

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 1**  
**Faculté des Sciences De la Nature et la Vie**  
Département des Biotechnologies et Agro-écologie



## **THESE DE DOCTORAT**

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

### **Recherche sur les potentialités bioactives de quelques plantes spontanées locales des territoires bioclimatiques de la région de Laghouat**

Par

**Hind HECHACHNA**

Devant le jury composé de :

A. ZOUAOUI	MCA, Univ. Blida 1	Président
F. ELHOUITI	MCA, Univ. Laghouat	Examinatrice
M.N. BOUKHATEM	Professeur, Univ. Blida 1	Examineur
L. ALLAL-BENFEKIH	Professeur, Univ Blida 1	Directrice de thèse

## ***Recherche sur les potentialités bioactives de quelques plantes spontanées locales des territoires bioclimatiques de la région de Laghouat.***

### **Résumé**

Le présent travail a été réalisé dans la région de Laghouat et a appréhendé une étude de rendement, l'analyse phytochimique ainsi que l'évaluation des activités antibactériennes, antifongiques et insecticides des huiles essentielles (HEs) issues des plantes locales *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* et *Teucrium polium* rencontrées à l'état spontané. Les espèces *A. herba alba* et *T. polium* ont été récoltées pendant les saisons automnale et hivernale, tandis que l'espèce *A. campestris* a été récoltée dans deux localités appartenant chacune aux étages bioclimatiques saharien et semi aride, au sein de la même région. Les résultats ont montré une différence de la teneur en huiles essentielles entre les deux saisons de récolte automnale et hivernale pour *T. polium* et *A. herba alba* avec des pourcentages de (0,2 et 0,42%) et de (0,6 et 1,24%) respectivement. Néanmoins, les rendements en huiles essentielles d'*A. campestris* des deux localités étaient similaires (0,6 et 0,65%). L'analyse par CG-MS a révélé des chémotypes différents des HEs des trois plantes selon la saison et les localités de récolte pour une même espèce. Leur activité antifongique s'est caractérisée par une variabilité de réponses des champignons testés en fonction de la souche, de la concentration utilisée et de la composition chimique des HEs. Ainsi, *Fusarium graminearum* et *Aspergillus carbonarius*, ont manifesté une résistance à l'effet de toutes les huiles essentielles testées. L'huile essentielle d'*A. campestris* a exercé une plus forte activité antifongique contre *Fusarium culmorum*, suivi de celle de la plante *A. herba alba*, et celle de *T. polium*, à des concentrations fongicides respectives de 1,25, 5 et 20 µl/ml (v/v). Cependant, l'huile essentielle de *T. polium* a présenté la plus faible activité antifongique en comparaison avec celle d'*A. campestris* et *A. herba alba*. Cette huile n'a montré aucun effet bactéricide également (CMB > 20 µl/ml). Une plus importante activité antibactérienne a été constatée pour l'huile essentielle d'*A. campestris* suivie par celle d'*A. herba alba* contre la majorité des souches bactériennes étudiées. L'étude de la toxicité aiguë des HEs des trois plantes a révélé une sensibilité à de faibles doses létales vis-à-vis des adultes de la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus*.

**Mots clés :** Huile essentielle, potentialités bioactives; plantes spontanées; région de Laghouat; composition chimique.

---

***Investigation of the bioactive potential of some native spontaneous plants from the Laghouat region's bioclimatic zones.***

**Abstract**

The present work was carried out in the Laghouat region and involved a yield study, phytochemical analysis and evaluation of the antibacterial, antifungal and insecticidal activities of essential oils (EOs) derived from wild local plants *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* and *Teucrium polium* plants. The *A. herba alba* and *T. polium* species were collected during the autumn and winter seasons, while the *A. campestris* species was collected in two localities, each belonging to the Saharan and semi-arid bioclimatic stages, within the same region. The results showed a difference in essential oil content between the autumn and winter harvest seasons for *T. polium* and *A. herba alba*, with percentages of (0.2 and 0.42%) and (0.6 and 1.24%) respectively. Nevertheless, yields of *A. campestris* essential oils from the two studied localities were similar (0.6 and 0.65%). GC-MS analysis revealed different chemotypes of HEs from the three wild plants, depending on the season and locality of harvest for the same species. The fungi studied showed varying reactions to their antifungal activity, depending on the strain, concentration, and chemical constituents of the essential oils. *Fusarium graminearum* and *Aspergillus carbonarius* showed resistance to the effects of all the essential oils tested. The essential oil of *A. campestris* exerted the strongest antifungal activity against *Fusarium culmorum*, followed by that of *A. herba alba* and that of *T. polium*, at fungicidal concentrations of 1.25, 5 and 20  $\mu\text{l/ml}$  (v/v) respectively. However, the essential oil of *T. polium* showed the lowest antifungal activity compared with that of *A. campestris* and *A. herba alba*. This oil also showed no bactericidal effect (BMC > 20  $\mu\text{l/ml}$ ). Against most of the bacterial strains tested, *A. herba alba* and *A. campestris* essential oils had the strongest antibacterial activity. According to the study on the three plants' essential oils acute toxicity, adults of the chickpea bruchid *Callosobruchus maculatus* were sensitive to low lethal dosages of the oils.

Key words: Laghouat region, spontaneous plants, bioactive potential of essential oils, chemical composition.

---

## دراسة النشاط البيولوجي لبعض النباتات البرية المحلية من الاقاليم المناخية الحيوية لمنطقة الأغواط

### خلاصة

تم تنفيذ العمل الحالي في منطقة الأغواط وتضمن دراسة المحصول وتحليل الكيمياء النباتية وتقييم الأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات والمبيدات الحشرية للزيوت العطرية المشتقة من النباتات المحلية البرية (*Artemisia herba* (الشيح) و *Teucrium alba* و *Artemisia. Campestris* (التقفق) و *T. polium* (الجعيدة). تم جمع النوعين *A. herba alba* و *Teucrium alba* خلال فصلي الخريف والشتاء، في حين تم جمع النوع *A. Campestris* من موقعين ينتمي كل منهما إلى المرحلة المناخية الحيوية الصحراوية وشبه الجافة، ضمن نفس المنطقة. أظهرت النتائج اختلافاً في محتوى الزيت العطري بين موسمي الحصاد الخريفي والشتوي لنباتي *T. polium* و *A. herba alba* بنسب (0.2 و 0.42%) و (0.6 و 1.24%) على التوالي. ومع ذلك، كانت إنتاجية الزيوت العطرية لنباتة *A. campestris* من الموقعين المدروسين متشابهة (0.6 و 0.65%). كشف تحليل GC-MS عن أنماط كيميائية مختلفة للـ HES من النباتات البرية الثلاثة، اعتماداً على موسم ومكان الحصاد لنفس النوع. أظهرت الفطريات التي تمت دراستها تفاعلات متباينة مع نشاطها المضاد للفطريات، اعتماداً على السلالة والتركيز والمكونات الكيميائية للزيوت العطرية. أظهر *Fusarium graminearum* و *Aspergillus carbonarius* مقاومة لتأثيرات جميع الزيوت العطرية التي تم اختبارها. مارس الزيت العطري لنبات *A. campestris* أقوى نشاط مضاد للفطريات ضد *Fusarium culmorum*، يليه زيت *A. herba alba*، وزيت *T. polium*، بتركيزات مبيدات الفطريات 1.25 و 5 و 20 ميكرو لتر/مل (حجم/حجم) على التوالي. ومع ذلك، أظهر الزيت العطري لـ *T. polium* أقل نشاط مضاد للفطريات مقارنةً بـ *A. campestris* و *A. herba alba*. لم يُظهر هذا الزيت أيضاً أي تأثير مبيد للجراثيم (>20 BMC) ميكرو لتر / مل). ضد معظم السلالات البكتيرية التي تم اختبارها، كان للزيوت العطرية *A. herba alba* و *A. campestris* أقوى نشاط مضاد للجراثيم. ووفقاً للدراسة التي أجريت على السمية الحادة للزيوت العطرية للنباتات الثلاثة، فإن البالغين من الحمص *Callosobruchus maculatus* كانوا حساسين للجرعات المميّنة المنخفضة من الزيوت.

**الكلمات المفتاحية:** منطقة الأغواط، النباتات البرية، القدرة الحيوية للزيت العطري، التركيب الكيميائي.



## *Remerciements*

*Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener ce travail à terme.*

*Je commence par exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à Mme. Leïla Allal Benfekih, professeure à l'université de Blida et directrice de laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques qui m'a honorée en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de cette thèse .*

*J'exprime mes respectueux dévouements et ma gratitude aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail :*

*Monsieur Zouaoui A. Maître de Conférences A à l'Université de Blida qui m'a fait l'honneur de présider ce jury*

*Mme El Houiti F. Maître de Conférences A à l'Université de Laghouat et Mr Boukhatem M. Professeur à l'Université de Blida 1 qui ont accepté de faire partie de ce jury en tant qu'examinateurs de ce modeste travail*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération, et mon profond respect au Professeur Mohamed Yousfi, Directeur du laboratoire des sciences fondamentales à l' Université de Laghouat, Professeur Mohamed Kouidri, Monsieur Mohamed Gourine, Monsieur Yassin Goudjal et Monsieur Mohamed Bellatrechepour leur aide, leurs conseils, leurs orientations et encouragements.*

*Papa et toutes les personnes pour m'avoir accompagné durant toutes les sorties de l'échantillonnage.*

*Mes remerciements à Monsieur Assem Zarouala conservateur divisionnaire des forêts à la Conservation des forêts de Laghouat.*

*Mes remerciements à Mme Zohra Renen, ingénieure de laboratoire au Département d'agronomie à l'Université de Laghouat*

*Au personnel des laboratoires de CRAPC à Laghouat*

*Au personnel et le staff médical de l'hôpital de Laghouat*

*A Monsieur Guenachi Belkacem notre collègue de la première promotion de formation doctorale en Biotechnologies, et au personnel du Laboratoire de recherche sur la biologie des systèmes microbiens (LBSM) de l'École normale supérieure de Kouba (Alger).*

*Au personnel de la Coopérative de céréales et de légumes secs de Laghouat*

*Que tous ceux et celles qui m'ont aidée et que je n'ai pas citée, sachent que ma reconnaissance est profonde et que mon respect leur est profondément acquis.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*Aux êtres les plus chers à mon cœur, ma mère et mon père, pour leurs efforts, soutien et encouragements qu'ils m'ont offert tout au long de mes études et sans mes parents, je ne serais jamais arrivée où je suis aujourd'hui*

*A mes sœurs et A mes frères pour leur présence et encouragements.*

*A mes très chères aimées*

*Hind*

## SOMMAIRE

RESUME

REMERCIEMENTS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE ..... 1

### Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Les denrées stockées.....	6
I. 1. Les denrées stockées et leur importance.....	6
I. 2. Différents types des produits stockés.....	6
I. 3. Importance des céréales et des légumineuses stockées.....	7
I.4. Détérioration des produits stockés.....	7
I.4.1. Impact des insectes sur les produits stockés.....	7
I.4.2. Impact des bactéries sur les produits stockés.....	8
I.4.3. Impact des moisissures sur les produits stockés.....	9
I.5. Facteurs affectant la croissance microbienne dans les aliments stockés.....	11
I.6. Mesures préventives pour la gestion du stockage.....	11
I.6.1 Techniques de stockage .....	11
I. 6.2. Conditions de stockage .....	11
I.6.3 La désinfection des denrées stockées .....	12
<i>I.6.3.1 Traitement chimique</i> .....	12
<i>I.6.3.2 Traitement physique</i> .....	13
<i>I.6.3.3. Lutte biologique</i> .....	13
II. Les huiles essentielles.....	14
II.1. Généralités .....	14
II.2. Localisation des huiles essentielles dans les plantes aromatiques.....	14
II.3 Mode d'obtention des huiles essentielles .....	16
II.3.1 Extraction par un solvant volatil.....	16
II.3.2. L'enfleurage .....	16
II.3.3. L'expression à froid .....	16
II.3.4. Hydrodistillation.....	17
II.3.5. Distillation sèche .....	17

II.3.6. Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique.....	17
II.4. Composition chimique des huiles essentielles .....	18
II.4.1. Les terpènes de formule(C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) n .....	18
II.4.2. Les composés aromatiques biosynthétisés .....	18
II.4.3. Les composés divers .....	19
II.5. Les facteurs influençant sur la composition des huiles essentielles .....	19
II.6. Activités biologiques des huiles essentielles .....	19
II.6.1. Les actifs antibactériens .....	19
II.6.2. Les actifs antiviraux .....	20
II.6.3. Les actifs antifongiques .....	20
II.7. Toxicité des huiles essentielles.....	20
III. Synthèse bibliographique sur les plantes étudiées.....	21
III.1. <i>Artemisia campestris</i> et <i>Artemisia herba alba</i> .....	21
III.1.1. Généralités.....	21
III.1.2. Description botanique .....	21
III.1.3. Systématique .....	22
III.1.4. Origine et distribution.....	22
III.1.5. Utilisation en médecine populaire.....	23
III.1.6. Activités biologiques .....	23
III.1.6.1. <i>Activité antioxydante</i> .....	24
III.1.6.2. <i>Activité antimicrobienne</i> .....	24
III.1.6.3. <i>Activité hypoglycémiante</i> .....	25
III.1.6.4. <i>Effets antipoison</i> .....	25
III.2. <i>Teucrium polium</i> .....	26
III.2.1. Description botanique.....	26
III.2.2 Origine et distribution.....	26
III. 2.3. Utilisation en médecine populaire.....	27
III.2.4. Activités biologiques .....	27
III.2.4.1 <i>Activité antimicrobienne</i> .....	27
III.2.4.2. <i>Activité antioxydante</i> .....	28
III.2.4.3. <i>Activité Antidiabétique</i> .....	28
III.2.4. 4. <i>Effets anticancéreux</i> .....	29

## Chapitre 2. Matériel & Méthodes

I. Présentation de la région d'étude.....	31
I.1. Situation géographique de la région de Laghouat .....	31
I.2. Sol de la wilaya .....	31
I. 3. Flore de la wilaya .....	32
I.4. Etude climatique et bioclimatique de la région de Laghouat.....	32
I.4.1. Précipitations .....	33
I.4.2. Précipitations moyennes mensuelles .....	33
I.4.3. Températures .....	34
I.4.4. Synthèse climatique.....	34
I.4.4.1. <i>L'indice de De Martonne (1927)</i> .....	34
I.4.4.2. <i>La saison sèche</i> .....	35
I.4.4.3. <i>Quotient et climagramme pluviothermique d'Emberger</i> .....	36
II. Matériel végétal .....	37
II.1. Récolte et identification du matériel végétal .....	38
II.2. Procédé d'extraction des huiles essentielles .....	39
II.3. Calcul du rendement .....	39
II. 4. Analyses par la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GCMS)...	40
II. 5. Identification des composants de l'huile essentielle.....	40
III. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	41
III.1 Matériel microbien .....	41
III.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices, fongicides et bactéricides.....	41
III.2.1. Préparation des dilutions des huiles essentielles .....	41
III.2.2. Préparations des séries de concentrations.....	42
III.2.3. Préparation des suspensions fongiques et bactériennes testées.....	43
III.2.4. Inoculation des tubes .....	45
II.2.5. Incubation et lecture .....	45
III.3. Détermination de la CMF et CMB .....	46
IV. Activité insecticide des huiles essentielles des plantes aromatiques par inhalation et répulsif sur la bruche du pois chiche .....	46

IV. 1. Présentation de bruche du pois chiche .....	46
IV.2. Tests biologiques.....	47
IV.2.1. Test d'inhalation .....	47
IV.2.2. Calcul des doses létales 50 et 90 .....	47
IV. 2.3. Test de répulsion.....	47
IV.2.4. Analyse statistique des résultats.....	48

### Chapitre 3. RESULTATS

I. Rendement et composition chimique en huiles essentielles.....	50
II. Activité antifongique des huiles essentielles.....	58
III. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	62
IV. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles des plantes étudiées sur la bruche du pois chiche par répulsion .....	65
V. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles des plantes étudiées sur la bruche du pois chiche par inhalation.....	69

### Chapitre 4. Discussion 75

I. Rendement.....	76
II. Composition.....	77
III. Activité antifongique.....	81
IV. Activité antibactérienne .....	86
V. Effet biocide des huiles essentielles étudiées sur la bruche du pois chiche .....	90
Conclusion générale et perspectives.....	94
Référence .....	97
Annexe .....	116

### *Liste des figures*

<b>Figure 1</b>	Différents types d'infections bactériennes alimentaires	9
<b>Figure 2</b>	Localisation des structures sécrétrices pour quelques plantes aromatiques	15
<b>Figure 3</b>	<i>Artemisia campestris</i> L	21
<b>Figure 4</b>	<i>Artemisia herba alba</i>	22
<b>Figure 5</b>	<i>Teucrium polium</i>	26
<b>Figure 6</b>	Localisation géographique de la wilaya de Laghouat (Extrait de la carte topographique de 1956 feuille de Laghouat E:1/250.0 /250.000)	31
<b>Figure 7</b>	Variations inter annuelles des précipitations des stations d'étude	33
<b>Figure 8</b>	diagrammes Ombrothermiques de Bagnouls et Gausсен des régions d'Aflou et de Laghouat de l'année 2018 et pour la période annuelle 1996-2018.	36
<b>Figure 9</b>	Situation des régions d'Aflou et de Laghouat sur le climagramme d'Emberger (1955).	37
<b>Figure 10</b>	Les plantes aromatiques utilisée pour l'extraction des huiles essentielles	38
<b>Figure 11</b>	Stations de récolte des plantes étudiées dans la wilaya de Laghouat	39
<b>Figure 12</b>	Etapes des dilutions des huiles essentielles	42
<b>Figure 13</b>	Préparation des tubes CMI de des huiles essentielles	43
<b>Figure 14</b>	Préparation des suspensions fongiques (inoculum) selon la méthode de macro-dilution en milieu liquide	44
<b>Figure 15</b>	Préparation des suspensions bactériennes (inoculum) pour la méthode de macro-dilution en milieu liquide	45
<b>Figure 16</b>	Détermination des CMI et CMF	59
<b>Figure 17</b>	CMI (à gauche) et CMF (à droite) d'une huile essentielle testée des plantes étudiées sur les souches fongiques sélectionnées	62
<b>Figure 18</b>	Détermination des CMI et CMB	63
<b>Figure 19</b>	CMI (à gauche) et CMB (à droite) d'une huile essentielle testée des plantes étudiées sur les souches bactériennes sélectionnées	65
<b>Figure 20</b>	Taux moyens de répulsion de l'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> sur la bruche du pois chiche <i>C. maculatus</i> .	67
<b>Figure 21</b>	Taux moyens de répulsion de l'huile essentielle d' <i>A. campestris</i> sur la bruche du pois chiche <i>C. maculatus</i> .	68
<b>Figure 22</b>	Taux moyens de répulsion de l'huile essentielle de <i>T. polium</i> sur la bruche du pois chiche <i>C. maculatus</i> .	69
<b>Figure 23</b>	Mortalités% des bruches <i>C. maculatus</i> par inhalation de l'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> (effet saison et interaction).	71
<b>Figure 24</b>	Mortalités % des bruches <i>C. maculatus</i> par inhalation de l'huile essentielle d' <i>A. campestris</i> (effet site de récolte et interaction).	72
<b>Figure 25</b>	Mortalités % des bruches <i>C. maculatus</i> par inhalation de l'huile essentielle de <i>T. polium</i> (effet saison de récolte et interaction).	73

### *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b>	Principales mycotoxines dans le monde	10
<b>Tableau 2</b>	Caractéristique des stations météorologique de Laghouat et Aflou	32
<b>Tableau 3</b>	Moyennes mensuelles des précipitations des stations d'Aflou et de Laghouat durant la période (1996-2018)	33
<b>Tableau 4</b>	Quotient pluviothermique et étage Bioclimatique des deux régions Aflou et Laghouat.	37
<b>Tableau 5</b>	Matériel microbien utilisé pour l'activité des huiles essentielles	41
<b>Tableau 6</b>	Pourcentage de répulsivité selon MC DONALD et al. (1970)	48
<b>Tableau 7</b>	Variation des rendements en huiles essentielles des plantes étudiées.	50
<b>Tableau 8</b>	Caractérisation chimique par GC/MS de l'huile essentielle d' <i>A.campestris</i>	51
<b>Tableau 9</b>	Caractérisation chimique par GC/MS de l'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> .	53
<b>Tableau 10</b>	Caractérisation chimique par GC/MS de l'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i>	56
<b>Tableau 11</b>	Répartition des groupes terpéniques dans les huiles essentielles des plantes étudiées.	57
<b>Tableau 12</b>	Résultats de l'activité antifongique (CMI, CMF) sous l'effet des concentrations ( $\mu\text{l/ml}$ ) des huiles essentielles des plantes étudiées	58
<b>Tableau 13</b>	Résultats de l'activité antibactérienne (CMI, CMB) sous l'effet des concentrations ( $\mu\text{l/ml}$ ) des huiles essentielles des plantes étudiées	63
<b>Tableau 14</b>	Taux moyens de répulsion des huiles essentielles des plantes étudiées sur les adultes de la bruche du pois chiche ( <i>C. maculatus</i> )	66
<b>Tableau 15</b>	Variation des taux de mortalité des adultes de <i>C. maculatus</i> aux 5 doses testées et DL50/DL90 obtenues.	70

## LISTE DES ABREVIATIONS

**μL** Microlitre

**ATCC** American Type Culture Collection

**AOC** Appellation d'Origine Contrôlée

**CLSI** Clinical and Laboratory Standards

**CMB** Concentration minimale bactéricide

**CMF** Concentration minimale fongicide

**CFI** Concentration minimale d'inhibition

**CPG** Chromatographie en phase gazeuse

**DL50** Dose létale de 50 %

**DMSO** Diméthylsulfoxyde

**DO** Densité Optique

**FAO** Food and Agriculture Organisation

**GCMS** chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse

**IRL** indices de rétention linéaire

**LBSM** Laboratoire de recherche sur la biologie des systèmes microbiens

**MH** Mueller-Hinton

**MHA** Mueller-Hinton Agar

**mL** milliliter

**PAM** Plantes Aromatiques et Médicinales

**PDA** Potato Dextrose Agar

**PDB** Potato Dextrose broth

**SAB** Sabouraud Dextrose Agar

# Chapitre 1

## Synthèse bibliographique

## **I. Les denrées stockées**

### **I. 1. Les denrées stockées et leur importance**

Les denrées alimentaires stockées jouent un rôle essentiel dans la réalisation de la sécurité alimentaire en fournissant un tampon contre les fluctuations du marché ou les ruptures d'approvisionnement [30, 31]. Les denrées alimentaires stockées ont des implications économiques importantes qui contribuent à la stabilisation des prix et réduisent la volatilité du marché [30, 32].

En libérant les stocks excédentaires en période de pénurie, les réserves stockées agissent comme un amortisseur contre les pics de prix soudains qui pourraient autrement se produire en raison de déséquilibres entre l'offre et la demande causés par des événements imprévus tels que les mauvaises récoltes [33, 34]. Les produits stockés permettent aux individus d'avoir accès à des quantités suffisantes d'aliments sains et nutritifs, même pendant ces périodes difficiles. Ils peuvent contribuer en outre, à répondre aux besoins nutritionnels en fournissant les nutriments nécessaires lorsque les produits frais sont rares [35].

Les variations saisonnières de la production agricole, dues aux conditions météorologiques ou à d'autres facteurs tels que les ravageurs ou les maladies, constituent un défi de taille [30]. En stockant les récoltes excédentaires pendant les périodes d'abondance, les communautés peuvent assurer la continuité de leur approvisionnement alimentaire même pendant les mois faiblement productifs ou les saisons creuses [36, 37].

### **I. 2. Différents types des produits stockés**

Différents types de produits sont couramment stockés dans le monde dans le cadre des efforts visant à garantir une disponibilité à long terme pendant les périodes de pénurie ou d'urgence. Il s'agit notamment des céréales (riz, blé....ect), des légumineuses (haricots, pois chiche...ect), des huiles (huile végétale), des conserves (fruits et légumes), etc. Ces produits sont choisis en fonction de leur teneur en nutriments, de leur longue durée de conservation et de leur capacité à satisfaire les besoins alimentaires en cas d'urgence [35, 30, 31, 37].

### **I. 3. Importance des céréales et des légumineuses stockées**

Les céréales et les légumineuses stockées jouent un rôle important dans la sécurité alimentaire, la durabilité et la stabilité économique à l'échelle locale et mondiale [34, 38]. Ces produits sont essentiels pour répondre aux besoins nutritionnels des populations du monde entier, en particulier dans les régions où l'agriculture est la principale source de revenus en raison de leur teneur élevée en nutriments et de leur polyvalence dans les préparations culinaires [39]. En outre, les céréales et les légumineuses stockées contribuent de manière significative à l'agriculture durable en réduisant les pertes post-récolte [35, 38, 40]

### **I.4. Détérioration des produits stockés**

La conservation des produits stockés pose des problèmes tels que l'infestation par des parasites (rongeurs, insectes) [30, 32, 34], la formation de moisissures due à la rétention d'humidité [41]. De plus, la détérioration causée par des techniques de conservation inadéquates, de mauvaises conditions de stockage ou une manipulation incorrecte peuvent entraîner une dégradation de la qualité ou une contamination, rendant les aliments stockés impropres à la consommation [33, 35].

