

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Mémoire

De fin d'étude en vue de l'obtention du

Diplôme de Master

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème :

Evaluation de l'effet antimicrobien du mucilage et des flavonoïdes de *Malva sylvestris*.

Présenté par :

ZMIT Roumaïssa

MAHDJOUB Rahma

Devant le jury composé de :

Mme MOUMENE S.	MCB	U.S.D.B	Président
Mme ALLAL L.	Pr	U.S.D.B	Examinatrice
Mme CHEBATA N.	MAA	U.S.D.B	Promotrice

2018/2019

A hand holding a pink flower against a green background. The hand is positioned at the bottom, with fingers slightly curled around the stem of the flower. The flower has several petals and a visible center. The background is a soft, out-of-focus green, suggesting foliage. The overall image is circular in shape.

Remerciement

Nous tenons à remercier le bon Dieu qui nous a donné la force, le courage et la santé pour pouvoir mener à terme notre travail et pour suivre nos études.

Nos remerciements plus particulièrement à nos familles.

Nos plus vifs remerciements à notre promotrice **Mme Chebata Nada** pour sa qualité d'encadrement, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.

Nous remercions notre présidente du jury **Mme Moumene**, Professeur à la faculté des Science de la Nature et la Vie à l'Université de Blida-1- d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions **Mme Allal**, d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.

Nous remercions **Ms Djamel**, de laboratoire d'hygiène de Blida pour accepter notre demande et nous aider durant la période de stage.

Nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Un grand merci à tous.

Roumaïssa et Rahma

Je Dédie ce modeste travail

*A mon cher père **Slimane**, pour tous leurs sacrifices,
Leur amour, leur tendresse, leur soutien et leur prières tout
Au long de mes études Que dieu me la garde.*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma
vie ma mère **Fatiha**, qui ma apporté son appui durant toutes mes années
d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance,
courage et sécurité.*

*A mes chères sœurs et mes chers frères **Zohra, Amina,
Chirine, Merieme, Ali, Khaled et Mohamed**, qui je souhaite
beaucoup de succès dans leurs vie.*

*A mon mari **Mohamed**, qui a su de loin m'encourager et me
soutenir.*

*A toi chère binôme **Roumaissa**, pour ta gentillesse infinie*

*A vous chères amies **Chaima, Houria, Houda, Imène et Sarah***

*A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, enfants et
adultes, sans exception.*

A vous chère promotrice qui m'est venue en aide avec votre savoir.

A toute personne qui m'a donnée le courage de continuer.

Rahma

Je Dédie ce modeste travail

*A mon cher père **Ayache**, pour tous leurs sacrifices,*

Leur amour, leur tendresse, leur soutien et leur prières tout

Au long de mes études Que dieu me la garde.

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma
vie ma mère **Zoulikha**, qui ma apporté son appui durant toutes mes années
d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance,*

Courage et sécurité.

*A mes chères sœurs **Samiha, Amina, Fatima , Houda***

*Et mes chers frères **Mohammed, Oussama, Saif Eldine, Fatah** qui je
souhaite beaucoup de succès dans leurs vie.*

*A toi chère binôme **Rahma**, pour ta gentillesse infinie*

*A vous chères amies, **Fatima, Imane, Hayat, Amel, Chaima, Houriai,
Roumissa***

*A mes collègues de travail **Ibtisseme, Afaf, Rania, Wafa, Karima,
khawla** et tous l'équipe de travail « **El-Jadida 01** »*

*A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, enfants et adultes, sans
exception.*

A vous chère promotrice qui m'est venue en aide avec votre savoir.

A toute personne qui m'a donnée le courage de continuer.

Merci

Roumaissa

Résumé

Le but principal de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne des flavonoïdes et mucilage de *Malva sylvestris* qui est connus sous le nom « Khbeiza ». Le mucilage été extrait a partir des fleurs fraîches récoltées au niveau de la région de Blida (Larbaa et Bouguara). Le rendement était de $1.41 \pm 0.35\%$ dans la station de Larbaa et $1.60 \pm 0.29\%$ dans la station de Bouguara. Les flavonoïdes ont été obtenus à partir des feuilles saines et infestées récoltées au niveau de deux stations de la Wilaya de Blida et une station de la Wilaya de Tipaza. L'extrait de feuilles saines a donné le rendement le plus élevé en flavonoïdes avec un taux de $8.33 \pm 4.92\%$ pour la région de Tipaza, suivi par la station de Larbaa avec $5.22 \pm 3.53\%$. Par contre, la station de Bouguara a donné le rendement le plus faible en flavonoïdes ($3.11 \pm 1.73\%$). La détermination du rendement en flavonoïdes des feuilles infestées a montré que la station de Larbaa renferme le rendement le plus élevé en flavonoïdes avec $5.16 \pm 1.5\%$. Le dosage des flavonoïdes a révélé que les feuilles infestées récoltées à Bouguara sont les plus concentrées en flavonoïdes ($0.484 \text{ mg EQ /g MS}$). L'activité antimicrobienne a été réalisée pour le mucilage et les flavonoïdes des différentes stations. Elle à été évaluée, par la méthode de diffusion sur milieu solide, sur trois souches bactériennes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et trois souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Pinicillium digitatum* et *Candida albicans*. Pour le mucilage, les souches qui ont présenté une sensibilité sont *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus* avec des diamètres des zones d'inhibitions compris entre 10mm et 12.4mm. Concernant les flavonoïdes, *A. niger* s'est montré très sensible aux extraits de Tipaza (ZI= $23.4 \pm 6.94\text{mm}$), Larbaa (ZI= $20.7 \pm 3.29\text{mm}$) et Bouguara (ZI= 17.4 ± 3.09). *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *E. coli* ont montré une légère sensibilité dans les trois stations. Par contre, *P. digitatum* et *C. albicans* sont les souches les plus résistantes.

Mots clés: activité antimicrobienne, flavonoïdes, infestation, *Malva sylvestris*, mucilage .

Abstract

The main purpose of this study is to evaluate the antimicrobial activity of flavonoids and mucilage of *Malva sylvestris* which is known as "Khbeiza". The mucilage was extracted from the fresh flowers harvested in the region of Blida (Larbaa and Bouguara). The yield was $1.41 \pm 0.35\%$ in the Larbaa station and $1.60 \pm 0.29\%$ in the Bouguara station. Flavonoids were obtained from healthy and infested leaves harvested at two stations in the Wilaya de Blida and a station in Tipaza Wilaya. The healthy leaf extract gave the highest yield of flavonoids with a rate of $8.33 \pm 4.92\%$ for the Tipaza region, followed by the Larbaa station with $5.22 \pm 3.53\%$. On the other hand, the Bouguara station gave the lowest yield of flavonoids ($3.11 \pm 1.73\%$). Determination of the flavonoid yield of the infested leaves showed that the Larbaa station has the highest yield of flavonoids with $5.16 \pm 1.5\%$. The flavonoid assay revealed that the infested leaves harvested at Bouguara are the most concentrated in flavonoids ($0.484 \text{ mg EQ / g MS}$). The antimicrobial activity was performed for the mucilage and flavonoids of the different stations. It was evaluated, by the solid medium diffusion method, on three bacterial strains: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and three fungal strains: *Aspergillus niger*, *Pinicillium digitatum* and *Candida albicans*. For mucilage, strains that showed susceptibility are *P. aeruginosa*, *E. coli* and *S. aureus* with diameters of inhibitory zones between 10mm and 12.4mm. Concerning flavonoids, *A. niger* was very sensitive to Tipaza extracts (ZI = $23.4 \pm 6.94\text{mm}$), Larbaa (ZI = $20.7 \pm 3.29\text{mm}$) and Bouguara (ZI = 17.4 ± 3.09). *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *E. coli* showed slight sensitivity at the three stations. On the other hand, *P. digitatum* and *C. albicans* are the most resistant strains.

Key words: antimicrobial activity, flavonoids, infection, *Malva sylvestris*, mucilage.

ملخص

الغرض الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للميكروبات من الفلافونويد و الصمغ من نبتة المالفا سيلفستريس و الذي يعرف باسم "خبيزة" ، تم استخراج الصمغ من الزهور الطازجة التي يتم حصادها في منطقة البلدية بمحطتي (الاربعاء و بوقرة) . كان العائد $0.35 \pm 1.41\%$ في محطة الاربعاء و $0.29 \pm 1.60\%$ في محطة بوقرة ، تم الحصول على الفلافونويد من الاوراق الصحية الموبوءة التي يتم حصادها في محطتين في لاية البلدية و محطة في ولاية تيبازة . اعطى مستخلص الاوراق الصحي اعلى إنتاجية من الفلافونويد بمعدل $4.92 \pm 8.33\%$ لمنطقة تيبازة ، تليها محطة الاربعاء بنسبة $3.53 \pm 5.22\%$ من ناحية اخرى، اعطت محطة بوقرة ادنى عائد من الفلافونويد $3.11 \pm 5.16 \pm 1.5\%$ و كشف فحص الفلافونويد ان الاوراق المصابة التي تحصد في بوقرة هي الاكثر تركيزا في الفلافونويد 0.484

تم اجراء النشاط المضاد للميكروبات للصمغ و الفلافونويد المستخلصة من المحطات المختلفة ثم تقييمه بواسطة طريقة الانتشار المتوسطة الصلبة ، على ثلاث سلالات بكتيرية : الزائفة الزنجارية ، الاشريكية القولونية و المكورات العنقودية و ثلاث سلالات فطرية : بينيسيليوم ديجيتاتوم ، اسبجولوس نيجر و كونديدا البيكانز .

بالنسبة للصمغ السلالات التي اظهرت القابلية للتأثر هي :

P. aeruginosa و *E. coli* و *S. aureus* بأقطار من المناطق المثبثة بين 10مم و 12مم ، فيما يتعلق بالفلافونويد

كان *A. niger* شديد الحساسية لمستخلصات تيبازة بنسبة من 23.4 ± 6.94 مم و محطة الاربعاء بنسبة 20.7 ± 3.29

مم و في منطقة بوقرة 17.4 ± 3.09 مم ، كما اظهرت كل من :

E. coli و *S. aureus* و *P. aeruginosa* حساسية طفيفة في المناطق المدروسة الثلاثة ، من ناحية اخرى

C. albicans و *P. digitatum* كانت اكثر مقاومة للمستخلصات.

الكلمات المفتاحية : مالفا سيلفستريس ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للميكروبات ، الموبوءة

Listes des figures

N° de Figure	Titre	Page
Figure 1	Morphologie de <i>Malva sylvestris</i> , a : racine, b : tige, c : feuille, d : fleurs, e : fruits (Flores, 2011).	5
Figure 2	<i>Malva sylvestris</i> dans son habitat, a : Larbaa, b : Bouguara	9
Figure 3	Rendements en flavonoïdes des feuilles saines dans les stations Wilaya de Blida (Larbaa et Bouguara) et Ain tagourait, wilaya de Tipaza.	17
Figure 4	Rendement en flavonoïdes des feuilles infestées dans les stations de Larbaa et Bouguara, Wilaya de Blida.	19
Figure 5	Comparaison entre les rendements en flavonoïdes entre les deux stations de Larbaa et Bouguara, Wilaya de Blida.	20
Figure 6	Teneurs en flavonoïdes totaux dans les feuilles saines et infestées de <i>Malva sylvestris</i> dans les différentes stations.	21
Figure 7	Effet antimicrobienne du mucilage des fleurs fraîches de <i>Malva sylvestris</i> , récoltées dans la Wilaya de Blida, sur les différentes souches.	23
Figure 8	Effet antimicrobienne des flavonoïdes des feuilles sèche de <i>Malva sylvestris</i> récoltées dans les différentes stations.	25
Figure 9	Comparaison de l'effet antimicrobien des flavonoïdes entre les feuilles saines et infestées dans la station de Larbaa.	28
Figure 10	Comparaison de l'effet antimicrobien des flavonoïdes entre les feuilles saines et infestées dans la station de Bouguara,	29
Figure 11	Courbe d'étalonnage de flavonoïdes.	Annexe 2

Figure 12	Effet des témoins positif (Antibiotique et Antifongique) sur les souches testées. A : Antibiotique Amoxyclav, B : Antibiotique Ofloxacin, C : Antifongique.	Annexe 3
Figure 13	Résultats de l'activité antimicrobienne du mucilage sur les différents souches testés au niveau des stations Larbaa et Bouguara.	Annexe 4
Figure 14	Résultats de l'activité antimicrobienne des flavonoïdes sur les différentes souches bactériennes et fongiques testés dans les stations étudiées.	Annexe 5

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Pages
Tableau 01	les souches bactériennes et fongiques utilisées pour le test antimicrobien des extraits des fleurs et des feuilles de malva Sylvestris.	10
Tableau 02	Degrés de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre des zones d'inhibition.	15
Tableau 03	Rendement en mucilage extrait à partir des fleurs fraîches de Malva sylvestris , récoltée au niveau de deux stations Larbaa et Bouguara dans la Wilaya de Blida.	16
Tableau 04	Rendement en flavonoïdes des feuilles sains dans les stations Wilaya de Blida (Larbaa et Bouguara) et Ain tagourait, wilaya de Tipaza.	Annexe 1
Tableau 05	Rendement en flavonoïdes des feuilles infestés dans les stations de Larbaa et Bouguara Wilaya de Blida.	Annexe 1
Tableau 06	Comparaison entre les rendements en flavonoïdes entre les deux stations de Larbaa et Bouguara Wilaya de Blida.	Annexe 1
Tableau 07	Teneurs en flavonoïdes totaux dans les feuilles saines et infestées de malva sylvestris dans les différentes stations.	Annexe 1
Tableau 08	Effet antimicrobienne du mucilage des fleurs fraîches de Malva sylvestris, récoltées dans la Wilaya de Blida, sur les différentes souches.	Annexe 2
Tableau 09	Effet antimicrobienne des flavonoïdes des feuilles sèche de malva sylvestris récoltées dans les différentes stations.	Annexe 2

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur les Malvaceae.....	3
2. Le genre Malva.....	3
3. <i>Malva sylvestris</i>	3
3.1. Description morphologiques.....	4
3.2. Systématique.....	6
3.3. Dénomination et synonyme.....	6
3.4. Composition chimique.....	6
3.4.1. Le mucilage.....	6
3.4.2. Les composées phénoliques.....	7
3.5. Intérêt thérapeutique de <i>Malva sylvestris</i>	7

Matériel et méthode

1. Matériel.....	9
1.1. Matériel végétal.....	9
1.2. Matériel microbien.....	10
2. Méthode.....	10
2.1. Séchage et broyage des feuilles.....	10

2.2. Extraction du mucilage.....	10
2.3. Extraction des flavonoïdes.....	11
2.4. Calcul des rendements.....	12
2.5. Dosages des flavonoïdes.....	12
2.6. Etude de l'activité antimicrobiennes.....	13
➤ Préparation des milieux de cultures.....	13
➤ Préparation de l'inoculum.....	13
➤ Ensemencements.....	13
➤ Préparation des extraits de <i>Malva sylvestris</i>	13
➤ Antibiotique et antifongique.....	14
➤ Préparation et dépôt des disques.....	14
➤ Incubation et lectures.....	14

Partie résultats et discussion

1. Détermination du rendement en mucilage.....	16
2. Rendement en flavonoïdes.....	17
2.1. Feuilles saines.....	17
2.2. Feuilles infesté.....	18
2.3. Comparaison entre le rendement en flavonoïdes des feuilles saines et infestées.....	19
3. Dosages des flavonoïdes totaux.....	21

4. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	22
4.1. Le mucilage.....	22
4.2. Les flavonoïdes.....	24
Conclusion.....	
Références bibliographiques.....	
Annexes.....	

