6	11	8,66±0,4	6

Le diamètre des disques de 6 mm est inclus. Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne ± SEM

Pour l'extrait aqueux et méthanolique, les résultats d'aromatogramme sont négatifs pour toutes les souches testées. Ce qui signifie que ces souches sont résistantes vis-à-vis de ces extraits. Cependant, l'huile essentielle a montré une activité inhibitrice contre *B. cereus* avec une zone d'inhibition (ZI) de 8,66mm, contre *St. aureus* (ZI de 11mm) et *E. coli* (ZI de 7,33mm). Ces résultats ne s'accordent pas avec ceux rapportés par **Jaouadi et al. (2019)** qui ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de *T. algeriensis* contre des bactéries Gram positif et négatif, et qui a donné des zones d'inhibitions pour *E.coli* de 14,5 et 13mm, pour *P.aeruginosa* de 10 et 9mm, pour *Klebsiella pneumoniae* de 10,5 et 10mm, pour *St. aureus* de 10 et 11,5mm et pour *B. cereus* de 11 et 13,5mm. De même, **Mehalaine et al. (2017)** ont rapporté que l'huile essentielle de *T. algeriensis* (Algérie) a un effet contre *E. coli* (15mm/CMI=2,5mg/ml), contre *P. aeruginosa* (10mm/CMI=1,66 mg/ml) et *St. aureus* (17,3mm/CMI=0,2 mg/ml).

Selon **Zayyad et al. (2014)**, *T. algeriensis* s'est montrée active contre *Bacillus subtilis* et *Erwinia chrysanthemi* et *St. aureus*. En général, les bactéries Gram positives sont plus

sensibles que les bactéries Gram négatives, mais la souche la plus sensible s'est avérée être *E.chrysanthemi* (Gram-) avec CMI de 1/5000 v/v et la souche la plus résistante étant *Streptococcus pneumoniae* (Gram+) CMI de 1/750v/v. Nos résultats sont semblables à ceux enregistrés par **Rota et al. (2008)**, pour lesquels une sensibilité plus importante de *St. aureus* a été mise en évidence par comparaison à *E. coli* vis-à-vis des huiles essentielles. L'action des huiles essentielles est due à la concentration élevée du thymol et de l' $\alpha$ -terpinène ; et malgré la petite concentration du carvacrol et du bornéol dans la composition on peut les considérer comme des composés clés qui font la différence entre l'activité de ces trois huiles (**Cao et al., 2009**). **Hazzit et al. (2009)**, ont mentionné que l'effet antimicrobien de l'HE de *Thymus* est en relation avec sa teneur accrue en deux composants phénoliques: le thymol et le carvacrol. Le rôle des constituants des HEs moins abondants devrait également être pris en considération (**Nikolić et al., 2014**). Les échantillons d'HEs algériennes de *T. algeriensis*, qui contenaient du thymol comme composé majeur, étaient plus actifs que les échantillons caractérisés par la présence de traces ou de taux très faible de ce composé phénolique (**Hazzit et al., 2009**).

**Chemat et al. (2012)**, lors de leur étude sur l'activité antimicrobienne et antifongique de l'HE de *T. algeriensis geniunu* d'Algérie, ont obtenu les résultats suivants sur *St. aureus* (60mm), *Klebsiella pneumoniae* (25mm) et *P. aeruginosa* (75mm), *E. coli* (46mm), *Micrococcus luteus* (15mm), *Enterococcus fecalis* (49 mm), *C. albicans* (23mm) et *Saccaromyces cerevicae* (47mm). L'HE de *T. algeriensis* est moins active comparée à l'essence de *Thymus ciliatus*. Cette faible activité peut être due à la présence dans l'huile de *T. algeriensis* de l' $\alpha$ -pinène (20,5%), du  $\beta$ -pinène (8,02%) et du limonène (4,85%) reconnus pour leur faible activité antibactérienne. En outre, **Dob et al. (2006)** ont testé l'HE de cette espèce sur deux bactéries gram positif, deux bactéries gram négatifs, deux moisissures et deux levures. L'huile a un effet négatif contre *St. aureus*, *E.coli* et *P.aeruginosa*, cependant, l'huile a un effet sur *Bacillus subtilis* (42 mm y compris le diamètre du disque, *Fusarium oxysporum* (34mm), *Mucor ramaniamus* (28mm), *Saccaromycess cereviciae* (46mm) et *C. albicans* (32mm). La méthode de dilution a donné des résultats différents : 0,5 $\mu$ l/ml pour *Bacillus subtilis*, 2  $\mu$ l/ml pour *St. aureus*  $\mu$ l/ml, 5  $\mu$ l/ml pour *E. coli*, 2  $\mu$ l/ml pour *P. aeruginosa* et 1  $\mu$ l/ml pour *C. albicans*.

Selon **Hazzit et al. (2009)**, l'HE de *T. algeriensis* provenant de la région de Chlef n'a aucun effet inhibiteur sur *Listeria monocetogenes*, *St. aureus*, *Salmonella* sp. et *B. cereus*. Cependant cette huile a un effet inhibiteur fort vis-à-vis d'*Helicobater pylori* (24,33-30mm). Conjointement, l'HE provenant du parc de Chrea (1500m) n'a aucun effet inhibiteur vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* et *St. aureus* alors que cette huile a un effet inhibiteur sur *B. cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *St. aureus* et *Helicobacter pylori* (9, 8, 33, 13, 15 mm,

respectivement). Cependant, l'espèce provenant du parc de Chrea (500m) a donné un effet inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches testées : *B.cereus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* sp., *St. aureus*, *H. pylori* (17 ; 11,66 ; 7 ; 9,33 ; 14,33mm). Selon **Hazzit et al. (2009)**, la zone d'inhibition de l'HE de *T. algeriensis* vis-à-vis de *C. albicans* est située entre 9mm et 9,66mm, alors que celle de *Thymus pallescens* et de *Thymus deatensis* est entre 12mm et 18,66mm et 9 mm, respectivement. **Giordani et al. (2008)** ont rapporté des données variées concernant l'activité antifongique des HE de *T.algeriensis* (de khedara, souk aharas) contre *C. albicans*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 11,37µg/ml. Pour *T. algeriensis* (de la station Fatoum souda, Souk aharas), la CMI est de 18,03µg/ml, alors que pour *Thymus numidicus* (de Khedara), la CMI est de 0,0006 µg/ml. Pour *Thymus ciliatus* et *Thymus vulgaris*, les valeurs varient entre 1,66µg/ml et 3,71µg/ml.

Des travaux antérieurs rapportent que l'HE de *T. algeriensis* possède un effet antimicrobien puissant contre un large éventail de microorganismes. Citons l'exemple de l'étude menée par **Zouari et al. (2011)**, les bactéries Gram-positives se sont révélées plus sensibles à l'HE de *T. algeriensis* que les bactéries Gram-négatives. **Petrović et al. (2016)** ont suggéré que la plupart de l'activité antimicrobienne du genre *Thymus* semblait être associée à des quantités élevées de phénols monoterpéniques (par exemple, le carvacrol). Nos résultats montrent bien que cette huile n'a aucun effet sur la levure *C. albicans*.

Selon **Giordani et al. (2008)** parmi les huiles de sept plantes aromatiques et médicinales différentes de l'Algérie, l'essence de *T. algeriensis* a présenté la plus faible activité antifongique contre *C. albicans*. En revanche, cette huile a inhibé légèrement la croissance des bactéries testées. Les résultats ont montré que l'huile a inhibé la croissance de *B. cereus* avec une zone d'inhibition de 7mm de diamètre, *St. aureus* (5mm), *E. coli* (3mm) et *P. aeruginosa* (2mm). Par contre, la levure semble être plus résistante à cette HE.

D'après ces résultats, on constate que les bactéries Gram positifs (*B. cereus* et *St. aureus*) étaient plus sensibles que les bactéries Gram négatifs (*E. coli* et *P. aeruginosa*). **Smith-Palmer et al. (1998)** ont rapporté que les bactéries Gram positifs étaient fréquemment plus sensibles aux effets inhibiteurs des HE que les bactéries Gram négatif. Une étude menée par **Al-Maqtari et al. (2011)** a rapporté que *E. coli* était légèrement plus résistante avec un diamètre de 23,9mm et que *P. aeruginosa* était plus sensible (26,6mm) à l'HE. Cette résistance a été attribuée à la présence de lipopolysaccharides de la paroi cellulaire qui peuvent filtrer l'HE (**Bezić et al., 2003**).

La corrélation entre l'activité antimicrobienne des HE et leur composition chimique suggère que l'activité des huiles pourrait être attribuée à la présence du constituant majeur, le

thymol, dans toutes les HE étudiés. En tant que composant unique, le thymol était déjà présenté comme un bon agent antimicrobien dans plusieurs études (**Penalver et al., 2005 ; Sokovic et al., 2008, 2009**). En revanche, bien que la plus faible teneur en thymol parmi les trois HE, l'huile de *Thymus serpyllum* a montré l'activité la plus forte, ce qui implique que le thymol est le principal constituant du pétrole, ce n'est évidemment pas le seul responsable d'une bonne activité antimicrobienne; l'implication de constituants moins abondants devrait également être prise en considération.

L'activité antimicrobienne des HE est souvent attribuée à leurs principaux composants, mais de nombreux chercheurs ont suggéré que l'effet synergique ou antagoniste des principaux et les constituants mineurs présents dans les HE doivent être pris en considération pour expliquer leurs activités biologiques (**Bounatirou et al., 2007 ; Cao et al., 2009 ; Zouari et al., 2012 ; Ben Mansour et al., 2013**).

### V.2.3. Activité antidiabétique

Les résultats de l'activité inhibitrice des extraits de la plante *A.iva* sur l' $\alpha$ -amylase pancréatique d'origine porcine sont présentés dans le tableau V.7. L'acarbose est utilisé comme contrôle positif, il inhibe fortement l'activité  $\alpha$ -amylasique. D'après les résultats obtenus, on constate que les extraits d'*A.iva* semblent exercer *invitro* un effet inhibiteur variable dose-dépendant sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. A une concentration de 250 $\mu$ g/ml, l'acarbose atteint un taux d'inhibition de 82,4%, suivi de l'extrait méthanolique (73,21%) et de l'extrait aqueux (55,6%).

**Tableau V.7.** Inhibition de l'activité  $\alpha$ -amylase par les extraits d'*A. iva* et l'acarbose

Concentration ( $\mu$ g/ml)	E. méthanolique	E. aqueux	Acarbose
50	18,33	12,25	37,23
100	31,2	21,3	45,12
150	44,5	33,4	56,22
200	65,3	41,5	71,3
250	73,21	55,6	82,4

Les résultats de la concentration inhibitrice de 50% de l'activité d' $\alpha$ -amylase des extraits d'*A. iva* et acarbose sont présentés dans le tableau V.8.

D'après les résultats ci-dessus, on constate que l'acarbose a une concentration  $IC_{50}$  de 113,74 $\mu$ g/ml. De plus, l'extrait méthanolique a une  $IC_{50}$  de 162,15  $\mu$ g/ml inférieure à celle de l'extrait aqueux qui a un  $IC_{50}$  égal à 230,40  $\mu$ g/ml ce qui montre que l'extrait méthanolique a



un effet plus important que celui de l'extrait aqueux. Ceci est en accord avec les résultats de **Saad et al. (2019)**, ces derniers ont rapporté que l'extrait aqueux a un effet moins important que celui de l'extrait méthanolique ; la différence est probablement due à la différence en matière de composition chimique en composés, sachant que notre extrait méthanolique a un pourcentage élevé en flavonoïdes et en polyphénols que l'extrait aqueux.

**Tableau V.8.** La concentration inhibitrice de 50% de l'activité d' $\alpha$ -amylase des extraits d'*A. iva* et l'acarbose

	<b>E. méthanolique</b>	<b>E. aqueux</b>	<b>Acarbose</b>
<b>IC<sub>50</sub> (µg/ml)</b>	162,15	230,40	113,74

**Bechiri-abbes (2016)** a utilisé l'acarbose comme témoin positif, ce dernier a une IC<sub>50</sub> de 70µg/ml, cette valeur est inférieure à notre résultat. **Saad et al. (2019)** ont rapporté que l'extrait méthanolique d'*A.iva* originaire du Maroc a une IC<sub>50</sub> égal à 172µg/ml, alors que l'extrait aqueux a une IC<sub>50</sub> égal à 210µg/ml. **Nirja et Sharma (2016)** ont rapporté que l'extrait ethanologique d'*A. parviflora* originaire d'Inde avait une valeur de IC<sub>50</sub> égal à 110,18µg/ml et l'acarbose, une valeur égale à 184,54µg/ml. L' $\alpha$ -amylase est l'une des principales enzymes chez l'homme responsable de la dégradation de l'amidon en sucres simples. Ainsi, l'inhibiteur de cette enzyme peut retarder la prise de glucides lors de la digestion et réduire le taux d'absorption du glucose.

## Conclusion

Nos résultats montrent que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique d' *A.iva* sont associés à une activité antioxydante intéressante par rapport aux extraits des deux autres plantes. L'étude de pouvoir antimicrobien a confirmé les propriétés que possèdent les extraits et les HE des plantes étudiées. Une bioactivité importante des activités antioxydantes, antimicrobiennes et antidiabétique est liée à la teneur considérable en composés phytochimiques des différentes espèces. De plus, les résultats publiés précédemment sont difficiles à comparer en raison des différentes procédures d'extraction, de préparation des échantillons et d'évaluation de l'activité biologique.