#### **I.4.1. Impact des insectes sur les produits stockés**

Les insectes sont l'une des principales causes de détérioration des céréales et des légumineuses stockées [34]. Les insectes les plus courants dans les installations de stockage sont les charançons, les coléoptères, les mites et les acariens peuvent infester les grains ou les farines. Ces ravageurs nuisibles ont des cycles de vie qui leur permettent de prospérer dans les céréales et les légumineuses stockées en se nourrissant des nutriments des produits ou en les endommageant par contact physique [35, 42]. Ils entraînent des pertes substantielles s'ils ne sont pas rapidement détectés et contrôlés [34]. Les ravageurs des produits entreposés réduisent non seulement la quantité mais compromettent également la valeur nutritionnelle des cultures stockées en raison de leurs activités alimentaires ou de l'excrétion de toxines [33, 43].

Les infestations d'insectes n'entraînent pas seulement des dommages directs, mais facilitent également la détérioration secondaire en créant des points d'entrée pour la croissance fongique ou la contamination bactérienne. La présence d'insectes vivants est une indication de

mauvaises pratiques de gestion du stockage et doit être traitée rapidement à l'aide de méthodes de contrôle appropriées [44, 45].

#### I.4.2. Impact des bactéries sur les produits stockés

Les micro-organismes, en particulier les bactéries et les moisissures, ont un impact significatif sur le stockage des aliments. Certains de ces microorganismes contaminants peuvent altérer la qualité ou à la sécurité des aliments [46, 47].

La contamination bactérienne est donc un autre problème important dans l'altération des aliments au cours du stockage en raison de leur capacité à se multiplier rapidement dans des conditions favorable. Les bactéries peuvent provoquer une détérioration en décomposant les protéines ou les lipides, tandis que les moisissures entraînent une détérioration visible et une production potentielle de mycotoxines [48, 49, 50].

Les microorganismes bactériens non pathogènes peuvent par ailleurs détériorer la qualité marchande (organoleptique) lorsqu'ils ont la possibilité de se développer pour atteindre des niveaux de population élevés (généralement plus de  $10^6$  bactéries/g) [46].

Quant aux bactéries pathogènes, elles constituent aussi une menace en termes de sécurité alimentaire et de dégradation de la qualité. La consommation de céréales ou de légumineuses contaminées peut entraîner des infections gastro-intestinales (fig. 1), ou des infections plus graves en cas de présence de souches pathogènes spécifiques telles que *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Ces bactéries peuvent produire des enzymes qui détériorent la qualité des aliments en dégradant les protéines ou les lipides [50, 51].

Divers agents pathogènes bactériens peuvent s'infiltrer dans les installations de stockage par le biais de différents vecteurs tels que des sources d'eau contaminées, des équipements non nettoyés ou du personnel infecté manipulant les produits [43, 46].

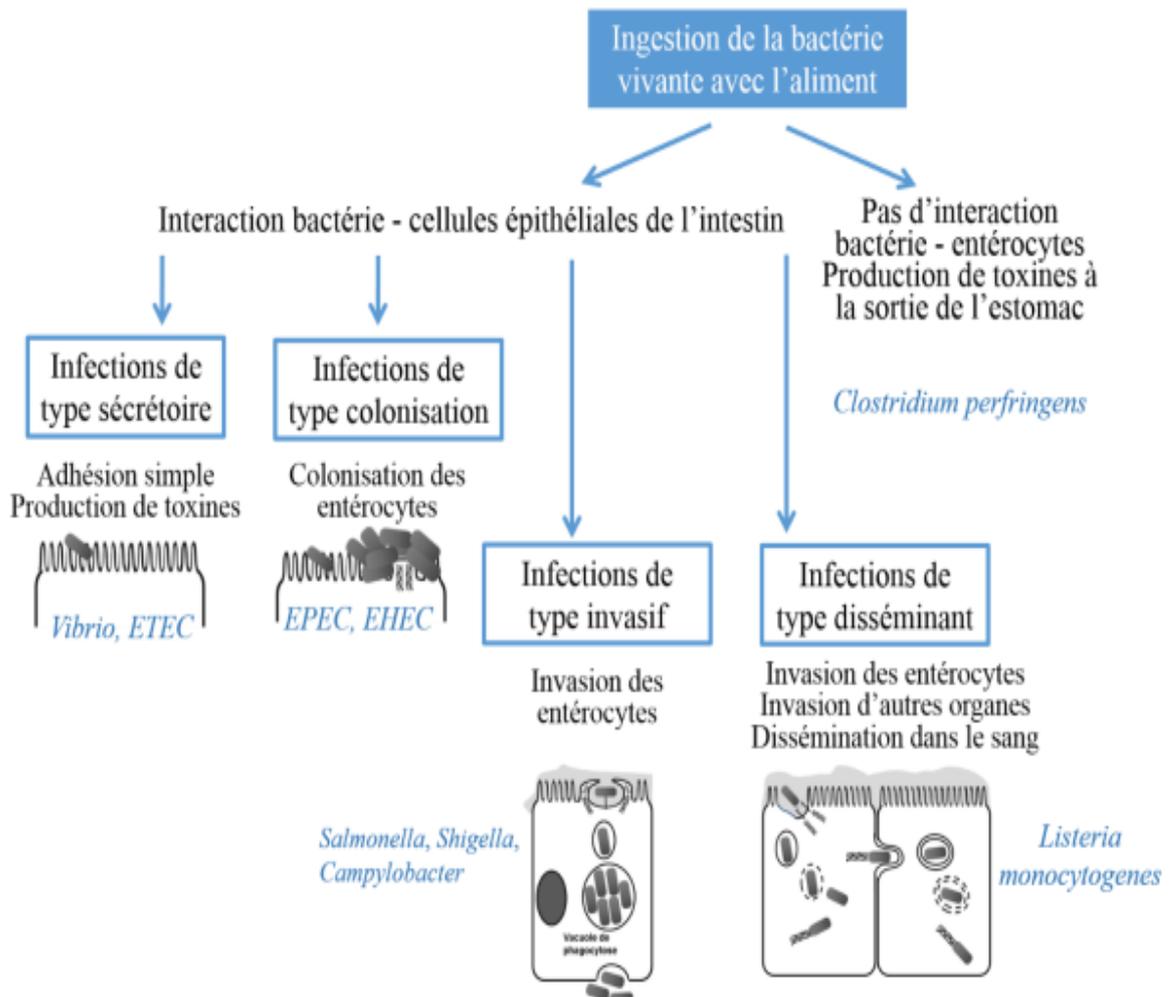


Figure 1 : Différents types d'infections bactériennes alimentaires [46] .

#### I.4.3. Impact des moisissures sur les produits stockés

Les moisissures ont un impact considérable sur les aliments stockés car elles provoquent une détérioration visible connue sous le nom de détérioration par moisissure qui affecte le goût, l'apparence, la texture ou l'odeur, les rendant impropres à la consommation et entraînant des pertes monétaires [41].

Les principaux groupes de champignons susceptibles de se développer pendant l'entreposage sont les *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et les *Penicillium* [41,48, 49]. Les moisissures ont également le potentiel de produire des mycotoxines qui sont des composés toxiques nocifs pour la santé humaine. La production de mycotoxines est directement liée à la

croissance fongique le plus souvent proche des conditions optimales de développement de l'espèce considérée [52, 53, 54]. Par conséquent, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique vont aussi jouer un rôle sur la toxinogénèse.

En général, les mycotoxines (tab.1) transférées dans la chaîne alimentaire sont en quantités très faibles, de l'ordre du nanogramme par kilogramme (ng/kg) [45]. L'ingestion d'une grande quantité de mycotoxines engendre une maladie chronique qui fait généralement suite à l'ingestion de mycotoxines en faible quantité mais sur une longue période, provoquant un affaiblissement du système immunitaire [55, 56], et des effets délétères sur le système nerveux central, l'appareil cardiovasculaire et l'appareil respiratoire, ainsi que sur l'appareil digestif. Elles peuvent aussi avoir des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs [57, 58, 59, 60]

Tableau 1. Principales mycotoxines dans le monde [45, 57,61] .

Espèce de moisissure	Mycotoxines engendrées	Denrées
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B1, B2, G1, G2	Oléagineux, pistaches, épices, maïs, sorgho, grains de coton,
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1, B2	Oléagineux, pistaches, épices, maïs, sorgho, grains de coton,
<i>Aspergillus niger</i>	Ochratoxine A Fumonisine B2	Oléagineux, pistaches, épices, maïs, sorgho, grains de coton,
<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus carbonarius</i>	Ochratoxine A	Oléagineux, pastiches, épices, sorgho, céréales, café.
<i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>F poae, F.tricinctus</i>	Trichothécènes (Toxine T-2, DON...)	Blé et dérivés, seigle
<i>Fusarium graminearum</i>	Déoxynivalénol (ou nivalénol), Zéaralénone Trichothécènes (Toxine T-2, DON...)	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Fusarium moniliforme</i> <i>F. verticillioides</i>	Fumonisine B1	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium crookwellense</i>	Zéaralénone Trichothécènes(Toxine T-2,DON...)	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A	Oléagineux, pastiches, épices, sorgho, céréales, café.
<i>Penicillium islandicum</i> <i>P. expansum, A. clavatus,</i>	Lutéoskyrine Patuline	Riz et autres céréales
<i>Claviceps</i>	Alcaloïdes de l'ergot	Blé et dérivés, seigle
<i>Pithomyces bakeri (Sporidesmium)</i>	Sporidesmine	Divers graminées

<i>Acremonium</i> sp.	Une neurotoxine	Riz et autres céréales
<i>Alternaria</i>	Alternariol, acide tenuazonique	Fruits (pomme et tomate) et légumes.

### **I.5. Facteurs affectant la croissance microbienne dans les aliments stockés**

Plusieurs facteurs influencent la croissance microbienne dans les aliments stockés, notamment la température, la teneur en humidité, les niveaux de pH, la disponibilité de l'oxygène et les conditions de stockage [41]. Les bactéries se développent généralement à des températures comprises entre 5°C et 60°C, avec un pH compris entre 4,5 et 7,0. Les moisissures préfèrent généralement les environnements légèrement acides, avec un pH compris entre 2 et 6. Des niveaux d'humidité adéquats sont nécessaires pour la croissance des bactéries et des moisissures, bien que leurs exigences spécifiques diffèrent [47, 52 57].

### **I.6. Mesures préventives pour la gestion du stockage**

#### **I.6.1. Techniques de stockage**

Des techniques de stockage appropriées nécessitent de recourir à des technologies telles que les installations de stockage à froid ou le scellement sous vide, qui permettent de maintenir les conditions optimales requises pour assurer la conservation de la qualité sur de longues périodes. Des systèmes de contrôle réguliers doivent être mis en œuvre tout au long de la phase de stockage [30], afin que des mesures puissent être prises en temps utile en cas de problème.

L'échantillonnage et l'analyse réguliers des lots de produits peuvent fournir des informations précieuses sur l'état général de la qualité des produits entreposés à différents moments des périodes de stockage, ce qui permet d'intervenir en temps utile si des irrégularités sont détectées [62]

#### **I. 6.2. Conditions de stockage**

Des conditions de stockage adéquates sont importantes pour les denrées stockées. Le contrôle des paramètres de qualité des céréales et des légumineuses stockées est essentiel pour prévenir la détérioration.

Les températures basses ralentissent les réactions chimiques et la croissance microbienne, tandis que les températures élevées accélèrent la détérioration. L'excès d'humidité peut entraîner la formation de moisissures ou une infestation d'insectes. Une ventilation adéquate contribue à maintenir des conditions optimales en permettant la circulation de l'air et en réduisant les niveaux d'humidité [30, 33].

Diverses techniques peuvent être utilisées pour contrôler les niveaux d'humidité, les fluctuations de température dans les installations de stockage, la présence de ravageurs ou d'insectes par le biais d'inspections visuelles ou de pièges spécialement conçus à des fins de contrôle [47].

### I.6.3. La désinfection des denrées stockées

La désinfection contre les parasites et les micro-organismes jouent un rôle important dans la conservation des aliments stockés, car les insectes, les rongeurs et les microorganismes peuvent causer des dégâts considérables s'ils ne sont pas contrôlés.

Les pratiques de lutte intégrée contre les parasites, telles que le nettoyage régulier et l'utilisation des pesticides naturels, peuvent contribuer à atténuer efficacement ces risques. . La destruction des micro-organismes signifie que les désinfections ont au minimum une action bactéricide, fongicide et virucide [30, 35].

#### *I.6.3.1 Traitement chimique*

L'utilisation des produits chimiques pour le stockage des semences est très répandue, mais peut être évitée dans la plupart des cas. Les fongicides peuvent également faciliter le stockage, mais compte sur un bon séchage [30, 63]. Les avantages de cette pratique sont liés à sa faible cout, à sa faciliter de la mise en œuvre et à la durée de la protection qui se prolonge plusieurs mois, jusqu'à ce que les niveaux de résidus encore active ne deviennent inférieure au seuil pour les espèces ciblés [64]. Dans de nombreuses situations, l'utilisation de fongicide est inutile et accroît les risques de pollution d'environnement.

### *1.6.3.2 Traitement physique*

Les usages de la lutte physique en post-récolte sont développés à travers les procédés de contrôle des conditions physiques dans les masses de grains stockés telle la température, la teneur en eau, les chocs thermiques ou mécaniques [64]. Ainsi le contrôle de *Fusarium graminearum* nécessite un traitement des semences de blé à l'aide de micro-ondes d'après cet auteur.

Une basse teneur en humidité est la clé d'une conservation sans risque. Il est difficile de sécher suffisamment les grains en vue de prévenir la croissance des champignons et de bactéries. La teneur en humidité requise de protection contre les principales maladies fongiques (13-15%), peut être atteinte par le séchage dans le champ ainsi que le séchage artificiel, [30, 63].

### *1.6.3.3. Lutte biologique*

Parmi les méthodes de lutte biologique, les bio-pesticides se prêtent souvent à la production d'une biomasse requise pour l'industrie. Ces pesticides naturels s'appliquent avec un pulvérisateur conventionnel ce qui en facilite l'adoption par les producteurs agricoles. Les bio-pesticides peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes et d'extraits de plantes [65, 66].

Pour les biopesticides d'origine végétale, des études fondamentales (*in vitro*) récentes ont montré que la phase volatile des huiles essentielles (alcools et lactones sesquiterpéniques) provoque un effet fongistatique par inhibition de la croissance de l'espèce fongique. L'utilisation préventive des biopesticides à base des huiles essentielles dans l'atmosphère des locaux de stockage des denrées entreposés pourrait être envisagée, [67].

## **II. Les huiles essentielles**

### **II.1. Généralités**

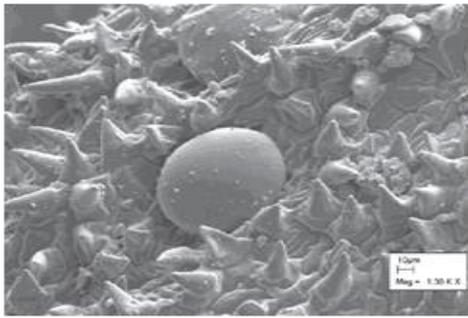
Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leurs propriété hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante [21].

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenus dans les végétaux et dont l'utilisation exige une bonne connaissance de leurs propriétés. L'huile essentielle est le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes aromatiques pour en extraire l'essence. Une essence et une huile essentielle sont différentes notamment en raison des modifications chimiques subies au cours de la distillation [68]. L'huile essentielle peut être présente dans toute la plante, ou dans une partie de la plante seulement. En outre, l'huile essentielle contenue dans un compartiment de la plante n'est pas nécessairement de la même composition chimique que celle contenue dans un autre compartiment de la même plante, des huiles est donc complexe, [69] Une plante peut, en effet donner des huiles essentielles de composition chimiques très différente en fonction des organes dont elle est issue [67], et en fonction de plusieurs facteurs. Notamment, certaines voies de biosynthèse sont favorisées et conduisent à des métabolites différents. On distingue pour une même huile plusieurs chémotypes différentes. Il est donc créé une appellation d'origine contrôlée (AOC) pour l'essence [70].

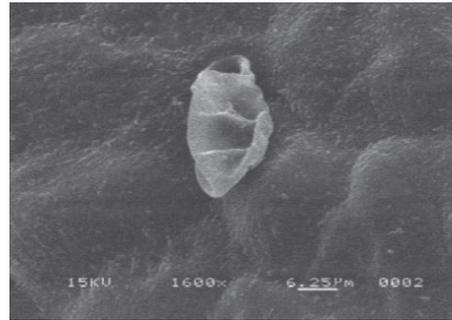
### **II.2. Localisation des huiles essentielles dans les plantes aromatiques**

Les huiles essentielles se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées, dans toutes les parties vivantes de la plante (fig.2). Elles peuvent être stockées au niveau des poils sécréteurs ou les trichomes, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs [71].

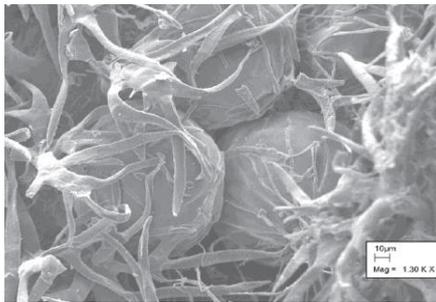
Au niveau de ces sites de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. Ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air en raison de leur caractère lipophile et de leur perméabilité très réduite vis-à-vis des gaz, [71].



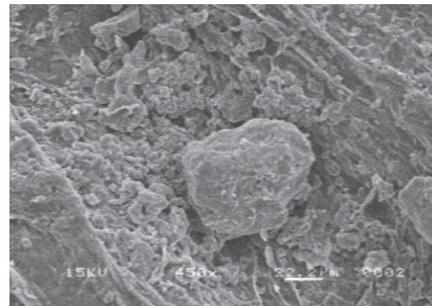
**Thym**



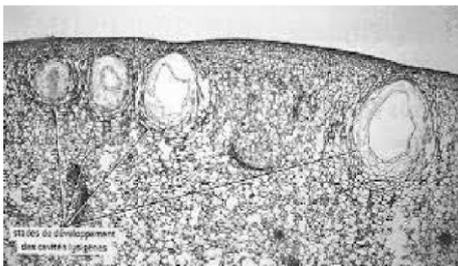
**Menthe**



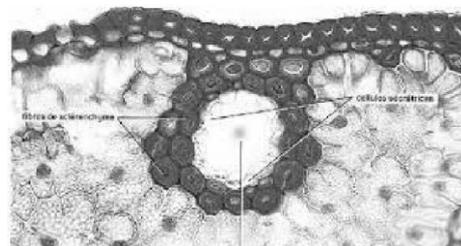
**Lavande**



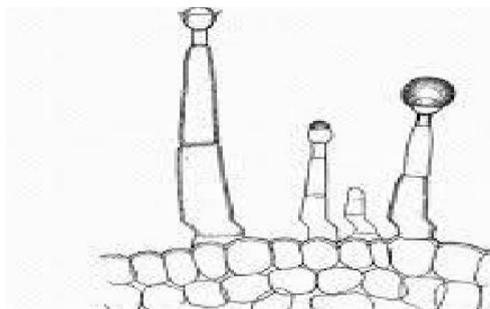
**Carvi**



Poches sécrétrices dans le fruit du Citronnier (Citrus limon)



Canal résinifère dans l'aiguille de Pin



Poils glandulaires dans l'épiderme de Primevère de Chine

**Figure 2 :** Localisation des structures sécrétrices pour quelques plantes aromatiques [71, 74].

## II.3. Mode d'obtention des huiles essentielles

### II.3.1. Extraction par un solvant volatil

On distingue les principes aromatiques, les gras, les pigments, les cires, les résines de la plante fraîche dans un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré, très aromatique : La concrète. Cette concrète purifiée par l'alcool absolu, donne l'absolue, qui se rapproche beaucoup de l'huile essentielle. On appelle résinoïde l'homologue de la concrète partir de la plante sèche [75].

Les solvants volatils utilisés (hexanes) ont un très grand pouvoir de solubilisation et sont facilement éliminés grâce à leur volatilité. La matière végétale est chargée dans l'extracteur, elle est ensuite épuisée par lavage successif par le solvant approprié, pendant une durée déterminée. Après, le passage dans le décanteur puis le concentrateur, s'effectue une distillation partielle. On obtient les molécules odorantes, les cires, les pigments. Ce procédé permet d'obtenir : le resinoïde, la concrète, l'absolue [76].

### II.3.2. L'enfleurage

Ce procédé est destiné spécialement pour l'extraction de l'essence de fleurs fragiles (il évite de trop chauffer les fleurs). Celles-ci sont étalées sur des châssis enduits de graisse animale puis sont renouvelées tous les trois ou quatre jours jusqu'à saturation. Les graisses, saturées de substances odorantes, sont traitées à l'alcool, entraînant le parfum sans graisse. Cette opération appelle l'«épuisement» [77].

### II.3.3. L'expression à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'au agrumes (Rutacées) dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essence. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses les zestes frais pour détruire les poches afin d'en libérer l'essence. Cette technique uniquement mécanique limite l'oxydation, car elle conserve les antioxydants naturels contenus dans la fraction non volatile de l'essence ( $\alpha$  et  $\beta$  tocophérols). Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il ne subit aucune modification chimique [67].

#### II.3.4. Hydrodistillation

Il existe divers procédés et appareillages qui font tous appel au même principe. Les substances volatiles sont entraînées par un flux de vapeur d'eau, puis condensées dans un réfrigérant et enfin séparées par décantation, [78]. Les expérimentations montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes des plantes ligneuses que pour les herbacées.

#### II.3.5. Distillation sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants d'huile essentielle ou réaction chimique pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche. Dans une cuve, la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. Les cellules se distendent et les particules d'essence se libèrent, ces dernières sont alors vaporisées et décondensées dans un serpentin réfrigéré. La récupération des huiles essentielles est la même que dans le cas de l'hydrodistillation [76].

#### II.3.6. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid aux matières premières végétales utilisant le gaz carbonique ou CO<sub>2</sub>, sous pression et à température supérieure à 31°C. Le gaz carbonique se trouve dans un état dit «supercritique», intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO<sub>2</sub> présente la particularité de dissoudre de nombreux composants organiques. Cette propriété a été mise à profit pour extraire la matière première végétale intéressante pour la parfumerie. Pour cette application, l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnelle. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine et sans solvant résiduel [76].

Les méthodes varient selon la nature de la partie de la plante distillée (fleur, racine, écorce, feuille ou baie) et selon les progrès des techniques de l'industrie du parfum. Pendant de nombreuses années, les trois seules méthodes utilisées furent la distillation pour les plantes entières, l'enfleurage pour les fleurs fragiles, comme le jasmin, la violette, la rose de mai ou mimosa, et l'expression mécanique pour obtenir les essences d'agrumes pour usage aromatique. Seules les huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur lente et expression mécanique satisfont aux normes strictes [68].

## II.4. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles (He) est déterminée par chromatographie en phase gazeuse (GC) et spectrométrie de masse (SM). Les He sont composés de trois groupes de composants : les terpènes, les composés aromatiques et les composés d'origines divers [70]. Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs [18].

### II.4.1. Les terpènes de formule $(C_5H_8)_n$

Pour les huiles essentielles, il s'agit des terpènes les plus volatiles : monoterpènes et sesquiterpènes, porteur de fonction dont le degré d'oxydation est variable. Les substances possibles sont nombreuses [70].

#### *a. Monoterpènes $C_{10}H_{16}$ ( $n=2$ )*

Ils peuvent être acycliques, monocycliques (thymol), ou bicycliques. Ils sont les principaux constituants des huiles essentielles, et représentés avec un pourcentage de 90%, ils sont considérés comme le premier maillon dans la biosynthèse et sont présents dans de nombreux végétaux [70].

#### *b. Sesquiterpènes ( $n=3$ )*

Ils sont l'objet de nombreux cyclisation, de réarrangement, d'oxydation conduisant à un très grand nombre de satures. Celles-ci peuvent se présenter sous forme de lactones facilement allergisantes [70].

### II.4.2. Les composés aromatiques biosynthétisés

Ces composés ne se trouvent que dans certaines huiles essentielles et présentent généralement des odeurs très marquées : anéthol de l'anis ou de la badiane, aldéhyde cinnamique de l'écorce du cannellier, eugénoï du bouton floral (clou du giroflier) [76].

### II.4.3. Les composés divers

Lors de la distillation, certains composés aliphatiques (carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters) sont entraînés [69]. On peut citer dans ce groupe les composés soufrés des moutardes, l'antranilate de méthyle du bigaradier [76].