Introduction :

Depuis la nuit des temps, les maladies infectieuses ont couté la vie à un nombre d'humains qui dépasse celui provoqué par l'ensemble des guerres, des maladies non infectieuses et des Catastrophes naturelles réunies. Cela est dû au fait que les agents en cause sont de puissants facteurs de sélection naturelle qui ont accompagné l'évolution de l'espèce humaine (Robert et Manchester, 2010).

Au cours de ces dernières années, Il y a des défis majeurs face au monde des micro-organismes pathogènes. Le premier étant la propagation du phénomène de la résistance des germes aux thérapies existantes (essentiellement les antibiotiques et les antifongiques).

La résistance de plus en plus féroce des agents infectieux aux molécules utilisées dans la Chimiothérapie antimicrobienne constitue le second facteur de l'émergence des maladies Infectieuses. La résistance bactérienne aux antibiotiques est un phénomène précoce (Bennet, 2015).

Du fait de la grande importance dirigée vers les substances bioactives naturelles, issues des plantes médicinales et aromatiques, qui restent encore sous exploitées dans le domaine médical. Ces plantes médicinales renferment de nombreux Principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire tel que le mucilage et les flavonoïdes qui permette l'inhibition des agents antimicrobiennes et jouent le même rôle des antibiotiques et les antifongiques et devaient permettre de lutter contre de nombreuses maladies infectieuses. La mauve est utilisée dans les inflammations des muqueuses, qu'elles soient respiratoires, urinaires, intestinales, buccales, vaginales. (Chaouche Afif., 2015).

L'extrait des fleurs a également montré des effets antibactériens élevés contre certaines souches humaines de bactéries pathogènes.

A cet effet, nous nous sommes intéressées à l'une des espèces de la famille des Malvacées, *Malva sylvestris*, connue en Algérie sous le nom ; Khoubeiz ou Amedjir. Elle est malheureusement très abandonnée Malgré les propriétés bénéfiques qu'elle possède dans différents domaines, notamment par leurs feuilles et fleurs qui sont particulièrement indiquées pour leurs propriétés antimicrobiennes très fortes qui permettent l'inhibition des souches microbiens (**Barros, 2010**).

La présente étude avait pour objectif d'évaluer l'activité antimicrobienne du mucilage et des flavonoïdes de *Malva sylvestris*.

Dans ce contexte, et dans le but de contribuer à la valorisation de la flore algérienne nous avons mené un travail qui a pour objectifs de:

- Déterminer le rendement des flavonoïdes et de mucilage des feuilles et fleurs de *Malva sylvestris*.
- Evaluer l'activité antimicrobienne de mucilage et flavonoïdes de *Malva sylvestris*.

Ce travail est structuré en deux parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur la plante, les flavonoïdes et mucilage et l'activité antimicrobienne.

La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés ainsi que les résultats obtenus. Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

1. Généralité sur les Malvacée

La famille des Malvacées ne comprend pas moins de quelque 1500 espèces que l'on rencontre dans le monde entier. Sont des plantes dicotylédones, dialypétales thalamiflores, méristémones (Boullard Bernard, 1997).

Les Malvacées constituent la seule famille des Malvales qui ne contient pas d'arbre. La fleur des Malvacées est hermaphrodite, régulière, pentamère et de grande taille. Leurs pétales au nombre de cinq sont libres ou légèrement soudés à la base, avec une préfloraison tordue. Les fleurs sont solitaires ou regroupées en grappes de cymes (Delaveau, 2003).

Les Malvacées ont des feuilles alternes, simples, stipulées, lobées, palmati-découpées ou composées-palmées. Le plus souvent les feuilles sont palmatilobées. Le pétiole est souvent renflé aux extrémités et possède des poils pluricellulaires souvent étoilés très caractéristiques chez les Malva (Boullard Bernard, 1997).

2. Le genre Malva

Les mauves ont donné leur nom à la famille des Malvacées et à l'ordre des Malvales. Elles se ressemblent étroitement par leurs caractères anatomiques comme par leurs propriétés.

Les mauves sont des plantes herbacées robustes. Elles ont un aspect extérieur très polymorphe. Elles mesurent de 10 cm à 2 m de haut, peuvent être dressées ou bien étalées. Cependant leur tige est toujours ramifiée. Certaines espèces sont recouvertes de poils, d'autres non (Coste, 1901; Fournier Paul, 1934– 1940; Spichiger et al., 2002).

Les mauves sont vivaces, est annuelle à bisannuelle, elle se multiplie de préférence par semis spontané. Elle résiste également plutôt bien au froid. En le taillant après la période de floraison en été, on peut la faire refleurir.

3. *Malva sylvestris*

La mauve est une espèce polymorphe très commune que l'on rencontre facilement à l'état sauvage. Elle colonise talus et bords des chemins et des routes, et même dans certains lieux inhospitaliers comme les terrains vagues. Peu exigeante, à condition qu'elle ait du soleil, cette plante bisannuelle de 30 à 100 cm de hauteur porte de grandes feuilles dentelées vert foncé et, de juin à octobre, des fleurs d'un beau mauve rosé, rehaussé de stries violettes, qui s'épanouissent en 5 pétales (Schauenberg, 2010).

La mauve sauvage ou la *Malva sylvestris* est une espèce originaire d'Europe, Afrique du Nord et Asie (Gasparetto et al, 2011). Dans les pays méditerranéens elle est présente

notamment en Algérie, au Maroc et en Tunisie. En Algérie, elle est très commune dans tout le pays ainsi qu'au nord et au centre du Sahara ; elle pousse surtout dans les champs cultivés et les décembres (Aït YOUSSEF, 2006).

3.1. Description morphologique

La mauve sylvestre a une racine pivotante (fig 1a). La racine principale est fusiforme, de couleur blanche, forte et riche en mucilage. Les autres racines ne sont que de discrètes radicelles (Couplant François; Doux Yves, 1950).

Elle possède une tige ronde et velue (fig 1b). Cette tige est rameuse et ligneuse à la base (Couplant François; Doux Yves, 1950). Elle peut faire de 2 à 70 cm de long (Bonnier Gaston; Douin Robert, 1912–1935).

Les feuilles de la mauve sylvestre mesurent jusqu'à 12 cm de largeur et 15 cm de longueur. Elles sont palmatilobées (fig 1c).

Elles sont inférieures arrondies, les supérieures profondément divisées en 5lobes souvent un peu aigus, d'un beau vert foncé fréquemment colorée de pourpre à la base, longuement pétiolées (Couplant, 2009).

La grande mauve possède des inflorescences de type cymes lâches de 2 à 5 fleurs. (Echevin, 1964; Belzung, 1900).

Les fleurs (fig 1d) de 2 à 3 cm de diamètre, peuvent atteindre 6 cm de diamètre (Bonnier et Douin 1912-1934). Elles sont célibataires ou en fascicules axillaires, sur les pédoncules inégaux, plus courts que les feuilles, de couleur rose violacé (mauve), striée ou veinée de rouge (Tela Botanica, 2013).

Le fruit (fig 1e) à la forme d'une meule de fromage en part, c'est ce qui a donné le nom populaire de fromageon ou de fromage, à la mauve sylvestre. C'est un polyakène (possédant plus de quatre méricarpe) de couleur jaunâtre (Aït YOUSSEF, 2006). Il est souvent consommé par les enfants (Couplant; 2009).

A maturité le fruit est incomplètement enveloppé par le calice légèrement accrescent (Deysson Guy, 1963) et les pédoncules fructifères restent dressés (Fournier Paul, 1934–1940.)

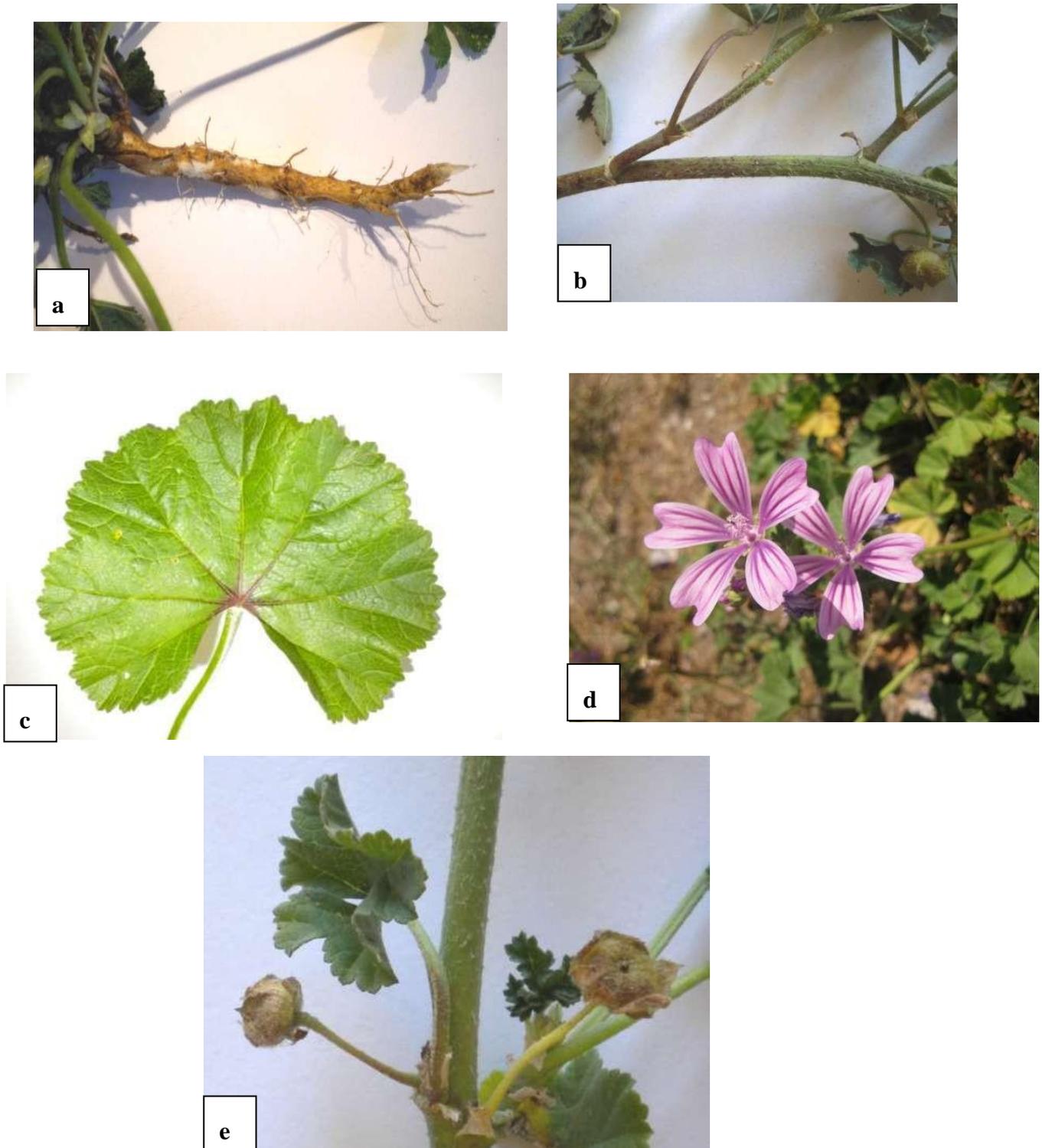


Figure 1. Morphologie de *Malva sylvestris*, **a**: racine, **b**: tige, **c**: feuille, **d**: fleurs, **e**: fruits
(Flores, 2011).

3.2. Systématique

Selon MORTIER (1966), la grande mauve est classée comme suit

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous/Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous/Classe	Dialypétales
Famille	Malvacées
Ordre	Malvales
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva sylvestris</i> L.

3.3. Dénomination et synonyme

Le mot Malvacées date du XVIIIème siècle et dérive du latin *malvaceus* qui signifie « qui ressemble à la mauve ». Ce terme émane lui-même de Malva, la mauve (Rouy, 1893–1913).

Nom Grec: malakhê

Nom français: mauve

Nom anglais: mallow

Nom arabe : khobeiza

3.4. Composition chimique

Les principales molécules présentent chez les mauves, sont les flavonoïdes (anthocyanes et anthocyanidines) et des tanins, et des substances comme les mucilages. (Touami Ouafa., 2016).

Les mauves sont aussi riches en sels minéraux (calcium, magnésium, fer) et en vitamines (Flores, 2011). Parmi les macroéléments essentiels identifiés, le potassium (K) avec une moyenne de 308 mg/kg le Calcium (13,8 mg/kg) et de magnésium (1,9 mg/kg).