Les résultats présentés ici peuvent contribuer à la connaissance du potentiel biologique des espèces de la famille des *Lamiacées* et fournir les premières informations sur ces espèces provenant de la région de Djelfa.

## Conclusion Générale

Par le présent travail, nous avons contribué à la caractérisation morphologique, phytochimique et biologique de trois plantes de la famille des Lamiaceae : *Salvia verbenaca*, *Ajuva iva*, et *Thymus algeriensis* de la région de Djelfa. Cette étude nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

- **Sur le plan morphologique :** L'analyse de la variance montre qu'il n'existe pas de différence significative au seuil  $\alpha=0,05$  entre les différentes populations de *T. algeriensis* pour toutes les variables mesurées (longueur, largeur et le rapport longueur : largeur avec  $p>0,05$  de même entre les différentes populations de *S.verbenaca* pour la variable longueur des feuilles. Cependant, il existe une différence significative ( $\alpha =0,05$ ) entre les différentes populations de *S.verbenaca* pour les variables mesurées largeur et longueur du pétiole avec  $p>0,05$ .

L'ANOVA à un facteur, quant à elle, nous a permis de conclure que le facteur station n'a pas d'effet sur les caractères mesurés des feuilles de *T. algeriensis*. En revanche, son effet est significatif pour les caractères mesurés (largeur des feuilles et longueur du pétiole pour les feuilles de *S.verbenaca*).

De même, l'ANOVA à deux facteurs montre qu'il existe une différence significative au seuil ( $\alpha =0,05$  et  $p = 0,04 < \alpha$ ), le facteur face de la feuille a une influence sur le nombre de stomates par contre le facteur station n'a aucun effet sur le nombre de stomates où  $p=0,7 > \alpha$ .

L'observation des feuilles au microscope électronique à balayage nous a permis de mettre en évidence des poils tecteurs ou de recouvrement ainsi que la présence de poils sécréteurs capités et peltés ; ils sont présents dans les feuilles des trois espèces. La seule variabilité se situe au niveau de la fréquence des poils tecteurs qui sont très nombreux chez l'espèce *A. iva*.

Cette étude pour les trois espèces constitue une base de données permettant de mettre en évidence des caractéristiques reconnaissables à l'observation fine (microscopique).

- **Sur le plan phytochimique :** L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des extraits aqueux et méthanolique a permis de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques comme les flavonoïdes, les tannins, les anthraquinones et des alcaloïdes et l'absence de stérols, de saponosides et de triterpènes ainsi que les composés réducteurs.

Le dosage des phénols totaux dans l'extrait méthanolique des trois espèces montre que la teneur la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait d' *A. iva*, avec une valeur de 50,6 mg EAG/g ES suivi par *S. verbenaca* et *T. algeriensis* avec 41,5 mg EAG/g ES et 32,7 EAG/g ES, respectivement. Le dosage des flavonoïdes a révélé que l'extrait méthanolique de *A. iva* renferme un maximum de flavonoïdes, avec un taux de 71,4 EQ/g ES. Cependant, les extraits de *S. verbenaca* et *T. algeriensis* renferment un minimum de flavonoïdes, avec des teneurs de 21,3 et 20,5 EQ/g ES, respectivement. Quant à l'extrait aqueux, les résultats montrent que l'extrait d'*A. iva* contient une teneur en phénols totaux supérieure à celles de *S. verbenaca* et de *A. iva*. De plus, les extraits d'*A. iva* et de *S. verbenaca* contiennent des valeurs de 55,6 EAG/g ES et 42,5 EAG/g ES, respectivement. Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait aqueux de *T. algeriensis* (9,5 mg EQ/g ES).

L'analyse par la chromatographie couplée à la spectrophotométrie de masse (CG-SM) de l'huile essentielle de *S. verbenaca* nous a permis d'identifier 17 composés qui représentent 77,2% de la composition totale de l'huile essentielle. Cet échantillon est principalement constitué d'un mélange d'hydrocarbures monoterpéniques (10,8%), de monoterpènes oxygénés (48,34%), de sesquiterpènes (3,9%) et d'autres composés (11,99%). Il est principalement riche en  $\alpha$ -terpinyl acetate qui représente le composant majeur avec un taux de 34,58%. D'autres constituants sont également présents à des teneurs variées. De la même manière, la CG-SM de l'huile essentielle de *T. algeriensis* nous a permis d'identifier 20 composés qui représentent 86,37% de la composition totale de l'huile essentielle. Cet échantillon est principalement constitué d'un mélange d'hydrocarbures monoterpéniques (1,69%), de monoterpènes oxygénés (64,91%), de sesquiterpènes (12,72%) et autres composés (7,02%). Il est principalement riche en acétate de thymol qui représente le composant majeur avec un taux de 19,41%.

L'analyse HS /SPME CG-SM des trois plantes a permis d'identifier 46 composés. Les composés principaux sont le 1,8-cinéol, le cis-muurolo-3,5-diène et le 2,3-déshydro-1,4-cinéol. Les résultats de cette enquête ont révélé que les trois espèces *A. iva*, *S. verbenaca* et *T. algeriensis* sont des sources riches de constituants bioactifs. Ces composés sont des produits naturels qui les rendent plus attrayants pour des études ultérieures sur les activités biologiques des composés isolés.

- **Sur le plan biologique :** L'étude des activités biologiques a concerné les extraits aqueux et les extraits méthanoliques des trois espèces étudiées (*T. algeriensis*, *A. iva* et *S. verbenaca*) ainsi que l'huile essentielle de *T. algeriensis*

Les résultats obtenus lors de la présente étude ont permis de mettre en évidence, par des tests validés, les activités biologiques des différents extraits des trois plantes.

Concernant l'activité antioxydante, l'extrait méthanolique d'*A. iva* semble plus puissant avec un IC<sub>50</sub> la plus faible par rapport aux autres extraits méthanoliques avec une valeur de 173,69 µg/ml suivi par l'extrait méthanolique de *S.verbenaca* (266,64 µg/ml) et l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* (355,85 µg/ml). De même pour l'extrait aqueux, les résultats ont montré que l'extrait d'*A. iva* (437,24 µg/ml) est plus puissant par rapport aux extraits des deux autres plantes.

Concernant l'activité antimicrobienne de *T. algeriensis*, pour les extraits aqueux et méthanolique, les résultats de l'aromatogramme sont négatifs pour toutes les souches testées. Ce qui signifie que ces souches sont résistantes vis-à-vis des extraits. Pour l'HE de *T. algeriensis*, les résultats montrent que cette huile n'a aucun effet sur la levure *C.albicans* et la bactérie *P. aeruginosa*. Cependant, *E. coli*, *B. cereus* et *S. aureus* sont inhibés.

L'extrait méthanolique d'*A. iva* possède une propriété inhibitrice intermédiaire contre *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 11,2 mm, contre *B. cereus* avec une zone d'inhibition de 8,1 mm et contre *E. coli* avec une zone d'inhibition de 7,1 mm. Cependant, l'extrait aqueux n'a été actif que sur la souche *B. cereus* avec une zone d'inhibition de 7,3 mm. L'extrait aqueux de *S. verbenaca* n'exerce aucun effet sur les souches *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *C. albicans*. Cependant, *B. cereus* a été légèrement inhibée (7,2 mm). De même pour l'extrait méthanolique qui a seulement exercé un effet antibactérien contre les deux souches *S. aureus* et *B. cereus* (9 et 10,32 mm, respectivement).

Concernant l'activité antidiabétique, les extraits aqueux et méthanolique exhibent une activité antidiabétique avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> égales à 162,15 µg/ml pour l'extrait méthanolique et 230,40 µg/ml pour l'extrait aqueux.

L'ensemble de ces résultats obtenu *invitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des travaux ultérieurs plus poussés sont nécessaires pour isoler et identifier les composés responsables de ces activités par l'utilisation de la RP-HPLC, la chromatographie liquide à haute performance en mode de phase inverse, l'UHPLC, la chromatographie liquide ultra haute performance, la NP-HPLC, la chromatographie liquide à haute performance en mode de phase normale.

Pour une meilleure étude de l'efficacité des extraits de plantes contre des bactéries pathogènes, il serait utile :

- d'utiliser la technique de diffusion sur puits qui permettra d'augmenter la quantité d'extrait à tester;
- d'utiliser un antibiotique pour lequel la souche testée est sensible, cet antibiotique servira de témoin positif;
- mélanger les extraits avec du DMSO afin de faciliter la diffusion des métabolites secondaire dans la gélose Mueller Hinton;
- utiliser une gélose Mueller Hinton avec 7 à 10% d'agar.

Concernant le résultat obtenu pour l'activité antidiabétique, ce test devrait être suivi du test de l'activité antihémolytique des extraits qui représente un test simple rendant compte de la non toxicité de ces derniers.

## Références Bibliographiques

- **Ahmad I.** et Aqil F., 2007. *In vitro* efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ESbL-producing multidrug-resistant enteric bacteria. *Microbiolog. Res.* 162: 264–275.
- **Aissaoui M.**, Chalard P., Figuéredo G., Marchioni E, Zao M., Benayache F, et Benayache S., 2014. Chemical composition of the essential oil of *Salvia verbenaca* (L.) Briq. ssp. *pseudo-jaminiana* (Chev.) M. *RJPBCS* 5(6).368-372.
- **Akcin O.**, Senel G. et Akcin Y., 2006. The morphological and anatomical properties of *Ajuga reptans* L. and *Ajuga chamaepitys* (L.) schreber subsp. chia (schreber ) Arcangeli var. chia (Lamiaceae) taxa.2006. *Pak. J. Biol. Sci.* 9 (2) : 289-293.
- **Al-Howiriny T.**, 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia verbenaca*. *Biotechnology*, 1(1): 45-48.
- Al-Jaber H.I.**, 2015. Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried *Salvia verbenaca* L. growing wild in Jordan. *TEOP* 18 (3):718-724.
- **Allen G.**, 2010. The herbalist in the kitchen. *University of Illinois Press*, 504 p.
- **Al Maqtari MAA.**, Alghalibi SM. et Elhamzy EH., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus vulgaris* from Yemen. *Turk J Biochem:* 36 (4) ; 342–349.
- **Almeida V.**, Gonçalves V., Galego L., Miguel G. et Costa M., 2006. Volatile constituents of leaves and flowers of *Thymus mastichina* by headspace solid-phase microextraction. *Acta Horticulturae:* 723-730.
- **Amarti F.**, Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. et Chaouch A. 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14(1), 141-148.
- **APG III.** 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161: 105–121.
- **APG IV,** 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Bot. J. Linn. Soc.* 181(1): 1–20. 10
- **Arnold, N.** et Bellomaria B., 1993. A morpho-anatomical and histochemical study of *Salvia willeana* (Holmboe) Hedge and *Salvia fruticosa* Mil. from Cyprus. - *Fl. Medil.* 3: 283-297.
- **Asakawa Y.**, Ludwiczuk A., Sakurai K., Tomiyama K., Kawakami Y. et Yaguchi Y., 2017. Comparative study on volatile compounds of *Alpinia Japonica* and *Elettaria cardamomun*. *J.Oleo Sci.* 66. (8): 871-876.
- **Ayari B.**, Riahi L., Ziadi S., Chograni H. et Mliki A., 2013. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Ajuga iva* L. essential oils. *Revue F. S. B XI* – 203-210.
- **Aymonin GG.**, 1990. La Grande Flore en couleurs de Gaston Bonnier en 1990, Bulletin de la Société Botanique de France. *Lettres Botaniques*, 137:2-3, 243-244