## II.5. Facteurs influençant sur la composition des huiles essentielles

Pour une même espèce, la composition en huiles essentielles varie selon le climat, l'origine géographique, le mode de culture, la saison, la récolte, la partie de la plante utilisée, le matériel et les techniques employées pour l'extraction des huiles essentielles [75].

Les composés actifs, de même que l'équipement enzymatique d'une plante, sont déterminés génétiquement et écologiquement. Ils sont donc susceptibles de varier en fonction des conditions écologiques, pédologiques, climatiques, de l'altitude, de l'ensoleillement, du stade de développement botanique (période de récolte : avant ou après floraison). La biosynthèse s'oriente alors vers la formation préférentielle d'un constituant aromatique actif. Ces différences peuvent totalement changer les propriétés pharmacologiques d'huile essentielle. Ces différences chimiques, donc (chemotype = type chimique), donc pharmacologique, doivent impérativement être prises en compte dans l'utilisation de l'huile essentielle [67].

## II.6. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés : antiseptique, anti-inflammatoire, antihistaminique, circulatoire, cicatrisantes, antalgiques [70].

### II.6.1. Les actifs antibactériens

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. Les alcools avec 10 atomes de carbone (ou monoterpénols) viennent après les phénols, en terme d'activité, avec les géraniols, linalool, thyanol, myrcénols, terpinéols, menthols et piperitol. Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides, les plus couramment utilisés, sont : le neral et le géraniol (des citrals), le citronellal et le cuminal. [19, 20] .

### II.6.2. Les actifs antiviraux

De nombreuses familles de molécules ont montré in vitro une activité antivirale parmi elles : les monoterpénols et les monoterpénals. Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques et de nombreuses pathologies virales sévères montrent de l'amélioration importante avec leurs utilisations [19, 20]

### II.6.3. Les actifs antifongiques

Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces mais ils doivent être utilisés sur de longues périodes. Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique. [19, 20].

## II.7. Toxicité des huiles essentielles

Généralement, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Les interactions de ces produits avec les médicaments sont peu mentionnées [20].

Les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 5g/kg. La toxicité chez l'animal pour la lavande est faible autour de 5g/kg [72]. Chez l'homme, des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles.

Certains auteurs se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent.

Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxiques selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (Inouye, 2003).

### III. Synthèse bibliographique sur les plantes étudiées

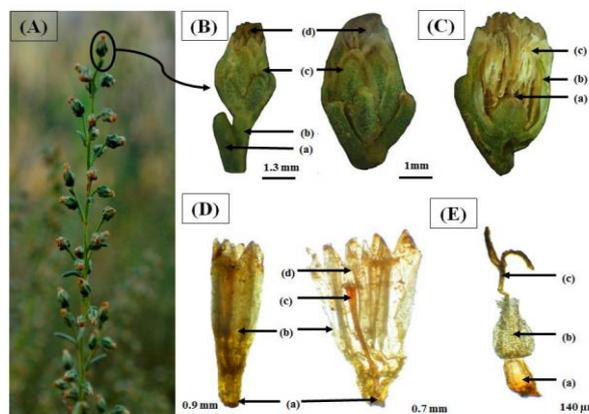
#### III.1. *Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba*. Asso

##### III.1.1. Généralités

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides et représente l'un des plus importants de la famille des Astéracées [80]. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle et par les pharmacopées locales mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique [81], car elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques. Parmi les espèces les plus connues se trouve l'espèce *Artemisia campestris* et l'espèce *Artemisia herba alba* [82].

##### III.1.2. Description botanique

L'espèce *Artemisia campestris* est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux. Elle ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtres. Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée [29, 83] (figure 2).



**Figure 3 :** *Artemisia campestris* L [84] .

L'espèce *Artemisia herba-alba*, communément appelée armoise blanche, est un arbuste vivace qui atteint 20-40 cm, poussant communément dans les steppes sèches des régions méditerranéennes d'Afrique du Nord, d'Asie occidentale et d'Europe du Sud-Ouest. Les feuilles sont fortement aromatiques et couvertes de fins poils glandulaires qui reflètent la lumière du soleil, donnant un aspect grisâtre à l'arbuste. Les feuilles des pousses stériles sont grises, pétiolées, de forme ovale à orbiculaire, alors que les feuilles des tiges fleuries, plus abondantes en hiver, sont beaucoup plus petites [29, 83] (figure 3)



**Figure 4** : *Artemisia herba alba* [85]

### III.1.3. Systématique

D'après Quezel et Santa 1963; les espèces *Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba* font partie de la systématique suivante: Embranchement: Phanérogames ou Spermaphytes ; Sous-embranchement: Angiospermes ; Classe: Eudicots ; Sous classe: Asteridées ; Ordre: Asterales ; Famille: Astéracées ; Genre: *Artemisia* ; Espèce: *Artemisia campestris.*, *Artemisia herba alba* [83].

### III.1.4. Origine et distribution

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya. Dans

l'hémisphère sud, elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud [86]. D'après Kyeong (2007), *Artemisia campestris* est originaire de l'Asie [87].

### III.1.5. Utilisation en médecine populaire

De nombreuses espèces d'*Artemisia* ont été ou sont encore utilisées en médecine populaire [88]. Elles ont une caractéristique soit odeur ou saveur, sur la base des monoterpènes, sesquiterpènes qui, dans de nombreux cas, sont les raisons de leur application en médecine populaire. *Artemisia campestris* est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. En usage local, *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestifs, les ulcères, les douleurs menstruelles [89] et le diabète [90]. Elle est utilisée sèche, en onction, en friction, comme huile essentielle, en infusion ou en décoction [25].

La partie aérienne d'*A. campestris* est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme. Elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux [91]. Selon Saoudi et al, (2010), la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*A. campestris* permet de réduire les symptômes digestifs [92].

Dans le nord Ouest de l'Italie, cette espèce est recueillie de façon active ou cultivée pour être additionnée comme un ingrédient important dans les boissons alcoolisées ainsi que dans des boissons amères. Cette espèce est utilisée également en parfumerie et dans une gamme d'applications alimentaires qui comprennent les soupes, les sauces et les salades [93].

*Artemisia herba-alba* est également largement utilisée dans la médecine populaire pour ses propriétés médicinales. Elle est utilisée pour traiter la toux, le rhume et d'autres affections respiratoires ainsi que les troubles gastriques et pour l'hygiène dentaire [94]. Toutefois, l'*Artemisia herba-alba* abaisse trop fortement le taux de glycémie, [95, 96].

### III.1.6. Activités biologiques

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Artemisia campestris* et *A. herba alba* possèdent de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes [97].

### III.1.6.1. Activité antioxydante

Akrout et *al.*, [82] ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* (huile essentielle, extrait aqueux, extrait éthanolique 50%) en utilisant trois méthodes différentes: la méthode de DPPH, la technique de décoloration du  $\beta$ -carotène et la méthode d'ABTS (2,2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) [82]. Leurs résultats ont montré que l'huile d'*A. campestris* possède une faible activité antioxydante, alors que les extraits aqueux et organique montrent une activité antioxydante importante en comparaison avec celle de l'huile essentielle [81].

Plusieurs études ont examiné l'activité antioxydante des extraits de *Artemisia herba-alba* et de son huile essentielle. Une étude a révélé que le contenu phénolique et l'activité antioxydante de *Artemisia herba-alba* étaient élevés, ce qui indique son potentiel en tant qu'antioxydant naturel [98]. Une autre expérience a examiné l'activité antioxydante de quatre types d'huiles essentielles extraites des parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* et qui ont présenté une activité antioxydante significative [99]. Alshehri, [100] a évalué les propriétés cardioprotectrices des nanoparticules d'*Artemisia herba-alba* contre l'infarctus du myocarde chez le rat et a constaté que l'extrait avait des activités antioxydantes et hypolipidémiques [100].

### III.1.6.2. Activité antimicrobienne

*Artemisia campestris* est une plante médicinale utilisée dans le traitement de nombreuses infections microbiennes comme les infections urinaires. Naili et *al.*, [101] ont testé l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris*, qui a prouvé une plus grande efficacité contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) que les bactéries gram négatif (*Escherichia coli*) [101]. De plus, l'extrait d'acétone de cette plante a montré une action inhibitrice contre les bactéries *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophiticus* et *S. aureus* [91]. Les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait méthanolique des feuilles de *A. campestris* étaient de 12,5, 12,5, 250, 500 et 250  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , respectivement contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* [102].

*Artemisia herba alba* est une plante qui possède aussi des propriétés antibactériennes, notamment l'extrait aqueux de la plante [103]. En outre, l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Artemisia herba alba* s'est révélée avoir une activité antimicrobienne [104].

D'après la littérature, *Artemisia herba-alba* a des propriétés antifongiques. Plusieurs études ont été menées pour déterminer l'activité antifongique de l'*Artemisia herba-alba* : contre diverses espèces de *Fusarium* et sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* [105].

#### III.1.6.3. Activité hypoglycémiante

Sefi et al [90] ont trouvé que l'extrait aqueux des feuilles d'*A. campestris* diminue le taux de glucose dans le plasma des rats chez lesquels le diabète est induit par l'alloxane monohydrate. Ils ont trouvé également que la diminution de la concentration de glucose s'accompagne d'une part d'une diminution des taux de triglycérides et des lipoprotéines de faible densité, et d'autre part d'une augmentation du niveau de l'insuline, ce qui peut prévenir les complications du diabète [90].

*Artemisia herba alba* est une plante largement utilisée dans la médecine populaire irakienne pour le traitement du diabète sucré [106]. Plusieurs études suggèrent que l'extrait aqueux et/ou la décoction des feuilles de cette espèce ont un effet hypoglycémique. L'extrait des parties aériennes de la plante semble avoir des effets indésirables minimes et une valeur LD50 élevée.

#### III.1.6.4. Effets antipoison

Les extraits d'acétate d'éthyle, éthanol, méthanol et de dichlorométhane, des feuilles d'*A. campestris* ont été testés pour ses capacités de neutralisation du venin de scorpion et de vipère. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique inhibe l'activité de dégradation des globules rouges contre le venin du scorpion *Androctonus australis garzonii*. Des résultats similaires ont été obtenus pour l'extrait de dichlorométhane sur la neutralisation du venin de la vipère *Macrovipera lebetina* [107]. L'extrait aqueux de feuilles d'*A. campestris* empêche la phase hypertensive induite par le venin de scorpion, probablement par voie adrénergique [108].

Néanmoins, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les effets antipoison potentiels de *l'Artemisia herba alba* d'après plusieurs auteurs. .

### III.2. *Teucrium polium*

#### III.2.1. Description botanique

*Teucrium polium* L, de la famille des Lamiacées est une plante de 10 à 35cm de long, vivace, aux tiges robustes avec des branches couvertes de poils cotonneux. Les feuilles sont serrées ou ovales-allongées, les inflorescences d'aspect blanc sont serrées, globuleuses ou ovoïdes d'au moins un centimètre de diamètre. Le calice est institué de 5 dents inégales dont la plus haute est plus grande et émoussée au sommet. La corolle est blanche, rarement purpurine. Les étamines ne sont pas enroulées sur elles-mêmes après la floraison. Les fruits sont des nucules brun clair à brun foncé avec une surface en treillis; la période de floraison a lieu d'avril à juin. Toutes les parties aériennes de la plante ont une odeur aromatique, agréable et un goût amer [83] (figure 4).



**Figure 5 :** *Teucrium polium*

**Famille :** Lamiaceae

**Sous-Famille :** Ajugoideae

**Genre :** *Teucrium* L.

**Espèce :** *Teucrium polium* L.

### III.2.2. Origine et distribution

Le genre *Teucrium* est un genre vaste et polymorphe distribué principalement en Europe, en Afrique du Nord et dans les parties tempérées de l'Asie [109]. L'espèce *T. polium* se distribue dans les zones rocheuses et sablonneuses de la Méditerranée, dans différentes parties de l'Europe, du nord de l'Afrique et du sud-ouest de l'Asie, y compris l'Iran. Cette espèce pousse à l'état sauvage dans des sols bien drainés et se développe généralement dans des régions ensoleillées appartenant aux bioclimats semi-arides et arides. Largement répandue dans les endroits secs et rocailleux des collines et des déserts de presque toutes les régions du monde [110].

### III. 2.3. Utilisation en médecine populaire

L'extrait de *Teucrium polium* est utilisé en médecine traditionnelle comme antispasmodique et dans le traitement des maladies gastro-intestinales [111]. Cette espèce est aussi utilisée sous forme de décoctions pour le traitement de différents troubles physiopathologiques tels que les inflammations, les troubles du tractus gastro-intestinal, les rhumatismes et le diabète. Le thé de *T. polium* est généralement utilisé comme médecine traditionnelle iranienne pour traiter de nombreuses maladies telles que l'indigestion, les douleurs abdominales, le diabète de type 2 et le rhume [112], alors qu'il est utilisé dans la médecine populaire palestinienne pour le traitement des inflammations gastro-intestinales, ainsi que antispasmodique, vermifuge [113]. Cependant, il est important de noter que *Teucrium polium* a des effets secondaires sur différents organes, à savoir le foie et les reins, et qu'à fortes doses, cette plante devient toxique [114]. Cette plante est également utilisée en cuisine et ses feuilles sont comestibles.

### III.2.4. Activités biologiques

Plusieurs études ont montré que cette plante a des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

#### III.2.4.1. Activité antimicrobienne

L'extrait éthanolique et méthanolique de *Teucrium polium* a des propriétés antibactériennes contre *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*,

*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* [115]. [116], *Staphylococcus aureus* [117]. L'extrait de *T. polium* a une activité antimicrobienne à la fois sur les Gram positif et sur les Gram négatif [118]. L'huile extraite de *T. polium*, a un effet inhibiteur sur les bactéries *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli* avec une concentration minimale de 3 à 5 µl/ml [119]. Raei et al, 2014 ont confirmé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *T. polium* contre *Klebsiella pneumoniae* isolé dans l'urine [120]. Lograda et al, [121] ont déterminé l'activité antimicrobienne et la composition chimique des huiles essentielles de *T. polium* provenant de 3 populations Algériennes différentes [121]. Dans une étude, les huiles essentielles de TP ont eu un effet approprié contre la bactérie *Salmonella typhimurium* qui est un facteur important d'intoxication alimentaire [122].

#### III.2.4.2. Activité antioxydante

Différentes recherches menées ces dernières années ont démontré que *T. polium* possède des propriétés antioxydantes élevées. De nombreux composés phénoliques à forte activité antioxydante dans les extraits de ces plantes ont été identifiés [123]. Des recherches in vitro ont montré que *T. polium* à une activité antioxydante et une activité de piégeage des radicaux libres [123, 124]. Dans plusieurs recherches, l'effet de *T. polium* sur l'oxydation de divers tissus a été étudié et les effets inhibiteurs de l'extrait de plante contre la peroxydation, a été prouvé. À cet égard, l'extrait méthanolique de *T. polium* protège les globules rouges contre la peroxydation lipidique induite par le peroxyde d'hydrogène [125]. De même, Kadifkova et al. Ont rapporté que différentes fractions de *T. polium* (éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol) ont un effet inhibiteur contre l'oxydation [124].

#### III.2.4.3. Activité Antidiabétique

Certaines plantes sont utilisées comme agents hypoglycémiantes et leurs extraits ont été étudiés dans le traitement des patients diabétiques [126]. Plusieurs études animales ont été menées pour évaluer l'effet de *T. polium* sur les concentrations de glucose dans le sang. Dans une étude de Jemal et al. [127], il a été montré que l'injection intraveineuse de *T. polium* bouilli provoquait une réduction significative de la glycémie chez un groupe de diabétiques, par rapport à un groupe témoin ayant reçu une solution saline normale [127, 128]. Selon des études qui ont évalué l'effet de *T. polium* sur le taux de sucre dans le sang, il semble que l'extrait de cette plante peut améliorer la fonction de l'insuline dans un modèle animal. Mais

selon les rapports contradictoires et le déficit d'études humaines sur les effets de cette plante sur le taux de sucre dans le sang, il serait difficile de commenter les effets prouvés de *T. polium* en tant qu'agent hypoglycémiant et des recherches cliniques semblent nécessaires [111].

#### *III.2.4. 4. Effets anticancéreux*

Ces dernières années, les propriétés anticancéreuses de *T. polium* ont été évaluées dans plusieurs expériences et des effets cytotoxiques d'extraits totaux et de dérivés de cette plante contre les cellules cancéreuses ont été rapportés. Les propriétés anticancéreuses de cette plante concernent plus celles des composés terpénoïdes et flavonoïdes. Les effets anticancéreux et cytotoxiques de *T. polium* dans différents types de lignées cellulaires humaines sont testés [111].

# Chapitre 2.

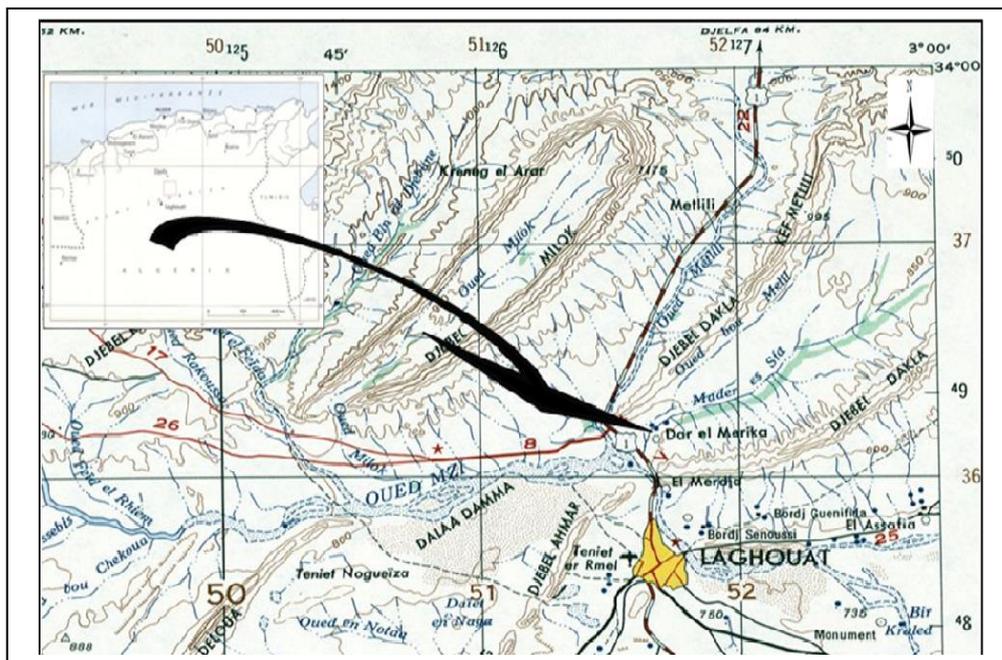
## Matériel & Méthodes

## I. Présentation de la région d'étude

### I.1. Situation géographique de la région de Laghouat

La wilaya de Laghouat est située au piémont sud de l'Atlas Saharien (fig. 6) à 400 km de la capitale Alger Latitude: 33.8065, Longitude: 2.8821933° 48' 23" Nord, 2° 52' 56" Est. Elle s'étend sur une superficie de 25 052 km<sup>2</sup>. Elle est limitée au nord par la wilaya de Tiaret, au sud par la wilaya de Ghardaia, à l'est par la wilaya de Djelfa et à l'ouest, par la wilaya d'El Bayadh,.

La zone Laghouat-Hassi R'mel s'étend sur une superficie de 18.536,40 Km<sup>2</sup> soit 70% de la surface totale de la wilaya. Elle comprend de vastes étendues steppiques pour la plupart dégradées sous l'effet de longues périodes sèches et l'utilisation irrationnelle des terrains de parcours [129].



**Figure6** : Localisation géographique de la wilaya de Laghouat (Extrait de la carte topographique de 1956 feuille de Laghouat E:1/250.0 /250.000)

### I.2. Sols de la wilaya

Les sols de la wilaya proviennent en majeure partie d'un apport alluvial typique sur croûte calcaire, peu évolué, à texture légère, à teneur faible en matière organique présentant ainsi des contraintes pour l'agriculture [129].

On distingue principalement trois grands ensembles de sols : l'un caractérise les piémonts de l'Atlas saharien, le second la plaine alluviale de l'Oued M'Zi et l'autre correspond à un plateau à surface plane avec une charge caillouteuse en surface, ces sols sont généralement peu profonds, constitués par des formations marneuses et calcaires, ce qui explique leur richesse en sels solubles et en calcaire [130].

### I. 3. Flore de la wilaya

Selon les domaines bioclimatiques et édaphiques, il existe une diversité végétale dans la wilaya de Laghouat, comprenant divers types de formations végétales à *Stipa tenacissima*, *Lygeum spartum* et à *Hamada scoparia* [130, 131].

La zone semi aride supérieure est caractérisée par une végétation forestière et matorral présente surtout sur les reliefs de l'Atlas Saharien. Dans les zones semi arides et arides, sur les formations du Quaternaire, on rencontre une végétation de type steppique. La composition de la flore au niveau de la limite inférieure de la zone aride se distingue par un accroissement de 20 à 40 %, du taux des espèces sahariennes d'origine saharo-arabiques. Inversement, le taux des espèces méditerranéo-steppiques diminue de 76 à 59 % par rapport à la partie méridionale de la zone aride. La limite sud correspond à l'apparition d'un couvert végétal diffus sur les regs et les glacis d'érosion où les sols sont squelettiques [29, 132, 133].

### I.4. Etude climatique et bioclimatique de la région de Laghouat

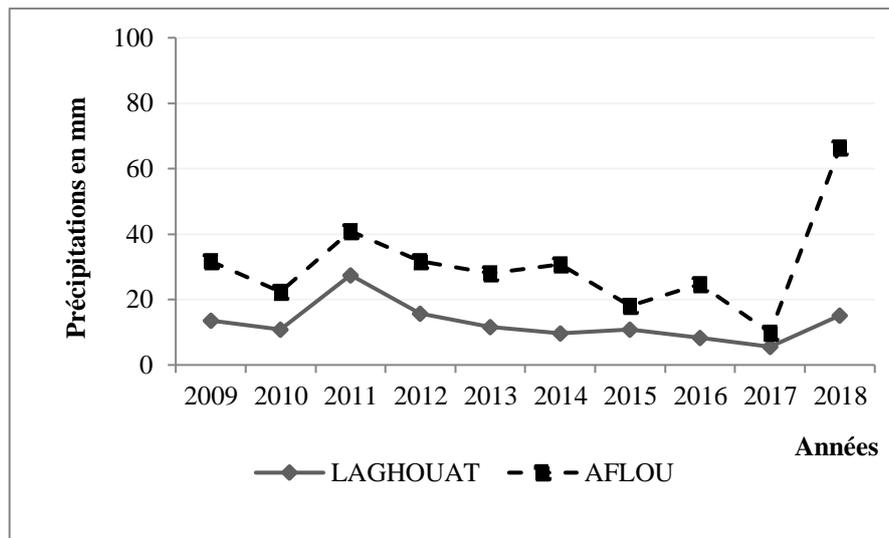
Déoulant du relief, le climat est de type continental au Nord-Ouest avec une pluviométrie variant de 300 à 400 mm, des chutes de neige et des gelées blanches. Dans la région des Hauts Plateaux, le climat est de type saharien et aride. La pluviométrie varie entre 150 mm au Centre et 50 mm au Sud. Les hivers sont caractérisés par des gelées blanches et les étés par une forte chaleur accompagnée de vents de sable. Deux stations météorologiques l'une à Laghouat et l'autre à Aflou (Tab. 2) permettent de fournir les variations des paramètres climatiques [129,130, 131].

**Tableau 2:** Caractéristique des stations météorologiques de Laghouat et Aflou.

Station	Altitude (m)	Latitude	Longitude
Laghouat	765	33° 53' N	02° 31' E
Aflou	1 425	34° 07'' N	02° 06'' E

#### I.4.1. Précipitations moyennes annuelles

La pluviosité est relativement faible. Durant la période annuelle allant de 2009 à 2018, la quantité moyenne des précipitations varie de 28,94mm à Aflou et de 12,09mm à Laghouat. Les périodes annuelles les plus pluvieuses sont enregistrées en 2011 et 2018 pour les deux régions, avec des quantités respectives de pluviométrie moyenne de 40,91/66,45 mm à Aflou et 27,47/15,18 mm à Laghouat, (Fig. 7) [129,130, 131].



**Figure7:** Variations inter annuelles des précipitations à Laghouat et Aflou.

Les steppes algériennes sont marquées par une diminution notable des précipitations moyennes annuelles de 17 à 27%, avec parfois plusieurs années consécutives de sécheresse, [134]. La diminution des précipitations à Aflou est comprise entre 5 et 7%.

#### I.4.2. Précipitations moyennes mensuelles

Le tableau3 présente les moyennes mensuelles des précipitations des régions de Laghouat et Aflou pour la période annuelle 1996-2018.