3.4.1. Les mucilages

Les mucilages présents dans les mauves sont des polysaccharides acides polyuroroniques et neutres. Ils sont l'un des composants principaux responsables des effets thérapeutiques du *Malva*, ils lui confèrent ses propriétés émoullientes, anti-irritatives et laxatives à la mauve. Ces mucilages sont souvent accompagné de raphides ou de macles d'oxalate de calcium (Wichtl, 2003 ; Classen et Blaschek, 1998).

Ces substances sont situées dans des cavités et cellules épidermiques spécialisées. Le contenu peut varier selon les organes de la plantes, mais généralement des pourcentages élevés des mucilages bruts peuvent être trouvés dans les feuilles (6.0 – 7.2%), fleurs (3.8 – 7.3%), et racines (7.5%).

Ce sont des substances hydrophiles qui sont synthétisées par l'appareil de Golgi, et sont, par la suite inclus dans des vésicules par les dictyosomes (Bruneton, 1999 ; Wichtl, 2003). Il est stocké dans des spécifiques appelés idioblastes ou dans des canaux à mucilage (Bruneton, 1999 ; Wichtl, 2003). Le dépôt de mucilage s'effectue en couches concentriques à l'intérieur de la cellule formant une couche secondaires au niveau de la paroi cellulaires. (Nougarède, 1969 ; Leclere, 1973 ; Canonne, 1984).

3.4.2. Les composées phénoliques

La grande mauve contient des quantités importantes de flavonoïdes dont les taux obtenus dans différentes parties de la plante sont les suivants: 210,8 mg / g dans les feuilles, 46,6 mg / g dans les fleurs immatures, et 25,4 mg / g dans les tiges (Barros, 2010).

Les flavonoïdes sont principalement des anthocyanes malvidine 3,5-diglucoside (malvin), qui sous forme cationique flavylum (Pourrat *et al.*, 1990).

3.5. Intérêt thérapeutique

Les mauves sont couramment utilisées dans la médecine traditionnelle et cela depuis l'antiquité. D'après Flore (2011), Barros *et al.*, (2010), les fleurs et les feuilles de la mauve sont les plus utilisées du fait de leurs propriétés émoullientes, laxatives, et adoucissantes, grâce au mucilage qu'elles contiennent. Ce dernier est l'un des composants principaux responsables des effets thérapeutiques de *Malva sylvestris*.

D'après Valnet (1992), Wichtl (2003) et Barros *et al.* (2010), il agit comme un pansement naturel pour les problèmes de la peau et les affections cutanés (acné, eczéma, brulures, Plaies, irritations de visage). Ils agissent contre les inflammations des muqueuses qu'elles

soient respiratoires (bronchite, asthme, rhume), buccales (abcès, aphte), urinaires et vaginales (Valnet, 1992 ; Duraffourd et Larparz, 2002 ; Wichtl, 2003). Dans le tube digestif, il peut être utilisé pour guérir et apaiser l'inflammation telle que la gastrite, les ulcères gastroduodénaux, l'entérite et la colite, la constipation et la diarrhée chronique (Valnet, 1992 ; Duraffourd et Larparz, 2002).

Elle agit également contre les maladies infantiles comme la rougeole, la scarlatine, la variole (Valnet, 1992 ; Wichtl, 2003 ; Barros et *al.*, 2010 ; Guarrera et *al.*, 2005).

Notre expérimentation a été effectuée durant de 2 mois (Avril et Mai) au sein de deux laboratoires :

- Le Laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques, Département de Biotechnologie, Université de Blida 1, pour l'extraction du mucilage et des flavonoïdes.
- Le Laboratoire d'Hygiène de Blida, pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles et des fleurs de *Malva sylvestris* (Fig.7). Elles ont été récoltées durant les mois de janvier et avril, au niveau de deux stations, Larbaa et Bouguara, localisées dans la Wilaya de Blida et Ain tagourait dans la Wilaya de Tipaza. La récolte été effectuée au stade floraison pour les premières et au stade végétatif pour la deuxième.

Pour les stations de Larbaa et Bouguara, nous avons procédé à la cueillette de feuilles saines et de feuilles infestées, par une matinée à moitié nuageuse avec des températures entre 16°C et 17°C et de 50% à 61% d'humidité. .

En ce qui concerne la station de Ain tagourait, la matinée était ensoleillée à une température de 13°C et 69% d'humidité.



Figure 2. *Malva sylvestris* dans son habitat, **a** : Larbaa, **b** : Bouguara

1.2. Matériel microbiologique

Pour l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Malva sylvestris*, nous avons utilisées 3 souches bactériennes et 3 souches fongiques (Tableau 1), qui appartiennent à la collection du Laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida, sauf pour *Penicillium digitatum* qui est issue de prélèvement alimentaire.

Tableau 1. Souches bactériennes et fongiques utilisées pour le test antimicrobien des extraits des fleurs et des feuilles de *Malva sylvestris*.

Souches	Références	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 278553	-
<i>Esherichia coli</i>	ATCC 25922	-
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404	/
<i>Candida albicans</i>	ATCC 24433	/
<i>Penicillium digitatum</i>	prélèvement alimentaire	/

2. Méthodes

2.1. Séchage et broyage des feuilles

Les feuilles de *Malva sylvestris* sont séparés selon son état sanitaire (infesté et saine) puis sont nettoyées et mise à sécher dans un endroit sec et aéré à l'ombre pendant 15 jours. Après séchage, nous les avons finement broyées à l'aide d'un moulin électrique est conservée dans des sacs en papier jusqu'à utilisation

2.2. Extraction du mucilage

Les fleurs de *Malva sylvestris* ont été utilisées à l'état frais et le mucilage à été extrait selon le protocole de Sachin et *al.* (2014).

Mode opératoire

- Pesé 50g de fleurs fraîches et mise à bouillir dans 500ml d'eau distillée pendant 15min.
- Filtré le tout sur papier Wattman à travers un entonnoir.
- Les résidus sont mis à bouillir pour une deuxième fois, dans 250ml d'eau distillée pendant 15min.
- Filtré le résidu dans une coupelle à travers huit plis de mousseline.
- Ajouter 10ml d'éthanol afin de précipiter le mucilage.
- La solution est séchée dans une étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'une poudre.

2.3. Extraction des flavonoïdes

Le flavonoïde a été extrait à partir des feuilles séchées. Le protocole suivi a été mis au point par LBRETON *et al.* (1967).

Mode opératoire

Une hydrolyse acide est réalisée à partir de 3g de poudre végétale auquel sont ajoutés 240ml d'HCl (2N). Le mélange est porté au bain-marie à 40°C, pendant 40min avec insufflation d'air toutes les 10min à l'aide d'une pipette pasteur, permettant ainsi l'oxydation des anthocyanes.

Après refroidissement, le décocté est transféré dans une ampoule à décanté et soumis à 3 bains d'éther successifs de 50ml chacun, il s'agit de l'extraction à l'éther.

A chaque décantation. Deux phases se distinguent. L'une supérieure c'est l'épiphasse éthérée et l'autre inférieure consiste en l'hypophase acide.

- **Epiphasse éthérée:** de couleur vert-jaunâtre, renferme les flavonoïdes. Elle est récupérée après chaque bain, et mise à évaporation à l'air libre. Le résidu sec est récupéré avec 5ml de méthanol et conservé au frais dans de petits flacons fumés.
- **Hypophase acide :** de couleur marron clair, elle renferme les anthocyanes, qui est éliminée.

2.4. Calcul des rendements

Les rendements (**R%**) en mucilage et en extraits secs obtenus sont déterminées selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{(P1-P2)}{P3} \times 100$$

Où:

P1 : Poids du ballon après évaporation.

P2 : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide).

P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ.

2.5. Dosage des flavonoïdes

Principe

Le dosage des flavonoïdes est effectuée selon la méthode adaptée de **Lamaison et Carnet, 1990**, en utilisant le trichlorure d'aluminium (ALCL₃) comme réactif.

La présence d'une case libre dans ALCL₃ forme une liaison dative avec les doublets libres de l'oxygène des groupements OH des flavonoïdes, en produisant un complexe de couleur jaune, dont son absorbance maximale est enregistrée à 440 nm.

Mode opératoire

- Nous prélevons 0,5 ml de chaque extrait (préparés avec des dilutions convenables dans le méthanol) additionné au même volume de la solution d'AlCl₃ à 2% dans le méthanol.
- Le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à température ambiante pendant 10 minutes.
- L'absorbance est lue à 440 nm contre le blanc contenant uniquement la solution d'AlCl₃ diluée.
- Toutes les manipulations sont répétées 3 fois.
- La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine.
- La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec de la plante (mg EQ/g ES).

2.6. Etude de l'activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne a été réalisée selon la méthode de diffusion sur milieu solide.

➤ Préparation des milieux de cultures :

Tout le matériel utilisé a été stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15min.

Les milieux, MH pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons, sont liquéfiés dans un bain-marie pendant 30min, par la suite ils sont versés dans des boîtes de Pétri stériles à 4 mm d'hauteur et laissé quelques minutes jusqu'à la solidification.

➤ Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h et dans le milieu Sabouraud à 25°C pendant 48h pour les champignons, pour optimiser leur croissance.

Une suspension bactérienne est réalisée à partir de quelque colonie isolée à l'aide d'une anse de platine et est incorporée dans 10ml d'eau physiologique stérile. La suspension est bien homogénéisée.

➤ Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum. Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum et imbibé par la suspension bactérienne et fongique puis essoré en le pressant fermement et en entourant la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

Les boîtes de Pétri sontensemencées aseptiquement en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte 60° de façon croiser les stries sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. A la fin de l'ensemencement, passer l'écouvillon sur les périphériques de la gélose.

➤ Préparation des extraits de *Malva sylvestris*

Nous avons préparé des solutions de mucilage de 250mg dissous dans 10 ML de DMSO on obtient une concentration de 25 mg/ml. De la même manière nous

avons préparé une solution flavonoïdique de 40mg dissous dans 5ml de DMSO, la concentration est de 8 mg/ml.

➤ **Antibiotique et antifongique :**

Nous avons utilisé pour l'évaluation de l'effet antimicrobien deux antibiotiques et deux antifongiques comme contrôle positif pour les bactéries et les champignons sur la base de l'antibiogramme.

- Antibiotiques : Amoxycylav 30 µg (AMC) et Ofloxacin (OFX) 5 µg utilisées sous forme des disques.
- Antifongiques : Amikoz (AMZ) 50 mg et Mycozan (MZN) 150 mg utilisées sous forme des comprimées diluée dans 5 ml d'eau physiologique.

➤ **Préparation et dépôt des disques :**

Des disques de 6mm de diamètres sont préparés à partir de papier Wattman, puis stérilisés dans un tube à essai, à l'autoclave à 120°C et conserver jusqu'à leur utilisation. Les disques stériles sont aseptiquement prélevés avec une pince stérile et leur bout est mis en contact avec l'extrait ou l'antibiotique. Ces derniers vont être absorbés par le disque par capillarité. Une fois imbibés les disques sont déposés à la surface des milieux gélosés (3 disques dans une boîte pour chaque extrait et 2 disques dans une boîte pour les témoins) déjà inoculés par les microorganismes à tester.

➤ **Incubation et lecture**

Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C pour les bactéries et 48h à 30°C pour les champignons.

La lecture se fait par l'observation de l'absence ou la présence de zones claires autour des disques. Ces zones sont dites zones d'inhibition de la croissance microbienne (ZI) et leurs diamètres sont mesurés avec précision à l'aide d'une règle double décimètre.

Pour estimer la résistance ou la sensibilité des différentes souches microbiennes testées nous avons adopté la méthode de Moreira et *al.* (2005), appliquée aux antibiotiques (tableau 2).

Tableau 2. Degrés de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre des zones d'inhibition (Moreira et *al.*2005).

Diamètre de la Zone d'Inhibition (mm)	Degré de sensibilité des souches
$0 < ZI < 9$	Souche résistante
$10 < ZI < 15$	Souche sensible
$16 < ZI < 10$	Souche très sensible
$ZI > 20$	Souche extrêmement sensible

1. Détermination du rendement en mucilage

Les résultats du rendement en mucilage des fleurs fraîches de la mauve regroupés dans le Tableau 3.

Tableau 3. Rendement en mucilage extrait à partir des fleurs fraîches de *Malva sylvestris*, récoltée au niveau de deux stations Larbaa et Bouguara dans la Wilaya de Blida.

Station	Rendement %
Larbaa	1.41±0.35
Bouguara	1.6±0.29

Le tableau ci-dessus montre que les fleurs fraîches de la grande mauve ont donné un rendement en mucilage qui diffère d'une station à l'autre. Le rendement le plus élevé est observé au niveau de la station de Bouguara avec un taux de 1.6±0.29%. La station de Larbaa montre un rendement de 1.41±0.35%.

Ces résultats se rapprochent de ceux de Mekdad et Snedj (2018) ainsi que Guessaimi et Ghesmoune (2018), qui ont obtenu un rendement en mucilage de 1.73% et 1.71% dans la région de Blida.

Toute fois, ils restent supérieurs à celui obtenu dans la région de Tipaza par Bekretou et Medraoui. (2018) et qui est de 0.48%, ainsi qu'à ceux cités par Hammadi et Mellak (2013), qui ont trouvé un rendement 1.15% pour la région de Blida et 0.87% pour la région de Tipaza.

Cependant, les rendements de deux stations sont inférieurs au résultat obtenu par Sandhya et al. (2010), qui indiquent une valeur de 4.2% chez *Malva sylvestris*.

Cette variation des rendements pourrait être liée aux conditions climatiques favorables de la région. Egalement, le rendement des principes actifs dépend d'autres facteurs à savoir : l'espèce, son état sanitaire durant toute l'année, et la morphologie de la plante (Dar et al., 2007 ; Vidyavathi., 1991).