- **Badi** N.H., Yazdani D., Mohammad Ali S. et Nazari F., 2004. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris*. *Ind. Crops. Prod.*, 19, 231-236.
- **Bagnouls** F. et Gausсен H., 1957. "Les climats biologiques et leur classification." *Annales de Géographie* 66 (355): 193–220.
- **Bahi** A. et Necib Y. 2014. Protective effect of aqueous extract of *Ajuga iva* (L.) against mercury (II) induced oxidative and renal stress in rats. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 27(1), 20: 111-116.
- **Baran** P., Özdemir C. et Aktaş K., 2010. Structural investigation of the glandular trichomes of *Salvia argentea*," *Biologia*, 65 (1): 33–38.
- **Bechiri-abbes** A., 2016. Contribution à l'étude de l'effet de plantes médicinales sur l'hyperglycémie postprandiale chez le rat Wistar. Thèse de doctorat. Université Aboubekr Belkaïd –Tlemcen.
- **Bel Hadj Salah** K., Mahjoub M.A., Ammar S., Michel L., Millet-Clerc J., Chaumont J.P., Mighri Z. et Aouni M., 2006. Antimicrobial and antioxidant activities of the methanolic extracts of three *Salvia* species from Tunisia, *Nat. Prod. Res.: Formerly Nat. Prod. Lett.*, 20:12, 1110-1120.
- **Belhadj** S., Derridj A., Aigouy T., Gers C., Gauquelin T. et Mévy J.P. 2007. Comparative morphology of leaf epidermis of eight populations of Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). *Microscop. Res. & Techn.* 70: 837-846.
- **Belhadj** S., Derridj A., Moriana A., Gijon M.D.C., Mevy J.P. et Gauquelin T., 2011. Comparative analysis of stomatal characters in eight wild atlas pistachio populations (*Pistacia atlantica* Desf.; Anacardiaceae). *Int. Res. J. Plant Sci.* 2(3). 060-069.
- **Belkhiri** F., Baghiani A., Zerroug M.M. et Arrar L., 2017. Investigation of antihemolytic, xanthine oxidase inhibition, antioxidant and antimicrobial properties of *Salvia verbenaca* L. aerial part extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*14(2): 273–281.
- **Belmalha** S., 2015. Caractérisation morphologique et chimique de neuf espèces du genre *Thymus* du maroc, essai de micropropagation et effet biocide. Thèse de Doctorat, Université Moulay Ismail, faculté des Sciences. MEKNES (Maroc)
- **Belmekki** N., Bendimerad N. et Seladji M., 2012. Phytochemical constituents of some Algerian medicinal plants. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 2 (5):558-562.
- **Beloued** A., 2014. Plantes médicinales d'Algérie. Editions O.P.U. P. 284.
- **Benabed** K.H., Gourine N., Quinten M., Bombarda I. et Yousfi M., 2017. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of three Algerian Lamiaceae species. *J.Food Sci*, 13(2): 97-109.
- **Benabid** A., 2000. Flore et écosystème du Maroc : évaluation et préservation de la biodiversité. *Ibis Press, Paris*, 357 p.
- **Bendif** H., Lazali M., Harir M., Miara M.D., Boudjeniba M. et Venskutonis P.R., 2017. Biological screening of *Ajuga iva* extracts obtained by supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction Citation, *J. Med. Botany.* 1: 33–41.
- **Ben El Hadj-Ali** I., Zaouali Y., Bejaoui A et Boussaid M., 2010. Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *J. Chem. Biodiver.*, 7: 1276–1289.
- **Ben El Hadj-Ali** I., Guetat A. et Boussaid M., 2012. Chemical and genetic variability of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae), a North African endemic species. *Ind Crops Prod*: 40, 277-284.

- **Ben El Hadj Ali I.**, Guetat A. et Boussaid M., 2014. Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the gynodioecious *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) in Tunisia, *Plant Biosystems - Pl. Biosystems*, 148:2, 217-226.
- **Ben Farhat M.**, Chaouch-Hamada R., Sotomayor J.A., Landoulsi A. et Jordán MJ., 2015. Antioxidant properties and evaluation of phytochemical composition of *Salvia verbenaca* L. extracts at different developmental stages. *Plant Foods Hum Nutr* ;70(1):15-20.
- **Benhanifia K.**, 2015. Rapport sur l'analyse des agents et causes de la déforestation et de la dégradation dans les sites pilotes du projet FFEM Djelfa Algérie, 69p.
- **Ben Mansour M.**, Balti R. et Rabaoui L., 2013. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from south Tunisian *Ajuga pseudoiva* Rob. Lamiaceae. *Proc Biochem* 48:723–29.
- **Ben Taarit M.**, Msaada K., Hosni K., Hammami M., Kchouk M.E. et Marzouk B., 2009. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. *Ind Crops Prod*, 30, 333–337.
- **Beyi L.**, Aziz M., Makrane H., Karim A., Bnouham M. et Ziyyat A., 2015. Antidiarrheal activity of *Thymus algeriensis* Boiss and Reut aqueous extract on rats and mice. *Int J Pharm Pharm Sci*: 7(3) 292-294.
- **Bezic' N.**, Skoc'ibus'ic' M., Dunkic' V. et Radonic' A., 2003. Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. essential oil. *Phytother Res*;17:1037–40.
- **Bhattacharya S.**, 1978. Study of some Indian members of the genus *Salvia* with references to the cytological behaviour. *Cytologia* 43: 317-324.
  
- **Bonifacino M.** et Rossado A. 2017. Sistemática de Plantas Vasculares. [http://www.thecompositaehut.com/www\\_tch/webcurso\\_spv/familias\\_pv/lamiaceae.html](http://www.thecompositaehut.com/www_tch/webcurso_spv/familias_pv/lamiaceae.html)
- **Bounatirou S.**, Smiti S., Miguel MG., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G. et Pedro .LG., 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link., *Food Chem.*, 105 (1):146–155, 2007.
- **Bourgou S.**, Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H. et Marzouk B., 2008. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C R Biol* 331: 48-55.
- **Bouyahya A.**, Abrini J., El-Baabou A., Bakri Y. et Dakka N., 2016. Determination of phenol content and antibacterial activity of five medicinal plants ethanolic extracts from North-West of Morocco. *J. Plant Pathol. Microbiol.* 7: 342 –45.
- **Brahmi F.**, Hauchard D., Guendouze N., Madani K. et Kiendrebeogo M., 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Ind Crops Prod*, Elsevier, 74: 722-730.
- **Brand-Williams W.**, Cuvelier M.E. et Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28 (1): 25-30.
- **Bruni A.** et Modenesi P., 1983. Development, oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). *Nordic Journal of Botany* 3: 245–251.



- **Cai**, Y., Luo Q., Sun M. et Corke H., 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.*, 74: 2157-2184.
- **Cai** Z.Y., Yi G.Q., Li Y.Y., Liang X.L., Gan L. et He G.X., 2009. Nuclear magnetic resonance characteristics of neo-clerodane diterpene in Genus *Ajuga*. *Cent South Pharm* 2014; 12: 1108-1112. 2.
- **Çalı** I.Ö., Cansaran A. et Yıldırım C., 2014. Trichome morphology of *Ajuga orientalis* L. (Lamiaceae) from Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 43(1), 91-95.
- **Callow** J.A., Hallahan D.L. et Gray J.C., 2000. Plant trichomes. *Elsevier*, 311 p.
- **Cantino** P.D., 1990. The phylogenetic significance of stomata and trichomes in the Labiatae and Verbenaceae. *J. Arnold Arboretum* 71: 323-370.
- **Canzoneri** M., Bruno M., Rosselli S., Russo A., Cardile V., Formisano C., Rigano D. et Senatore F., 2011. Chemical composition and biological activity of *Salvia verbenaca* essential oil, *Natural Product Communications*, 6(7):1023-1026.
- **Cao** L., Yong Si J., Liu Y., Sun H., Jin W., Li Z., Hong Zhao X. et Le Pan R., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* (Maxim). *Food Chem.*, 115, 3801 – 805.
- **Chabane** D., Saidi F., Rouibi A. et Azine K., 2013. Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. schreber chez les rats diabétiques induite par l'alloxane. *Afrique science* 09(1) 120 – 127.
- **Chalchat** J.C., Michet A. et Pasquier B., 1998. Study of clones of *Salvia officinalis* L. Yields and chemical composition of essential oil, 13(1):68-70.
- **Chemat** S., Cherfouh R., Meklati B.Y. et Belanteur K., 2012. Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis* genuinus) essential oil, *J. Essent. Oil Res*, 24:1, 5-11.
- **Chisowa** E.H., Hall D.R. et Farman D.I., 1998. Chemical composition of the essential oil of *Blumea gariiepina* DC.10, (3):337-338.
- **Chouitah** O., Meddah B., Aoues A. et Sonnet P., 2017. Essential oil from the leaves of *Ajuga iva*: chemical composition and antimicrobial activity. *TEOP* 20 (3) 873 – 877.
- **Clevenger** J.F., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 17: 336-341.
- **Coll** Æ, Yudelsy A. et Tandro´ N., 2008. neo-Clerodane diterpenoids from *Ajuga*: structural elucidation and biological activity. *Phytochem Rev* 7:25–49
- **Corsi** G. et Bottega S., 1999. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany* 84: 657-664.
- **Dajić-Stevanović** Z , Šoštarić I. , Marin P.D. , Stojanović D. et Ristić M., 2008. Population variability in *Thymus glabrescens* Willd. from Serbia: morphology, anatomy and essential oil composition. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 60 (3), 475-483.
- **Darout**, I., Cristy A., Skaug N. et Egeberg, P., 2000. Identification and quantification of some potential antimicrobial anionic components in miswak extract. *Indian J. Pharmacol.*, 32: 11–14.
- **D'Auria** M. et Racioppi R., 2015. The effect of drying of the composition of volatile organic compounds in *Rosmarinus officinalis*, *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* and *Thymus serpyllum*. A HS-SPME-GC-MS Study. *J. essential oil bearing plants* 18 (5): 1209 – 1223.

- **De Zoysa** M.H.N., Rathnayake H., Hewawasam R.P., et Wijyaratne W.M.D., 2019. Determination of in vitro antimicrobial activity of five Sri Lankan medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. *International Journal of Microbiology*, Article ID 7431439, 8 p.
- **Djebaili** S., 1984. Steppes algériennes. Phyto-écologie et écologie. Université des Sciences et de la Technologie. Languedoc , Montpellier. France, 174 p.
- **Dob** T., Dahmane D., Benabdelkader T. et Chelghoum C., 2006. Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. Et Reut. *Int. J. Aromather.*16: 95100.
- **Eiji** S. et Salmaki Y., 2016. Evolution of trichomes and its systematic significance in *Salvia* (Mentheae ; Nepetoideae; Lamiaceae). – *Botanical Journal of the Linnean Society*, 180(2): 241–257.
- **El Ajjouri** M., Ghanmi M., Satrani B. , Amarti F., Rahouti M., Aafi A., Ismaili R. et Farah A., 2010. Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294.
- **El-Gazzar** A., El-Ghamery A., Khattab A.H., El-Saeid B.S. et El-Kady A.A., 2019. Computer-generated keys to the flora of Egypt. 8. The Lamiaceae. *Egypt. J. Bot.*, 59 : 209 -232.
- **EL Hilaly** J., 2007. Les propriétés pharmacologiques, ethnobotaniques et phytochimiques de *Ajuga iva*. UFR Physiologie-Pharmacologie Fac des Sciences Dhar Mehraz, Fès.
- **El Ouariachi** E., Hamdani I., Bouyanzer A., Hammouti B., Majidi L., Costa J., Paolini J. et Chetouani A., 2014. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(4), 281–286.
- **El-Sakhawy** F.S., Kassem H.A., El-Gayed S.H. et Mostafa M.M., 2018. Headspace solid phase microextraction analysis of volatile compounds of the aerial parts and flowers of *Plectranthus neochilus* Schltr. And *Salvia farinacea* Benth. *TEOP* 21 (3): 674 – 686.
- **Emberger** L., 1955. Une classification biogéographique des climats. *Rev. Trav. Labo. Bot. Géol. Zool. Fac. Sci.*, Montpellier, 7 : 1-43.
- **Fellah** S., Romdhane M. et Abderraba M., 2006. Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.soc.alger.chim.*, 16(2) : 193-202.
- **Fischer** B., 2017. Le système du jardin botanique de Fribourg. *Université de Fribourg*, 21 p.
- **Fisher** V.L., 2005. Indigenous *Salvia* species - an investigation of the antimicrobial activity, antioxidant activity and chemical composition of leaf extracts. A research report. *University of the Witwatersrand*, Johannesburg. 87 p.
- **Foufou** A., Kechiched R., Lekoui S., Mahammedi K. et Ramdani S. 2013. Ressources en eau et gestion intégrée dans la ville de Ain-oussera (W. DE DJELFA, Algérie). Le Séminaire International sur L'Hydrogéologie et l'Environnement 5 - 7 Novembre, Ouargla (Algérie).

- **Gacemi A.**, 2015. Rapport technique : analyse de vulnérabilité au changement climatique du couvert forestier, forêt de Senelba (Algérie), 85p.
- **Generalic I.**, Skroza D., Šurjak J., Možina S. S., Ljubenkovic I., Katalinic A. et Katalinic V. 2012. Seasonal variations of phenolic compounds and biological properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9(2), 441–457.
- **Giordani R.**, Hadeif Y. et Kaloustian J. 2008. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79: 199–203.
- **Giweli A.A.**, Dzamic A.M., Sokovic M.D., Ristic M.S. et Marin P.D., 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Cent Eur Biol*. 8(5): 504-511.
- **Göger F.**, Bülent-Köse Y., Göger G. et Demirci F., 2015. Phytochemical characterization of phenolics by LC-MS/MS and biological evaluation of *Ajuga orientalis* from Turkey, *Bangladesh J. Pharmacol*. 10: 639 –644.
- **Gonard A.**, 2015. Les Lamiacées de France. *Société Botanique du Centre-Ouest*, 528p.
- **Gono-Bwalya A.**, 2003. Chemotaxonomy and biological activity of *Salvia Stenophylla* (Lamiaceae) and related taxa. *University of the Witwatersrand Johannesburg, South Africa*, 157p.
- **Guesmi F.**, Mouna B.F., Mondher M. et Landoulsi A. 2014. *In-vitro* assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis*. *Lipids Health Dis* 13, 114.
- **Guesmi F.**, Saidi I. et Landoulsi A. 2019. Effect of bioclimatic and edaphic condition on metabolite recovery diversity of *Thymus algeriensis* essential oils. *IJHM* ; 7(2): 33-37 .
- **Guignard J. L.** et Pelt J. M., 2000. Botanique systématique moléculaire.12ème édition. Masson, Paris.
- **Guit B.**, Nedjimi B, Guibal F. et Chakali G., 2015. Dendroécologie du pin d’alep (*Pinus halepensis* mill.) en fonction des paramètres stationnels dans le massif forestier de senalba (djelfa, algérie). *Revue d’Ecologie (Terre et Vie)*, 70 (1) : 32-43.
- **Grace M.H.**, Cheng D.M., Raskin I. et Lila M.A., 2008. *Neo-clerodane* iterpenes from *Ajuga turkestanica*. *Phytochem Lett*. 1(2): 81–85.
- **Grieve M.**, 1984. A Modern herbal. *Savvas Publishing*. ISBN.
- **Guo Y.**, Li Y., Xue L., Severino R. P., Gao S. et Niu J., 2014. *Salvia miltiorrhiza*: an ancient Chinese herbal medicine as a source for anti-osteoporotic drugs. *J. Ethnopharmacol*. 155, 1401–1416.
- **Hamel T.** , Sadou S., Seridi R., Boukhdar S. et Boulemtafe S., 2018. Pratique traditionnelle d’utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l’edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, n°59.