**Tableau3:** Moyennes mensuelles des précipitations des stations d'Aflou et de Laghouat durant la période (1996-2018).

Régions/Mois	Janv	Fév	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc
<b>Aflou</b>	29,97	28,22	27,94	34,78	28,84	12,63	8,29	17,13	37,91	21,72	33,44	24,51
<b>Laghouat</b>	11,80	6,85	10,36	17,48	10,20	9,26	4,65	14,58	26,48	19,20	9,74	13,05

La moyenne des précipitations mensuelles pour la période de 1996 à 2018 met en évidence, une période pluvieuse s'étalant de septembre à Mai où le maximum pluviométrique

est enregistré à Aflou en Septembre et avril (37,91 et 34,78mm) respectivement et au mois de septembre à Laghouat (26,48 mm) (Tab.3). Les minimums sont observés durant la période estivale.

#### I.4.3. Températures

Les températures revêtent un grand intérêt pour la végétation. Elles agissent notamment par les maximums et surtout par les minimums des températures qui peuvent être des facteurs limitant. Djellouli (1981) souligne que les maximums et les minimums thermiques donnent des informations sur les limites de résistance des plantes. Par ailleurs, selon [135, 136, 137] la valeur des extrêmes thermiques est un indicateur pour les seuils létaux.

Les mois de janvier et Février sont les mois les plus froids à Laghouat et à Aflou respectivement avec des valeurs de températures minimales comprises entre -3 °C à Aflou et 1,7°C à Laghouat. Le mois de juillet est le mois le plus chaud, avec une température maximale oscillant entre de 35,33°C à Aflou et 41°C à Laghouat. Pour la période de 1996 à 2018, la température moyenne annuelle varie de 14,19°C à Aflou à 18,65°C à Laghouat. Le positionnement géographique de la station de Laghouat (Sahara septentrional) influe sur la valeur de la température moyenne annuelle qui est plus élevée.

#### I.4.4 Synthèse climatique

Pour donner une expression synthétique du climat régional, nous nous proposons de présenter l'évolution de deux indices climatiques qui utilisent principalement les précipitations et les températures.

##### *I.4.4.1. L'indice de De Martonne (1927)*

Cet indice permet de classer les stations selon leurs degrés de xéricité. Il est d'autant plus grand que le climat est plus humide. Il se situe dans 4 intervalles correspondant à 4 différents climats. Il est calculé selon la formule suivante :

$$A_a = \frac{P}{T + 10}$$

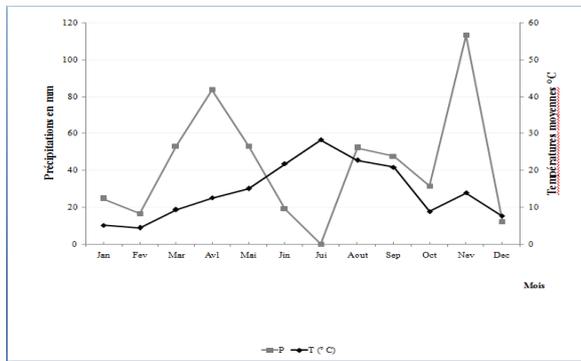
Où P est le total des pluviosités moyennes annuelles en (mm), et T la Température moyenne annuelle en (°C), Aa est l'indice de De Martonne :  $0 < Aa < 5$  Climat aride,  $5 < Aa < 20$  Climat semi-aride,  $20 < Aa < 30$  Climat sub-humide,  $30 < Aa < 55$  Climat humide.

Pour la même période annuelle de 1996 à 2018 (22 ans), les valeurs de Aa sont égales à 1,05 et 0,44 pour les régions d'Aflou et de Laghouat.

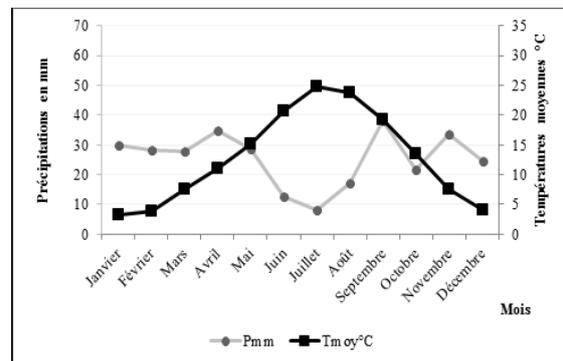
#### 1.4.4.2. La saison sèche

Pour Bagnouls et Gausson (1953), un mois sec est celui où le total mensuel des précipitations exprimé en millimètre est égal ou inférieur au double de la température mensuelle exprimée en degré Celsius ( $P \leq 2T$ ). Cette relation permet de représenter sur un même graphique les précipitations et les températures moyennes mensuelles. L'intersection des deux courbes, ombrique et thermique, détermine la durée de la saison sèche [138].

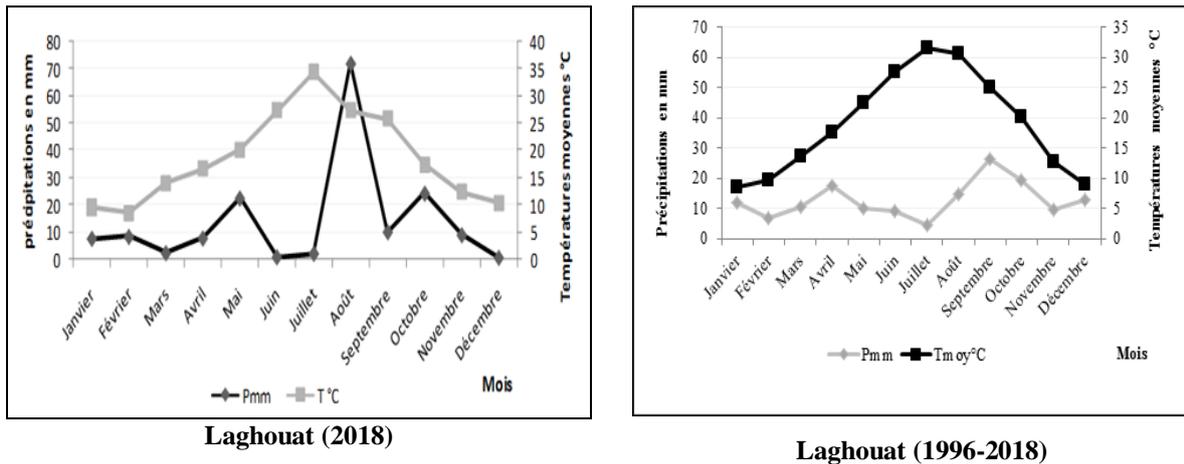
La période sèche peut s'étendre sur quelques mois, ou bien s'étaler sur toute l'année (Laghouat) (Fig.8).



Aflou (2018)



Aflou (1996-2018)



**Figure 8.** Diagrammes Ombrothermiques de Bagnouls et Gausсен des régions d'Aflou et de Laghouat de l'année 2018 et pour la période annuelle 1996-2018.

#### 1.4.4.3 Quotient et climagramme pluviothermique d'Emberger

Le quotient pluviothermique d'Emberger a pour but d'identifier et de classer les zones homo-climatiques de la région méditerranéenne. Il prend en considération la température et la pluviosité (Emberger, 1955) et renseigne sur le caractère xérique d'un biotope. Ce quotient est spécifique du climat méditerranéen, il est formulé comme suit [139]:

$$Q_2 = 2000P / M^2 - m^2$$

Q2 est le Quotient pluviothermique, P la Pluviosité moyenne annuelle (mm), M la Moyenne des maxima du mois le plus chaud (°Kelvin), m la Moyenne des minima du mois le plus froid (°Kelvin).

$$Q_3 = 3.43 P / M - m$$

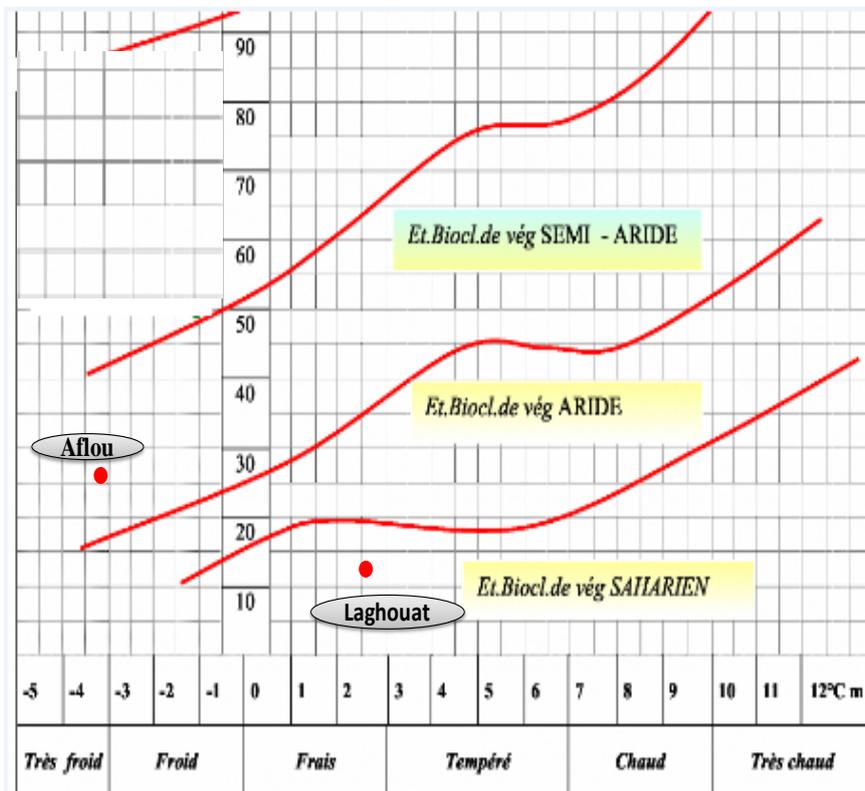
Avec M et m en °C

Le climagramme pluviothermique d'Emberger, est construit en conjuguant le quotient pluviothermique « Q2 » en ordonnée et la moyenne des températures minimales du mois le plus froid « m » en abscisse. La variante thermique sera déterminée selon la valeur de « m ». Les différents étages bioclimatiques des deux stations Aflou et Laghouat, pour la période

1996-2018, sont présentés dans le Tableau 4 et la figure 9. Le quotient Q3 représente le quotient Q2 modifié par Stewart (1963).

**Tableau 4** : Quotient pluviothermique et étage Bioclimatique des deux régions Aflou et Laghouat.

	Q2	Q3	m	Bioclimat et Variante
Aflou	28,47	25,77	-3,25	Semi-aride à Hiver froid
Laghouat	14,22	13,12	2,5	Saharien à Hiver frais



**Figure 9** : Situation des régions d'Aflou et de Laghouat sur le climagramme d'Emberger (1955).

## II. Matériel végétal

Les huiles essentielles des plantes étudiées *Artemisia campestris*, *Artemisia herba alba* et *Teucrium polium* ont été utilisées pour évaluer leurs potentialités bioactives.

## II.1. Récolte et identification du matériel végétal

Durant notre année d'étude en 2018, la période, à savoir octobre et décembre ainsi que le site de récolte du matériel végétal ont été choisis selon la disponibilité en abondance des plantes et l'accessibilité aux sites de récolte. Les échantillons de la partie aérienne des plantes étudiées ont été récoltés respectivement en octobre pour les espèces *Artemisia campestris*, *Artemisia herba alba* et *Teucrium polium* dans la zone de climat semi-aride à Aflou e et *A.campestris* dans la zone de climat saharien à Laghouat (Fig. 10 et 11). Seules les espèces *Artemisia herba alba* et *Teucrium polium* ont été récoltées au mois de décembre (Fig.10).



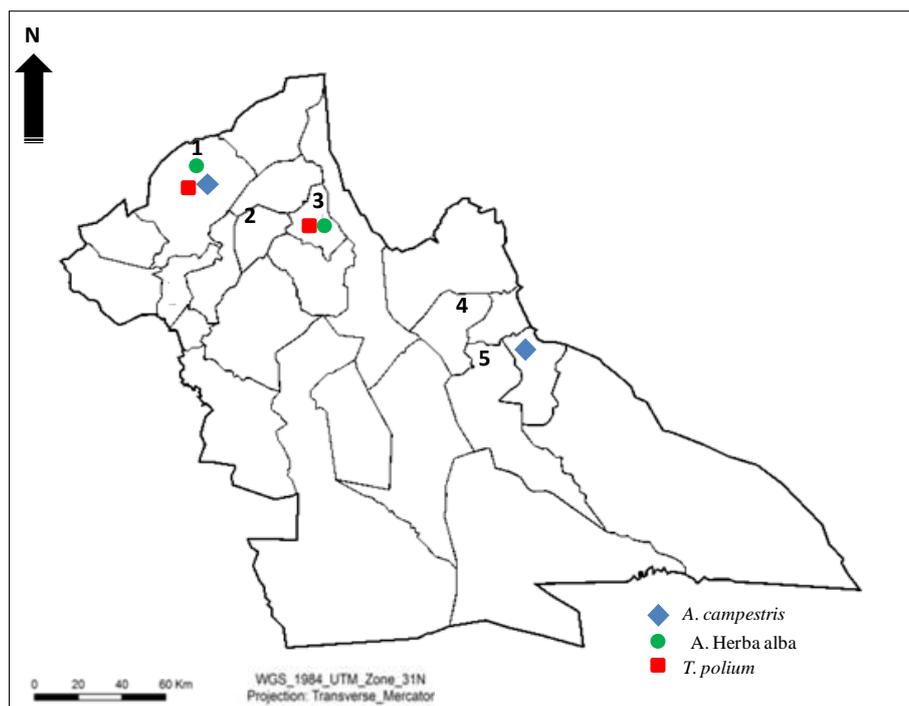
*Teucrium polium* L

*Artemisia. campestris* L.

*Artemisia herba alba*(Asso.)  
Soják)

**Figure 10:** Plantes aromatiques utilisées pour l'extraction des huiles essentielles

Les identifications floristiques des plantes (fig.10) ont été confirmées avec l'aide du Professeur Kouidri Mohamed du département des sciences agronomiques de l'Université de Laghouat.



**Figure 11.** Stations de récolte des plantes étudiées dans la wilaya de Laghouat (1: Gueltat Sidi Saad , 2 : Aflou , 3 : Oued morra , 4 : Laghouat, 5 : Kasr El Hirane).

Les échantillons de chaque espèce floristique ont été séchés à la température ambiante et à l’abri de la lumière dans un endroit sec et aéré puis ils ont été récupérés et mis dans des sacs en papier jusqu’au moment de l’extraction des huiles essentielles.

## II.2. Procédé d’extraction des huiles essentielles

L’extraction de l’huile essentielle a été effectuée par hydro distillation à l’aide d’un appareil de type Clevenger. Une quantité de 100 grammes du matériel végétal est mise dans un ballon à fond rond dans lequel on ajoute 1500ml d’eau distillée, puis porté à ébullition pendant 4 h [140]. L’huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d’eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d’huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après décantation. L’huile extraite est conservée à 4°C dans l’obscurité.

## II.3. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d’huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisée pour l’extraction.

$$\text{Rd \%} = (m_1 \times 100) / m_0$$

$m_0$  : masse en gramme de la matière végétale sèche

$m_1$  : masse en gramme d'huile essentielle

Rd : Le rendement en huile essentielle.

## **II. 4. Analyses par la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GCMS)**

L'analyse GCMS a été réalisée au niveau de la Plateforme Technique d'Analyse Physico-chimique (PTAPC-CRAPC) de Laghouat, avec un équipement de type Shimadzu GCMS- QP2020, équipé d'une colonne capillaire Rxi®-5ms fusionnée (Phase : Crossbond® 5% diphenyl/ 95% dimethyl polysiloxane). Les dimensions de la colonne sont : 30 m × 0,25 mm et une épaisseur de film de 0,25 µm. Un volume de 0,5 µL de solution préparé à une dilution de 10 % en volume de l'échantillon dans du n-hexane a été injecté en mode fractionné (80:1). La température de l'orifice d'injection était de 250 °C, et celle du détecteur de 310 °C. La température de la colonne a été programmée à 60°C fixe pendant 3min, puis augmentée à 310°C avec un incrément croissant de 2°C/min, et enfin laissée à 310°C pendant 10 min. Le gaz porteur utilisé était de l'hélium (pureté 99,995 %) avec un débit de 1 mL/min. Les conditions du spectromètre de masse étaient les suivantes : tension d'ionisation de 70 eV, température de la source d'ions de 200°C, et les spectres de masse par ionisation électronique ont été acquis sur une plage de masse de 45-600 m/z.

## **II. 5. Identification des composants de l'huile essentielle**

Les indices de rétention linéaire (IRL) ont été calculés pour les composés séparés par rapport à une série de n-alcane homologues (n-C7-C20). Les indices de rétention linéaire et les spectres de masse des composants des HE ont été comparés à ceux de la base de données du CRAPC et ceux enregistrés par les bibliothèques NIST (National Institute of Standards and Technology) et Wiley "NIST17.lib, W11N17MAI et FFNSC1.2.lib", afin de déterminer les composants.

### III. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

#### III.1 Matériel microbien

Les souches ont été obtenues à partir de la collection de cultures microbiennes du Laboratoire de recherche sur la biologie des systèmes microbiens (LBSM) de l'École normale supérieure de Kouba (Alger).

**Tableau 5** : Matériel microbien utilisé pour l'activité des huiles essentielles

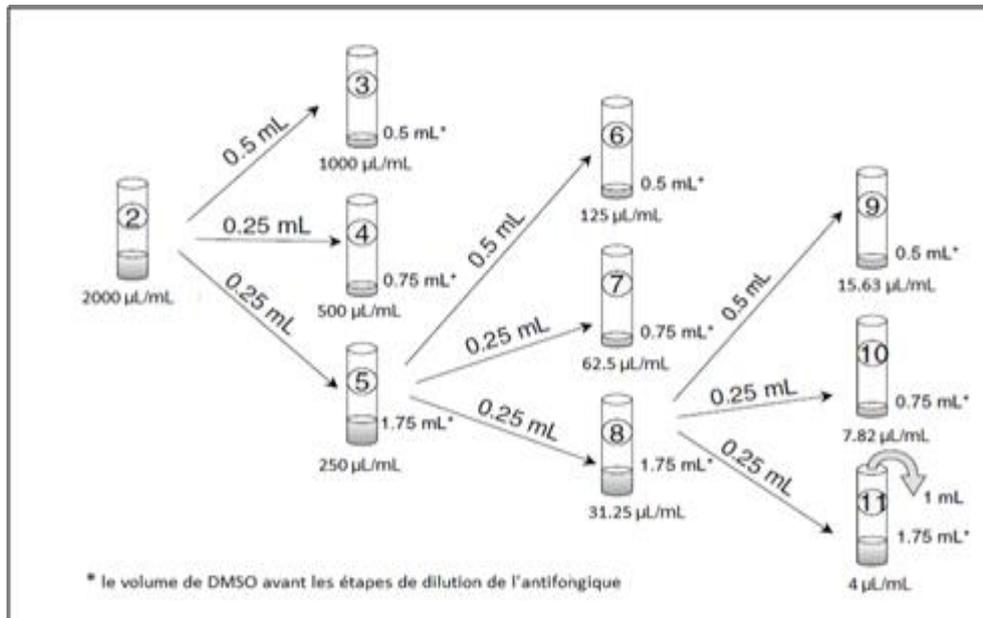
	souches microbiennes	Référence
Fongiques	<i>Aspergillus carbonarius</i>	(M333)
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	(ATCC 3174)
	<i>Aspergillus flavus</i>	(NRRL 3251)
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	(CBS 100926)
	<i>Fusarium graminearum</i>	(F5883)
	<i>Aspergillus alliaceus</i>	Isolats de (LBSM)
	<i>Fusarium culmorum</i>	
	<i>Penicillium expansum</i>	
<i>Penicillium glabrum</i>		
Bactériennes	<b>Gram<sup>-</sup></b>	
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi	ATCC 14028
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10231
	<b>Gram<sup>+</sup></b>	
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 13932
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 44300

#### III.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices, fongicides et bactéricides

##### III.2.1. Préparation des dilutions des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia campestris*, *Aremisia herba alba* et *Teucrium polium* a été évaluée selon la méthode de la macro-dilution en milieu liquide M38-A (CLSI.Clinical and Laboratory Standards Institute) [141]. Les dilutions des huiles

essentielles ont été préparées avec un solvant de type DMSO (Sigma 34943) avec une série de 10 tubes à essai numéroté de 2 à 11, le 1<sup>er</sup> tube contenant l'huile essentielle brute, et des volumes appropriés de DMSO sont rajoutés dans chaque tube (Fig.12) jusqu'à ce que chaque tube contienne 1 ml de solution diluée. Mélanger bien au vortex avant chaque étape de transfert.

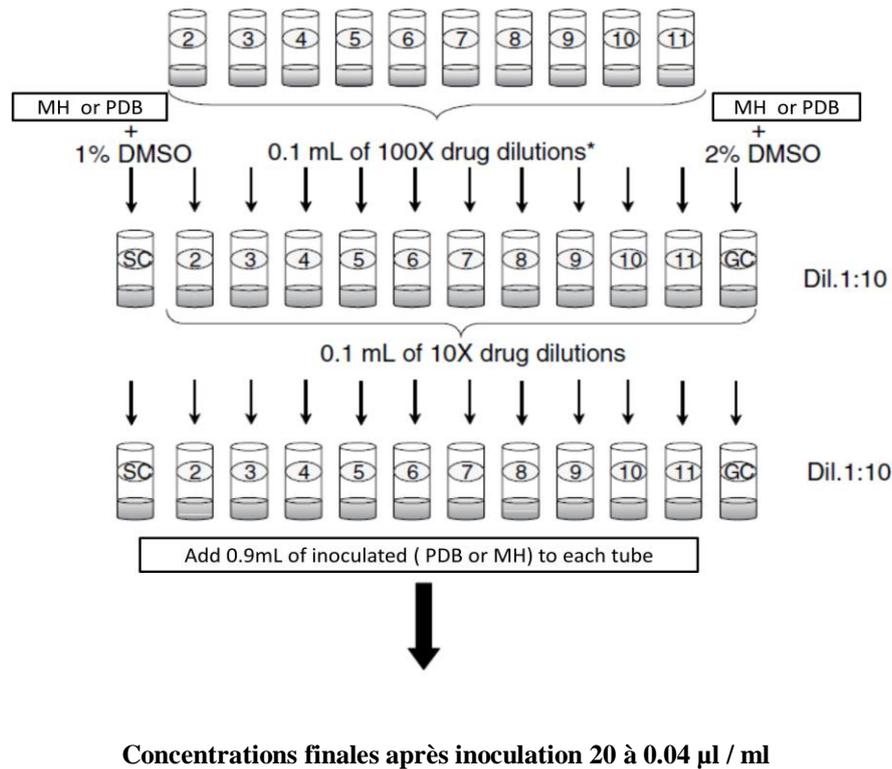


**Figure 12.** Etapes des dilutions des huiles essentielles [141].

### III.2.2. Préparations des séries de concentrations

Les tubes contenant un volume de 1 ml des dilutions des huiles essentielles précédemment réalisées sont disposés par ordre décroissant de concentration la plus élevée vers la plus basse. Le milieu de culture utilisé pour les souches fongiques est le PDB et celui utilisé pour les souches bactériennes est le milieu Mueller-Hinton.

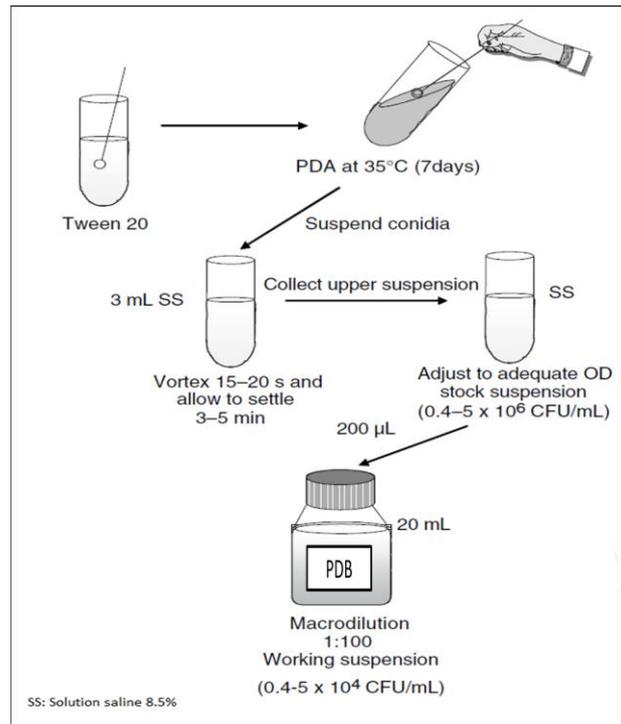
Nous préparons une dilution 1:10 en ajoutant 0,9 ml de milieu de culture (PDB ou MH) à 0,1 ml de chaque dilution d'huile essentielle, le tout est agité au vortex. Une série de neuf tubes sont préparés avec ces volumes. Enfin, à l'aide d'une pipette, on distribue à nouveau un volume de 0,1 ml de chaque concentration de l'huile avec le milieu de culture dans un tube à essai stérile en commençant par la plus faible concentration. Ensuite, chaque tube estensemencé avec 0,9 ml de l'inoculum testé (souche fongique ou bactérienne). La concentration finale des solutions de traitement sera de 20 à 0,04 µl / ml avec une concentration finale de DMSO de 1% (Fig. 13) [141].