2. Rendement en flavonoïdes

2.1. Feuilles saines

Les résultats du rendement en flavonoïdes extraits des feuilles saines sont représentés dans la Figure 3 le tableau 4 (Annexe1)

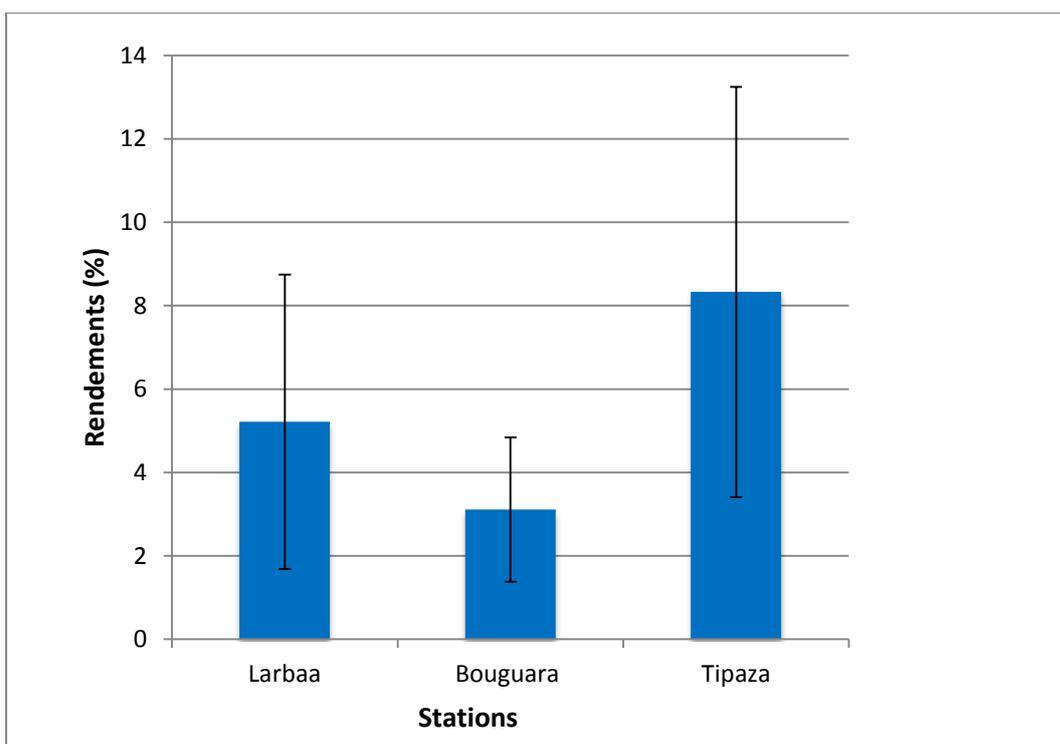


Figure 3. Rendements en flavonoïdes des feuilles saines dans les stations Wilaya de Blida (Larbaa et Bouguara) et Ain tagourait, wilaya de Tipaza.

Les résultats obtenus (fig.3), montrent que la région de Tipaza renferme le rendement le plus élevé en flavonoïdes avec un taux de 8.33 ± 4.92 %, suivi par la station de Larbaa avec 5.22 ± 3.53 %. Par contre, la station de Bouguara donne le rendement le plus faible en flavonoïdes ($3.11 \pm 1.73\%$).

En comparant les trois régions nous remarquons que les feuilles de la région de Tipaza semblent être plus concentrées en flavonoïdes par rapport à celles de la région de Blida (Larbaa et Bouguara).

Cette différence serait liée à la localisation géographique de chaque région Blida se située dans tell central et Tipaza aux littoral, et le stade phénologique de la plante et les conditions climatiques durant la période de récolte.

En effet, Jones et Hartley (1999), mentionnent que les facteurs environnementaux, tels que l'approvisionnement en substrats nutritifs, la température, l'éclairement ou la concentration du dioxyde de carbone dans l'atmosphère, peuvent influencer sur le contenu en composés secondaires carbonés (les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et la lignine).

Selon Tran (2005) et Hopkins (2003), la température joue un rôle sur les activités enzymatiques, les réactions chimiques et agit sur la fluidité des membranes cellulaires. Ainsi, la température semble pouvoir jouer un rôle favorable direct sur la production de métabolites secondaires (Bourgaud, 1990)

Aussi, elle pourrait être liée au stade de développement de la plante et par conséquent à sa maturité, que la récolte des échantillons se fait dans les stations étudiées au différents période, Blida (Larbaa et Bouguara) ont été récoltés au stade floraisons et ceux de la région de Tipaza au stade végétatif (feuillaison).

Fiorucci (2006), note que le degré de maturation de la plante a une forte influence sur le contenu en polyphénols.

2.2. Feuilles infestées

Les résultats en rendements en flavonoïdes des extraits des feuilles infestés sont représentés dans la figure 4 tableau5(Annexe1)

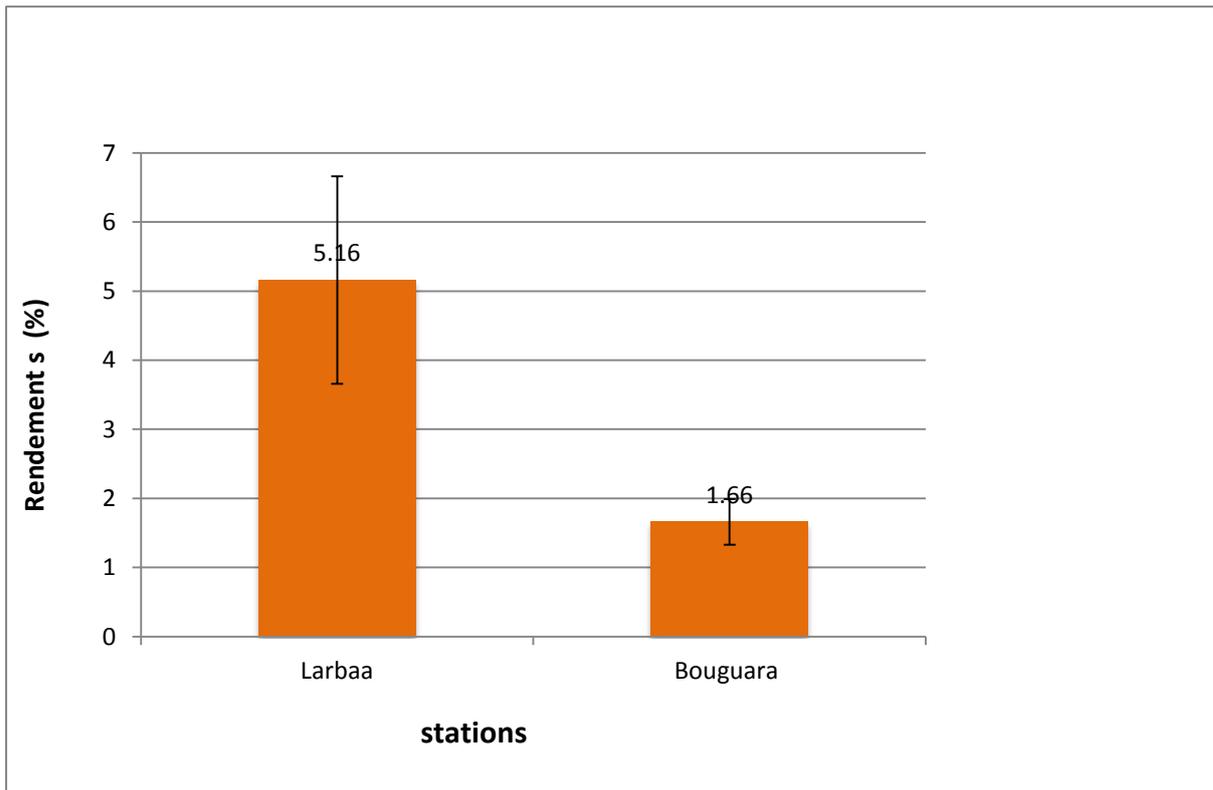


Figure 4. Rendement en flavonoïdes des feuilles infestées dans les stations de Larbaa et Bouguara, Wilaya de Blida.

Les résultats obtenus, montrent que la station de Larbaa renferme le rendement le plus élevé en flavonoïdes avec $5.16 \pm 1.5\%$. Par contre, la station de Bouguara donne un rendement le plus faible en flavonoïdes avec un taux de $1.66 \pm 0.33\%$.

2.3. Comparaison entre le rendement en flavonoïdes des feuilles saines et infestées

Les rendements en flavonoïdes des feuilles saines et infestées, récoltées dans les stations de Larbaa et Bouguara Wilaya de Blida, sont représentés dans la figure 5 et le tableau 6 (Annexe1).

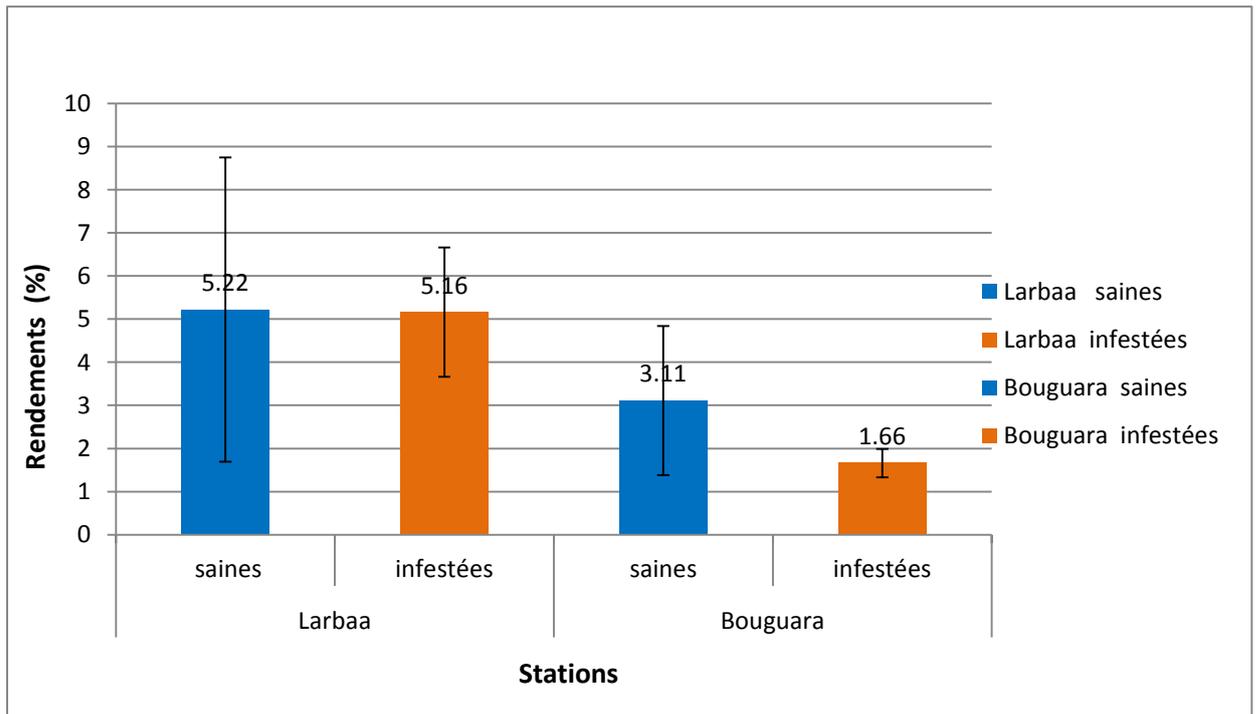


Figure 5. Comparaison entre les rendements en flavonoïdes entre les deux stations de Larbaa et Bouguara, Wilaya de Blida.

A partir de figure ci-dessus, nous remarquons que le même rendement en flavonoïdes est obtenu pour les feuilles saines et infestées au niveau de la station de Larbaa ($5.16\% \pm 1.5\%$)

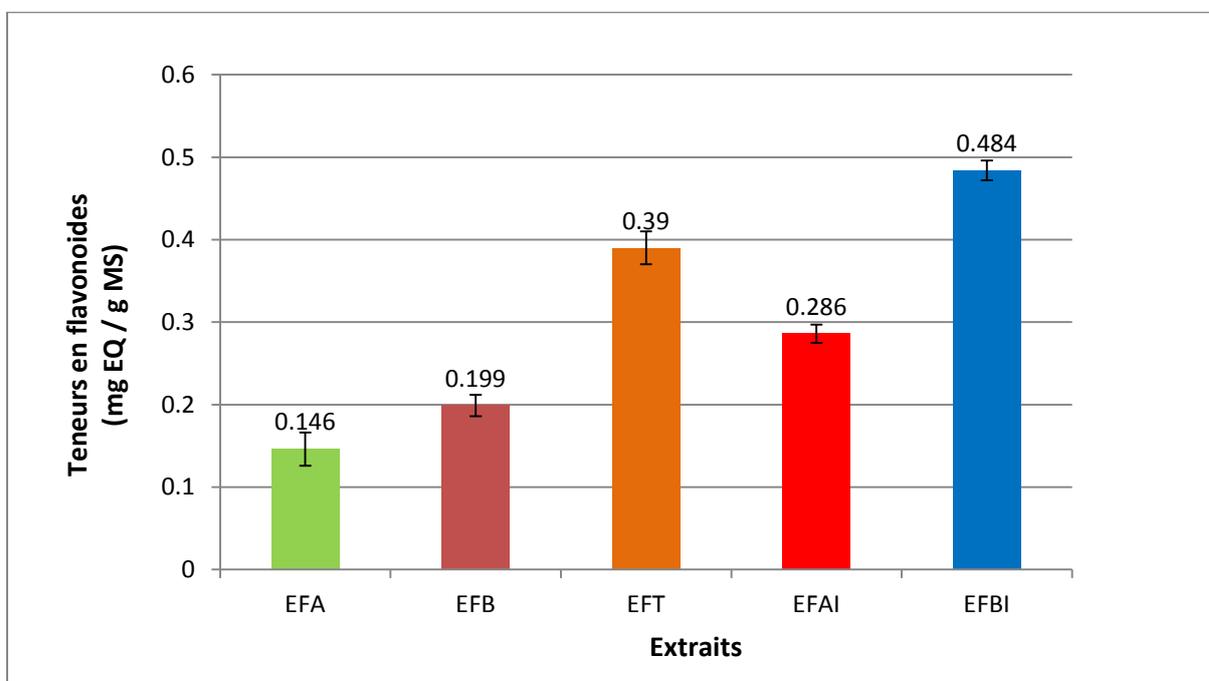
Concernant la station de Bouguara, le rendement en flavonoïdes des feuilles saines est plus élevé que celui des feuilles infestées avec un taux de $3.11 \pm 1.73\%$ et $1.66 \pm 0.33\%$ respectivement.