- **Hao** D.C., Gu X.J. et Xiao P.G., 2015. Phytochemical and biological research of *Salvia* medicinal resources. Chapter in book: Medicinal plants; 587-639.
- **Haque** M.S., 1981. Chromosome numbers in the genus *Salvia* Linn. Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section B, Biological Sciences, 47: 419-426.
- **Harley**, R.M., Atkins, S., Budantsev, A.L., Cantino, P.D., Conn, B.J., Grayer, R., Harley, M.M., De Kok, R., Krestovskaja, T., Morales, R., Paton, A., Ryding, O. et Upson T., 2004. Labiatae. In: Kadereit, J.W. (ed.) *The families and genera of vascular plants 7—Flowering plants: Dicotyledons (Lamiales except Acanthaceae including Avicenniaceae)*. Springer Verlag, Berlin and Heidelberg, 167–275.
- **Hashemi** P., Abolghasemi M. et Hassanvand H. 2010. Headspace Solvent Microextraction of Volatile Components of *Thymus daenensis*. *Journal of Essential Oil Research*. 22: 365-368.
- **Hassawi** D. et Kharma A. 2006. Antimicrobial activity of some medicinal plants against *Candida albicans*. *J. Biol. Sci.* 6:109–114.
- **Hazzit** M. et Baaliouamer A. 2007. Composition chimique of essential oils of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Thymus numidus* Poiret from Algeria. *Riv. Ital. EPPOS*, 43, 11-18.
- **Hazzit** M., Baaliouamer A., Verissimo A.R., Faleiro M.L. et Miguel M.G., 2009. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry* 116: 714-721.
- **Hedge** C., 1974. Revision of *Salvia* in Africa including Madagascar and the Canary Islands. Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh.
- **Hedge** C., 1992. A Global survey of the biogeography of the Labiatae. In: Harley, R.M. and Reynolds, T., Eds., *Advances in Labiatae Science, Royal Botanic Gardens, Kew*, 7-17.
- **Hilaly** J.E., Israili Z.H. et Lyoussi B., 2004. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *J Ethnophar*; 91: 43–50.
- **Houmani** Z., Azzoudja S., Naxakis G. et Skoula M., 2002. The essential oil composition of algerian zaâtar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp., *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9(4):275-280.
- **Hussain** A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Latif S., Sherazi S.T.H., Ahmad A., Worthington J. et Sarker S.D., 2013. Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora. *LWT - Food Science and Technology* 50: 185-192.
- **Inamdar** J.A. et Bhatt D.C., 1972. Structure and development of stomata in some Labiatae. *Ann. Bot-London* 36: 335-344.
- **Israili** Z.H. et Lyoussi B., 2009: Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pak J Pharm Sci.* 2009; 22(4):425–62.
- **Jalas** J., 1971. Notes on *Thymus* L. (Labiatae) in Europe. I. Supraspecific classification and nomenclature. *Bot. J. Linn. Soc.* 64: 199-235.
- **Jan** M., Singh S., Zahoor A Kaloo Z.A. et Maqbool F., 2014. Medicinal importance of *Ajuga bracteosa* Wall ex Benth. – A Review. *International Journal of Advanced Research*, 2(1), 389-394.
- **Janošević** D., Budimir S, Alimpić A, Marin P., Al Sheef N., Giweli A. et Duletić-Laušević S., 2016. micromorphology and histochemistry of leaf trichomes of *Salvia aegyptiaca* (Lamiaceae). *Arch Biol Sci.*; 68(2):291-301.

- **Jaouadi R.** , Silva A. M. S. , Boussaid M. , Yahia I. B. H. , Cardoso S.M. et Zaouali Y., 2019. Differentiation of phenolic composition among Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) populations: correlation to bioactive activities. *Antioxidants* 8, 515.
- **Jia P.**, Liu H., Ting Gao T. et Xin H., 2013. Glandular Trichomes and Essential Oil of *Thymus quinquecostatus*. *The Scientific World Journal* 387952, 8 p.
- **Jia Z.**, Tang M. et Wu J., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section*, 64, 555-559.
- **Judd W.S.**, Campbell C.S., Kellogg E.A., et Stevens P.F., 2002. Botanique systématique “une perspective phylogénétique.-edition de Boeck Université.
- **Kaddem S.E.**, 1999. Les plantes médicinales en Algérie. Le monde des pharmaciens. 181 p.
- **Kahraman A.**, Celep F. et Dogan M., 2010. Anatomy, trichome morphology and palynology of *Salvia chrysophylla* Stapf (Lamiaceae). *South African Journal of Botany* 76: 187–195.
- **Kallel F.**, Driss D., Chaari F., Belghith L., Bouaziz F., Ghorbel R. et Chaabouni S.E., 2014. Garlic (*Allium sativum* L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 62: 34-41.
- **Kamatou G.P.P.** , Viljoen A.M. , Van Vuuren S.F., Figueiredo A.C. , Barroso J.G. , Pedro L.G. et Tilney P.M., 2006. Chemical composition, leaf trichome types and biological activities of essential oils of four related *Salvia* species indigenous to South Africa *.Journal of Essential Oil Research*, 18:72-79.
- **Kaplan F.** et Çakır E.A., 2019. Morphological characteristics of some *Salvia* L. taxa in Sakarya Province (Turkey). *Eurasian Journal of Forest Science*. 7(2): 133-144.
- **Karami-Osboo R.** , Miri R., Javidnia K., Kobarfard F, Shojaee M.H., Abadi A. et Maham M., 2015. A validated dispersive liquid-liquid microextraction method for extraction of ochratoxin A from raisin samples. *J Food Sci Technol*; 52(4):2440-5.
- **Karousou R.**, Koureas D.N. et Kokkini S., 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66 : 2668- 2673.
- **Khelifi D.**, Hamdi M., El-Hayouni A., Cazaux S., Souchard J.P., Couderc F. et Bouajila J., 2011. Chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) Leaves, *Molecules*.16:10592 –603.
- **Khelifi S.**, El Hachimi Y., Khalil A., Es-Safi N., Belahyan A., Tellal R. et El Abbouyi A., 2006. *In vitro* antioxidant properties of *Salvia verbenaca* L. hydromethanolic extract. *Indian J Pharmacol* 38 (4): 276-280.
- **Kintzios S.E.**, 2000. Sage: The genus *Salvia* Harwood Academic Publ., Amsterdam.
- **Kivrak S.**, Göktürk T., Kivrak I., Kaya E. et Karababa E., 2009. Investigation of phenolic profiles and antioxidant activities of some *Salvia* species commonly grown in Southwest Anatolia using UPLC-ESI-MS/MS. *Food Sci. Technol, Campinas*, 39(2): 423-431.
- **Kouamé-Bi K.F.P.**, 2012. Valorisation de quatre plantes médicinales Ivoiriennes: étude phytochimique. Thèse de doctorat, chimie organique, Université de Nantes et de l’Université de Cocody-Abidjan. 180 p.

- **Lamnouer** D., 2005. A guide to medicinal plants in North Africa. IUCN center for mediterranean cooperation, Malaga (Spain).
- **Le floe'h** E., Boulos L., Véla E., 2010. Catalogue synonymique commenté de la flore de Tunisie. banque nationale de gènes, 504p.
- **Lemberkovics** M. E. et Marczal G., 2003: Study of plant anatomical characteristics and essential oil composition of Hungarian *Salvia* species. *Acta Horticulture*, 597: 143–148.
- **Liu** B., Shi R.B., Ge X.X., Zhou Y. et Zhou J., 2001. Chemical constituents and Pharmacological activities of *Ajuga*. *World Phytomedicine*; 16: 96-101.
- **Macheix** J.J., Fleuriet A. et Christian Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique PPUR presses polytechniques, 192 pages.
- **Maffei** M.E., 2018. Plant bioactive molecules. Cambridge Scholars Publishing, 445 p.
- **Makni** M., Haddar A., Kriaa W. et Zeghal N., 2013. Antioxidant, free radical scavenging, and antimicrobial activities of *Ajuga iva* leaf extracts. *International Journal of Food Properties* 16, 756-765.
- **Maleci** B. et Giuliani C., 2006. The glandular trichomes of the labiatae. a review. *Acta Horticulturae*, 723: 85–90.
- **Mamadaliyeva** N.Z., Akramov D.K. , Ovidi E., Tiezzi A. , Nahar L. , Shahnoz S. Azimova S.S. et Sarker S.D., 2017. Aromatic medicinal plants of the Lamiaceae family from Uzbekistan: ethnopharmacology, essential oils composition, and biological activities. *Medicines*, 4, 8.
- **Maqtari** M.A.A., Alghalibi S.M. et Alhamzy E.H., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus vulgaris* from Yemen. *Turkish Journal of Biochemistry* 36(4):342-349.
- **Marin**, M., Koko V., Duletić-Laušević S., Marin P.D., 2008. Micromorphology of trichomes of *Thymus malyi* (Lamiaceae). *Journal of microscopy*, 232 (3):406-409.
- **Masih** N. G. et Singh B. S., 2012. Phytochemical screening of some plants used in herbal based cosmetic preparations chemistry of phytopotentials: *Health, Energy and Environmental Perspectives*, 111-112.
- **Mathé** I., Olah L., Mathé A., Miklossy V., Bernath J., Bluden G. et Patel A.V., 1992. Changes in the essential oil production of *Salvia officinalis* under climatic conditions of the temperature belt. *Planta Med* 58: Suppl A 680.
- **McCue** P., Kwon Y.I. et Shetty K., 2005. Anti-diabetic and anti-hypertensive potential of sprouted and solid-state bioprocessed soybean. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* 14: 145-152.
- **McGimpsey** J. A., Douglas M. H., Van Klink J. W., Beauregard D. A. et Perry N. B., 1994. Seasonal variation in essential oil yield and composition of naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. *Flavour Fragrance J.* 9, 347-352.
- **Medjeldi** S., Bouslama L., Benabdalla A., Essid R., Haou S. et Elkahoui S., 2018. Biological activities, and phytocompounds of northwest Algeria *Ajuga iva* (L) extracts: Partial identification of the antibacterial fraction, *Microbial Pathogenesis*.121:173-178.
- **Megdiche-ksouri** W., Saada M., Soumaya B., Snoussi M., Zaouali Y. et Ksouri R. 2015. Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 23(4), 1046-1056.

- **Mehalaine S.**, Belfadel O., Menasria T. et Messaili A., 2017. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three medicinal plants from Algerian semi-arid climatic zone. *Phytothérapie*, 1–9.
- **Mendes M.D.**, Trindade H., Figueiredo A.C., Pedro L.G. et Barroso J.G., 2010. Trichomes morphology and essential oils composition in micropropagated vs. Field grown *Thymus caespititius* plants. *Acta Hort.* 860, 215-218.
- **Mendes M. D.**, Figueiredo A.C., Margarida Oliveira M.M. et Trindade H., 2013. Essential oil production in shoot cultures versus field-grown plants of *Thymus caespititius*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 113:341–351.
- **Meshkatalasadat M.H.**, Heravi M.R.P. et Rashidipour F., 2009. Chemical characterization of volatile organic components of *Salvia officinalis* using ultrasonic-assisted head space solid-phase microextraction and hydro-distillation extraction methods. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 44(3):291-296.
- **Messaoudi M.**, Benreguieg M., Merah M. et Messaoudi Z.A., 2019. Antibacterial effects of *Thymus algeriensis* extracts on some pathogenic bacteria. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 41, 48548.
- **Miller G.L.**, 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 31:426–8.
- **Moldao –Martins M.**, Bernardo-Gil M.G., Beirao Da Costa M. L. et Rouzet M., 1999. Seasonal variation in yield and composition of *Thymus zygis* L subsp *sylvestris* essential oil . *Flavour and fragrance J.* 14 (3): 117-122.
- **Morales R.**, 2002. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Stahl-Biskup, E. & Sáez, F. (eds). *Thyme: The Genus Thymus*. London: *CRC Press Taylor & Francis Group*; 1–43.
- **Mossi A.J.**, Cansian R.L., Paroul N., Toniazzo G., Oliveira J.V., Pierozan M.K., Pauletti G., Rota L., Santos A.C. et Serafini L.A., 2011. Morphological characterisation and agronomical parameters of different species of *Salvia* sp. (Lamiaceae). *Braz J Biol.* 71: 121-129.
- **Mouheb S.**, Khali M., Rouibi A. et Saidi F., 2018. Antimicrobial and analgesic activity of aqueous extract of Algerian *Ajuga iva* (L.) Schreb (LAMIACEAE). *Revue Agrobiologia.* 8(1): 863-870.
- **Mouton J. A.**, 1976. La biométrie du limbe : mise au point de nos connaissances. *Uull. Soc. bol. Fr.*, 1976, 12.1, 145-158.
- **Mráz P.**, 1998. The structure and development of the glandular trichomes of *Teucrium montanum* (Lamiaceae). *Biol. Bratislava*, 53 (1), 65-72.
- **Mzoughi O.**, 2017. Analyse et description de la morphologie foliaire : Application à la classification et l'identification des plantes, <http://www-lisic.univ-littoral.fr/spip.php?article338>).
- **Nassiri L.**, 2000. Cours de phytogéographie de Maroc. Université Moulay Ismail, 44p.
- **Nickavar B.**, Kamalinejad M. et Izadpanah H., 2007. *In vitro* free radical scavenging activity of five *Salvia* species, *Pak. J. Pharm. Sci.* 2 : 291–294.