**Figure 13.** Préparation des tubes CMI de des huiles essentielles [141].

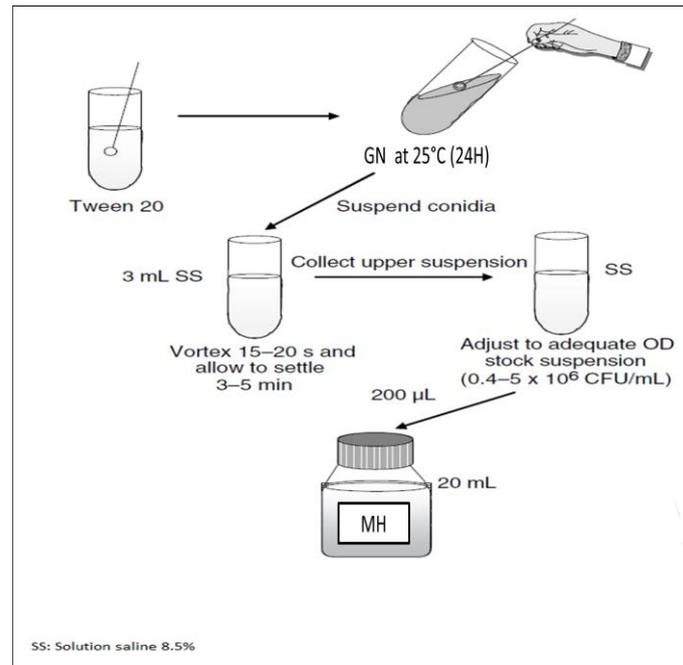
### III.2.3. Préparation des suspensions fongiques et bactériennes testées

L'inoculum de chaque souche fongique doit être préparé à partir d'une culture de 7 jours, en milieu PDA à 25°C. Les spores sont récupérées en imbibant un écouvillon stérile avec du Tween 20 puis sont transférées dans 3 ml de solution saline stérile à 8.5%. Cette suspension est vortexée pendant 15-20 secondes afin d'empêcher l'agglutination des spores, puis le surnageant est transféré dans un tube à essai stérile (Fig.14) et ajusté à une densité optique (DO) de 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/VIS de type Jenway, 6405 pour obtenir une suspension initiale de  $0.4-5 \times 10^6$  spores/ml. La DO à laquelle l'inoculum doit être réglé varie en fonction de la taille des spores (Annexe 1). Enfin, une suspension pour les essais à réaliser, est préparée en diluant la suspension mère à 1:100 spores dans le milieu de culture liquide (PDB) [141].



**Figure 14.** Préparation des suspensions fongiques (inoculum) selon la méthode de macrodilution en milieu liquide [141]

Pour chaque bactérie, l'inoculum doit être préparé à partir d'une culture de 24 heures en milieu GN à 25°C. On récupère des colonies en imbibant un écouvillon stérile avec du Tween 20 puis on les transfère dans 3 ml de solution saline stérile 8.5%. On mélange vigoureusement à l'aide d'un vortex la suspension pendant 15 à 20 secondes, et on transfère le surnageant dans un tube stérile et on ajuste la densité optique à 626 nm pour obtenir une suspension mère de  $0.4-5 \times 10^8$  bactérie/ml. Enfin, on prépare une seconde suspension en diluant la suspension mère 1:100 bactéries dans le milieu Mueller-Hinton (Fig.15) [141].



**Figure 15** Préparation des suspensions bactériennes (inoculum) pour la méthode de macro-dilution en milieu liquide [141].

### III.2.4. Inoculation des tubes

Les tubes de la solution d'huile essentielle sont organisés avant la préparation de l'inoculum dans l'ordre croissant, comprenant deux témoins, un témoin positif (contrôle de la croissance) et un témoin négatif (contrôle de la stérilité) pour chaque souche étudiée. On commence par inoculer les tubes avec la plus faible concentration de l'huile essentielle pour arriver à la plus forte concentration, y compris les témoins positifs. On ajoute 0,9 ml de la suspension microbienne préalablement préparée dans les tubes de la solution d'huile essentielle puis on mélange cette suspension à l'aide d'un vortex avant l'étape d'inoculation. Notons que, chaque essai est répété 3 fois [141].

### II.2.5. Incubation et lecture

Les tubes CMI sont incubés à 35°C (sans agitation) dans des conditions d'aérobiose pendant 72 heures pour les souches fongiques et pendant 24 pour les souches bactériennes. Le témoin de croissance doit avoir une croissance suffisante, qui dépendra de l'espèce fongique et bactérienne testée. Enfin, on détermine la CMI finale par une lecture visuelle, en comparant la croissance microbienne à celle du témoin. La CMI est définie comme la plus faible

concentration de l'huile essentielle pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin de croissance [141]

### **III.3. Détermination de la CMF et CMB**

Pour déterminer la CMF (Concentration minimale fongicide) et CMB (Concentration minimale bactéricide), on inocule en surface 20 µl de chaque tube sans aucune croissance microbienne (sans agitation) sur le milieu Sabouraud Dextrose Agar (SAB) (Eur-Pharm, 1024.00) pour les souches fongiques et sur le milieu Muller Hinton agar pour les souches bactériennes, y compris tous les tubes qui ont montré une inhibition visuelle complète. Après incubation des boîtes de Pétri à 35°C pendant 72 heures pour les souches fongiques et à 35°C pendant 24 heures pour les bactéries, la CMF et la CMB est considérée comme la concentration la plus faible d'huiles essentielles qui indique soit une croissance nulle, soit une croissance de moins de trois colonies pour obtenir une activité fongicide ou bactéricide d'environ 99 à 99.5% [141].

## **IV. Activité insecticide des huiles essentielles des plantes aromatiques étudiées sur la bruche du pois chiche**

L'objectif de cette partie consiste à mettre en évidence l'effet biocide de l'huile essentielle (par inhalation et répulsif) des trois plantes aromatiques étudiées *A.campestris*, *A. herba alba* et *T.polium* vis-à-vis d'un ravageur des denrées stockées la bruche du pois chiche (*Callosobruchus maculatus*).

### **IV. 1. Présentation de la bruche du pois chiche**

Les individus adultes de *Callosobruchus maculatus* utilisés pour l'infestation artificielle, ont été récoltés à partir d'un échantillon de grains de pois chiche contenus dans des sacs infestés obtenus au niveau de la Coopérative de céréales et de légumes secs de Laghouat.

Ces mêmes bruches ont fait l'objet d'un élevage de masse au laboratoire à température ambiante et à l'obscurité pendant une période d'environ un mois en mettant en contact les bruches adultes avec des graines de pois chiche achetées dans le commerce, à l'intérieur des bocaux en verre. Cet élevage a permis de fournir un nombre suffisant de *C. maculatus* adultes destinés aux différents essais biologiques.

## IV.2. Tests biologiques

### IV.2.1. Test par inhalation

Ce test consiste à étudier l'effet des huiles essentielles d'*Artemisia campestris*, *Aremisia herba alba* et *Teucium polium* sur le taux de mortalité des adultes du bruche du pois chiche. Pour tester la toxicité des huiles essentielles, la fumigation a été effectuée dans des flacons hermétiques et transparents, de capacité de 50ml. Les tests ont été réalisés à température ambiante. Cinq (5) doses de (2, 4, 6, 8, 12) µl correspondant à (40, 80, 120, 160, 240) µl/L d'air ont été appliquées sur des disques de papier filtre de type Wattman de 2cm de diamètre. Chaque disque est suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle fermant le flacon utilisé.

Un nombre de 10 adultes de *C.maculatus* sont introduits dans chaque flacon fermé hermétiquement pour l'ensemble des essais. Cinq répétitions ont été réalisées pour chaque dose et chaque temps d'exposition (24, 48heures).Parallèlement, un lot de 10 individus témoin a été considéré (lots non traité). Nous procédons ensuite à une observation sous une loupe binoculaire au grossissement 40 pour le dénombrement des bruches mortes.

### IV.2.2. Calcul des doses létales 50 et 90

L'efficacité d'un toxique se mesure par la DL50 et DL90 qui représente la quantité de substance toxique entraînant la mort de 50% et 90% d'individus d'un même lot. Elle est déduite à partir du traçage de la droite de régressions des probits des mortalités corrigées en fonction des doses testées.

### IV.2. 3. Test de répulsion

Ce test est utilisé pour calculer le pourcentage de répulsion d'une huile à l'égard de *C. maculatus* par la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par Jilani et Saxena (1990) [142]. Des disques de papier filtre de 11cm de diamètre, sont coupés en deux parties égales, une moitié du papier est traitée avec l'huile essentielle additionnée d'un twin 20 et l'autre moitié est traitée avec du twin 20 uniquement. Après évaporation du solvant, nous rassemblons les deux parties traitée et non traitée par une bande adhésive et nous les plaçons dans une boîte de Pétri (Fig. 16). Dix (10) individus de *Callosobruchus maculatus* adultes (âgées de moins de 24 h) sont ensuite déposés au centre de la boîte.

Au bout d'une demi-heure, on compte le nombre des individus présents sur la partie du disque traité avec l'huile essentielle et le nombre d'individus présents sur la partie traitée uniquement avec le twin 20.

Le pourcentage de répulsion (PR) est calculé comme suit :  $PR (\%) = [(Nc-Nt) / (Nc+Nt)] \times 100$  ; avec NC: le nombre d'insectes présents sur la partie du disque traitée uniquement avec le twin 20, NT: le nombre d'insectes présents sur la partie traitée avec la solution (huile- twin 20).

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile est calculé et attribué à l'une des différentes classes répulsives, selon le classement de MC DONALD et al. (1970) [143], (Tab.6).

**Tableau 6:** Pourcentage de répulsivité selon MC DONALD et al. (1970).

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

#### IV.2.4. Analyse statistique des résultats

Les différents paramètres étudiés pour l'activité insecticide des huiles essentielles sont soumis à une analyse de la variance à un ou deux critères de classification en utilisant le logiciel Minitab version 18. Dans le cas où les différences s'avèrent significatives, un test complémentaire de Tukey au seuil de 5% est effectué afin de comparer les moyennes et déterminer les groupes homogènes.

# Chapitre 3

## RESULTATS

### I. Rendement et composition chimique en huiles essentielles

Les extractions par hydrodistillation de la partie aérienne d'*A.campestris*, *A. herba alba* et *T.polium*, ont produit des huiles essentielles avec des colorations variables allant du jaune claire au jaune relativement foncé avec de fortes et persistantes odeurs. Le tableau 7 montre les résultats de rendement en huiles essentielles des différentes plantes étudiées selon la localité et la période de récolte.

**Tableau 7.** Variation des rendements en huiles essentielles des plantes étudiées.

Espèce	Période de récolte	Localité/région	Rendement % (v/m)
<i>A. campestris</i>	Octobre	(Aflou)	0,6
		(Laghouat)	0,65
<i>A. herba alba</i>	Octobre	(Aflou)	0,60
	Décembre	(Aflou)	1,24
<i>T. polium</i>	Octobre	(Aflou)	0,2
	Décembre	(Aflou)	0,42

Le rendement de *A. Campestris* récoltée dans les zones d'Aflou et Laghouat semble similaire (0.6 et 0.65% respectivement). Nos résultats montrent une différence en huiles essentielles de *T. polium* entre les deux périodes de récolte de 0.2 % en octobre et 0.42% en décembre dans la même zone d'étude à Aflou. Concernant *A. herba alba*, on observe une variabilité importante de la teneur en huiles essentielle de cette plante entre les deux mois de récolte avec respectivement un pourcentage de 0.6% en octobre et 1.24% pour le mois de décembre (tab. 7).

L'analyse CG/MS a révélé que l'huile essentielle d'*A. campestris* comprend respectivement 42 et 44 composés dans les échantillons de la plante prélevée à Kasr Elhirane et à Gueltat Sidi Saad.

Le tableau 8 indique la distribution des différents composés chimiques identifiés dans l'huile essentielle d'*A. campestris* récoltée respectivement des régions d'Aflou (Gueltat Sidi Saad) et Laghouat (Kasr Elhirane). Nous pouvons distinguer les composés majoritaires, caractérisant le chémotype des deux régions (tab. 8). L'huile essentielle issue de la plante récoltée de la localité de 'Kasr Elhirane' est de chemotype composé majoritairement du  $\beta$ -

Pinene (23.75%), o-Cymene (18.54%),  $\alpha$ -Pinene (10.09%), Limonene (8.69%), (-)-Spathulenol (7.85%), Agarospirol (4.75%), et le Geranylisovalerate (3.65%) et L'huile essentielle issue du *A. campestris* (gelata) est de chemotype  $\beta$ -Pinene (21.52 %) o-Cymene (19.08%)  $\alpha$  -Pinene (13.39%) Myrcene (8.96%) Limonene (8.01%) Capillene "gamma" (7.48%) trans-.beta.-Ocimene ( 3.13%) (-)-Spathulenol (2.64%) Gurjunene (2.10%).

**Tableau 8.** Caractérisation chimique par GC/MS de l'huile essentielle d'*A.campestris*

Composé chimique No.	Nom du composé	Indice de rétention (IR)	Pourcentage%	
			KasrElHirane	Gueltat Sidi Saad
1	Hexanal	797	0.04	0
2	4-Heptenal, (Z)-	889	0.21	0
3	Santolinatriene	906	0	0.05
4	Tricyclene	920	0	0.05
5	Thujene<alpha->	923	0.42	0.09
6	<b>alpha-Pinene</b>	<b>930</b>	<b>10.09</b>	<b>13.39</b>
7	Camphene	944	0.24	0.62
8	Verbenene	949	0.17	0
9	Sabinene	970	0.59	1.39
10	<b>Pinene&lt;beta-&gt;</b>	<b>974</b>	<b>23.75</b>	<b>21.52</b>
11	Myrcene	989	0.95	<b>8.96</b>
12	(4Z)-4-Decenal	992	0.83	0
13	Terpinene<alpha->	1014	0.46	0
14	<b>o-Cymene</b>	<b>1022</b>	<b>18.54</b>	<b>19.08</b>
15	<b>Limonene</b>	<b>1026</b>	<b>8.69</b>	<b>8.01</b>
16	Eucalyptol	1028	0,59	0
18	trans-.beta.-Ocimene	1035	0.38	<b>3.13</b>
19	Ocimene<(E)-, beta->	1045	0.34	1.46
20	.gamma.-Terpinene	1055	1.86	0.83
21	Terpinolene	1086	0	0.18
22	beta.-Pineneepoxide	1091	0	0.16
23	Linalool	1098	0	0.06
24	Thujone	1103	0	0.35
25	.alpha.-Campholenal	1122	0.31	0
26	Nopinone	1132	0.53	0
27	Pinocarveol<trans->	1134	1.58	0
28	Isopinocarveol	1134	0	0,13
29	Camphor	1139	0.19	0.79

30	Pinocarvone	1157	0.73	0
31	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	1163	0.30	0
32	Terpinen-4-ol	1173	1.54	0.40
33	p-(1-Propenyl)-toluene	1181	0.78	0
34	.alpha.-Terpineol	1187	0.86	0.31
35	Myrtenal	1192	1.24	0
36	(-)-Myrtenol	1193	1.11	0
37	Carveol	1215	0.35	0
38	Isovalerate<3-hexenyl->	1235	0.43	0
39	(3Z)-3-Hexenyl 3-methylbutanoate	1235	0	0.06
40	D-Carvone	1239	0.13	0
41	Bornylacetate	1283	0	0.19
42	Carvacrol	1300	0.14	0
43	Copaene<alpha->	1372	0.34	0
44	Copaene	1372	0	0.27
45	1,4-Dimethylazulene SynonymGurjunene	1385	0	2.10
46	Caryophyllene	1414	0	0.05
47	(E)-.beta.-Famesene	1456	0	0.20
48	gamma.-Muurolene	1473	0	0.16
49	(+)-a-ar-curcumene	1480	1.40	0
50	Curcumene<alpha->	1480	0	0.74
51	<b>Capillene "gamma"</b>	<b>1493</b>	0	<b>7.48</b>
52	alpha.-Muurolene	1497	0	0.10
53	gamma.-Cadinene	1510	0	0.14
54	.delta.-Cadinene	1520	0.34	0.30
55	Nerolidol	1549	0.45	0
56	7-epi-cis-sesquisabinene hydrate	1562	0	0.15
57	Nerolidylacetate	1562	0.37	0
58	<b>(-)-Spathulenol</b>	<b>1573</b>	<b>7.85</b>	<b>2.64</b>
59	Isocaryophyllene	1577	0	0.65
60	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5.alpha.-ol	1582	0.33	0
61	Davanone	1584	0	0.68
62	Salvial-4(14)-en-1-one	1588	1.30	0
63	Geranylisovalerate	1607	<b>3.65</b>	0.38
64	<b>Agarospinol</b>	<b>1645</b>	<b>4.75</b>	0
Total			100%	

On peut remarquer que certains composés sont présents dans l'huile de la plante dans une localité mais n'existent pas dans l'huile essentielle de la plante récoltée dans l'autre localité. C'est le cas des composés Myrcene (8.96%) et Capillene "gamma" (7.48%) qui sont présents dans les échantillons prélevés à Gueltat Sidi Saad et sont presque absents dans les échantillons de Kasr Elhirane (Tab. 7). Cependant, l'huile essentielle issue d'*A.campestris* de Kasr Elhirane est caractérisée par la présence de l'Agarospinol (4.75%) et du Geranylisovalerate (3.65%) retrouvés à l'état de traces dans l'huile de la plante de Gueltat Sidi Saad.

Concernant la seconde espèce d'Astéracée *A. herba alba*, l'analyse CG/MS a révélé une richesse de l'huile essentielle en 60 et 51 composés dans les échantillons respectifs de la plante prélevée en octobre et décembre au niveau de la même zone d'étude à Aflou (Tab. 9). Nous pouvons distinguer la composition de l'huile essentielle des deux périodes de collecte. L'huile essentielle *A. herba alba* (octobre) se caractérise par les composés suivants : davanone (38.96%) ; Camphor (14.40%) ; Thujone (7.34%) ; 10-Methyl-8-tetradecen-1-ol acetate (3.73%) ;  $\beta$  Pinene (1.56%) ; Myrcene (2.6%) ; o-Cymene (1.53%) ; Eucalyptol (2.96%) ;  $\beta$  Thujone (2.05%) ; Borneol (1.64%) ; Linalool (1.27%). L'huile essentielle issue de cette même espèce récoltée en décembre contient majoritairement du Camphor (34.55%) ; Eucalyptol (11.39%) ; Davanone (10.69%) ; Thujone (7.76%) ; 2-Pinen-7-one (6.33%) ; Camphene (4.95%) tandis que les autres composés mineurs sont le Borneol (3.64%) ;  $\beta$  Thujone (3.61%) ; Pinocarvone (1.52%) ; o-Cymene (1.43%) ; (-)-Spathulenol (1.37%) ainsi que l' $\alpha$  Pinene (1.08%) (Tab.9). Par ailleurs, on note que le Camphene n'est présent avec une teneur (4.95 %) que dans les échantillons de la plante récoltée en décembre (Tab. 9).

**Tableau 9.** Caractérisation chimique par GC/MS de l'huile essentielle d'*A.herba alba*.

Composé chimique No.	Nom du composé	Indice de rétention (IR)	Pourcentage%	
			Décembre	Octobre
1	Butanoicacid, 2-methyl-, ethyl ester	841	0.03	0
2	5-Hexenal, 4-methylene-	891	0	0.07
3	Santolinatriene	906	0.15	0.23
4	2-Methyl-2,5-divinyltetrahydrofuran	912	0.09	0.23
5	Tricyclene	919	0.35	0.10
6	alpha.-Pinene	930	1.08	1.06
7	6-Methyl-5-octen-2-one	940	0	0.77

8	<b>Camphene</b>	<b>944</b>	<b>4.95</b>	<b>0</b>
9	Verbenene	950	0.19	0.06
10	Benzaldehyde	954	0	0.05
11	Sabinene	969	0.08	0.10
12	Pinene<beta->	973	0.39	1.56
13	1-Octen-3-ol	975	0.08	0
14	Myrcene	989	0.82	2.60
15	Mesitylene	991	0.73	0
16	alpha.-Phellandrene	1003	0.13	0
17	2-Carene	1014	0	0.06
18	Terpinene<alpha->	1014	0.32	0
19	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	1019	0.66	0
20	Phenacyl 11-octadecenoate	1019	0	0.58
21	o-Cymene	1021	1.43	1.53
22	Limonene	1025	0	0.41
23	Eucalyptol	1027	<b>11.39</b>	2.96
24	Santolinaalcohol	1033	0.13	0
25	Lavander lactone	1034	0	0.29
27	cis-Arbusculone	1047	0	0.88
28	. cis-Arbusculone	1047	0.11	0
29	gamma.-Terpinene	1055	0.24	0
30	.beta.-Ocimene	1055	0	0.08
31	trans-Arbusculone	1066	0	0.58
32	Linalool	1100	0	1.27
33	(3E)-2-methyl-6-methylene-2-octa-3,7-dienol	1101	0	1.07
34	<b>Thujone</b>	<b>1104</b>	<b>7.76</b>	<b>7.34</b>
35	Thujone<beta->	1113	<b>3.61</b>	2.05
36	Isophorone	1116	0.52	0.23
37	p-Menth-2-en-1-ol	1118	0	0.30
38	Chrysanthenone	1121	<b>6.33</b>	2.15
39	<b>Camphore</b>	<b>1141</b>	<b>34.55</b>	<b>14.40</b>
40	p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	1154	0.18	0.48
41	Pinocarvone	1158	1.52	0.24
42	cis-Chrysanthenol	1160	0	0.85
43	Borneol	1161	<b>3.64</b>	1.64
44	Terpinen-4-ol	1173	0.69	0.34
45	.alpha.-Terpineol	1187	0.14	0.10
46	Verbenone	1204	0.66	0.31
47	Nordavanone	1227	0.25	0.75
48	Pulegone	1235	0.25	0

49	Carvone	1239	0.22	0
50	Chrysanthenylacetate	1258	0.27	0.48
51	Lepalol	1273	0	0.38
53	Bornylacetate	1282	0.52	0.21
54	2-Undecanone	1292	0.24	0
55	Carvacrol	1300	0.23	0
56	Filifolide a	1314	0.85	0.35
57	Eugenol	1354	0	0.09
58	Capaene	1372	0.12	0.16
59	Jasmone<(Z)>	1395	0.36	0.94
60	Davanafuran	1414	0.13	0.29
61	(-)-Germacrene D	1476	0.27	0.29
62	Chrysantenyl 2-methylbutanoate	1482	0.11	0
63	Viridiflorol	1491	0	0.43
64	Davanaether 2	1511	0	1.10
65	Artedouglasiaoxide C	1519	0	0.29
66	Artedouglasiaoxide A	1530	0	0.92
67	Laciniatafuranone E	1545	0	0.50
68	Sesquisabinene hydrate	1561	0.11	0.40
69	(-)-Spathulenol	1572	1.37	0.99
70	.beta.-copaen-4 .alpha.-ol	1582	0	0.15
71	<b>Davanone</b>	<b>1586</b>	<b>10.29</b>	<b>38.96</b>
72	Longiborneol	1600	0	0.41
73	Isocitronellol	1614	0	0.40
74	Cubenol	1624	0.18	0.21
75	Caryophyllane, 4,8-.beta.-epoxy	1647	0	0.49
76	beta.-Nootkatol	1680	0.13	0
77	Eudesma-4(15),7-dien-1.beta. -ol	1680	0	0.12
78	10-Methyl-8-tetradecen-1-ol acetate	1719	0	3.73
Total		100%		

L'analyse de la composition chimique des HES de *T. polium* récoltée aux mois d'Octobre et décembre montre une variation quantitative et qualitative du profil chimique. L'analyse par GC-MS de l'échantillon de *T. polium* d'octobre a permis d'identifier 39 constituants (Tab.10) avec une prédominance de 6 composés :  $\beta$  Pinene(23.97%) ; gamma-Murolene (17.77%) Carvacrol (11.59%) alpha-Pinene (8.13%) Bicyclogermacrene (7.21%) Limonene( 6.38 %). D'autres composés moins fréquents ont été également identifiés comme (-)-Spathulenol, Myrcene, Cadinene<delta- et tau-Cadinol sont présents avec des

concentrations (3.45 %), (3%), (2.21%), (2.08%) respectivement. Le profil chromatographique de l'analyse quantitative et qualitative de l'huile essentielle de *T. polium* du mois de décembre a permis d'identifier 49 composants (Tab.9) dont huit (08) sont majoritaires. Il s'agit du camphor (22.09 %) Eucalyptol (13.70%).alpha.-Pinene (10.90%) Borneol (8.24%) Camphene (7.76%) Pinene<beta-> (7.47%) Terpeneol<alpha-> (6.53%) limonene (5.13%). D'autres composés moins fréquents ont été également identifiés : Sabinene hydrate <cis-> (4.15%) Myrcene (3.15%) Terpinen-4-ol (2.53%).