Nous constatons, à partir de cette comparaison que l'infestation a conduit à la diminution du rendement en flavonoïdes. Cela pourrait être dû au fait que la plante utilise ces composés dans son mécanisme de défense contre les pathogènes.

En effet, Dicko et al. (2006), notent que les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme des plantes. Ils protègent aussi la plante contre les agressions.

3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les concentrations des flavonoïdes totaux (mg EQ / g MS) obtenus dans les extraits des feuilles de *Malva Sylvestris* au niveau de trois stations Larbaa, Bouguara et Ain tagourait, sont représentées dans la Figure 6 et le tableau 7 (Annexe1)



EFA : extrait flavonoïde Larbaa, EFB : extrait flavonoïde Bouguara, EFT : extrait flavonoïde Tipaza, EFAI : extrait flavonoïde Larbaa, feuilles infestées, EFBI : extrait flavonoïde Bouguara, feuilles infestées

Figure 6. Teneurs en flavonoïdes totaux dans les feuilles saines et infestées de *Malva sylvestris* dans les différentes stations.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux dans les extraits bruts des feuilles de *Malva sylvestris* au niveau de trois stations, Larbaa et Bouguara (feuilles saines et infestées), et Ain tagourait (feuilles saines), montre que les feuilles infestées récoltées à Bouguara sont les plus concentrées en flavonoïdes (0.48 mg EQ /g MS), suivi par la station de Tipaza avec (0.39 mg EQ /g MS). En troisième position vient la station de Larbaa où les feuilles infestées marquent 0.28 mg EQ /g MS. Les plus faibles concentrations sont enregistrées pour les feuilles saines de Larbaa et Bouguara avec des valeurs respectives de (0.14 mg EQ /g MS), et (0.19 mg EQ /g MS),

Ces résultats restent inférieurs à ceux obtenus par Benidiri et Benmammam(2014), qui mentionnent un taux de flavonoïdes des feuilles de *Malva sylvestris* $19.52 \pm 2,27$ mg EQ/g MS.

D'autre part, Beghdad et al. (2014), indiquent une teneur de 5.694 ± 0.017 mg ER/g ES, pour les feuilles de *Malva sylvestris*, en utilisant comme solvants l'éthanol à 96% par la méthode de macération.

A partir des résultats obtenus, nous constatons que l'infestation a permis l'augmentation de la concentration des flavonoides. Cela serai du à l'intervention de ces dernier dans le mécanisme de défense des plantes.

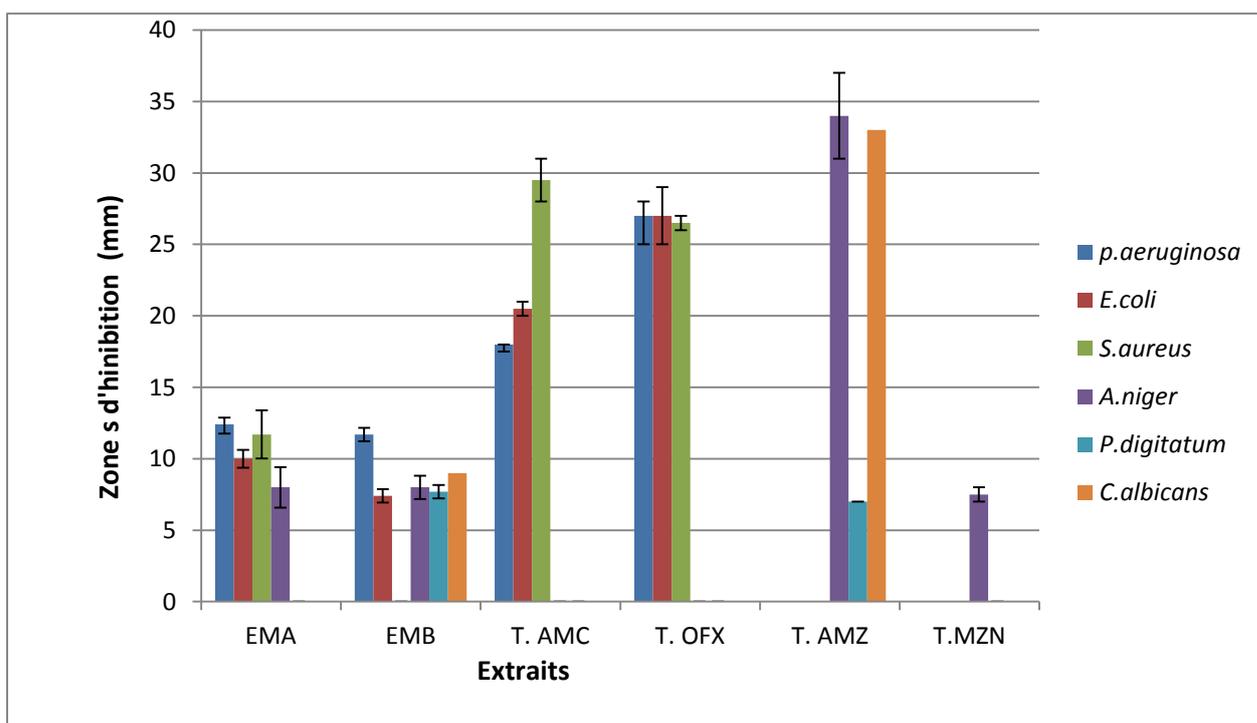
La variation de la composition peut être attribuée aux conditions climatiques et géographiques entre les régions, (Akrouit et al. 2010).

Selon Camille Bénard (2009), les composés phénoliques sont influencés par de nombreux facteurs environnementaux et cultureux, comme le rayonnement, la température, ou la composition des solutions nutritives du sol.

4. Evaluation de l'activité antimicrobienne

4.1. Le mucilage

Les résultats des analyses de l'activité antimicrobienne du mucilage des fleurs fraîches de *Malva sylvestris* sont montés dans la figure 7 et le tableau 8 (Annexe2)



EMA : extrait mucilage station Larbaa, EMB : extrait mucilage station Bouguara, T : témoin, AMC : Amoxyclyav, OFX : Ofloxacin, AMZ : Amikoz, MZN : Mycozan

Figure 7. Effet antimicrobienne du mucilage des fleurs fraîches de *Malva sylvestris*, récoltées dans la Wilaya de Blida, sur les différentes souches.

Rappelons que lorsque :

- $ZI < 9$ mm : souche résistante
- $ZI = 10$ à 15 mm : souche sensibles
- $ZI = 16$ à 20 mm : souche sensibles intermédiaire
- $ZI > 20$ mm : souche très sensible

La figure 7, montre que le mucilage des fleurs de *Malva sylvestris* s'est révélé actif envers les souches bactériennes et fongiques, mais à des degrés différents.

Nous remarquons que *P.aeruginosa* présente une sensibilité vis-à-vis du mucilage dans les deux stations de Larbaa et Bouguara avec un diamètre de zone d'inhibition de 12.4 ± 0.47 mm et 11.7 ± 0.47 mm respectivement.

Nos résultats semblent être en accord avec ceux de Guessaimi et Ghesmoune (2018), qui montre que *P. aeruginosa* a présenté une sensibilité ($ZI=15$ mm) pour le mucilage à la région de Blida.

Néanmoins, les résultats de Benouda et Diouani (2018) montrent que *P. aeruginosa* est très sensible vis-à-vis du mucilage de Bourkika (wilaya de Tipaza) avec (ZI= 28mm).

De même, *E. coli* et *S. aureus* sont sensible au mucilage de Larbaa avec des diamètres des zones d'inhibition de 10 ± 0.63 mm et 11.7 ± 1.69 mm. Cependant, elles sont résistantes à l'extrait de Bouguara avec des diamètres des zone d'inhibition 7.4 ± 0.47 mm et 6mm. Ces résultats ne concordent pas avec les résultats de Guessaimi et Ghesmoune (2018), qui notent que *S. aureus* est très sensible au mucilage avec des ZI entre variant entre 20mm et 30mm. Cependant, ces souches ont montré une sensibilité intermédiaire avec (ZI=17.5) pour le mucilage de Tipaza, selon Benouda et Diouani (2018).

Pour les souches fongiques, *A. niger*, *P. digitatum* et *C. Albicans* montrent une résistance au mucilage dans les deux stations(Larbaa et Bouguara), avec des diamètres de zone d'inhibition respectifs de 8 ± 1.41 mm, 6mm, 6mm pour la station de Larbaa et de 8 ± 0.81 mm, 7.7 ± 0.47 mm et 9 ± 4.32 mm pour la station de Bouguara.

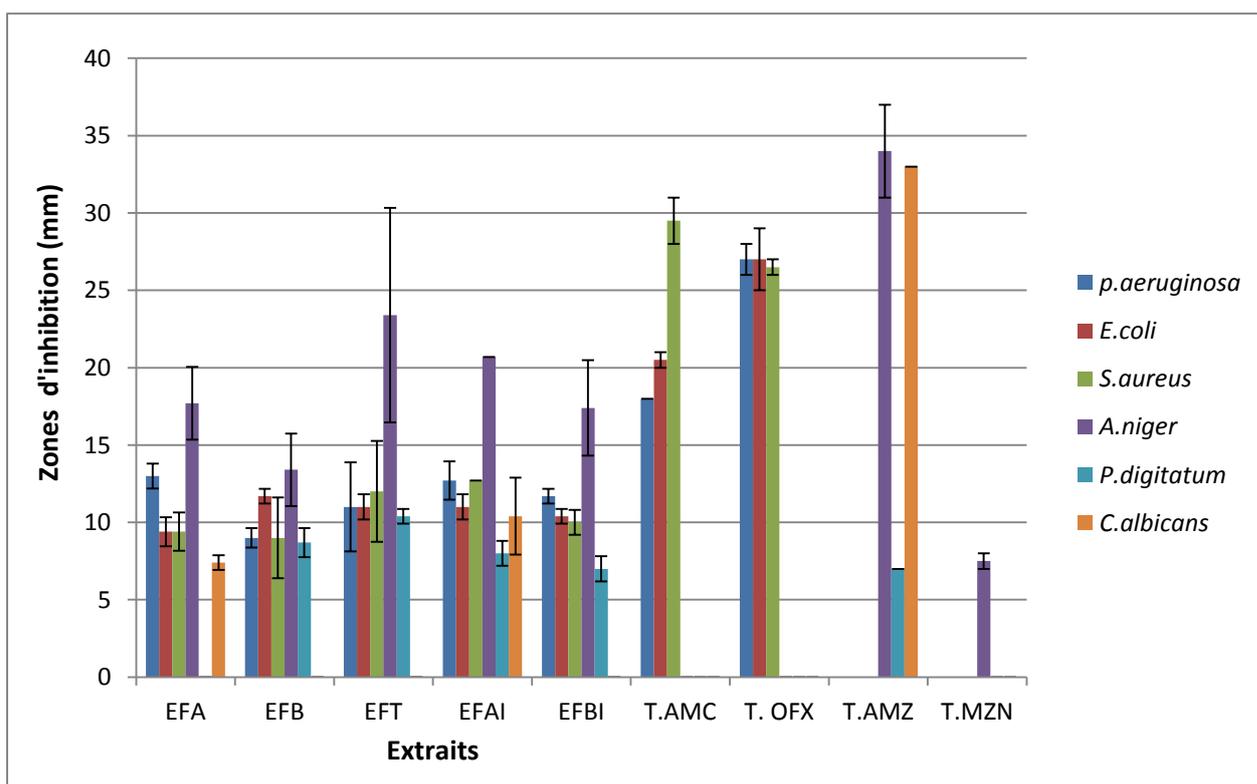
Cependant, les résultats de Guessaimi et Ghesmoune (2018), et Benouda et Diouani(2018), *A. niger* a montré une sensibilité (ZI=15mm et ZI=12.5) respectivement et *C. Albicans* manifesté une totale résistance.

Walker et al. (2011), indiquent que les extraits de fleurs de la mauve ont montré une activité antibactérienne maximale contre *S. aureus*.

La variation dans l'activité antimicrobienne du mucilage entre les différentes stations pourrait être attribuée à plusieurs facteurs tels que les facteurs climatiques et environnementaux, le patrimoine génétiques, la période de récolte, les conditions expérimentales et la sensibilité des souches (Bentabet et al .2014).

4.2. Les flavonoïdes

Les résultats de l'effet antimicrobien des flavonoïdes dans la station de Larbaa, Bouguara (sains et infesté) et dans la station de Tipaza sont illustrés dans la figure 8 et le tableau 9(Annexe2)



EFA : extrait flavonoïdes Larbaa feuilles saines, EFB : extrait flavonoïdes Bouguara feuilles saines, EFT : extrait flavonoïdes Tipaza feuilles saines, EFAI : extrait flavonoïdes Larbaa feuilles infesté, EFBI : extrait flavonoïdes Bouguara feuilles infesté, AMC : Amoxyclav, OFX : Ofloxacin, AMZ : Amikoz, MZN : Mycozan

Figure 8. Effet antimicrobienne des flavonoïdes des feuilles sèche de *Malva sylvestris* récoltées dans les différentes stations.

➤ Station de Tipaza

D'après la figure 8, nous remarquons que *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, et *P. digitatum*, présentent une sensibilité aux flavonoïdes avec des diamètres des ZI respectifs de 12 ± 3.26 mm, 11 ± 2.88 mm, 11 ± 0.81 mm, et 10.4 ± 0.47 mm. *A. niger* est la souche la plus sensible avec 23.4 ± 6.94 mm. Par contre *C. albicans* est la plus résistante avec absence de la zone d'inhibition.

➤ Station de Larbaa (feuilles saines)

A l'observation de la figure 8, nous remarquons que *A. niger* a montré une sensibilité intermédiaire aux flavonoïdes avec $ZI = 17.7 \pm 2.86$ mm et *P. aeruginosa*, présente une sensibilité avec 13 ± 0.81 mm.

Cependant, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* et *P. digitatum* se sont avérées résistantes vis-à-vis des flavonoïdes avec des ZI respectifs de $9.4\pm 0.94\text{mm}$, $9.4\pm 1.24\text{mm}$, $7.4\pm 0.47\text{mm}$ et 6mm .