- **Nikolić** M., Glamočlija J., Ferreira I.C.F.R., Calhella R.C., Fernandes A., Marković T., Marković D., Giweli A. et Soković M., 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52: 183-190.
- **Nirja** T. et Sharma R.M.L., 2016. Antidiabetic and antioxidant activity of ethanolic extract of *Ajuga parviflora* Benth. (Lamiaceae) vern. Neelkanthi, Neelbati. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 41(2): 232-238.
- **Oslon** M., 2003. Lamiaceae, the mint family. <https://www.eeob.iastate.edu/classes/bio366/families/Lamiaceae.pdf> (Consulté en ligne, 2019).
- **Ouakouak** H., Abdellatif F. et Hassani A., 2015. Chemical composition, antioxidant activity of the essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss, North Algeria. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 2299-3843. 59, 72-80.
- **Ozcan** M. et Eminagaoglu O., 2014. Stem and leaf anatomy of three taxa in Lamiaceae. *Bangladesh Journal of Botany*, 43(3), 355- 362.
- **Park** H.Y., Kim D.H. et Sivanesan I., 2017. Micropropagation of *Ajuga* species: a mini review. *Biotechnology Letters*, 39: 1291-1298.
- **Paton** A., 1991. *Salvia lanceolata*; Labiatae. *Curtis's Botanical Magazine*, 8(4), 168–171.
- **Peana** A.T. et Moretti M.D.L., 2002. Pharmacological activities and applications of *Salvia sclarea* and *Salvia desoleana* essential oils. *Studies in Natural Products Chemistry* , 26: 391-423.
- **Peñalver** P., Huerta B., Borge C., Astorga R., Romero R. et Perea A., 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family APMIS, 113: 1-6.
- **Perry** N. B., Anderson R. E., Brennan N. J., Douglas M. H., Heaney A. J., McGimpsey J. A., et Smallfield B. M., 1999. Essential oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2048–2054.
- **Petrović** N.V., Petrović S.S., Džamić A.M., Ćirić A.D., Ristić M.S., Milovanović S.L. et Petrović S.D., 2016. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Thymus praecox* supercritical extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*. 110: 117-125.
- **Piccaglia** R. et Marotti M., 1991. Composition of the essential oil of an Italian *Thymus vulgare* L. ecotype. *Flavour & Fragrance J.* 6, 241-244.
- **Pinto** E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M. J., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A. et Martinez-de-Oliveira J., 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*. 55: 1367–1373.
- **Potterton** D., 1983. Culpeper's Colour Herbal. W. Foulsham ISBN 572–01152.
- **Prat** R., 2013. Observation de stomates. Université Pierre et Marie Curie. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/vegetaux/anatomie-vegetale-et-histologie-vegetale/observation-de-stomates>
- **Qing** X., Yan H.M., Ni Z., Vavrickaa C.J., Zhang M., Shi Q., Gu Y. et Kiyota H., 2017. Chemical and pharmacological research on the plants from genus *Ajuga*. *Heterocycl. Commun.* 23(4): 245–268.
- **Quezel** P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.



- **Rasooli I.**, 2003. Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J. Agric. Food Chem* ; 51, 2200–2205.
- **Reille M.**, 2018. Lamiacées (= Labiées). [http://www.arbres-lozere.fr/wa\\_files/6LAMIACEES\\_INTERNET\\_2018.pdf](http://www.arbres-lozere.fr/wa_files/6LAMIACEES_INTERNET_2018.pdf)
- **Rezai S.**, Etemadi N., Nikbakht A., Yousefi M., 2019. Effect of light intensity on leaf morphology, photosynthetic capacity, and chlorophyll content in sage (*Salvia officinalis* L.). *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 36 (1) : 46-57.
- **Rezzoug M.**, Bakchiche B., Gherib A., Roberta A., Guido F., Kiliñarslan O., Mammadov R., et Bardaweel S.K., 2019. Chemical composition and bioactivity of essential oils and ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas BMC Complement Altern Med. 19: 146.
- **Rivas-Martínez S.**, 2005. Mapa de series, geoseries y geopermaseries de vegetación de España. Memoria del mapa de vegetación potencial de España. Partie I. 27 p.
- **Rota M.C.** , Herrera A., Martínez R.M., Sotomayor J.A. et Jordán M.J., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control* 19, (7): 681-687.
- **Rouibi A.**, Chabane D., Saidi F. et Azine K., 2012. Étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. et de l'ibuprofène chez les souris. *Afrique Science* 08(2) :131 – 137
- **Rzepa J.**, Wojtal L., Staszek D., Grygierczyk G., Labe K., Hajnos M., Kowalska T. et Waksmundzka-Hajnos M., 2009. Fingerprint of Selected *Salvia* Species by HS–GC–MS Analysis of Their Volatile Fraction. *Journal of Chromatographic Science*, 47: 575-580.
- **Saad F.**, Mrabti H.N. , Sayah K. , Bouyahya A. , Salhi N., Cherrah Y. et El Abbes F., 2019. Phenolic content, acute toxicity of *Ajuga iva* extracts and assessment of their antioxidant and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects. *South African journal of botany* 125: 381-385.
- **Salhi N.**, Fidah A., Rahouti M., Ismaili M.R., Ramzi H. et Kabouchi B., 2018. Chemical composition and fungicidal effects of four chemotypes of *Thymus satureioides* Cosson essential oils originated from South-west of Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 9, (2): 514-519.
- **Sanchez-Moreno C.**, 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int.* 8(3):121–137.
- **Sayout A.**, Bahi F., Ouknin M., Arjouni Y., Majidi L. et Romane A., 2015. Phytochemical screening and antioxidant activity of four Moroccan *Thymus* species: *T. leptobotrys* Murb., *T. pallidus* Batt., *T. broussonetti* Boiss., and *T. maroccanus* Ball. *Arabian journal of medicinal and aromatic plants*, 117-128.
- **Sefidkon F.**, Nikkhab F. et Ashoorabadi E.S., 2009, The effect of distillation methods and plant growth stages on the essential oil content and composition of *Thymus vulgaris* L.. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(3): 309-320.
- **Seltzer P.**, 1946. Le climat de l'Algérie. Inst. Météor. et de Phys. du Globe. Univ. Alger. 219 p
- **Senatore F.**, De Fusco R. et De Feo V., 1997. Essential oils from *Salvia* spp. (Lamiaceae). I. chemical composition of the essential oils from *Salvia glutinosa* L. growing wild in Southern Italy, *Journal of Essential Oil Research*, 9:2, 151-157.

- **Senhaji S.**, Lamchouri F., Bouabid K., Assem N., El Haouari M., Bargach K. et Toufik H. 2020. Phenolic contents and antioxidant properties of aqueous and organic extracts of a Moroccan *Ajuga iva* subsp. *Pseudoiva*, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 26 (3), 248-266.
- **Sevindik H.G.** , Özek T. , Yerdelen K.O. , Önal M , Özbek H. , Güvenalp Z. et Demirezer LO., 2016. Chemical composition, antioxidant capacity, acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory activities of the essential oil of *Thymus haussknechtii* Velen. *Rec. Nat. Prod.* 10(4) 503-507.
- **Silva S.G.**, Da Costa R.A., De Oliveira M.S., Da Cruz J.N., Figueiredo P.L.B. et Brasil DdSB, 2019. Chemical profile of *Lippia thymoides*, evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory activity of its essential oil, and molecular docking and molecular dynamics simulations. *PLoS ONE* 14(3): 213393.
- **Skotti E.**, Anastasaki E., Kanellou G., Polissiou M. et Tarantilis P.A., 2014. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Ind Crops Prod* 53: 46- 54.
- **Smallfield B.**, 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop Food Res.*, 45, 4.
- **Smith-Palmer A.**, Stewart J. et Fyfe L., 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important foodborne pathogens. *Lett Appl Microbiol* ;26:118–22.
- **Sofowora A.**, 2010. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Nouvelle édition Karthala*, 384 p.
- **Sokmen A.**, Gulluce M., Akpulat H.A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen F. et Sahin M., 2004. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15, 627-634.
- **Sokovic M.**, Marin P.D., Brkic D. et van Griensven L.J.L.D, 2008. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils against human pathogenic bacteria. *J.Food*, 1: 220-226.
- **Sokovic, M.D.**, Vukojevic J., Marin P.D., Brkic D.D., Vajs V. et van Griensven L.J.L.D., 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *J.Molecules*, 14: 238-249.
- **Stahl-Biskup E.**, 1991. The Chemical Composition of *Thymus* Oils: A review of the literature 1960–1989, *Journal of Essential Oil Research*, 3:2, 61 82.
- **Stahl-Biskup E.** et Saez F., 2002. Thyme: The Genus *Thymus*. CRC Press, 346 p.
- **Stewart Ph.**, 1968 paru 1969. Quotient pluviothermique et dégradation biosphérique, *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N.*, Alger, 59 (1-2-3-4) : 23-36.
- **Stojanović G.**, Jovanović O., Petrović G., Mitić V., Jovanović V.S. et Jovanović S., 2014. Composition of headspace volatiles and essential oils of three *Thymus* Species. *Natural Product Communications* 9 (11). 1609-1612.
- **Svidenko L.** , Grygorieva O., Vergun O., Hudz N., Horčínová S.V., Šimková J. et Brindza J., 2018. Characteristic of leaf peltate glandular trichomes and their variability of some lamiaceae martinov family species, *Agr.bio.div. Impr. Nut., Health Life Qual.*, 124–132.

- **Svoboda** K.P. et Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Departement, SAC Auchincruive, Ayr Scotland, UK, KA65HW.
- **Talebi** S.M., Mahdijeh M., Nohooji M.G. et Akhane M., 2018: Analysis of trichome morphology and density in *Salvia nemorosa* L. (Lamiaceae) of Iran. – *Botanica*, 24(1): 49–58.
- **Taleb-Senouci** D., Ghomaria H., Kroufa D., Bouderbalaa S., Prostb J., Lacaille-Dubois M.A. et Bouchenak M., 2009. Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 16: 623–631.
- **Tamokou** J.D., Tmbaven A. et Kuete V., 2017. Antimicrobial activities of african medicinal spices and vegetables, chapter in book : medicinal spices and vegetables from Africa.
- **Tepe** B., 2008. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. *Bioresource Technology* 99:1584–1588.
- **Torres** R., Faini F., Modak B., Urbina F., Labbe´ C. et Guerrero J., 2006. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry* 67: 984–987.
- **Turkoglu** S., Turkoglu I., Kahyaoglu M. et Celik S., 2010. Determination of antimicrobial and antioxidant activities of Turkish endemic *Ajuga chamaepitys* (L.) Schreber subsp. *euphratica* P.H.Davis (Lamiaceae), *J. Med. Plant Res.* 4:1260–1268.
- **Vekiari** S.A., Protopapadakis E.E., Papadopoulou P., Papanicolaou D., Panou C. et Vamvakias M., 2002. Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a Cretan lemon variety. *J. Agric. Food Chem.* 50: 147-153.
- **Vidic** D., Cavar S., Solić M.E. et Maksimović M., 2010. Essential constituents of two rare subspecies of *Thymus praecox*. *Nat Prod Comm* 5: 1123 - 1126.
- **Walker** J.B., Sytsma K.J., Treutlein J. et Wink M., 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe *Mentheae*. *Am J Bot* 91: 1115–1125.
- **Werker** E., Ravid U. et Putievsky E., 1985. Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the labiatae. *Israel journal of botany*, 34: 31-45.
- **Werker**, E., 1993. Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae - A review. *Flav. and Fragr. J.*, 8:249-255.
- **Will** M., Schmalz N. et Classen-bockhoff R., 2015. Towards a new classification of *Salvia* s.l.: (re)establishing the genus *Pleudia* Raf. *Turk J Bot* (2015) 39: 1-15.
- **Wonning** P.R., 2014a. Gardener's guide to the Lambs Ear: Perennial plant for the full sun rock garden. Mossy Feet Books - 53 p.
- **Wonning** P.R., 2014b. Gardener's guide to Wall Germander: Germander *Teucrium* – Perennial Herb, Groundcover Plant. Mossy Feet Books - 23 p.
- **Yanishlieva** N.V. et Marinova E.M., 2001. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 103, 752-767.
- **Zairi** A., Nour S., M`hamdi N., Bennani M., Bergaoui I., Mtiraoui A. et Trabelsi M. 2018. Antioxidant; antimicrobial and the phenolic content of infusion, decoction and

methanolic extracts of thyme and rosmarinus species. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 19(7), 590– 599.