**Tableau 10.** Caractérisation chimique par GC/MS de l'huile essentielle de *Teucrium polium*.

No Composé chimique	Nom du composé	Indice de rétention (IR)	Pourcentage%	
			Décembre	Octobre
1	Hex-2(E)-enal	844	0.05	0.08
2	Tricyclene	920	0.40	0
3	Thujene<alpha->	923	0	0.08
4	3-Thujene	924	0.25	0
5	<b>.alpha.-Pinene</b>	934	<b>10.90</b>	<b>8.13</b>
6	Camphene	944	<b>7.76</b>	0.24
7	Verbenene	951	0.02	0
8	Sabinene	969	0	0.17
9	<b>Pinene&lt;beta-&gt;</b>	974	<b>7.47</b>	<b>23.97</b>
10	1-Octen-3-ol	985	0.41	0
11	Myrcene	988	3.15	3
12	.alpha.-Phellandrene	1004	0.26	0
13	Terpinene<alpha->	1014	0.20	0.19
14	2-Carene	1018	0.17	0
15	o-Cymene	1021	0	1.58
16	<b>Limonene</b>	1025	<b>5.13</b>	<b>6.38</b>
17	<b>Eucalyptol</b>	1027	<b>13.70</b>	<b>0.28</b>
18	Sabinene hydrate <cis->	1040	<b>4.15</b>	0
19	Benzeneacetaldehyde	1043	0.03	0
20	Ocimene<(E)-, beta->	1048	0.07	0.32
21	.gamma.-Terpinene	1058	1.15	1.22
22	cis-sabinene hydrate acetate	1064	0.10	0
23	Linalooloxide<cis->	1070	0.02	0
24	Terpinolene	1087	0.54	0.12
25	Linalool	1099	0.47	0.48
26	Thujone	1114	0.06	0
27	Fenchol, exo-	1117	0.12	0
28	Camphenol, 6-	1124	0.17	0
29	Nopinone	1131	0	0.74
30	Pinocarveol<trans->	1134	0	1.77
31	<b>Camphor</b>	1139	<b>22.09</b>	0.11
32	(+)-cis-Verbenol, acetate	1140	0	0.55

33	Pinocarvone	1157	0.05	1.03
34	<b>Borneol</b>	1161	<b>8.24</b>	0.25
35	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	1162	0	0.28
36	Terpinen-4-ol	1173	2.53	0.15
37	<b>.alpha.-Terpineol</b>	1187	<b>6.53</b>	0.27
38	Carveol	1215	0	0.18
39	Citronellol	1227	0.02	0
40	Pulegone	1234	0	0.99
41	Carvone	1239	0	0.20
42	1-Decanol	1271	0.02	0
43	Bornylacetate	1284	1.24	0
44	Thymol	1291	0	0.30
45	Carvacrol	1301	0.06	<b>11.59</b>
46	Copaene	1372	0.06	0
47	(-)-.beta.-Bourbonene	1380	0	0.45
48	Methyleugenol	1402	0.06	0
49	Caryophyllene	1414	1.18	0.25
50	.alpha.-Humulene	1448	0.14	0
51	.gamma.-Muurolene	1478	0.06	<b>17.77</b>
52	Bicyclgermacrene	1492	0	<b>7.21</b>
53	Cadinene<delta->	1519	0.10	2.21
54	(-)-Spathulenol	1577	0.47	3.45
55	.tau.-Cadinol	1636	0	2.08
56	Muurolol<alpha-,epi->	1649	0	1.23
Total		100%		

Les huiles essentielles des plantes étudiées *A. campestris*, *A. herba alba* et *T. polium*, présentent pour la même plante, une diversification en composés chimiques non seulement selon le mois de récolte mais aussi selon l'étage bioclimatique de la localité de récolte. Ces différences dans la composition de l'huile essentielle de la partie aérienne des trois plantes semblent révéler l'existence de plusieurs chemotypes au sein de l'espèce qui peuvent être liées aux conditions environnementales.

**Tableau 11.** Répartition des groupes terpéniques dans les huiles essentielles des plantes étudiées.

Groupes terpéniques/Chemotypes	Ah		Ah		Tp	
	Ack	Acg	dec	oct	dec	oct
Monoterpènes Hydrocarbonés	<b>66,48</b>	<b>78,66</b>	9,89	7,71	<b>36,65</b>	<b>45,04</b>
Monoterpenes Oxygenés	9,07	2,04	<b>72,36</b>	<b>36,67</b>	<b>59,08</b>	<b>15,68</b>
Sesquiterpenes hydrocarbonés	9,93	7,35	0,39	0,45	1,48	<b>27,44</b>
Sesquiterpènes oxygénés	<b>6,83</b>	0,15	<b>11,9</b>	<b>39,95</b>	0,47	<b>6,76</b>

(Ac : *A. campestris*, Ah : *A. herba alba*, Tp : *T. polium*, k : Kasr ElHirane, g : Gueltat Sidi Saad, dec : décembre, oct : octobre).

Le tableau 11 présente respectivement la distribution des différents groupes des terpènes dans les huiles essentielles d'*A.campestris*, *A. herba alba* et *T.polium* pour les différents échantillons, les résultats montre une variation quantitative et qualitative de la distribution des différents groupes terpéniques dans les huiles essentielles étudiés.

Les teneurs des groupes terpéniques des huiles essentielles des plantes étudiées sont différentes. Nous remarquons que dans les huiles essentielles d'*A .campestris* et *T. polium*, le taux des Monoterpènes Hydrocarbonés représentent (66,48% et 78,66%) et (36,65% et 45,04%) pour les 2 échantillons de récolte de chaque espèce respectivement. En revanche, ces taux sont faibles dans l'huile essentielle d'*A.herba alba*, (9,89% et 7,71%).

Cependant, les taux des Monoterpènes oxygénés sont plus importants (72,36% et 36,67%) dans l'huile essentielle d'*A.herba alba* et (59,08% et 15,68%) dans celle de *T.polium*. Par ailleurs, les teneurs des Monoterpènes oxygénés sont très faibles dans l'huile essentielle d'*A.campestris* et celles des sesquiterpènes oxygénés sont très importantes dans l'huile essentielle d'*A.herba alba* en comparaison avec les autres plantes. D'autre part, les teneurs en Sesquiterpènes hydrocarbonés sont toujours très faibles par rapport à celles des autres groupes des terpènes à l'exception de l'huile essentielle de *T.polium* récoltée en octobre et qui présente avec un pourcentage de 27,44%.

## II. Activité antifongique des huiles essentielles étudiées

Le tableau 12 montre les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*A.campestris*, *A. herba alba*, *T.polium* contre les champignons testés. Il apparaît que les réponses varient en fonction de la souche testée, de la concentration utilisée et de la composition chimique des huiles essentielles.

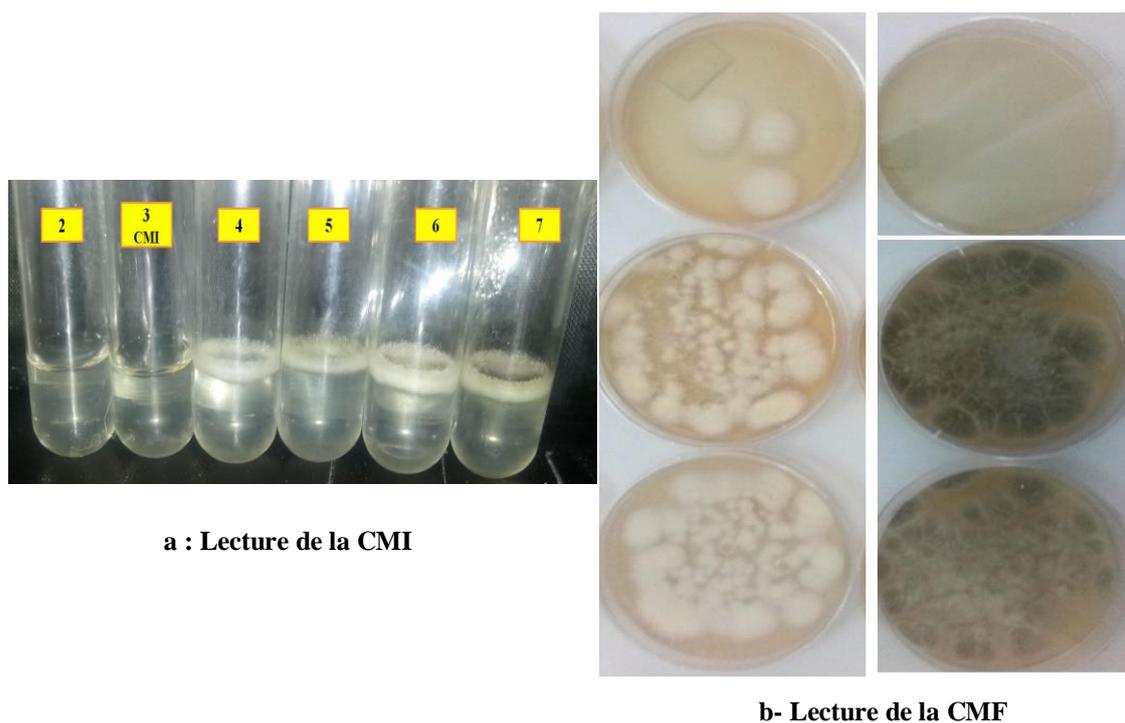
**Tableau 12.** Résultats de l'activité antifongique (CMI, CMF) sous l'effet des concentrations ( $\mu\text{l/ml}$ ) des huiles essentielles des plantes étudiées.

Paramètres	<i>Artemisia herba alba</i>				<i>Artemisia campestris</i>				<i>Teucrium polium</i>			
	octobre		décembre		Aflou		Laghout		octobre		décembre	
	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>P.expansum</i>	5	5	5	5	5	20	5	20	10	>20	5	20
<i>P.glabrum</i>	5	5	5	5	5	>20	10	10	20	20	10	20
<i>F.graminearum</i> (F5883)	5	>20	5	>20	20	>20	10	20	10	>20	10	20
<i>F.culmorum</i>	5	5	5	5	1.25	1.25	1.25	1.25	20	>20	10	20

<i>A.flavus</i> (NRRL 3251)	10	>20	10	10	5	20	5	20	10	20	10	20
<i>A.ochraceus</i> (ATCC 3174)	5	20	5	5	10	20	10	10	20	>20	10	20
<i>A. alliaceus</i>	10	>20	5	5	20	>20	2.5	10	20	>20	10	>20
<i>A.carbonarius</i> (M333)	10	>20	20	20	5	>20	5	20	20	>20	10	>20
<i>A. parasiticus</i> (CBS 00926)	5	10	5	5	10	20	20	20	10	>20	5	>20

\*CMI (concentration minimale inhibitrice), CMF (concentration minimale fongicide) sont déterminées par la méthode de macro-dilution en milieu liquide et exprimées en  $\mu\text{l/ml}$  (v/v).

Les concentrations (CMI) et (CMF) ont été déterminées après une lecture visuelle et un comptage du nombre de colonies (fig. 16).



**Figure 16.** Détermination des CMI et CMF.

- *Effet de l'huile essentielle d'A. herba alba*

L'huile essentielle (He) d'*A. herba alba* récoltée en octobre et décembre exerce une forte activité antifongique qui a été observée de manière similaire contre certaines souches fongiques. La concentration en He de  $5 \mu\text{l/ml}$  (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance d'*Aspergillus parasiticus*, d'*A. ochraceus*, de *Fusarium culmorum*, de *F. graminearum*, de *Penicillium expansum*, et de *P. glabrum*. Néanmoins la souche d'*A. flavus* a été inhibée à partir d'une concentration de  $10 \mu\text{l/ml}$  (v/v).

La concentration de 20 µl/ml de l'huile d'*A. herba alba* des deux mois de collecte de la plante a exercé un effet fongicide sur *A. ochraceus*. Cet effet a été observé sur les trois souches *F. culmorum*, *P. expansum* et *P. glabrum* avec seulement une concentration de 5 µl/ml. Nous notons par contre une résistance de *F. graminearum* et *A. carbonarius* (CMF > 20 µl/ml) quelque soit la période de récolte de la plante.

L'activité antifongique des huiles essentielles des plantes étudiées durant les deux périodes était différente en revanche, contre d'autres souches fongiques.

Ainsi, l'huile essentielle d'*A. herba alba* d'automne (octobre) a présenté la plus faible activité antifongique contre *A. parasiticus*, *A. alliaceus* et *A. flavus* en comparaison avec celle d'*A. herba alba* d'hiver (décembre). Cet effet fongicide est détecté sur *A. parasiticus* avec l'huile d'*A. herba alba* de l'hiver à la concentration de 5 µl/ml (v/v), et également contre *A. flavus* à la concentration de 10 µl/ml ainsi que chez *A. alliaceus* à 20 µl/ml. Pour la période de récolte automnale, l'huile essentielle d'*A. herba alba* n'a montré aucun effet fongicide sur *A. flavus* et *A. alliaceus* (CMF > 20 µl/ml), et sur *A. parasiticus* à la concentration de 10 µl/ml.

- *Effet de l'huile essentielle d'A. campestris*

Le pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*A. campestris* des deux localités de récolte a été variable d'une souche fongique à une autre en fonction de leur résistance. La souche *F. culmorum* semble la plus sensible à la concentration inhibitrice et fongicide de 1.25 µl/ml (v/v). Les concentrations respectives de 5 µl/ml (v/v) et de 10 µl/ml ont été suffisantes pour inhiber la croissance de *A. carbonarius*, *A. flavus*, et *P. expansum* d'une part, et la croissance de *A. ochraceus*, d'autre part. A la concentration de 20 µl/ml (v/v), certaines souches sont résistantes comme *A. parasiticus* et d'autres se sont montrées sensibles telles que *A. flavus*, *A. parasiticus* et *P. expansum*.

L'activité d'une même huile essentielle varie également d'une région à une autre pour certaines souches. L'huile essentielle d'*A. campestris* récoltée de la région de Laghouat a révélé une activité antifongique d'une part contre *A. ochraceus*, *A. alliaceus* et *P. expansum* pour une concentration fongicide de 10 µl/ml (v/v), et pour une CMF de 20 µl/ml (v/v) contre *A. carbonarius*, et *F. graminearum*. On note cependant que cette même huile n'a pas manifesté d'effet fongicide sur *P. expansum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, et *A. alliaceus* (> 20 µl/ml).

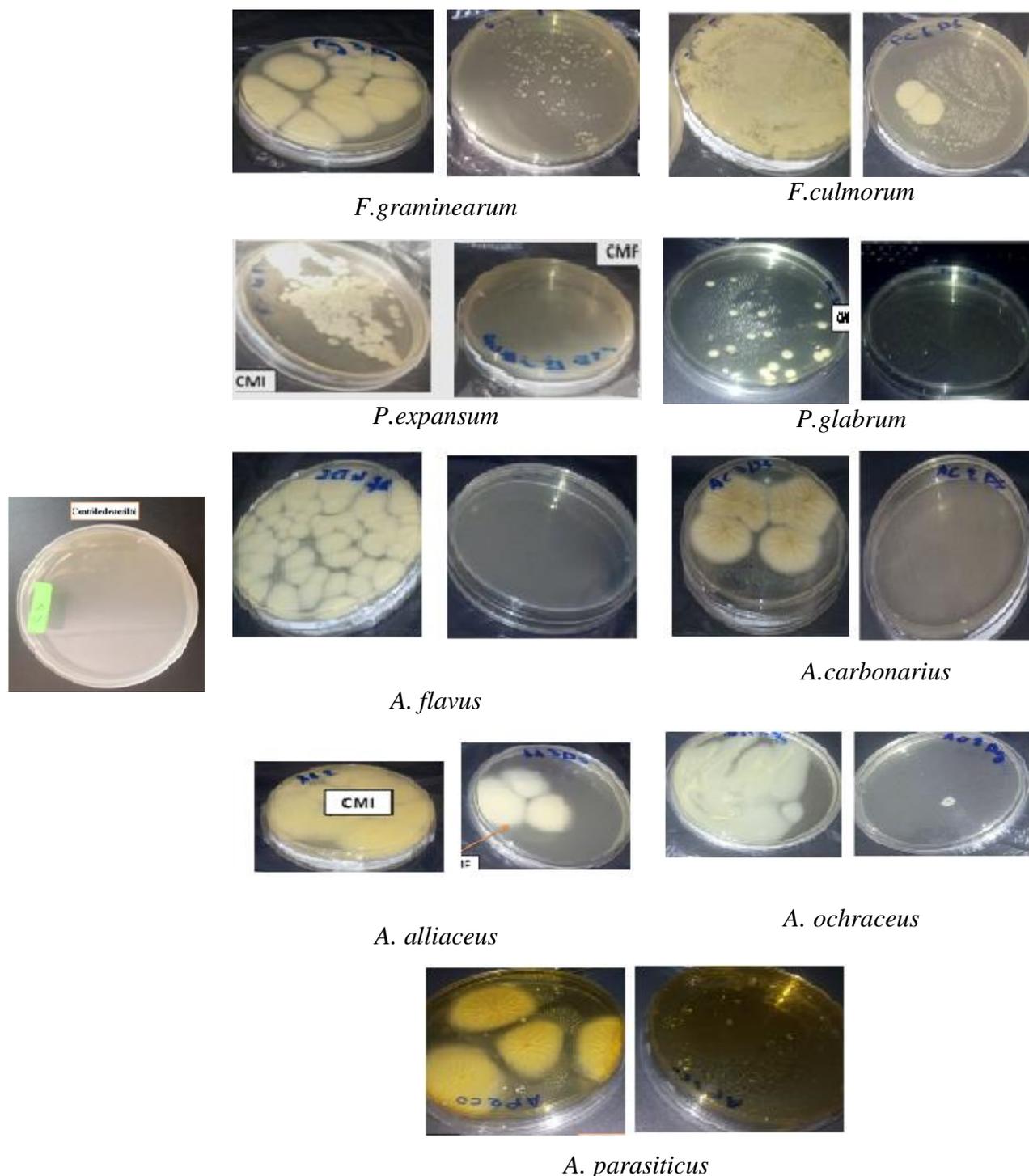
- *Effet de l'huile essentielle de T. polium*

L'huile essentielle de *T.polium* a présenté la plus faible activité antifongique contre les souches fongiques étudiées, comparée à celle d'*A.campestris* et celle d'*A. herba alba*. L'effet fongicide de cette huile est détecté à la concentration de 20 µl/ml pour certains souches, alors que sur les autres souches aucun effet fongicide n'est observé (> 20 µl/ml).

Les souches *A. flavus* et *F. graminearum* ont été inhibées à partir d'une concentration de 10 µl/ml (v/v). La concentration de 20 µl/ml de l'huile essentielle de *T.polium* des deux périodes de récolte a un effet fongicide pour *A.flavus* et *P.glabrum* tandis que sur *A.alliaceus*, *A.carbonarius*; *A. parasiticus* aucun effet fongicide n'est montré (> 20 µl/ml).

*T.polium* de l'hiver (décembre) a été plus active comparée à celle de *T.polium* de l'automne (octobre). La concentration de 5 µl/ml (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance d'*A. parasiticus*, et *P. expansum* alors qu'une concentration plus élevée, de 10 µl/ml a été nécessaire pour inhiber la croissance de *P. glabrum*, *A. carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. alliaceus* et *F.culmorum*. L'effet fongicide de cette huile est détecté à la concentration de 20 µl/ml pour *P.expansum*, *F.graminearum*, *F.culmorum*, *A. ochraceus*. Par contre les souches *A. parasiticus*, et *P. expansum* ont été inhibées à partir d'une concentration de 10 µl/ml (v/v) de l'huile essentielle de *T.polium* de l'automne. Une concentration de 20 µl/ml a inhibé les champignons, *P. glabrum*, *A. carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. alliaceus* et *F. culmorum*. Cependant, il n'a pas été observé un effet fongicide sur *P. expansum*, *F. graminearum*, *F. culmorum* et *A. ochraceus* (> 20 µl/ml).

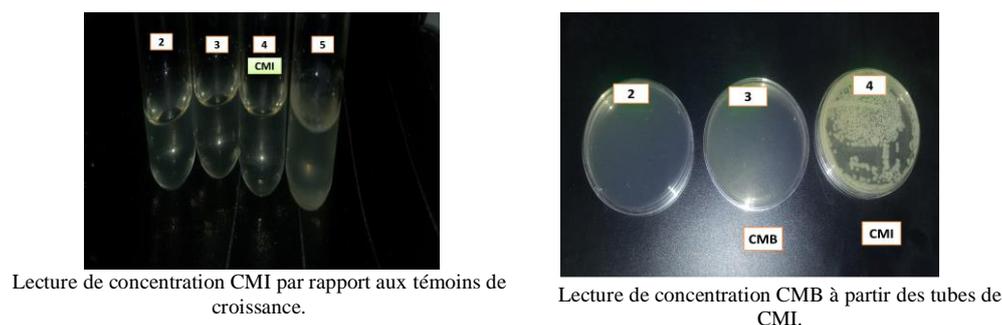
Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles en milieu liquide montrent bien que *F. graminearum* et *A. carbonarius*, sont les champignons les plus résistants à toutes les essences utilisées dans cette étude. *F. culmorum* est néanmoins l'espèce la plus sensible aux huiles essentielles. L'huile essentielle d'*A.campestris* a exercé une forte activité antifongique contre *F. culmorum*, suivi par celle de la plante *A. herba alba*, et celle de *T. polium*, à des concentrations fongicides respectives de 1.25, 5 et 20 µl/ml (v/v).



**Figure 17.** CMI (à gauche) et CMF (à droite) d'une huile essentielle testée des plantes étudiées sur les souches fongiques sélectionnées.

### III. Activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *A.campestris*, *A. herba alba* et *T. polium* contre les souches bactériennes testées sont présentés dans le tableau 13, conformément à la lecture des CMI et CMB (fig. 18).



**Figure 18.** Détermination des CMI et CMB.

**Tableau 13.** Résultats de l'activité antibactérienne (CMI, CMB) sous l'effet des différentes concentrations ( $\mu\text{l/ml}$ ) en huiles essentielles des plantes étudiées. (G : Gueltat Sidi saad, K : Ksar El Hirane, oct : octobre, dec : décembre).

Paramètres	<i>Artemisia herba alba</i>				<i>Artemisia campestris</i>				<i>Teucrium polium</i>			
	oct		dec		G Aflou		K Laghouat		oct		dec	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10	20	10	20	10	10	5	5	10	>20	10	>20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 44300	10	20	10	10	5	10	10	10	10	>20	10	>20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10231	10	>20	10	>20	5	10	5	10	10	>20	10	>20
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	20	>20	10	20	20	>20	5	10	20	>20	20	>20
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	5	>20	5	10	2.5	10	2.5	10	10	>20	5	>20
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi ATCC14028	5	>20	5	10	20	20	5	20	10	>20	5	>20

\* La CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMB (concentration minimale bactéricide) sont déterminées par la méthode de macro-dilution en milieu liquide et exprimées en  $\mu\text{l/ml}$  (v/v).

#### - Effet de l'huile essentielle d'*A. campestris*

A la lecture des résultats obtenus, on remarque que l'huile essentielle (He) d'*A.campestris* récoltée des régions de Ksar El Hirane (Laghouat) et de Gueltat Sidi Saad (Aflou) a présenté une bonne activité sur l'ensemble des souches bactériennes testées dont les CMI varient respectivement de 2.5 à 10  $\mu\text{L/ml}$ , et de 2.5 à 20 $\mu\text{L/mL}$ . Les CMI les plus basses de l'He d'*A.campestris* récoltée des deux régions ont été obtenues sur les souches *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des concentrations de 2.5 et 5  $\mu\text{L/ml}$  respectivement. Par ailleurs, l'activité inhibitrice de l'huile essentielle d'*A.campestris* de la région de Laghouat semble plus prononcée sur les autres souches testées que celle de l'huile essentielle de la même plante récoltée à Aflou.

A une concentration de 20  $\mu\text{l/ml}$ , l'huile d'*A.campestris* d'Aflou et de Laghouat a un effet bactéricide sur *S.enterica serovar Typhi* ; et à la concentration de 10  $\mu\text{l/ml}$ , l'effet

bactéricide est observé sur *E.coli*, *P.aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*. L'effet région se manifeste avec des CMB respectives de 5 µl/ml (v/v) et de 10 µl/ml contre *B.subtilis* et une CMB de 10 µl/ml (v/v) à nulle contre *Listeria monocytogenes* (> 20 µl/ml), pour l'huile essentielle de la même plante récoltée de la région de Laghouat et celle d'Aflou, respectivement.