➤ Station de Bouguara (feuilles saines)

Concernant la région de Bouguara, les souches *A. niger* et *E. coli* se sont montrées souches sensibles aux extraits avec des diamètres de zones d'inhibition de $13.4\pm 2.35\text{mm}$ et $11.7\pm 0.47\text{mm}$.

Par contre, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *P. digitatum* et *C. albicans* ont montré une résistance aux flavonoïdes avec des diamètres des zones d'inhibition respectifs de $9\pm 0.63\text{ mm}$, $9\pm 2.16\text{ mm}$, $8.7\pm 0.94\text{mm}$ et 6 mm .

➤ Station de Larbaa (feuilles infestées)

Les souches *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, et *C. albicans* ont montré une sensibilité aux flavonoïdes des feuilles infestées avec des diamètres des ZI de $12.7\pm 1.24\text{mm}$, $12.7\pm 2.39\text{mm}$, $11\pm 0.81\text{mm}$ et $10.4\pm 2.49\text{mm}$ respectivement. *A. niger* s'est avéré très sensible vis à vis des flavonoïdes avec (ZI= $20.7\pm 3.29\text{ mm}$). Par contre, nous remarquons que *P. digitatum* est la souche résistante vis-à-vis de flavonoïde avec un diamètre de zone d'inhibition de $8\pm 0.81\text{mm}$.

➤ Station de Bouguara (feuilles infestées)

A l'observation de la figure 8, les souches *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus* ont montré une sensibilité vis-à-vis des flavonoïdes avec des diamètres de zone d'inhibition respectifs de $11.7\pm 0.47\text{mm}$, $10.4\pm 0.47\text{mm}$, $10\pm 0.81\text{ mm}$. *A. niger* présente une sensibilité intermédiaire avec ZI de $17.4\pm 3.09\text{ mm}$.

Par contre, les souches fongiques *P. digitatum* et *C. albicans* se sont montrées résistante aux flavonoïdes des feuilles infestés avec des diamètres de zone d'inhibition respective de $7\pm 0.81\text{ mm}$ et 6mm , respectivement.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une différence dans l'effet de flavonoïdes, entre les trois stations étudiées vis-à-vis des différentes souches.

Cette différence pourrait être attribuée à plusieurs facteurs tels que les conditions ambiantes, facteurs écologiques, méthodes d'extraction (Turken et al. 2007),

sensibilité des bactéries et l'organe utilisé (Natarajan et al .2005). La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats obtenus (Natarajan et al .2005). De même, l'ajout de DMSO à un extrait végétal pour la dilution ne diminue pas son activité (Blansard ,2007).

Nos résultats qui révèlent un effet antimicrobien des flavonoïdes contre les souches étudiées semblent être en accord avec ceux de Afolayan et al. (2008) qui mentionnent un pourcentage d'inhibition élevé pour les flavonoïdes de *Malva sylvestris* de l'ordre de 94.32%

Par contre pour *C.albicans* qui devient beaucoup plus résistante pour les flavonoïdes. En effet, selon, Dornberger etliche (1982); Alkofahi et al. (1996 in Coelho de Souza et al. 2004), les extraits méthanoliques et éthanoliques de *Malva sylvestris* ne sont pas actifs contre *Candida albicans*.

D'après les résultats de Guessaimi et Ghesmoune (2018), que les extraits d'acétate d'éthyle et butanolique des feuilles de *Malva sylvestris* de la station de Blida exercent un effet sur différentes souches à savoir : *S. aureus* et *P. aeruginosa* qui se sont montrés très sensibles avec ZI entre 20mm et 30 mm, et pour *A.niger* a montré une sensibilité avec ZI=10mm.

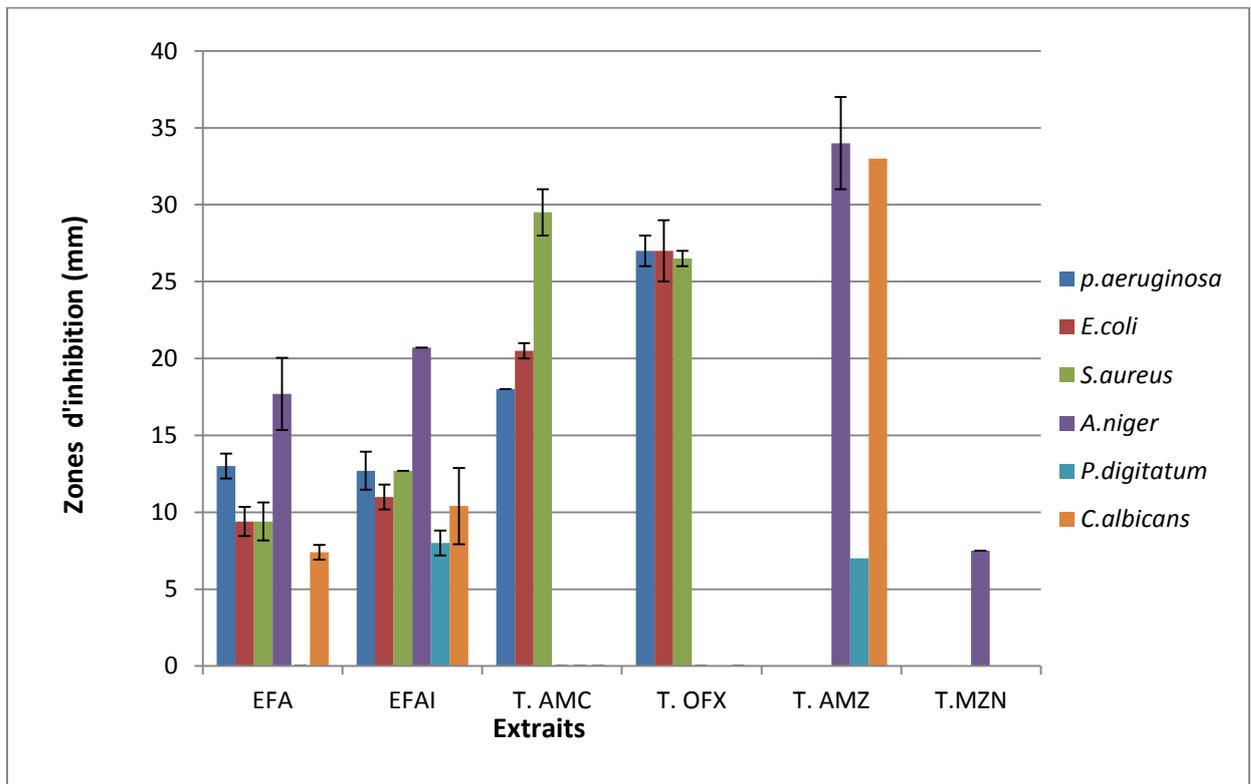
Benouda et Diouani. (2018), mentionnent que l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait butanolique possèdent une activité sur les souches *S .aureus* et *P. aeruginosa* qui devient sensible avec ZI entre 10mm et 15 mm. *A. niger* montre une sensibilité intermédiaire avec (ZI=17mm) et *C. albicans* est très sensible à l'extrait butanolique avec (ZI=20mm).

Les flavonoïdes et les esters d'acides phénoliques ont été étudiés pour leur activité Antifongique (Raj et al., 2001). Ils ont démontré une activité inhibitrice contre *Aspergillus tamarii*, *A. flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (Cushnie et Lamb, 2005).

➤ **Comparaisons entre l'effet antimicrobien de flavonoïdes de feuilles (saines et infestées)**

• **Station de Larbaa**

La figure 9, présente les résultats de l'effet antimicrobien de flavonoïdes de station de Larbaa Des feuilles (saines et infestés).



EFA : extrait flavonoïdes Larbaa feuilles saines, EFAI : extraits flavonoïdes Larbaa infestées AMC : Amoxyclav, OFX : Ofloxacin, AMZ : Amikoz, MZN : Mycozan

Figure 9. Comparaison de l'effet antimicrobien des flavonoïdes entre les feuilles saines et infestées dans la station de Larbaa.

A partir de la figure ci-dessus, nous remarquons que *P. aeruginosa* a montré une sensibilité légère aux flavonoïdes pour les deux extraits (EFA, EFAI) avec des diamètres des zones d'inhibition (ZI) de 13.16 ± 0.81 mm et 12.7 ± 1.24 mm.

E. coli et *S. aureus* sont sensibles à l'EFAI avec (ZI = 11.0 ± 0.81 mm, 12.7 ± 2.39 mm) et elles deviennent résistantes à l'EFA avec (ZI = 9.4 ± 0.94 mm, 9.4 ± 1.24 mm), Respectivement.

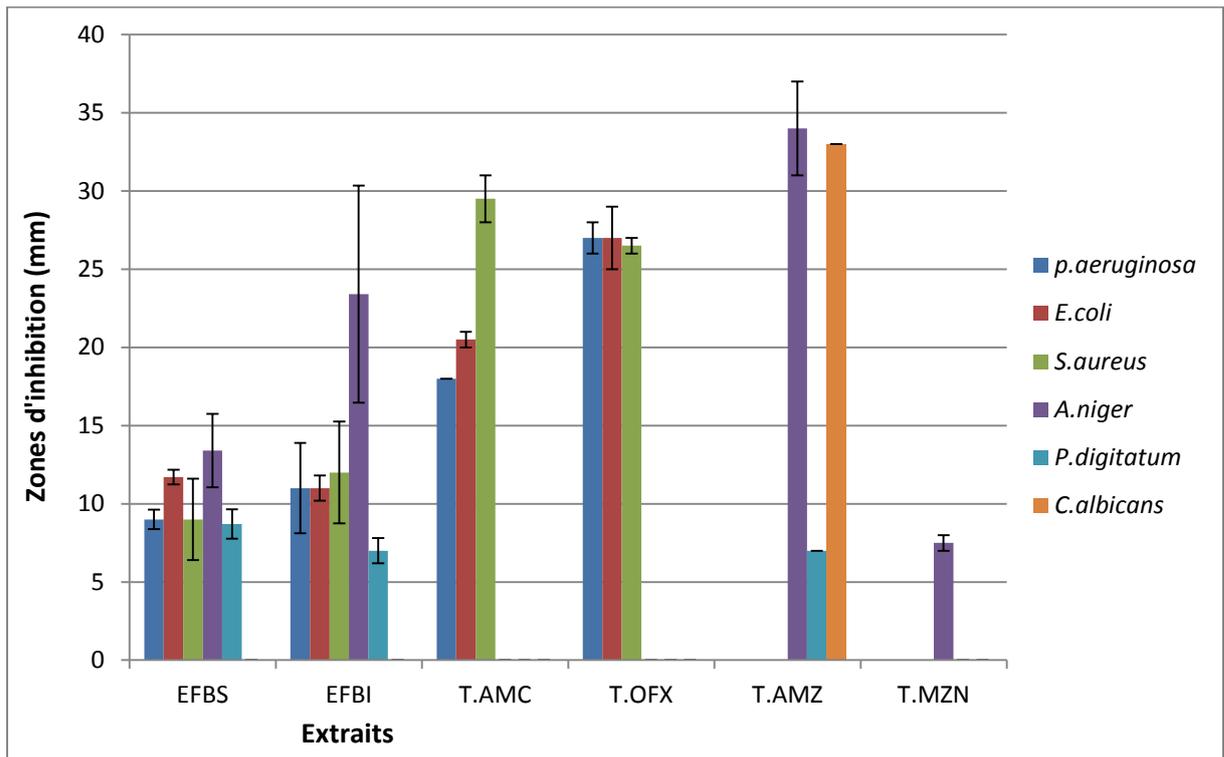
A. niger présente une sensibilité intermédiaire à l'EFA avec (ZI = 17.7 ± 2.86 mm) et devient très sensible à l'EFAI avec (ZI = 20.7 ± 3.29 mm).

P. digitatum et *C. albicans* a montré une résistance à l'EFA avec (ZI = 6 mm et 7.4 ± 0.47 mm). Par contre, *P. digitatum* reste résistant à l'EFAI avec

($ZI=8\pm 0.81\text{mm}$) et *C. albicans* a montré une sensibilité avec ($ZI=10.4\pm 2.49$) au même extrait (EFAI)

• Station de Bouguara

La figure 10, présente les résultats de l'effet antimicrobien de flavonoïdes de station de Bouguara Des feuilles (saines et infestés).



EFBS : extrait flavonoïdes Bouguara feuilles saines, EFAI : extraits flavonoïdes Bouguara infestées AMC : Amoxyclov, OFX : Oflaxacin, AMZ : Amikoz, MZN : Mycozan

Figure 10. Comparaison de l'effet antimicrobien des flavonoïdes entre les feuilles saines et infestées dans la station de Bouguara,

A partir de la figure ci-dessus, nous remarquons que la souche *A. niger* présente une sensibilité intermédiaire aux flavonoïdes des feuilles infestées (EFBI) avec ($ZI=17.4\pm 3.09\text{mm}$) et devient sensible à l'EFBS avec ($ZI=13.4\pm 2.35$).

E.coli indique une sensibilité légère à deux extraits EFBS, EFBI avec ($ZI=11.7\pm 0.47\text{mm}$, $10.4\pm 0.47\text{mm}$), respectivement.

P.aeruginosa, *S.aureus*, sont sensibles à l'EFBI avec (ZI=11.7±0.47mm, 10±0.81mm) par contre pour l'EFBS devient résistant avec (ZI=9±0.63mm, 9±2.16mm), respectivement.

P. digitatum a montré une résistance par les deux extraits EFBS, EFBI, avec ZI=8.7±0.94mm, 7±0.81mm respectivement, par contre *C. albicans*, nous remarquons absence de déviation de zone d'inhibition par les deux extraits (EFBS, EFBI).

A partir des résultats obtenus, nous pouvons constater une différence dans l'effet antimicrobien des flavonoïdes en fonction de l'état sanitaire des feuilles (saines et infestées) entre les deux stations Larbaa et Bouguara. En effet, nous remarquons que les extraits issus des feuilles infestées sont plus efficaces en comparaison avec ceux des feuilles saines.

D'après Luthra et al. (1988). La concentration des composés phénoliques est généralement plus élevée dans les génotypes des plantes cultivées résistants aux maladies que chez les génotypes sensibles. Des études ont également montré que les changements qualitatifs et quantitatifs de ces composés se produisent après une infection.