- **Zayyad** N., Farah A. et Bahhou J., 2014. Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus* : *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 83 : 118 – 132.

- **Zerroug** M.M., Zouaghi M., Boumerfeg S., Baghiani A., Nicklin J. et Arrar L., 2011. Antibacterial activity of extracts of *Ajuga iva* and *Teucrium polium*. *Advances in Environmental Biology*; 5(2): 491-495.

- **Zhao** G.R., Xiang Z.J., Ting X., Yuan Y.J. et Guo Z.X., 2006. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food Chemistry* 99(4):767-774.

- **Ziani** B.E.C., Heleno S.A., Bachari K., Dias M.I., Alves M.J., Barros L. et Ferreira I.C.F.R., 2018. Phenolic compounds characterization by LC–DAD– ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Ephedra alata* Decne. *Food Res. Int.* 116, 312–319.

- **Zouari** N., Ayadi I., Fakhfakh N., Rebai A. et Zouari S., 2012. Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic Species. *Lipids in Health and Disease*, 11:28.

## HS-SPME-GC/ MS ANALYSIS OF 3 LAMIACEAE PLANTS: *AJUGA IVA* (L.) SCHREB., *SALVIA VERBENACA* L. AND *THYMUS ALGERIENSIS* BOISS. & REUT.

A. Khemkham<sup>1,2\*</sup>, S. Belhadj<sup>1</sup>, R. Meddour<sup>2</sup>, H. Kenmoku<sup>3</sup>, R. Aissaoui<sup>4</sup>, N. Gourine<sup>5</sup>, M. Yousfi<sup>5</sup>, A. Hakem<sup>6,7</sup>, Y. Asakawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Nature and Life Sciences, Ziane Achour University, Djelfa, Algeria

<sup>2</sup>Faculty of Agronomical and Biological Sciences, University of Tizi-Ouzou, Algeria

<sup>3</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, Japan

<sup>4</sup>Faculty of Exact Science and Computer Science, Ziane Achour University, Djelfa, Algeria

<sup>5</sup>Laboratory of Fundamental Sciences, Amar Telidji University, Laghouat, Algeria

<sup>6</sup>Agro-pastoralism Research Center, Djelfa, Algeria

<sup>7</sup>Laboratory of Exploration and Valorization of Steppic Ecosystems, University of Djelfa,

Received: 14 January 2020 / Accepted: 15 April 2020/ Published online: 01 May 2020

---

### ABSTRACT

The chemical analysis of three Algerian plants was conducted by using Headspace Solid-Phase Micro-Extraction coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (HS-SPME-GC/MS). This analysis was performed directly on the dried aerial parts of the plants. The results revealed that the major compounds are 1,8-cineol (27.3%) in *Ajuga iva*, *cis*-muurola-3,5 diene (14.6%) in *Salvia verbenaca* and 2,3-dehydro-1,4-cineol (36%) in *Thymus algeriensis*. The oxygenated monoterpenes are the major class representing 62.1% and 78.4% in *Ajuga iva* and *Thymus algeriensis*, respectively, whereas the sesquiterpene hydrocarbons are the major class in *Salvia verbenaca* representing 50.1%. Identification of naturally rare monoterpene ether, 2,3-dehydro-1,4-cineol was the first time in the *Ajuga iva*, *Salvia verbenaca* and *Thymus algeriensis*.

**Keywords:** *Ajuga iva*; *Salvia verbenaca*; *Thymus algeriensis*; Lamiaceae.

---



## 1. INTRODUCTION

Algeria has a privileged place in production and export of medicinal and aromatic plants due to its different bioclimatic zones (humid, sub humid, semiarid, arid or desert) and its geographical situation [1]. Medicinal plants are of major importance for all African region, both for their use in traditional medicine and for trade [2]. More than 200 000 of the 300 000 plant species found today in our entire planet live in tropical countries in Africa and elsewhere. Among the potential users of these plants, traditional medicine and pharmacopoeia come at the head of those who practice them, namely 70% of Third World populations [3]. The Lamiaceae is a family yielding a high number of medicinal taxa, especially due to their high content of essential oil [4]. Headspace (HS) analysis involves the direct analysis of the volatiles in the gas phase above a sample. It is an inherently simple technique which offers numerous advantages over more traditional sample preparation techniques such as extraction, adsorption, precipitation and distillation [5]. Solid Phase Micro-Extraction (SPME) was introduced as a solvent-free sample preparation technique. The basic principle of this approach is to use a small amount of the extracting phase, usually less than 1  $\mu\text{L}$  [6]. Headspace and Solid Phase Micro-Extraction (HS-SPME) are two methods of sample preparation widely used in industrial fields and biology. Their combination helps to increase the sensitivity of analytes and consequently to obtain lower limits of quantification and detection [7]. *Ajuga iva* (L.). Schreb. *Salvia verbenaca* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut are the medicinal plants in which the essential oils have been used as antirheumatic, antiseptic, antispasmodic, antimicrobial, carminative, diuretic and expectorant antioxidant etc [8-10]. The objective of this study is to analyse the volatile constituents of the Algerian Lamiaceae plants: *Ajuga iva* (L.). schreb, (*A. iva*), *Salvia verbenaca* L. (*S. verbenaca*) and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut (*T. algeriensis*) using the HS-SPME coupled with GC/MS.

This paper is the first to study the HS SPME GC/MS analysis of the three Lamiaceae plants.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1. PLANT COLLECTING

Aerial parts of *A. iva*, *S. verbenaca* and *T. algeriensis* were collected in March 2019 from plants growing in Djelfa (Algeria). The plant samples were purified and dried at room temperature for one week, kept separately and transferred to the laboratory then stored in low temperature (-15 °C) until the analysis. Voucher specimens were deposited at the laboratory of exploration and valorization of steppe ecosystems of Djelfa (Algeria).

## 2.2. HS-SPME-GC/ ANALYSIS

The three Lamiaceae plants were subjected to the HS-SPME-GC/MS analysis according to Asakawa *et al.* [11] with slight modification. The dried aerial parts of *A.iva.*, *S. verbenaca*, and *T. algeriensis* were cut into small pieces (about 0,1g), and they were kept in a vial (20 mL) which was completely closed. The HS gas was absorbed on a PDMS type fiber (100  $\mu$ m film thickness, Supelco) at 25 °C for 1 h. Then, the fiber was introduced into an injector of 6890 GC system (Agilent Technologies) equipped with a DB-1MS column (60 m  $\times$  0.25 mm id., 0.25  $\mu$ m film thickness, Agilent Technologies). The oven temperature program was set at 60 °C with 3 min initial hold and then raised to 100 °C at a rate of 10 °C/min and then raised to 200 °C at a rate of 5 °C/min and hold with 3 min and raised to 260 °C at a rate of 15 °C/min and then raised to 300 °C at a rate of 20 °C/min. The post run oven temperature program was set at 310 °C with 3 min hold. The carrier gas was helium with a constant flow of 1 mL/min with no split. A 5973 Mass selective detector (Agilent Technologies) was operated under electron impact condition at an ionization energy of 70 eV in scan mode at  $m/z$  40-500 with 3 scans. The injector, the transfer line and the ion source temperatures were set at 250 °C, 280 °C and 230 °C, respectively. The retention indices were calculated relative to C8-C15 n-alkanes. Compounds were identified using a computer supported library [12], mass spectra of references compounds [13, 14] and mass spectra from the japanese library databases.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

The identified volatile compounds in *A. iva*, *S. verbenaca* and *T. algeriensis* are listed in tables 1, 2, 3 and 4, respectively in which the retention times, percentages and retention indices of the compounds are given. The GC profiles of *A. iva*, *S. verbenaca* and *T. algeriensis* are presented in figures 1, 2 and 3, respectively. The total identification of compounds in *A. iva* is 81.0% (8 compounds), *S.verbenaca* is 69.3% (18 compounds) and *T. algeriensis* is 93.4% (20 compounds). Five compounds appear in the three plants, and these are  $\alpha$ -pinene, camphene, 1-octen-3-yl acetate, bornyl acetate and 2,3-dehydro-1,4-cineol.

Three compounds appear in *A.iva* and *T.algeriensis*, these are *p*-cymene, 1,8-cineol and camphor. Six compounds appear in *T.algeriensis* and *S. verbenaca*, these are  $\beta$ -pinene, borneol,  $\alpha$ -gurjunene,  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -cubebene and *cis*-muurola-3,5-diene.

**Table 1.** Volatile Compounds in *Ajuga iva* (L.) Schreb.

Number of peak	Compounds	Retention times	Retention indices	%
1	$\alpha$ -pinene	9.95	935	9.7
2	camphene	10.26	950	6.4
3	<i>p</i> -cymene	10.84	977	2.8
<b>4</b>	<b>1,8-cineol</b>	<b>11.94</b>	<b>1025</b>	<b>27.3</b>

5	1-octen-3-yl acetate	13.53	1092	1.5
6	camphor	14.42	1128	9.2
7	unknown	14.84	1145	1.7
8	Bornyl acetate	18.10	1274	8.0
9	2,3-dehydro-1,4-cineol	19.65	1335	16.1

**Table 2.** Volatile Compounds in *Salvia verbenaca* L.

Number of peak	Compounds	Retention times	Retention indices	%
1	$\alpha$ -pinene	9.95	935	2.8
2	camphene	10.69	970	0.7
3	$\beta$ -sabinene	10.83	976	3
4	$\beta$ -pinene	10.96	982	4.2
5	limonene	11.93	1125	2.8
6	borneol	14.41	1128	0.5
7	1-octen-3-yl acetate	15.92	1188	0.7
8	Bornyl acetate	18.09	1274	0.8
9	2,3-dehydro-1,4-cineol	19.65	1335	3.7
10	Bicycloelemene	19.77	1340	4.3
11	$\gamma$ -amorphene	20.85	1383	10.5
12	$\gamma$ -cadinene	21.09	1392	4.8
13	$\alpha$ -gurjunene	21.72	1417	2.3
14	$\beta$ -ylangene	21.87	1423	1.2
15	$\beta$ -caryophyllene	21.93	1426	2.6
16	unknown	22.08	1432	2.6
17	$\alpha$ -cubebene	22.36	1443	3.0
18	unknown	22.91	1466	10.5
<b>19</b>	<b><i>cis</i>-muurola-3,5-diene</b>	<b>23.33</b>	<b>1483</b>	<b>14.6</b>



20	bicyclogermacrene	23.69	1497	6.8
----	-------------------	-------	------	-----

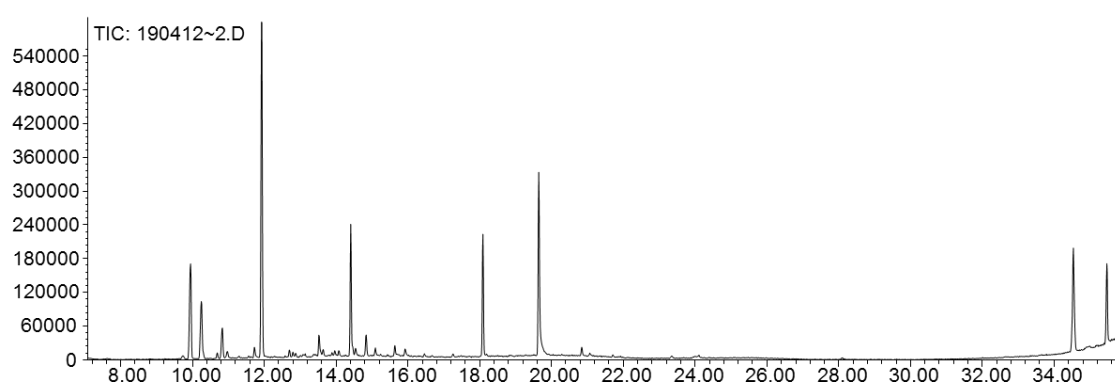
**Table 3.** Volatile Compounds in *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut.