- *Effet de l'huile essentielle d'A. herba alba*

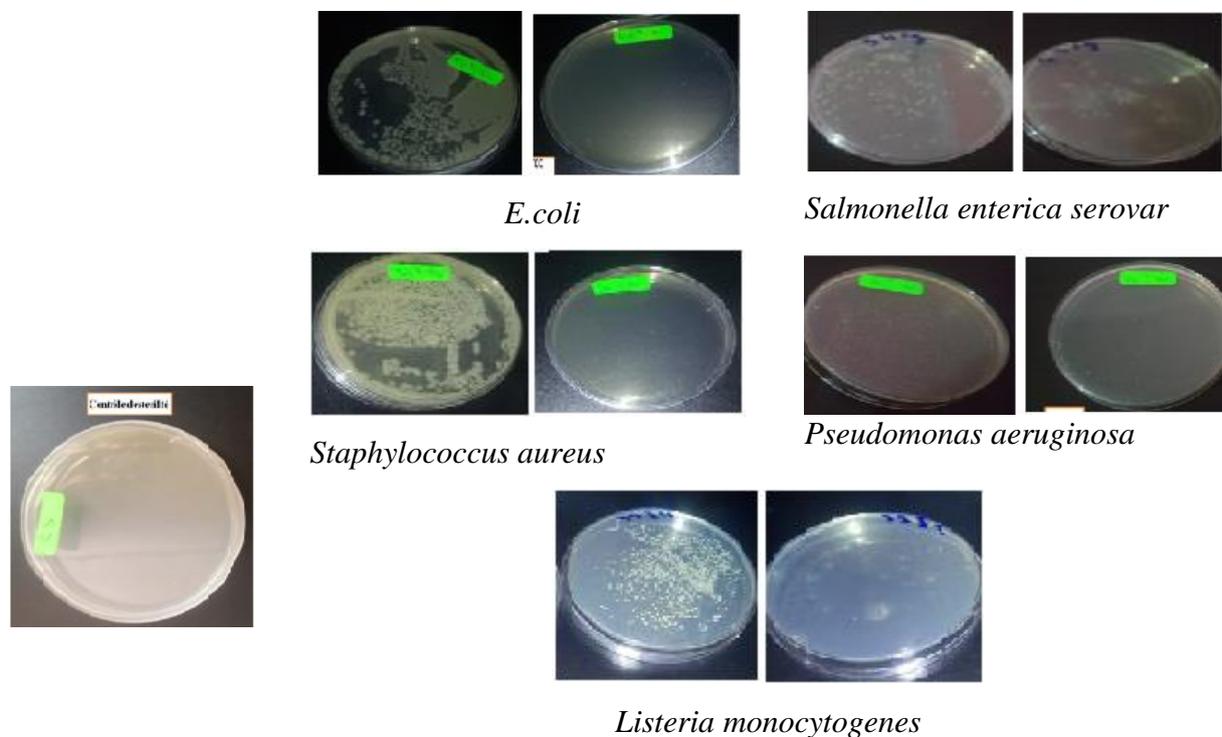
L'huile essentielle d'*A.herba alba* récoltée aux mois d'octobre et décembre a manifesté également une activité inhibitrice presque similaire contre les différentes souches testées. Le seul effet bactéricide de l'huile essentielle de la plante, est constaté pour *Bacillus subtilis* à la concentration de 20 µl/ml. Pour les deux périodes. La concentration de 5 µl/ml (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance d'*E.coli* et celle de *Salmonella enterica serovar Typhi*, alors que les bactéries *P.aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *B.subtilis* sont été inhibées à partir d'une concentration de 10 µl/ml (v/v). Tandis que l'huile essentielle d'*A. herba alba* d'hiver (décembre) exerce une activité antibactérienne plus prononcée sur *L.monocytogenes* que l'huile essentielle d'*A.herba alba* de la saison d'automne (octobre).

Enfin, l'huile essentielle d'*A.herba alba* de la saison de automne (octobre) a présenté la plus faible activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E.coli*, *Salmonella enterica serovar Typhi*. comparée à l'essence d'*A.herba alba* de l'hiver (décembre). L'effet bactéricide d'essence d'*A.herba alba* de l'hiver est détecté à la concentration de 10µl/ml (v/v) pour *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Salmonella enterica serovar Typhi*. et de concentration de 20 µl/ml pour *Listeria monocytogenes*, alors que l'huile d'*A.herba alba* de l'automne n'est montrée aucun effet Bactericide sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *E.coli*, *Salmonella enterica serovar Typhi*. (CMB> 20 µl/ml) et *Staphylococcus aureus* montre une résistance considérable à l'égard de cette huile (CMB=10 µl/ml).

- *Effet de l'huile essentielle de T. polium*

L'huile essentielle de *T.polium* a présenté la plus faible activité antibactérien contre les souches bactériennes comparée à l'essence de *A.campestris*, *A.herba alba*, pour tout les souches n'est montrée aucun effet bacteriocide (CMB> 20 µl/ml). *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, *Salmonella enterica serovar Typhi*. ont été inhibées à partir d'une concentration de 10 µl/ml (v/v). La concentration de (CMB=20

$\mu\text{l/ml}$ ) de l'huile de *T.polium* de 2 période a un effet bactéricide pour *Listeria monocytogenes*.



**Figure 19.** CMI (à gauche) et CMB (à droite) d'une huile essentielle testée des plantes étudiées sur les souches bactériennes sélectionnées.

#### IV. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles des plantes étudiées sur la bruche du pois chiche par répulsion

Les résultats du test de répulsion sont consignés dans le tableau 14. Globalement les huiles se sont montrées très répulsives à l'égard des adultes de *C. maculatus* même à la plus faible dose ( $2\mu\text{l}$ ). Le calcul du pourcentage de répulsion par la méthode de Mc Donald et *al* [143] a mis en évidence une répulsivité moyenne globale variant entre 88.8% et 97.2 %.

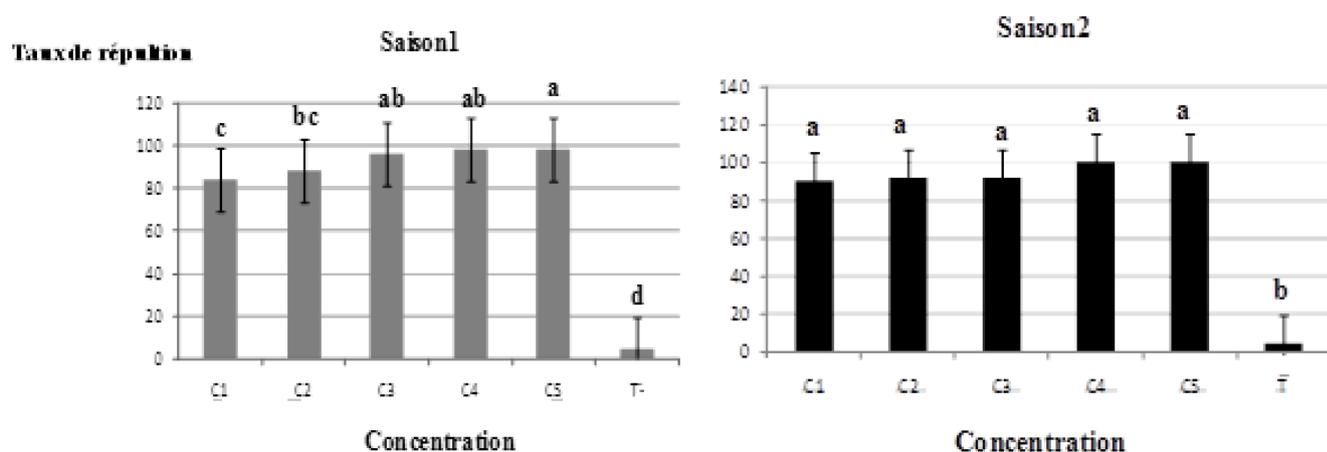
L'effet répulsif des huiles étudiées, augmente au fur et à mesure que les concentrations de l'HE augmentent variant entre 74% à la dose de  $2\mu\text{l}$  et 100% à la dose de  $12\mu\text{l}$ , après une durée d'exposition de 30 minutes.

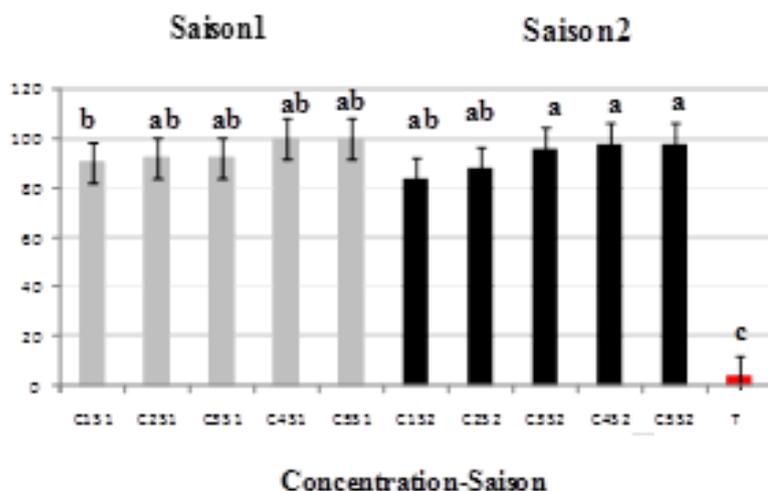
**Tableau 14.** Taux moyens de répulsion des huiles essentielles des plantes étudiées sur les adultes du bruche du pois chiche (*C. maculatus*).

Concentration Plantes étudiées	C1	C2	C3	C4	C5	Réplivité moyenne (%)	Témoin (%)	Classe répulsive	Effet
<i>A. herba alba</i> S1 (octobre)	84	88	96	98	100	93.2	4	5	Très répulsive
<i>A. herba alba</i> S2 (décembre)	90	92	92	100	100	94.8			
<i>A. campestris</i> S1 (Aflou)	86	86	88	100	100	92			
<i>A. campestris</i> S2 (Lghouat)	74	80	90	100	100	88.8			
<i>T. polium</i> S1 (octobre)	86	88	100	100	100	94.8			
<i>T. polium</i> S (décembre)	86	100	100	100	100	97.2			

Les résultats de l'analyse comparative des moyennes des taux de répulsion des huiles essentielles des trois plantes est donnée dans les figures 20, 21 et 22.

Les taux moyens de répulsion due aux huiles essentielles d'*A. herba alba* de la saison automnale montrent des valeurs similaires aux doses C3, C4 et C5 (groupe a et ab) (6, 8, 12)  $\mu$ l avoisinant un taux de 100% de répulsion comparativement au témoin non traité. On peut remarquer que l'effet répulsif est significativement différent entre les doses C5, C2 et C1 (12, 4 et 2)  $\mu$ l (groupe a, bc et c) (fig. 23). Le groupe (d) correspond à la moyenne du taux de répulsion obtenu chez les témoins (fig. 20). L'huile essentielle de la plante récoltée pendant l'hiver a induit un taux de répulsion similaire pour toutes les doses (fig. 23). Le test de Tukey, classe les cinq doses dans un seul groupe homogène (groupe a), le groupe (b) correspond au témoin (fig. 20).



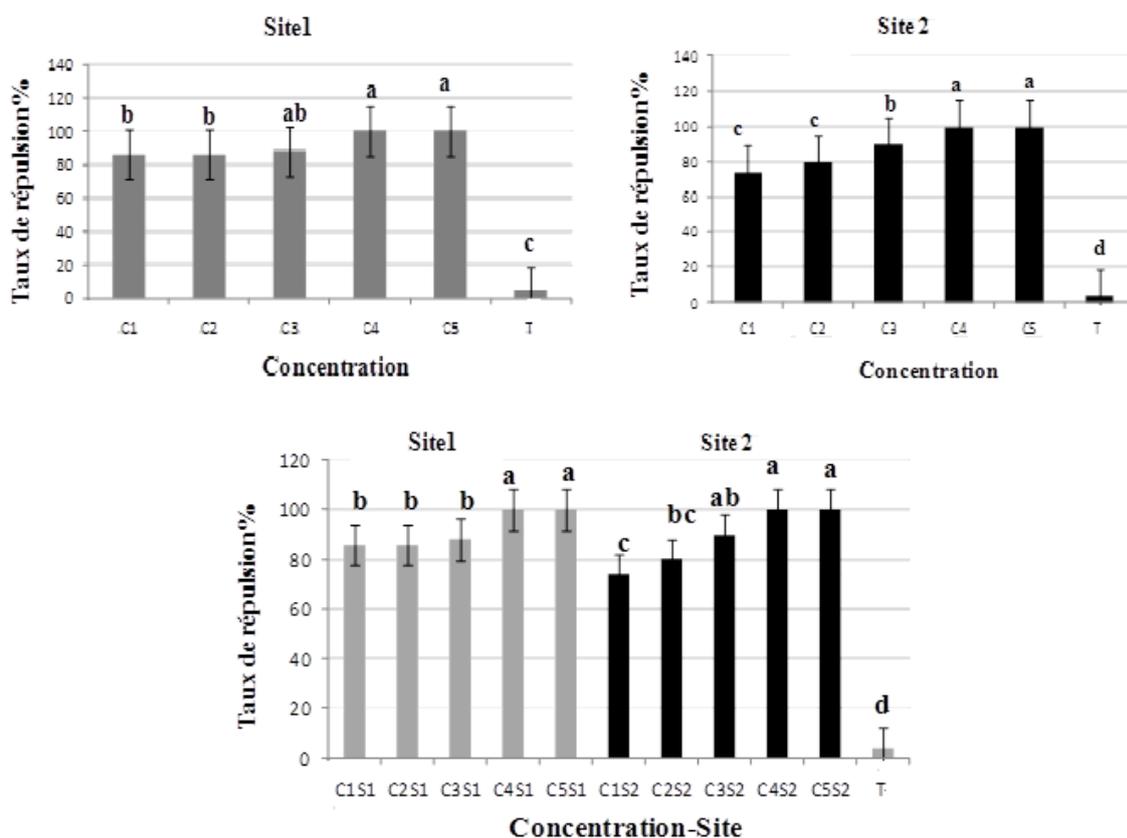


**Figure 20** : Taux moyens de répulsion de l'huile essentielle d'*A. herba alba* sur la bruche du pois chiche *C. maculatus*. (Test post Hoc de Tukey facteur saison et effet de l'interaction concentration x saison).

La figure 21 montre la variation du pourcentage de répulsion de l'huile essentielle de la plante *A. campestris* selon les doses utilisées et le site de récolte.

L'effet répulsif exprimé en pourcentage, de l'huile essentielle d'*A. campestris* aux 5 doses testées, a été comparé selon le facteur localité (Aflou Site 1-S1 et Laghouat Site 2-S2) et selon l'interaction site \* concentration. D'après le test post Hoc de Tukey, les 5 doses de l'huile essentielle de la plante d'Aflou sont classées dans trois groupes homogènes différents où le pourcentage de répulsion est supérieur à 80%. Le premier groupe (a) comprend les moyennes de répulsivité les plus élevées dues aux doses C5 et C4, le second groupe (ab) caractérise l'effet répulsif aux doses C3 C2 et C1 dans le groupe (b) et le groupe (c) correspond au témoin (fig. 21). Les effets répulsifs des doses C5 et C4 de l'huile essentielle de la plante de la région d'Aflou diffèrent significativement de ceux des doses C1 et C2 et du témoin. De manière similaire, les doses C5 et C4 de l'huile essentielle de la même espèce, mais récoltée à Laghouat (groupe a) ont exercé un effet répulsif significativement différent de celui de l'He à la dose C3 (groupe b), et celui des doses C1 et C2 dans le groupe (c), en comparaison avec le témoin non traité (groupe d), (fig. 21).

L'effet de l'interaction dose \* site de récolte de *A. campestris*, est différent et significatif entre les taux moyens de répulsion des doses C5 et C4 quelque soit le site de récolte et les taux moyens de répulsion due aux doses C1, C2 et C3 des deux localités Aflou et Laghouat (fig. 21).

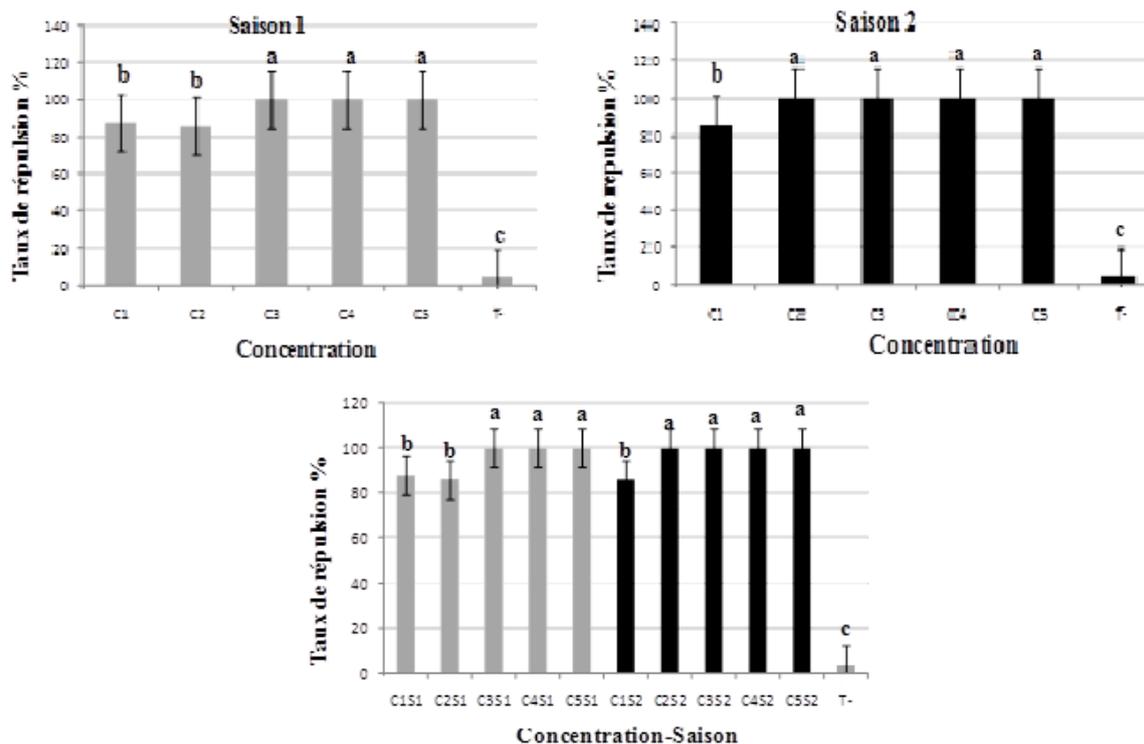


**Figure 21.** Taux moyens de répulsion de l'huile essentielle d'*A. campestris* sur la bruche du pois chiche *C. maculatus*. (Test post Hoc de Tukey facteur site et effet de l'interaction concentration x site de récolte).

La figure 22 présente les effets répulsifs % comparés de l'huile essentielle de la plante *T. polium* sur les adultes du bruche du pois chiche.

Les 5 doses de l'huile essentielle de *T. polium* d'octobre sont classées selon le test de Tukey dans deux groupes différents des taux de répulsion où les doses testées C5, C4 et C3 sont rassemblées dans le groupe (a) et les doses C2 et C1 dans le groupes (b), le groupe (c) correspond au témoin (fig. 22).

Les mêmes doses de l'huile essentielle de la plante récoltée en décembre sont classées d'après le test de Tukey dans deux groupes homogènes différents : le groupe (a) correspond aux moyennes de répulsion aux doses C2, C3, C4 et C5, le groupe (b) correspond au taux de répulsivité de la concentration C1 et le groupe (c) correspond au témoin (fig. 22).



**Figure 22:** Taux moyens de répulsion de l'huile essentielle de *T. polium* sur la bruche du pois chiche *C. maculatus*. (Test post Hoc de Tukey facteur saison et effet de l'interaction concentration x saison de récolte).

Le test de comparaison multiples de Tukey a mis en évidence deux groupes homogènes relatifs à l'effet de l'interaction saison \* dose. On distingue les pourcentages de répulsion les plus élevés dus aux doses C5, C4, C3 de l'huile essentielle de *T. polium* des deux saisons de récolte automnale et hivernale ainsi que la dose C2 de la saison hivernale seulement dans le groupe (a), les plus faibles doses avec des moyennes de taux de répulsion moins élevées dans le groupe (b), le groupe (c) correspond au témoin, (fig. 22).

## V. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles des plantes étudiées sur la bruche du pois chiche par inhalation

D'après les résultats présentés dans le tableau 15, les taux de mortalité des adultes de *C. maculatus* augmentent en fonction des doses des huiles essentielles utilisées (D1 : 40, D2 : 80, D3 : 120, D4 : 160 et D5 : 240)  $\mu\text{L}$  de volume d'air respectivement. Les taux de mortalité les plus élevés sont observés avec l'huile essentielle d'*A. herba alba* et de *T. polium* quelque soit la saison de récolte ainsi que celle d'*A. campestris* récoltée à Aflou; où la

mortalité a atteint 100% après une durée d'exposition de 24 heures à la dose (D4) et un taux de mortalité maximal d'environ 90% obtenu après 24 heures d'exposition à la dose (D5) de l'huile essentielle des échantillons de Laghouat.

**Tableau 15.** Variation des taux de mortalité des adultes de *C. maculatus* aux 5 doses testées et DL50/DL90 obtenues.

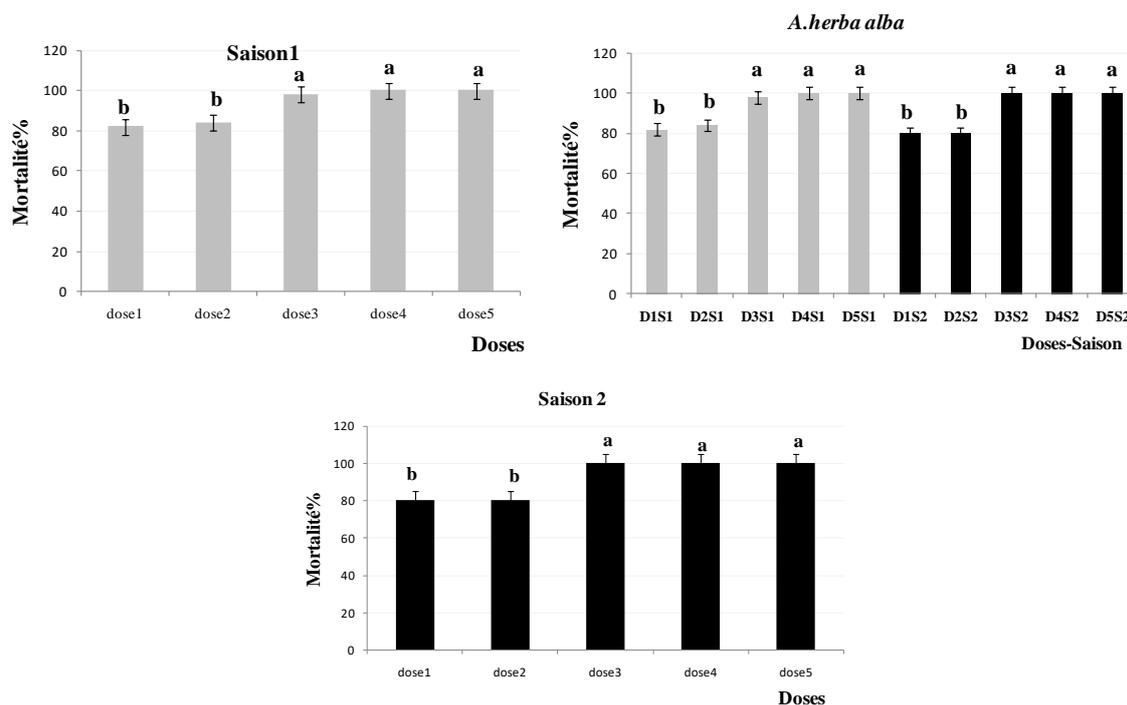
Concentration Plantes étudiées	D1	D2	D3	D4	D5	Mortalité moyenne (%)	DL50	DL90
<i>A. herba alba</i> S1 (octobre)	82	84	98	<b>100</b>	100	92.8	1,30	3,20
<i>A. herba alba</i> S2 (décembre)	80	80	<b>100</b>	100	100	92	1,32	3,02
<i>A. campestris</i> S1 (Aflou)	54	72	96	<b>100</b>	100	84.4	2,19	4,29
<i>A. campestris</i> S2 (Laghouat)	32	52	58	<b>90</b>	90	64.4	3,22	10,78
<i>T. polium</i> S1 (octobre)	72	76	76	90	<b>100</b>	84	1,88	5,06
<i>T. polium</i> S2 (décembre)	60	76	<b>100</b>	100	100	87.2	1,82	3,60

- Effet de l'huile essentielle d'*A. herba alba* et d'*A. campestris*

Le test de Tukey à un niveau de confiance de 95 %, classe les 5 doses huiles essentielles d'*A. herba alba* des deux saisons de récolte (octobre et décembre), dans deux groupes homogènes de pourcentages de mortalité différents, les doses D5, D4 et D3 dans le groupe (a) et les doses D1 et D2 dans le groupe (b), (fig. 23).