Selon Zhi-lin et al. (2007), les plantes interagissent avec l'environnement pour leur survie, et sont influencées par les facteurs environnementaux incluant des stimulants biotiques et abiotiques qui régulent la biosynthèse de leurs métabolites secondaires.

Notre étude a été menée pour valoriser l'espèce *Malva sylvestris* dans le but d'exploiter les flavonoïdes et le mucilage de cette espèce dans le domaine thérapeutique. Les feuilles ont été récoltées au niveau de 2 régions : Wilaya de Blida au niveau des stations de Larbaa et Bouguara et la station d'Ain tagourait dans la Wilaya de Tipaza. Les fleurs ont été récoltées fraîches au niveau des stations Larbaa et Bouguara.

L'extraction du mucilage à partir des fleurs fraîches a donné des rendements de 1.6 ± 0.29 et $1.41 \pm 0.35\%$ au niveau de Bouguara et Larbaa respectivement.

L'extraction des flavonoïdes à partir des feuilles séchées au niveau de la région de Tipaza a permis d'obtenir un rendement de $8.33 \pm 4.92\%$ suivi par 5.22 ± 3.53 et $3.11 \pm 1.73\%$ dans la région de Blida (Bouguara et Larbaa) respectivement.

Le dosage des flavonoïdes par la méthode adaptée de Lamaison et Carnet (1990), a donné des concentrations variables d'une station à une autre et d'un extrait à un autre. La concentration la plus élevée est observée dans l'EFBI avec 0.484 mg EQ/g MS suivi par EFT avec 0.39 mg EQ/g MS, en troisième position c'est EFAI avec 0.286 mg EQ/g MS. Par contre, les concentrations les plus faibles sont remarquées au niveau de l'EFA et l'EFB avec des valeurs très proches de 0.146 mg EQ/g MS et 0.199 mg EQ/g MS respectivement.

L'activité antimicrobienne a été réalisée pour le mucilage et les flavonoïdes des différentes stations. Elle a été évaluée, par la méthode de diffusion sur milieu solide, sur trois souches bactériennes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et trois souches fongiques: *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Candida albicans*. Pour le mucilage de la station de Larbaa, *E. coli* et *S. aureus* se sont avérés sensibles vis-à-vis de cet extrait avec des zones d'inhibition respectifs de 10 ± 0.63 mm et 11.7 ± 1.69 mm. Par contre, ces souches étaient résistantes envers l'extrait de la station de Bouguara.

P. aeruginosa a présenté une sensibilité légère dans les deux stations (Larbaa ZI = 12.4 ± 0.47 mm et Bouguara ZI = 11.7 ± 0.47 mm). Les souches fongiques *P. digitatum*, *A. niger* et *C. albicans* ont manifesté une résistance au niveau des deux stations.

Concernant les flavonoides, *A. niger* a montré une sensibilité à des degrés différents au niveau des trois stations, mais la plus importante est observée pour les extraits de Tipaza et de Larbaa (feuilles infestées) avec des zones d'inhibition de 23.4 ± 6.94 mm et 20.7 ± 3.29 mm, respectivement.

Cependant, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* ont manifestés une sensibilité légère vis-à-vis des extraits testés des trois stations avec des zones d'inhibition compris entre 11mm et 13mm. Cependant, ils se sont montrés résistantes aux extraits des feuilles saines de Larbaa et Bouguara.

Alors que pour *P. digitatum* et *C. albicans*, les flavonoides ont montré un faible effet voir nul.

A partir de ces résultats, nous pouvons suggérer que *Malva sylvestris*, pourrai constituée une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui pourraient posséder des activités biologiques très importante. Néanmoins, ces résultats restent préliminaires, il serait intéressant de poursuivre les investigations sur cette plante:

- Déterminer la composition chimique des différents extraits par les méthodes chromatographiques (HPLC, RMN....)
- Etudier d'autres activités biologiques: antalgique, anti inflammatoire, antidiabétiques, cicatrisante...etc., pour pouvoir l'exploiter dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire.
- Identifier le mécanisme d'action des flavonoides et du mucilage sur différentes souches microbiennes.
- Identifier le mécanisme de la stimulation de leur biosynthèse dans la plantes suite à une infection par des. bioagresseurs
- Formuler des médicaments et des compléments alimentaires à base des extraits flavonoïdiques et de mucilage de *Malva sylvestris*.

- **Ait Yousef M., 2006.** Plante médicinales de Kabylie préface du docteur Jean-Philippe. Edition Ibis press Paris, 348 pages
- **Akrout.A ,Hajlaoui. H ,Mighri .H, Najjaa .H et Neffatim., 2010 .** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artimisiaherba-alba* oil cultivated Tunisian arid zone. Académie des sciences .24,1-7.
- **Barros L, Carvalho AM, Ferreira I., 2010.** Leaves, flowers, immature fruits and leaf flowers stems of *Malva sylvestris*, a comparative study of the nutraceutical potential and composition, Food and chemical toxicology48, 1466- 1472. bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic
- **Beghdad, M.C., Benammar, C., Bensalah,F., Sabri ,F.Z., Belarbi,M.,**
- **Bekretou nassima et Medraoui souad ., 2018,** Etude de la variabilité morphologique et biochimique de la mauve , *malva sylvestris* récoltée à Tipaza
- **Belzung E., 1900.** Anatomie et physiologie végétales – Félix Alcan éditeur. alterations in downy mildew infected lucerne leaves. *Indian Phytopathology*, vol. 41, pp
- **Benaouda I et Diouani H., 2018.** Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Malva sylvestris* L., récoltés dans les régions de Tipaza et Meftah. Mémoire de
- **Benidiri S et Benmammar S., 2015-2016.** Dosages des composées phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de *Rhamnus alaternus* L et *Malva sylvestris*L.
- **Bentababet N, Boucheritotmani Z, Boucherit K., 2014 ;** composition chimiques et activité antioxydante d'extraits organiques de racines de *fredoliaaretioids* de la région de Béchar en Algérie , photothérapie 12 : 364-371
- **Blansardg ., 2007.**Analysecritique des protocoles pharmaceutique utilisé pour la recherche d'extrait et de substances pures d'origines végétale à propose antibactérienne ou antiparasitaire.
- **Bonnier Gaston et Douin Robert., 1912-1935.** La grande flore en couleur da Gaston Bonnier-Belin.
- **Bennett W., 2015.** Antibiotics current innovotions and future tendsicaister Academic press. Norfolk. The United Kingdom. p90.

- **Boullard Bernard., 1997.** Plantes et Champignons, dictionnaire –Estem.
- **Bruneton Jean., 1999.** Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales (3ème édition). Toc & Doc. 1120 pages.
- **Camille Bénard., 2009.** L'étude de l'impact de la nutrition azote et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate.
- **Canonne Philippe., 1984.** Mauve sauvage, *Malva sylvestris* L : Taxonomie, Culture, Usages-Thèse : Pharmacie. Lille. (in Thèse Maeva Flore, 2011).
- **Chaoucha Afif., 2015.** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou- Algérie.
- **Classen B. & Blaschek W., 2002.** An arabinogalactan–protein from cell culture of *Malva sylvestris* 12 – *Planta Med.* 68 (3), 232–236.
- **Coste. H., 1901.** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes– tome I – Librairie de sciences naturelles, Paul Klincksieck.
- **Couplan F., 2009.** Bonnes et mauvaises herbes. Edition Sang de la Terre Paris, 79 pages.100.
- **Couplan François & Doux Yves., 1950.** L'album des plantes et des fleurs – Delachaux et Niestlé.
- **Dar A, H.S.Baig, S.M.Saifullah ,V.U.Ahmed,S.Yasmeen et M.Nizamuddin., 2007.**Effetct of seasonal variation on the anti-inflammatory activity of *Sargassumwightii* growing on the N.Arabian Sea coast of Pakistan. *J. of exp. Mar. boil. And ecol.*, 351: 1-
- **Delaveau Pierre., 2003.** Expliquez–moi les plantes, voyage en botanique – Pharmathèmes.
- **Deysson Guy., 1963.** Cours de botanique générale, tome II, organisation et classification des plantes vasculaires, première partie : organisation générale – Société d'édition d'enseignement supérieur.
- **Dicko Mamoudou H., Gruppen H., Traoré Alfred S., Voragen Alphons G. J. and Van Berkel Willem J. H., 2006.** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* vol. 1, pp 21-38.

- **Duraffound Christian et Larparz jean Claude., 2002.** Traité de la phytothérapie Clinique (in thèse Maeva Flore., 2011).
- **Echevin R., 1964.** Angiospermes tome I : Apétales et dialypétales – Doin.
et fleures de *MalvaSylvestris*
- **Fiorucci S., 2006.** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis, 212p.
- **Flore M., 2011.** *Malva sylvestris L.*, et autre mauves de France. Thèse Doctorat En Pharmacie université de Nantes en ligne. flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris L.*) from North Western of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 13 (3) : 486-491.
- **Fournier Paul., 1934– 1940.** Les quatre flores de France – Dunod.
- **Gasparetto J., 2011.** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris L* : a millennial herbal medicine *Journal of Pharmacy And Pharmacology* 64, pp. 172-189.
- **Guessaimi C et Ghesmoune W.,2017.** Evaluations de quelques effets thérapeutiques des extraits de *Malva sylvestris*. Mémoire de Master, Université de Blida 1.
- **H. Pourrat, P. Tronche et A. Pourat.** *Bull.Soc.chim*, **1918-1966**. 1, pp 21-38.
- **Hammadi et Mellak., 2013** : Etude des effets thérapeutiques des extrait des feuilles innoxia Mill. cultivé en hydroponie : analyse des effets de l'environnement biotique et abiotique ; essais de mise en place d'une nouvelle technologie de production. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine en Sciences Agronomiques, France, 105 p.
- **Lebreton, P., Jay, M., Voirin, B.** Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal. France*, 1967. P 375.
- **Lecler H., 1973.** Précis de phytothérapie : thérapeutique par les plantes françaises. 5ème édition-Masson et Cie. Elsevier Masson. 363 pages.
- **Luthra Y. D., Joshi U. M., Gandhi S. K. and Arora S. K., 1988.** Biochemical alterations in downy mildew infected lucerne leaves. *Indian Phytopathology*, vol. 41, pp 100.

- **Mekdad ibtisssem et Snedj Houria., (2017-2018)** ; Etude de la variation morphologiques et biochimiques de la mauve , *Malvasylvestris* de la région de Blida .
- **Mortier Jacques-**Embryologie des Malvacées. Polyembryonie chez le *Malva sylvestris* L. et le *Malva moschata* L. 1966, p. 229-232- Départ/Région : Bulletin de la Société Botanique de France, 4, Tome 113- Fascicule 5-6.
Mster, Université de Blida 1.
- **Nougaréde., 1969.** Biologie végétale Tom I : cytology. (in thèse Maeva Flore, 2011).
- **Paul Schauenberg., 2010.** Ferdinand Paris. Guide des plantes médicinales. Éditions Delachaux et Niestlé.
- **Raj Narayana K., Reddy Sripal M., Chaluvadi M. R. and Krishna D.R., 2001.** bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 33, pp 2-16.
- **Roberts C., Manchester K. (2010).** The Archeology of Diseases. The History press, Gloucestershire, The United Kingdom,p .398.
- **Sachin S . Salunkhe, Neel M. Bhatia, Sachin S. Gadkari, Ashok A. Hajare, Suryakant V. Gaikwad and Raviraj S. Karade., 2014.** Extraction and characterization of mucilage from lepidium staviium Lin seeds. *Der Pharmacia Lettre*, 6(1): 65-70.
- **Spichiger Rodolphe-Edouard et al., 2002.** Botanique systématique des plantes à fleurs (2ème édition) – presses polytechniques et universitaires romandes.
- **Tela Botanica., 2013:** <http://w.tela.botanica.org/page:ouvragers:numerises>.
- **Tran T.L.M., 2005.** Synthèse et accumulation d'alcaloïdes tropaniques chez *Datura*
- **Touami Ouafa., 2016.** Etude des propriétés phyto-thérapeutiques de la plante médicinales *Malva sylvestris*.
- **Valnet J., 1992.** Phytothérapie; traitement des maladies par les plantes; 6ème edition: Maloine (in thèse Maeva Flore., 2011).
- **Vidyavathi N., Sridhar K.R., 1991.** Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of saeweeds from the Mangalore Coast of India. *Botanica Marina*, 34: 279-284.
- **Walter z. K. Shinwari i. Afzal et r. N. Malik., 2011.** Antibacterial activity in herbal products used in pakistan. *Pak. J. Bot.*, 43: 155-162.

- **Wichtl Max., 2003.** (2ème édition française). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique- Edition Tec & Doc, Editions médicales internationale.
- **Zhi-lin, Y., Chuan-chao, D., Lian-qing, C., 2007.** Regulation and accumulation of secondary metabolites in plant-fungus symbiotic system. Afr. J. Biotechnol. 6.

Annexe 1

Tableau 4. Rendement en flavonoïdes des feuilles sains dans les stations Wilaya de Blida (Larbaa et Bouguara) et wilaya de Tipaza

Station	Rendement (%)
Larbaa	5,22± 3.53
Bouguara	3,11± 1.73
Tipaza	8,33± 4.92

Tableau 5. Rendement en flavonoïdes des feuilles infestés dans les stations de L'Arbaa et Bouguara Wilaya de Blida.

Station	Rendement (%)
Larbaa	5,16± 1.5
Bouguara	1,66± 0.33

Tableau 6. Comparaison des rendements des flavonoïdes entre les deux stations de Larbaa et Bouguara Wilaya de Blida.

station	Rendement de feuilles sain (%)	Rendement de feuilles infesté (%)
Larbaa	5,22± 3.53	5,16± 1.5
Bouguara	3,11± 1.73	1,66± 0.33

Tableau 7. Teneurs en flavonoïdes totaux de différents extraits au niveau de trois stations.