Number of peak	Compounds	Retention times	Retention indices	%
1	$\alpha$ -pinene	9.96	935	5.3
2	camphene	10.26	950	3.2
3	$\beta$ -pinene	10.83	977	0.8
4	Dehydro-1,8-cineol	10.98	983	0.4
5	<i>p</i> -cymene	11.72	1016	0.4
6	1,8-cineol	11.94	1025	13.3
7	<i>trans</i> -sabinene hydrate	12.7	1057	0.4
8	unknown	13.35	1274	0.4
9	1-octen-3-yl acetate	13.52	1092	1.0
10	unknown	13.64	1340	0.9
11	$\alpha$ -campholenal	13.96	1110	0.4
12	camphor	14.42	1128	11.9
13	unknown	14.53	1133	1.8
14	unknown	14.84	1145	0.7
15	borneol	15.1	1156	1.6
16	$\alpha$ -terpineol	15.64	1177	1.1
17	verbenone	15.9	1188	1.0
18	unknown	17.22	1240	0.4
19	bornyl acetate	18.1	1274	11.7
<b>20</b>	<b>2,3-dehydro-1,4-cineol</b>	<b>19.68</b>	<b>1336</b>	<b>36.0</b>
21	Neryl isobutyrate	19.81	1341	1.7
22	$\alpha$ -cubebene	20.85	1382	1.2
23	unknown	21.09	1392	0.5

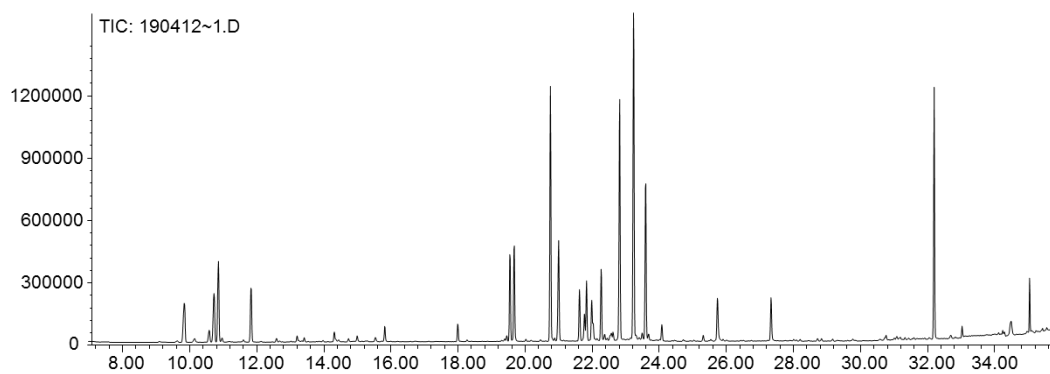
24	$\alpha$ -gurjunene	21.72	1417	0.5
----	---------------------	-------	------	-----

**Table 4.** Volatile Compounds in *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut.(continued)

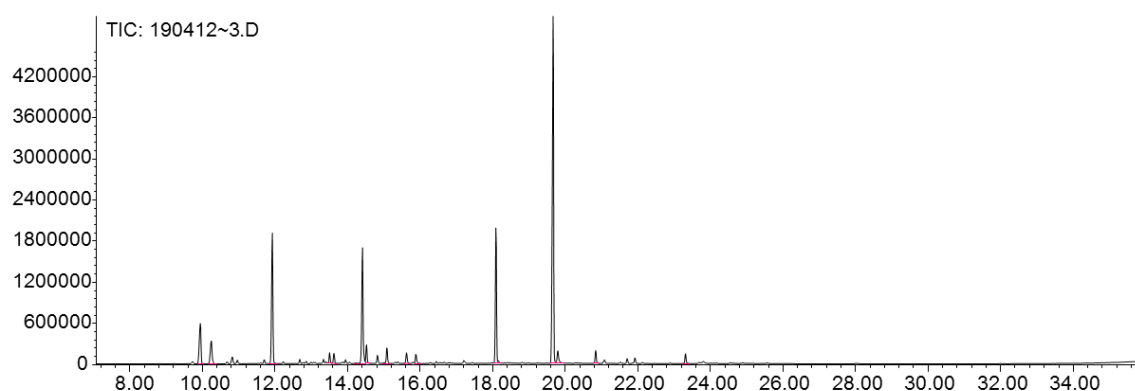
Number of peak	Compounds	Retention times	Retention indices	%
25	$\beta$ -caryophyllene	21.93	1426	0.6
26	<i>cis</i> -muurola-3,5-diene	23.32	1482	0.9



**Fig.1.** GC profile of *Ajuga iva* (L.) Schreb.



**Fig.2.** GC profile of *Salvia verbenaca* L.



**Fig.3.** GC profile of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut.

The results showed that the major compounds in *A. iva*, *S.verbenaca* and *T.algeriensis* are 1,8-cineol (27.3%), *cis*-muurola-3,5 diene (14.6%) and 2,3-dehydro-1,4-cineol (36.0%), respectively. The different classes of compounds are presented in the table 5. The results revealed that oxygenated monoterpenes are the major class of compounds in both *A. iva* and *T. algeriensis* representing 62.1% and 78.4%, respectively followed by the monoterpene hydrocarbons representing 18.9% in *A. iva* and 10.1% in *T. algeriensis*. Sesquiterpene hydrocarbons are the major class of compounds in *S. verbenaca* representing 50.1%, followed by the monoterpene hydrocarbons representing 13.5% and oxygenated monoterpenes 5.7%.

**Table 5.** Classes of compounds in the three plants

	<i>A. iva</i> %	<i>S. verbenaca</i> %	<i>T. algeriensis</i> %
Total identification	81.0	69.3	93.4
Monoterpene hydrocarbons	18.9	13.5	10.1
Oxygenated monoterpenes	<b>62.1</b>	5.7	<b>78.4</b>
Sesquiterpene hydrocarbons	-----	<b>50.1</b>	4.9

Only a few studies have been conducted, using the HS-SPME GC/MS method, on plants belonging to the genus *Salvia* and *Thymus*. According to D'Auria and Racioppi [15], the main compounds in *Salvia officinalis* L. collected from Italy are 1,8-cineole (22.3 %),  $\beta$ -thujone, camphor (11.2%),  $\beta$ -pinene (8.9%), and *trans*-caryophyllene (5.0%). Another study conducted on the same species from Iran, the main compounds are n-hexyl benzoate (40.2%), benzyl benzoate (24.1%), linalool (7.4%) and butyl benzoate (5.4%) [16]. The main compounds of the volatile fraction of *Salvia* species from Poland are identified as  $\alpha$ -pinene, camphene,  $\beta$ -pinene, thujol, camphor,  $\beta$ -chamigrene, and cadin-3,9-diene [17]. In addition, the analysis revealed that 1-octen-3-ol (46.5 %), 2-hexenal (18.0 %), benzaldehyde (8.8 %) and aromadendrene (7.2 %) are the main compounds of the aerial parts of *Salvia farinacea* Benth

collected from Egypt [18]. The main compounds of *Thymus serpyllum* (Italy) are *p*-cymene (30.3 %) and  $\gamma$ -terpinene (11.8%) [15]. According to Almeida *et al.* [19], linalool is the most important compound in *Thymus-mastichina* from Sesimbra (Portugal) (26-30%) and 1,8-cineol or eucalyptol from Algarve (Portugal) (23-33%).

Several studies have been published on the composition of the volatile constituents of the three plants using the hydrodistillation and GC/MS techniques. Many compounds have been identified in these studies. According to Chouitah *et al.* [20] dieneol is the main compound in *A. iva* from Mascara (Algeria) representing 54.0%, whereas carvacrol is the main compound (35.1%) in the essential oil of *A.iva* collected in Libya [21]. Sabinene is the main monoterpene detected in *S.verbenaca* from Saudi Arabia representing 16.0% [22]. Hexadecanoic acid is the most abundant compound (23.1%) in the essential oil of *S. verbenaca* collected in Italy [10]. In regard to the composition of the essential oil of

*T.algeriensis*, the previous studies revealed that Borneol is the major compound representing 28.0% (Morocco) [23] and 18.3% [24] (Morocco). Benabed *et al.*[25] reported  $\alpha$ -terpinyl acetate (27.3%) as main compound in *T.algeriensis* from Djelfa (Algeria). Thymol is the major compound in *T. algeriensis* collected in Algeria (29.5%) [26], in Libya (38.5%) [27].  $\alpha$ -pinene is the major compound representing 27.1% and 25.5% (Algeria) [28].

The comparison of the current results with those of previous studies on the three Lamiaceae plants revealed that oxygenated monoterpenes are the major class in *T.algeriensis* 48.0% [24], 79.5% [29], 54.7% [27], 88.5% [30]. Monoterpenes hydrocarbons are the major class in *S.verbenaca* [22]. In the study of Al-Jaber [31], sesquiterpenes hydrocarbons represent 62.7% in dried *S.verbenaca*, whereas in the fresh plant, oxygenated monoterpenes represent 61.3%. In *A. iva*, the oxygenated monoterpenes represent 52.3% [21]. The previous studies carried out on these plants showed a high diversity in the chemical composition. The chemovariation might be influenced by the source of the plant material, a genetic and environmental factors [32-34]. 2,3-Dehydro-1,4-cineol, a very rare natural product, was identified in the present *Ajuga iva*, *Salvia verbenaca* and *Thymus algeriensis* the first time.

## 4. CONCLUSION

The HS SPME GC/MS analysis of the three Lamiaceae plants from Djelfa (Algeria) allowed to identify 46 compounds. The main compounds are 1,8-cineol, *cis*-muurola-3,5-diene and 2,3- dehydro-1,4-cineol. The results of this investigation revealed that *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Salvia verbenaca* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. are rich sources of bioactive constituents. These compounds are natural products make them more attractive for further studies about the biological activities of the isolated compounds.

## 5. REFERENCES

- [1] Reguieg L. Using medicinal plants in Algeria. J. Food. Nutr., 2011, 1(3): 126-127. [2] FAO. Global forest resources assessment 2000. Main report. FAO forestry paper 140. FAO, Rome, Italy, 2001, 479 p.

- [3] Sofowora A. Plantes médicinales et médecine traditionnelle. Académie suisse des sciences naturelles. Edition: Karthala, 2010, 171 p.
- [4] Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Second edition. Churchill livingstone Elsevier, 2012, 326 p.
- [5] Roussef R, Cadwallader K. Headspace analysis of foods and flavors: theory and practice. *Springer Science and Business Media*, 2012, 212 p.
- [6] Pawliszym J. Application of solid phase microextraction. *Royal society of chemistry*, 1999, 654 p.
- [7] Papet Y, Brunet B, Mura P. Headspace (HS) and solid phase micro-extraction (SPME). Theory and applications. *J Ann Toxicol Anal*. 2010, 22(2):75-79.
- [8] Nikolić M, Glamočlija J, Ferreira I, Calhelha RC, Fernandes A, Marković T, Marković D, Giweli A, Soković M. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Ind Crops Prod*, 2014, 52, 183-190.
- [9] Ayari B, Riahi L, Ziadi S, Chograni H, Mliki A. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Ajuga iva*. Essential oils. *Revue f S B XI.*, 2013, 203-210. [10] Canzoneri M, Bruno M, Rosselli S, Russo A, Cardile V, Formissano C, Rigano D, Senator F. Chemical composition and biological activity of *Salvia verbenaca* essential oil. *Nat Prod Commun.*, 2011, 6 (7): 1023-1026.
- [11] Asakawa Y, Ludwiczuk A, Sakurai K, Tomiyama K, Kawakami Y, Yaguchi Y. Comparative study on volatile compounds of *Alpinia Japonica* and *Elettaria cardamomun*. *J Oleo Sci.*, 2017, 66. (8): 871-876.
- [12] Joulain D, König W A. The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons. E.B.-Verlag, Hamburg, 1998.
- [13] Mass Finder: In Hochmuth, D.H. (Ed.) Version 4.0, Scientific Consulting, Germany, 2008.
- [14] Stein S E. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database 69. Linstrom, P.J.; Mallard, W. G. (Eds.) . National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, (<http://webbook.nist.gov>), 2011.
- [15] D'Auria M, Racioppi R. The effect of drying of the composition of volatile organic compounds in *Rosmarinus officinalis*, *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* and *Thymus serpyllum*.

A HS-SPME-GC-MS Study. J Essent Oil-Bear Plants, 2015, 18 (5): 1209 – 1223.

[16] Meshkatalasadat MH, Heravi MRP, Rashidipour F. Chemical characterization of volatile organic components of *Salvia officinalis* using ultrasonic-assisted head space solid-phase microextraction and hydro-distillation extraction methods. J Univ Chem Technol Metallurgy, 2009, 44(3):291-296.

[17] Rzepa J, Wojtal L, Staszek D, Grygierczyk G, Labe K, Hajnos M, Kowalska T, Waksmundzka-Hajnos M. Fingerprint of selected *Salvia* species by HS–GC–MS analysis of their volatile fraction. J Chromatogr Sci., 2009, 47: 575-580.

[18] El-Sakhawy FS, Kassem HA, El-Gayed SH, Mostafa MM. Headspace Solid Phase Microextraction analysis of volatile compounds of the aerial parts and flowers of *Plectranthus neochilus* Schltr. and *Salvia farinacea* Benth. J Essent Oil-bear Plants, 2018, 21 (3): 674 – 686.

[19] Almeida V, Gonçalves V, Galego L, Miguel G, Costa M. Volatile constituents of leaves and flowers of *Thymus mastichina* by Headspace Solid-Phase Microextraction. J Acta Hortic., 2006, 723-730.

[20] Chouitah O, Meddah B, Aoues A, Sonnet P. Essential oil from the leaves of *Ajuga iva*: chemical composition and antimicrobial activity. J Essent Oil-bear Plants, 2017, 20(3): 873877.

[21] EL-Hawary S, EL-Shabrawy A, Ezzat S, EL-Shibany F. Gas chromatography-mass spectrometry analysis, hepatoprotective and antioxidant activities of the essential oils of four Libyan herbs. J Med Plants Res., 2013, 7(24):1746-1753.