Teneures de flavonoïdes	T1	T2	T3	T moyennes
Extrait Larbaa	0.118	0.163	0.159	0.146
Extrait Bouguara	0.192	0.188	0.218	0.199
Extrait Tipaza	0.378	0.374	0.419	0.39
Extrait Larbaa infesté	0.271	0.299	0.289	0.286
Extrait Bouguara infesté	0.467	0.490	0.495	0.484

Annexe 2

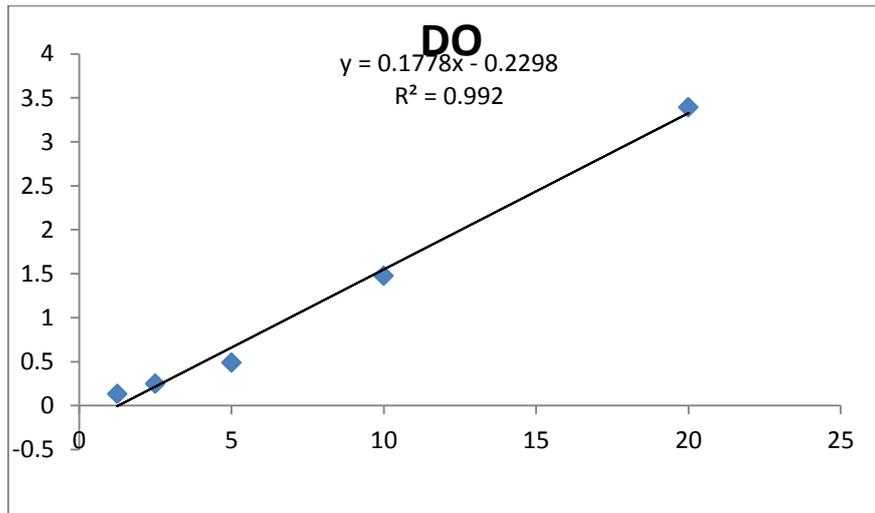


Figure 11. Courbe d'étalonnage de flavonoïdes.

Tableau 8. Effet antimicrobienne de mucilage des fleurs fraîches de *Malva sylvestris*, récoltées dans la Wilaya de Blida dans les stations Larbaa et Bouguara.

Souches microbiennes	Zone d'inhibition (mm)			
	L'arbaa	bouguara	Témoin 1 +	Témoin 2 +
<i>P. aeruginosa</i>	12.4± 0.47	11.7± 0.47	18	27± 1
<i>E.coli</i>	10± 0.63	7.4± 0.47	20.5± 0.5	27± 2
<i>S. aureus</i>	11.7± 1.69	0	29.5± 1.5	26.5± 0.5
<i>A.niger</i>	8± 1.414	8± 0.81	34± 3	7.5± 0.5
<i>P .digitatum</i>	0	7.7± 0.47	7	0
<i>C.albicans</i>	0	9± 4.32	33	0

Tableau 9. Effet antimicrobienne des flavonoïdes des feuilles sèche de *Malva sylvestris* récoltées dans les différentes stations dans le Wilaya de Blida et Tipaza.

Souches microbiennes	Zone d'inhibition (mm)						
	L'arbaa sain	Bouguara sain	Tipaza sain	L'arbaa infesté	Bouguara infesté	Témoin 1+	Témoin 2 +
<i>P.aeruginosa</i>	13± 0.81	9± 0.63	11± 2.88	12.7± 1.24	11.7± 0.47	18	27± 1
<i>E. coli</i>	9.4± 0.94	11.7± 0.47	11± 0.81	11± 0.81	10.4± 0.47	20.5± 0.5	27± 2
<i>S. aureus</i>	9.4 ± 1.24	9± 2.16	12± 3.26	12.7±2.39	10± 0.81	29.5± 1.5	26.5± 0.5
<i>A. Niger</i>	17.7± 2.86	13.4± 2.35	23.4± 6.44	20.7± 3.29	17.4± 3.09	34± 3	7.5± 0.5
<i>P.digitatum</i>	0	8.7± 0.94	10.4± 0.47	8± 0.81	7± 0.81	7	0
<i>C. albicans</i>	7.4± 0.47	0	0	10.4± 2.49	0	33	0

Annexe3

Tableau 10. Comparaison des flavonoïdes des feuilles sains et infestés dans la station de Larbaa Wilaya de Blida.

Souches microbiennes	Zone d'inhibition (mm)			
	Feuilles sain	Feuilles infesté	Témoin 1 +	Témoin 2 +
<i>P.aeruginosa</i>	13± 0.81	12.7± 1.24	18	27±1
<i>E.coli</i>	9.4± 0.94	11± 0.81	20.5± 0.5	27±2
<i>S.aureus</i>	9.4± 1.24	12.7± 0.39	29.5± 1.5	26.5± 0.5
<i>A.niger</i>	17.7± 2.86	20.7± 3.29	34± 3	7.5± 0.5
<i>P.digitatum</i>	0	8± 0.81	7	0
<i>C.albicans</i>	7.4± 0.47	10.4± 2.49	33	0

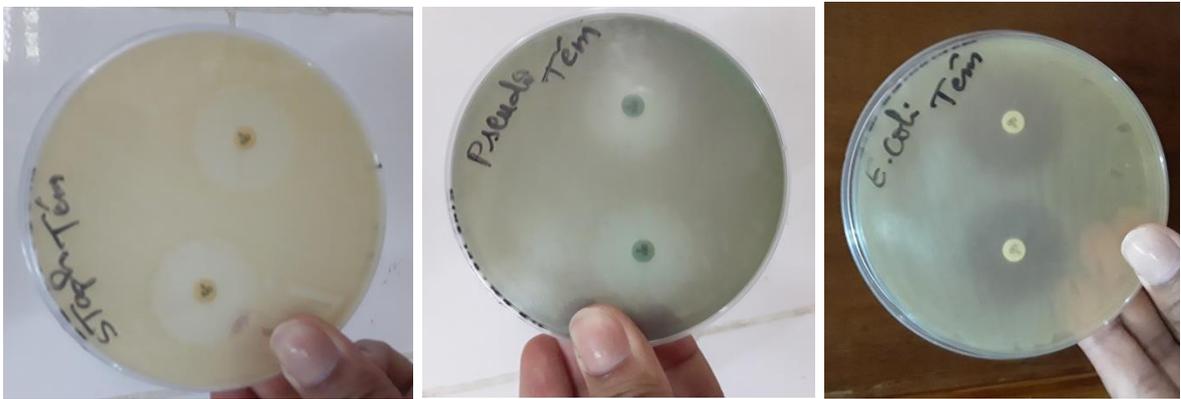
Tableau 11. Comparaison des flavonoïdes des feuilles sain et infesté dans la station de Bouguara, Wilaya de Blida.

Souches microbiennes	Zone d'inhibition (mm)			
	Feuilles sain	Feuilles infesté	Témoin 1+	Témoin 2 +
<i>P.aeruginosa</i>	9± 0.63	11.4± 0.47	18	27±1
<i>E.coli</i>	11.7± 0.47	10.4± 0.47	20.5± 0.5	27±2
<i>S.aureus</i>	9± 2.16	10± 0.81	29.5± 1.5	26.5± 0.5
<i>A.niger</i>	13.4± 2.35	17.4± 3.09	34± 3	7.5± 0.5
<i>P.digitatum</i>	8.7± 0.94	7± 0.81	7	0
<i>C.albicans</i>	0	0	33	0

Annexe 3



A



B



C

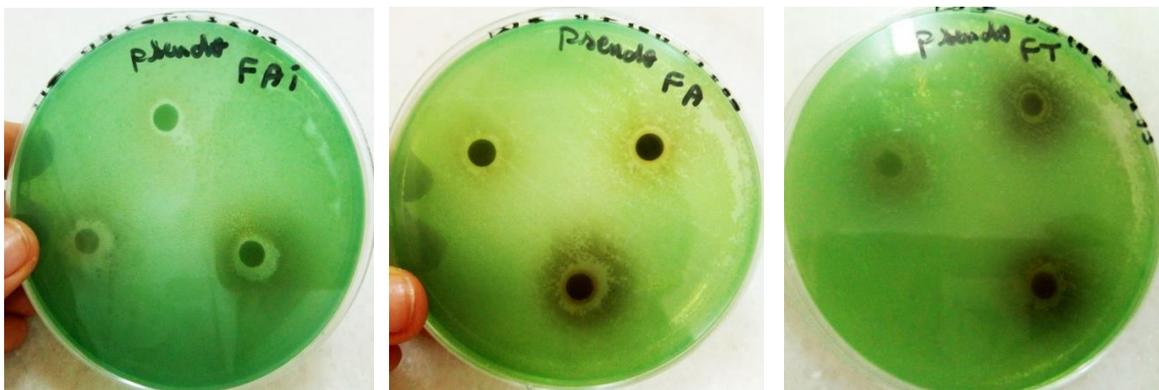
Figure 12. Effet des témoins positif (Antibiotiques et Antifongiques) sur les souches testées.

A : Antibiotique Amoxyclav, **B :** Antibiotique Ofloxacin, **C :** Antifongique.

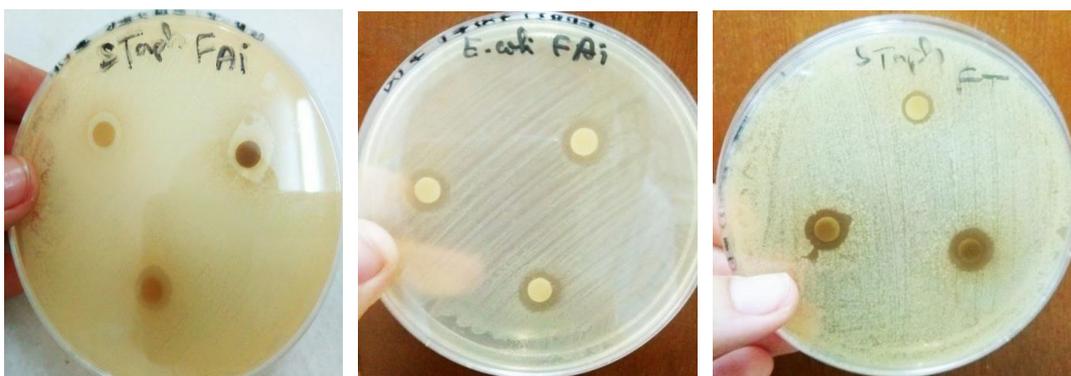
Annexes 5



(Zone d'inhibition) A



B



C

Figure 14. Résultats de l'activité antimicrobienne des flavonoïdes sur les différentes souches bactériennes et fongiques testés dans les stations étudiées.

Annexes 4

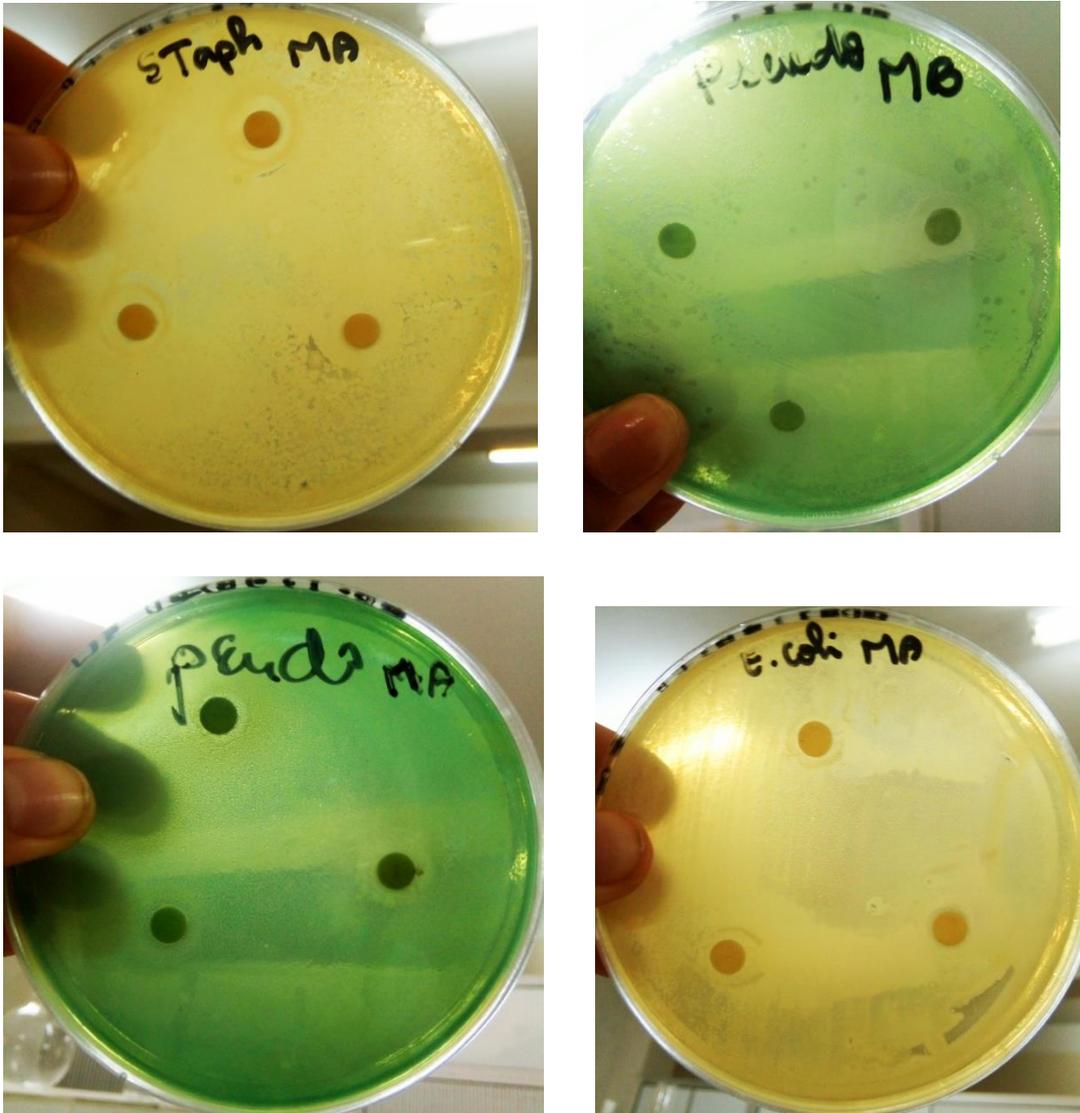


Figure13. Résultats de l'activité antimicrobienne du mucilage sur les différents souches testés au niveau des stations Larbaa et Bouguara.