[22] Al-Howiriny T. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia verbenaca*. J Biotechnol., 2002, 1(1): 45-48.

[23] Hamdani I, Elouariachi E, Mokhtari O, Salki A, Chahboun N, Elmahi B, Bouyanzer A, Zarrouk A, Hammouti B, Costa J. Chemical constituents and corrosion inhibition of mild steel by the essential oil of *Thymus algeriensis* in 1.0 M hydrochloric acid solution. J Der pharma chem., 2015, 7(8): 252-264.

[24] El Ouariachi E, Hamdani I, Bouyanzer A, Hammouti B, Majidi L, Costa J, Paolini J Chetouani A. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss from Morocco. Asian Pac J Trop Dis., 2014, 4(4): 281-286.

- [25] Benabed KH, Gourine N, Ouinten M, Bombarda I, Yousfi M. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of three Algerian Lamiaceae species. *J Food Sci.*, 2017, 13(2): 97-109.
- [26] Hazzit M, Baaliouamer A, Verissimo A R, Faleiro ML, Miguel MG. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *J Food chem.*, 2009, 116: 714-721.
- [27] Giweli AA, Dzamic AM, Sokovic MD, Ristic MS, Marin PD. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Cent. Eur. J Biol.*, 2013, 8(5): 504-511.
- [28] Giordani R, Hadeif Y, Kaloustian J. Composition and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *J Fitoterapia.*, 2008, 79:199-203.
- [29] Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C. Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Int J Aromather.*, 2006, 16: 95-100.
- [30] Chemat S, Cherfouh R, Meklati BY, Belanteur K. Composition and microbial activity of Thyme (*Thymus algeriensis* genuinus) essential oil. *J Essent. Oil Res.*, 2012, 24(1): 5-11.
- [31] Al-Jaber HI. Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried *Salvia verbenaca* L. growing wild in Jordan. *J Essent Oil-bear Plants*, 2015, 18 (3):718-724. [32] Saez F. Volatile oil variability in *Thymus serpylloides* ssp. *gadorensis* wild in sotheastern Spain. *Biochem Syst Ecol.*, 2001, 29, 189-198.
- [33] Pluhar Z, Sàrosi S, Novàk I, Kutta G. Essential oil polymorphism of Hungarian common thyme (*Thymus glabrescens* Willd.) populations. *Nat Prod Commun.* 2008, 3, 1151-1154.
- [34] Skoula M, El Hilali I, Makris AM. Evaluation of the genetic diversity of *Salvia fruticosa* Mill. using RAPD markers and comparison with the essential oil profiles. *Biochem Syst Ecol.*, 1999, 27, 559-568.

**How to cite this article:**

Khemkham A, Belhadj S, Meddour R, Kenmoku H, Aissaoui R, Gourine N, Yousfi M, Hakem A, Asakawa Y. HS-SPME-GC/MS analysis of 3 Lamiaceae plants: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Salvia verbenaca* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2020, 12(2), 700-711.





## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تطوير ثلاثة نباتات طبية من منطقة الجلفة تنتمي إلى عائلة الشفوية. تركز الدراسة على التوصيف المورفولوجي ، والكيميائي النباتي ، والبيولوجي لنبات *S. verbenaca* ، *A. iva* ، و *T. algeriensis*. فيما يتعلق بالتوصيف المورفولوجي. وضح تحليل التباين أنه لا يوجد فرق كبير عند عتبة  $\alpha = 0.05$  بين المجموعات المختلفة لـ *T. algeriensis* لجميع المتغيرات المقاسة. سمحت لنا ملاحظة الأوراق تحت المجهر الإلكتروني الماسح بإبراز الشعر الذي يغطي بالإضافة إلى وجود شعيرات إفرازية *capités* و *peltés*. أظهرت نتائج التوصيف الكيميائي النباتي أن المستخلص الميثانولي لـ *A. iva* يحتوي على نسبة عالية من إجمالي الفينولات (50.6 مغ / EAG غ / ES) والفلافونويد (71.4 مغ / EQ غ / ES). أما بالنسبة للمستخلص المائي ، فقد أظهرت النتائج أن مستخلص نبات *A. iva* يحتوي على إجمالي من الفينول أعلى من *S. verbenaca* و *A. iva*. بينما تم قياس أقل تركيز من مركبات الفلافونويد في المستخلص المائي لـ *T. algeriensis* (9.5 مغ / EQ غ / ES). سمح لنا التحليل بالكروماتوغرافيا مقرونا بمطياف الكتلة (GC-MS) للزيت العطري *S. verbenaca* بتحديد 17 مركبًا يمثلون 77.2٪. وهو غني بشكل أساسي بـ  $\alpha$ -terpinyl acetate بنسبة 34.58٪. سمح لنا تحليل الزيت العطري لـ *T. algeriensis* بتحديد 20 مركبًا يمثلون 86.37٪. وهو غني بشكل أساسي بـ *acétate de thymol* (19.41٪). حدد تحليل / HS GC SPME HS للنباتات الثلاثة 46 مركبًا. المركبات الرئيسية هي *1,8-cinéol* و *3-cis-muurolo* ، *5-diene* و *2,3-déshydro-1,4-cinéol* فيما يتعلق بنشاط مضادات الأكسدة ، فإن المستخلص الميثانولي لـ *A. iva* يبدو أكثر فاعلية (درجة تركيز IC50 تبلغ 173.69 ميكروغرام / مل) من المستخلص الميثانولي لـ *S. verbenaca* (266.64 ميكروغرام / مل) والمستخلص الميثانولي لـ *T. algeriensis* (355.85 ميكروغرام / مل). أما بالنسبة للنشاط المضاد للميكروبات ، فقد كانت النتيجة سلبية لمستخلصي *T. algeriensis* ، بينما كان للزيت العطري تأثير مثبط على بكتريا *E.coli* و *B. cereus* و *S. aureus*. يمتلك المستخلص الميثانولي لـ *A. iva* نشاطًا مثبطًا ضد *E.coli* ، *B. cereus* و *S. aureus* بمناطق تثبيط 11.2 مم و 8.1 مم و 7.1 مم على التوالي ؛ ومع ذلك ، كان المستخلص المائي نشطًا فقط على السلالة *B. cereus* مع منطقة تثبيط 7.3 مم . للمستخلص المائي لـ *S. verbenaca* تأثير مثبط على بكتيريا *B. cereus* (7.2 ملم). وبالمثل بالنسبة للمستخلص الميثانولي الذي له تأثير مضاد للبكتيريا فقط ضد سلالتي *S. aureus* و *B. cereus* (9 و 10.32 ملم ، على التوالي). فيما يتعلق بالنشاط المضاد لمرض السكر ، أظهرت المستخلصات المائية والميثانولية نشاطًا مضادًا لمرض السكر بقيم IC50 تساوي 162.15 ميكروغرام / مل و 230.40 ميكروغرام / مل على التوالي.

الكلمات المفتاحية *Thymus algeriensis* *Salvia verbenaca* *Ajuga iva* عائلة الشفوية  
الثغور *trichomes* المستقلبات الثانوية

## Abstract :

The objective of this study is to develop three medicinal plants from the Djelfa region belonging to the Lamiaceae family. The study focuses on the morphological, phytochemical and biological characterization of *Salvia verbenaca*, *Ajuga iva* and *Thymus algeriensis*. Regarding morphological characterization, the analysis of variance shows that there is no significant difference at the threshold  $\alpha = 0.05$  between the different populations of *T. algeriensis* for all the variables measured. Observation of the leaves under a scanning electron microscope enabled us to highlight covering hairs as well as the presence of capitate and peltate secretory hairs. The results of the phytochemical characterization showed that the methanolic extract of *A. iva* has a high content of total phenols (50.6 mg GAE / g) and flavonoids (71.4 mg QE / g). As for the aqueous extract, the results show that the extract of *A. iva* has a higher total phenol content than *S. verbenaca* and *A. iva*. While the lowest concentration of flavonoids was measured in the aqueous extract of *T. algeriensis* (9.5 mg QE / g). Analysis by chromatography coupled with mass spectrophotometry (GC-MS) of the essential oil of *S. verbenaca* allowed us to identify 17 compounds that represent 77.2%. It is mainly rich in  $\alpha$ -terpinyl acetate with a rate of 34.58%. The analysis of the essential oil of *T. algeriensis* allowed us to identify 20 compounds that represent 86.37%. It is mainly rich in thymol acetate (19.41%). HS SPME / GC MS analysis of the three plants identified 46 compounds. The main compounds are 1,8-cineol, cis-muurola-3,5-diene and 2,3-dehydro-1,4-cineol. Regarding antioxidant activity, the methanolic extract of *A. iva* seems more potent (IC<sub>50</sub> of 173.69  $\mu$ g / ml) than methanolic extract of *S. verbenaca* (266.64  $\mu$ g / ml) and methanolic extract of *T. algeriensis* (355.85  $\mu$ g / ml). As for the antimicrobial activity, a negative result for the two extracts of *T. algeriensis*, whereas the essential oil has an inhibitory effect on *E.coli*, *B. cereus* and *S. aureus*. *A. iva* possesses inhibitory activity against *S. aureus*, *B. cereus* and *E.coli* with zones of inhibition of 11.2 mm, 8.1 mm and 7.1 mm respectively. The aqueous extract of *S. verbenaca* has an inhibitory effect on *B. cereus* (7.2 mm). Likewise, for the methanolic extract which only has an antibacterial effect against the two strains *S. aureus* and *B. cereus* (9 and 10.32 mm, respectively). Regarding antidiabetic activity, the aqueous and methanolic extracts show antidiabetic activity with IC<sub>50</sub> values equal to 162.15  $\mu$ g / ml and 230.40  $\mu$ g / ml respectively.

**Keywords :** *Ajuga iva*, *Salvia verbenaca*, *Thymus algeriensis*, SEM, lamiaceae, stomata, trichomes, secondary metabolites

## Résumé :

L'objectif de cette étude est de valoriser trois plantes médicinales de la région de Djelfa appartenant à la famille des Lamiacées. L'étude porte sur la caractérisation morphologique, phytochimique et biologique de *Salvia verbenaca*, *Ajuga iva* et *Thymus algeriensis*. Concernant la caractérisation morphologique, l'analyse de la variance montre qu'il n'existe pas de différence significative au seuil  $\alpha=0.05$  entre les différentes populations de *T. algeriensis* pour toutes les variables mesurées. L'observation des feuilles au microscope électronique à balayage nous a permis de mettre en évidence des poils de recouvrement ainsi que la présence de poils sécréteurs capités et peltés. Les résultats de la caractérisation phytochimique ont montré que l'extrait méthanolique d'*A. iva* a une teneur élevée en phénols totaux (50,6 mg EAG/g ES) et en flavonoïdes (71,4 mgEQ/g ES). Quant à l'extrait aqueux, les résultats montrent que l'extrait d'*A. iva* a une teneur en phénols totaux supérieure à celles de *S. verbenaca* et *A. iva*.. Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans l'extrait aqueux de *T. algeriensis* (9,5 mg EQ/g ES). L'analyse par la chromatographie couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS) de l'huile essentielle de *S. verbenaca* nous a permis d'identifier 17 composés qui représentent 77.2%. Il est principalement riche en  $\alpha$ -terpinyl acetate avec un taux de 34.58%. L'analyse de l'huile essentielle de *T. algeriensis* nous a permis d'identifier 20 composés qui représentent 86.37%. Il est principalement riche en acétate de thymol (19.41%). L'analyse HS SPME/GC MS, des trois plantes a permis d'identifier 46 composés. Les composés principaux sont le 1,8-cinéol, le cis-muurolo-3,5-diène et le 2,3-déshydro-1,4-cinéol. Concernant l'activité antioxydante, l'extrait méthanolique d'*A. iva* semble plus puissant ( $IC_{50}$  de 173.69  $\mu$ g/ml) que l'extrait méthanolique de *S. verbenaca* (266.64  $\mu$ g/ml) et l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* (355.85  $\mu$ g/ml). Quant à l'activité antimicrobienne, un résultat négatif pour les deux extraits de *T. algeriensis*, alors que l'huile essentielle a un effet inhibiteur sur *E. coli*, *B. cereus* et *S. aureus*. L'extrait méthanolique d'*A. iva* possède une activité inhibitrice contre *S. aureus*, *B. cereus* et *E. coli* avec des zones d'inhibition de 11.2 mm, 8.1 mm et 7.1 mm respectivement. Cependant, l'extrait aqueux n'a été actif que sur la souche *B. cereus* avec une zone d'inhibition de 7.3 mm. L'extrait aqueux de *S. verbenaca* a un effet inhibiteur sur *B. cereus* (7,2 mm). De même pour l'extrait méthanolique qui a seulement un effet antibactérien contre les deux souches *S. aureus* et *B. cereus* (9 et 10.32 mm, respectivement). Concernant l'activité antidiabétique, les extraits aqueux et méthanolique montrent une activité antidiabétique avec des valeurs d' $IC_{50}$  égales à 162.15  $\mu$ g/ml et 230.40  $\mu$ g/ml respectivement.

**Mots clés :** *Ajuga iva*, *Salvia verbenaca*, *Thymus algeriensis*, MEB, lamiacées, stomates, trichomes, métabolites secondaires