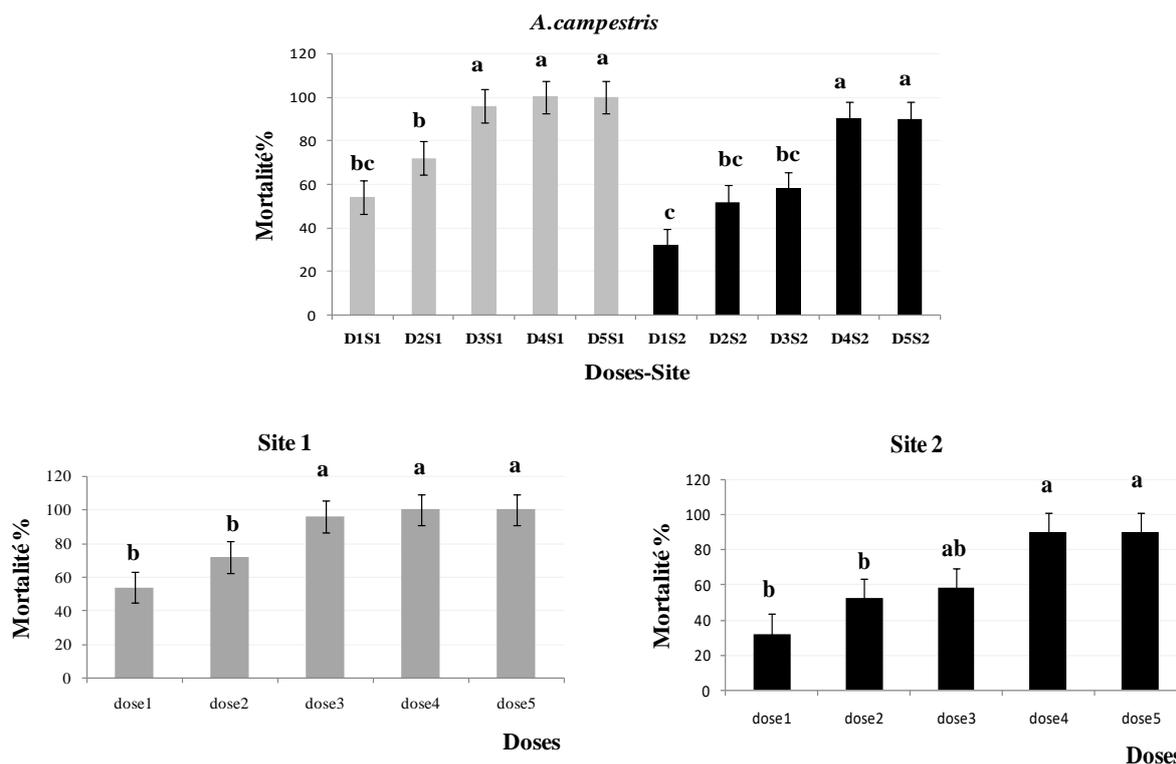
L'effet de l'interaction dose \* saison de récolte d'*A. herba alba*, montre une différence significative entre les taux de mortalité de l'huile de la plante aux doses D5, D4 et D3 quelque soit la saison (groupe a), et les taux de répulsion de l'huile de la plante aux doses D1-et D2 des deux saisons de récolte dans le groupe (b), (fig. 23).

Les informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %, classe les 5 doses huiles essentielles de *A. campestris* S1 dans deux groupes différents : les doses D5, D3 et D4 dans le groupe (a) et les D2 et D1 dans le groupe (b) (fig 24), alors que pour les 5 doses huiles essentielles de *A. campestris* S2, le test de Tukey, classe les cinq doses dans trois groupes différents le groupe (a) correspond les doses D4 et D5, le groupe (ab) correspond au concentration D3, alors les doses D1 et D2 dans le groupe (b), (fig 24).



**Figure 23:** Mortalités% des bruches *C. maculatus* par inhalation de l’huile essentielle d’ *A. herba alba* (effet saison et interaction).

Concernant l’effet de l’interaction dose et la station de récolte de *A. campestris*, les groupes homogènes avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %, se distinguent dans quatre groupes différents, (D5-S1/S2), (D4-S1/S2), (D4-S2) et (D3-S1) dans le groupe (a), les pourcentages de mortalité moyenne des bruches due à la dose (D2-S1) dans le groupe (ab), les mortalités moyennes (D1-S1) (D2-S2) et (D3-S2) dans le groupe (bc) et le traitement (D1-S2) dans le groupe (c) (fig. 24).

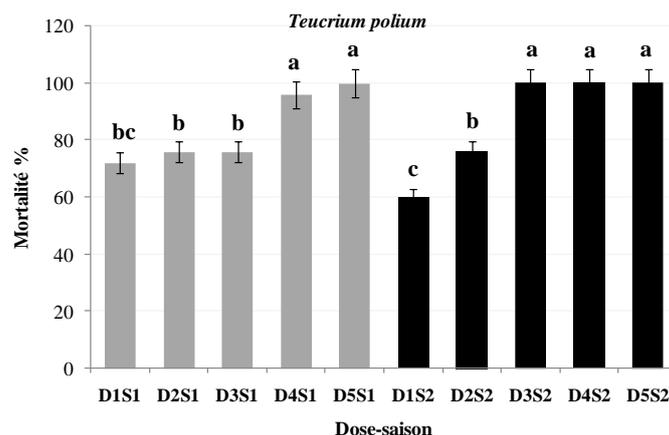


**Figure 24.** Mortalités % des bruches *C. maculatus* par inhalation de l'huile essentielle d' *A. campestris* (effet site de récolte et interaction).

- *Effet de l'huile essentielle de T. polium*

La figure 25 montre des taux de mortalité dues à l'huile essentielle de *T. polium* d'automne très élevés (à D4 et D5) qui constituent un groupe homogène (groupe a) différent de celui qui regroupe des taux de mortalité sous l'effet de D1 D2 et D3 (groupe b). De manière similaire, l'effet des doses D4 et D5 de l'huile de la plante récoltée en hiver (groupe a) se différencie nettement des groupes b et c, relatifs à des taux de mortalités significativement moins importants sous l'effet des doses D1 et D2 de l'huile essentielle de la plante (fig. 25).

Pour le facteur interaction entre dose et la saison de récolte de *T. polium*, les informations des groupements homogènes obtenus avec la méthode de Tukey et à un niveau de confiance de 95 %, classent les moyennes de mortalité (D-S) dans quatre groupes différents, (D5-S1) (D5-S2) (D4-S1) (D4-S2) (D3-S2) dans le groupe (a), les moyennes de mortalité (D2-S1) (D2-S2) (D3-S1) dans le groupe (b) celles obtenues pour (D1-S1) dans le groupe (bc) et celles observées avec la (D1-S2) dans le groupe (c) (fig. 25).



**Figure 25.** Mortalités % des bruches *C. maculatus* par inhalation de l'huile essentielle de *T. polium* (effet saison de récolte et interaction).

- *DL50 et DL90*

Le calcul des DL50 et DL90 des populations de *C. maculatus* montre que les plus faibles doses sont celles trouvées pour l'espèce *Artemisia herba alba* pour les deux périodes de récolte (1,30 et 1,32  $\mu\text{L}/\text{L}$  air) suivis par celles mises en évidence pour *T. polium* (1,82 et 1,88  $\mu\text{L}/\text{L}$  air) puis celles attribuées à *A. campestris* D'Aflou et *A. campestris* de Laghouat (tab. 15). Ces doses sont très faibles devant celles que nous avons testées dans cette étude et qui expliquent la mortalité importante observée.

# Chapitre 4

# Discussion

## I. Rendement

Les rendements en huiles essentielles des plantes étudiées sont très variables d'après la littérature. Différents cas se présentent selon la localité, la saison de récolte de la plante et selon le stade phénologique ainsi que d'autres paramètres tels que l'état sec ou frais de la plante et la durée de l'extraction de l'huile.

Le rendement de l'huile essentielle d'*A. campestris* récolté en juin à Djelfa est de 0.1 % [89], il peut varier selon Souhila et al, [144] entre 0.37 à 0.41 % tout dépend de la saison de la récolte (printemps et été), et entre 0.12 à 0.29 % non seulement selon la région de récolte mais aussi selon l'état de la plante (fraîche ou sèche) et la durée de l'extraction [145]. Les stades phénologiques de la plante (végétatif, floraison, fructification) influe également sur le rendement de *A. campestris*, variant entre 0.5 à 1.4% [146]. Le rendement en huile essentielle de cette espèce obtenu par Belhattab et al [147] est similaire à celui obtenu dans le présent travail, où il est d'environ 0.66 %. Différents travaux mentionnent des rendements plus faibles de la plante (0.1 %) à Djelfa [89], de même qu'à Batna pendant la floraison [148], et des rendements de 0.4 % au Maroc et en Tunisie [84, 149, 150] pendant la floraison également. D'autres rendements de la même huile sont par contre plus élevés que ceux que nous avons obtenu : 1% en Algérie [151], 1.7% au Maroc [152] et de l'ordre de 2.6% en Tunisie [153].

Les rendements en huiles essentielles varient également pour *A. herba alba* selon les mêmes facteurs influents que pour *A. campestris*. On retrouve des valeurs comprises entre 0.84 et 2.03 % et des rendements de l'huile de la plante de 0.2, 1.19, 0,6 et 0,74 % dans différents régions au Maroc selon la saison de récolte (mars, juin, septembre et décembre) dans une même région [154, 155]. Les travaux de Belhattab, et ses collaborateurs, [157] montrent par ailleurs une variation du rendement en huile essentielle de la plante de 0.16 à 0.94 % selon la localité en Algérie et la période de récolte (juillet octobre et novembre) [156]. Comme pour *A. campestris*, les rendements en huile essentielle d'*A. herba alba* se différencient selon l'organe de la plante (tige, feuilles, racine), et selon la technique d'extraction pour un même échantillon [158].

Le rendement en huile essentielle de la Lamiacée étudiée *T. polium* récoltée d'une part en octobre (0.2 %) est similaire à celui obtenu par différents auteurs [119, 159, 160] qui ont enregistré des rendements variant entre 0.21, et 0.29, 0.27% respectivement. D'autre part, la valeur du rendement en huile essentielle de la même plante récoltée au mois de décembre de 0.42 % est presque identique à celle de travaux de Sayyad et al. [160], qui ont enregistré un

rendement de 0.45%. En Serbie et en Bulgarie, ainsi que dans la région de Sétif, les teneurs en huile essentielle de *T. polium* étaient supérieures de l'ordre de 0.08%, 0.14% et 0.11% respectivement [118, 162]. Par ailleurs, quelque soit la période de récolte à Aflou, le rendement en huile obtenu de la plante de 1.2 % reste inférieur en comparaison avec celui d'autres échantillons des fruits [163] et la partie aérienne de la même espèce récoltée au printemps (pendant la floraison) dans la région de Tessala et Ain Mlila avec des valeurs de rendements de 1,66% et 1,7 % respectivement [122, 164].

Les travaux de Lianopoulou, et *al.*, [165] ont rapporté que les feuilles de *T. polium* en hiver présentent une série de traits morphologiques et anatomiques qui sont absents dans les feuilles en période estivale, ce qui peut expliquer la production plus élevée d'huile essentielle en hiver comme l'une des stratégies défensives contre le stress dû à de basses températures. Ainsi, McCaskill et *al.*, [166] ont indiqué que le rendement élevé en huile essentielle dans les feuilles correspond à un nombre plus élevé de poils glandulaires, car ces derniers sont responsables de la biosynthèse de produits naturels tels que l'huile essentielle, les esters de saccharose et les composés phénoliques. Les feuilles de *T. polium* en hiver ont un taux de photosynthèse plus élevé que celui des feuilles de la plante en été. De plus, les cellules du mésophylle sont denses avec des chloroplastes plus grands et plus nombreux, ce qui reflète une plus grande zone d'absorption de CO<sub>2</sub> et induit par conséquent une augmentation du taux de photosynthèse. De ce fait, les cellules produisent de plus grandes quantités de carbone photosynthétique qui sont investies dans la biosynthèse des métabolites secondaires nécessaires à la protection contre le stress aux basses températures [165]. La diminution du rendement en huile essentielle du stade végétatif à la floraison a été expliquée par l'adaptation de *T. polium* aux variations climatiques. Ainsi, les métabolites de la voie des terpénoïdes (monoterpènes, sesquiterpènes) sont impliqués dans l'écophysiologie de la plante [167].

## II. Composition phytochimique

Le concept de chémotype explique la grande variabilité quantitative et qualitative de la composition en huiles essentielles des plantes aromatiques, ce qui confirme la divergence des résultats rapportés pour une plante donnée [115, 164]. L'identification des chémotypes est basée sur les composés prédominants [168].

Dans la présente étude, il y a lieu de signaler la variabilité des chémotypes des huiles essentielles des espèces de plantes spontanées étudiées tant en nombre de composés majoritaires qu'en leur teneurs respectives. D'après nos résultats chez *A. campestris*, l' $\alpha$ -

Pinene (10.09% et 13.39 %) et  $\beta$ -Pinene (23.75% et 21.52%) sont les terpènes représentés par les pourcentages les plus élevés. Pour d'autres auteurs, d'autres composés majoritaires différents de ceux de nos résultats, ont été également identifiés en Algérie comme le germacrene D (10.34%), capllin (12.03% et 46.93%), le Sabinene (17%) et  $\beta$ -Myrcene (4.12 et 17.34%), [169, 170, 171]. Pour certains composés majoritaires caractérisés dans notre étude, Ghanai, et *al.*, (2018) [172] ont mentionné d'autres teneurs pour le  $\beta$ -Pinene (28.94%), o-cymene (13.35%),  $\alpha$ -Pinene (8.83%) et Limonene (8.51%).

L'analyse par CPG-MS de l'huile essentielle de la même plante de la région de Boussaada, a permis d'identifier d'autres constituants qui sont le Terpenyl acetate (18.8%), le Camphor (9.2%), Camphene (7.7%) et Borneol (5.2%) avec d'autres composés mineurs identifiés comme le Terpinen-4-ol (2.2%),  $\alpha$ -Terpineol (3.6%) et Bornyl acetate (2.7%), [147]. La variation du chemotype de cette plante récoltée en période estivale à Boussaada, est caractérisée par la présence de l' $\alpha$ -Pinene (39.71%), le a-Eudesmol (10.94%), o-Cymene (10.2%), Santolinatriene (7.36%), (-)-Spathulenol (6.98%) et cis-Lanceol (3.69%), [144]. Le profil phytochimique de l'huile essentielle de la même espèce récoltée en période hivernale était constitué par  $\alpha$ -Pinene (29.55%),  $\tau$ -Terpinen (9.54%), Santolinatriene (9.26%),  $\alpha$ -Muurole (8.64%), o-Cymene (8.38%), (-)-Spathulenol (5.94%), (-)-Isoledene (4.1%), 3-Carene (3.93%), cis-Lanceol (2.65%) a-Eudesmol (3.31%). Les mêmes auteurs [144] ont trouvé cependant, en saison printanière d'autres composés et d'autres teneurs dans l'huile essentielle différents que ceux de certains composés caractérisés en saison hivernale comme pour  $\mu$ -Muurole (37.12%),  $\alpha$ -Pinene (23.95%), 3-Carene (8.8%), Santolinatriene (8.55%),  $\tau$ -Terpinen (4%),  $\tau$ -Gurjunene (3.23%) et Farnesene (2.61%).

Des recherches réalisées sur la composition phytochimique de l'huile essentielle d'*A. campestris* en Tunisie ont montré que le germacrene D,  $\beta$ -Pinene et  $\beta$ -eudesmol ont été les principaux éléments trouvés [82, 173]. D'autres recherches réalisées au Maroc [84, 149], indiquent des composés plus dominants dont le spathulenol et  $\beta$ -eudesmol

Concernant la seconde espèce d'*Artemisia* étudiée, différents constituants de l'huile essentielle de la plante ont été caractérisés. Dans la région de Djelfa au mois d'avril, l'analyse de l'huile essentielle d'*A. herba alba* par CPG-MS a montré la présence du Camphre (37.5%), Chrysanthenone (10.38%), 1,8-cineole (8.6%),  $\alpha$ -thujone (7.03%), Camphene (6%) et d'autres composés mineurs comme le Borneol (3.53%), Bornylacetate (2.52%) et  $\alpha$ -pinene (1.16%) [174]. De manière similaire, la même espèce provenant de la région de Batna a été

généralement caractérisée par le Camphor (50.47%), $\alpha$ -Thujone (12.71%) b-Thujone (9.97%), Chrysanthenone (8.19%),Eucalyptol (8.19%),Camphene (2.42%) et Pinocarvone (2.32%) [175]. D'autres teneurs et constituants chimiques de l'huile essentielle de cette plante ont été caractérisés chez *A. herba alba* de la région de Souk Ahrass en octobre. Il s'agit de composés majoritaires comme le Camphor (50.47%),  $\alpha$ -Thujone (12.71%), b-Thujone (9.97%), Chrysanthenone (8.19%), Eucalyptol (8.19%) avec la présence d'autres composés mineurs comme le Camphene (2.42%) et Pinocarvone (2.32%) [176]. Dans les travaux de Dob et Benabdelkader, [177], il est signalé d'autres chemotypes d'*A. herb alba* de la région de Msila tels le camphor (19.4%), trans-pinocarveol (16.9%), chrysanthenone (15.8%),  $\beta$ -thujone (15%),  $\gamma$ -terpinene (2.8%),ethyl (E)-cinnamatede (2.8%), terpinen-4-ol (2.7%) et  $\alpha$ -ylangene (2.6%).

Au Maroc (Région d'Imouzzer Marmoucha), l'huile essentielle de la partie aérienne d'*A.herba alba* est caractérisée par la présence d'autres composés principaux comme Artemisia alcohol et Trans-pinene hydrate[154, 155]. Des travaux effectués en Jordanie ont montré que les monoterpènes réguliers sont des composés prédominants (39,3%), dont le  $\alpha$  et  $\beta$  thujones (27,7%), l'acétate de sabinyl (5,4%), germacene D (4,6%),  $\alpha$ -Eudesmol (4,2%) et le carophyllene acétate (5,7%),[178]. Celle provenant du Tunisie a été généralement caractérisée par des substances cétoniques élevées comme l'  $\alpha$  et  $\beta$  thujone[179], ainsi quel Camphor (39.1%) et la Chrysanthenone (15%), [180].

Pour *T.polium*, plusieurs travaux confirment le polymorphisme chimique de l'huile essentielle de cette plante récoltée de différentes régions et saisons. D'après Maizi, et al.,[167],l'huile essentielle de la partie végétative de *T. polium* de la région de Mascara présente un chémotype de type Limonene (29.87%),Spathulenol (17.24%), Camphor (8.2%), Pinocarvone (7.76%), Pineneoxide (4.78%) et tau.-Cadinol (4.22%). Par contre, l'huile essentielle de *T. polium* d'Oman est constituée majoritairement du Ledeneoxide (II) (20.47%), $\beta$ -Eudesmol(11.59%), Linalylacetate (11.16%) et l' $\alpha$ -trans-Bergamatene(6.81%) [181]. L'huile essentielle de la même plante d'Iran est prédominée par le 8 Piperitenoneoxide (21.72%),  $\alpha$ -pinene(11.33%), Carvone(11.29%), Spathulenol(6.23%),  $\beta$ -pinene (5.77%), Limonene(5.03%), Myrcene(4.34%) et  $\beta$ -eudesmol(4.28%),[182].

Les travaux de Lianopoulou, et al.,[165]signalent une diversification chimique par rapport à la saison de récolte de cette espèce. En hiver, l'huile essentielle de cette dernière est majoritairement constituée de Germacrene D (19.5%), Linalool(7.8%), Terpinen-4-ol (6.1%),

$\alpha$ -Ylangene (5%),  $\beta$ -Bourbonene(4.6%), delta-Cadinene(4.1%), et letrans-Pinocarveol(3.9%). Par contre en été, les composés majoritaires comprennent le Germacrene D (8.7%),  $\beta$ -Pinene (8.2%), Terpinen-4-ol (5.3%), p-Cymene(4.5%), 1,8-Cineole (4.4%),Spathulenol(4.1%) et  $\alpha$ -Pinene(3.9%).

La diversification chimique de l'huile essentielle de *T. polium* dépend par ailleurs du stade phénologique de la plante et de son origine. On retrouve principalement le Germacrene D (25.0%),  $\beta$ -Pinene(11.3%),Bicyclogermacrene(10.4%), Spathulenol(5.8%) et le Limonene (4%) dans l'huile de la plante récoltée à Bouira [159]. La même plante récoltée à Tlemcen, présente une huile essentielle composée essentiellement de Germacrene D (25.81%), Bicyclogermacrene (13%),  $\beta$ -pinene (11.69%), Carvacrol(8.93%), Spathulenol(6.53%), $\delta$ -cadinene (4.31%), $\alpha$ -pinene (3.96%) et Citronnelle(3.64%) [119]. Dans la région de Sétif, l'huile essentielle de la partie aérienne de *T. polium* est caractérisée par des composés majoritaires dont le  $\beta$ -pinene (30.61%),carvacrol(13.09%), $\alpha$ -pinene(10.40%),le Germacrene D (9.30%), la nopinone (6.20%), le myrtenal(5.76%)et le limonene (3.04%), [162].

La différence de composition et de rendement des huiles essentielles des plantes étudiées résulte probablement de l'effet de diverses conditions environnementales telles le type de sol, la disponibilité des eaux souterraines, la température, la durée d'ensoleillement le génotype, l'origine géographique, la période de récolte [18, 183,184,185] ainsi que la disponibilité des nutriments qui connus pour affecter la présence et/ou les concentrations des principes actifs, dont les huiles volatiles de diverses herbes médicinales. Le site d'échantillonnage et le moment de la collecte du matériel végétal sont des facteurs supplémentaires qui peuvent influencer la composition phytochimique des huiles essentielles, [160].

Les différences et variabilité des résultats en ces composés peuvent être attribuées à la diversité des paramètres morphologiques (largeur et longueur des feuilles, ainsi que la hauteur de la plante), physiologiques (stade phénologique de la plante) et génétiques tels que l'écotype, le chemotype, et la sous-espèce récoltée [186].Les différences de rendement et de composition en huile essentielle entre les plantes sont interprétées comme étant liées à des facteurs de stress environnementaux [187] induisant la production de composés bioactifs qui interviennent dans des voies de biosynthèse terpéniques spécifiques [188]. Dans des conditions de stress, l'activité des enzymes biosynthétiques terpéniques augmente [189] ainsi que le taux de photosynthèse et de production de glucides [167]. Sur ce point, il est considéré

qu'un rendement et une composition plus élevés en huile essentielle sous stress peuvent être dus au fait que le carbone photosynthétique est affecté à la biosynthèse des terpènes plutôt qu'à la croissance, [165].

Les facteurs de gestion comme la méthode et la durée du séchage, la méthode d'extraction et la détection par CPG et/ou CG-MS ont un effet sur la composition en constituants des huiles essentielles pouvant affecter différemment la diversité phyto-chimique des plantes médicinales et aromatiques,[190].

Les résultats rapportés dans ce travail en comparaison avec ceux de travaux publiés cités précédemment, ont montré une grande variabilité dans la composition des huiles essentielles des échantillons des plantes étudiées, prélevés dans des environnements différents, non seulement en relation avec les teneurs et nombre de composants majeurs, mais aussi en relation avec la représentation des groupes de terpènes.

### III. Activité antifongique

La détermination des CMF et CMB des huiles essentielles testées sur les souches fongiques et bactériennes à travers l'inoculation sur un milieu solide confirme les résultats des CMI obtenus en milieu liquide.

Le mécanisme d'action des huiles essentielles contre les micro-organismes, n'est pas totalement élucidé, mais quelques auteurs ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations [191]. La diminution de la croissance des microorganismes pourrait s'expliquer par la présence dans ces huiles, de composés terpéniques ayant une activité antimicrobienne. L'activité antifongique des terpènes, est directement liée à l'incorporation de ces composés dans les membranes cellulaires. Ainsi, les différences de composition lipidique des différentes membranes pathogènes peuvent être le facteur déterminant de l'activité de ces molécules,[192, 193].

Plusieurs études ont démontré l'activité des huiles essentielles d'*A herba-alba* de Tunisie, contre différentes souches fongiques. Zouari et al.,[194] ont mentionné des diamètres d'inhibition du développement de *Fusarium* sp, *Fusarium solani*, et *Aspergillus oxysporum* de 27.0±1.6mm, 27.7±2.5 mm et 51.0±5.0mm respectivement, à une concentration de 10 µl/disque. Kolai et al.,[195] ont également constaté cette activité anti fongique efficace à une dose de 200µl/ml contre *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici*. Les souches de *Fusarium sp* (isolats de la couronne moyenne des palmiers infectés et isolats de la rhizosphère

de ces palmiers) des régions d'Adrar, Ghardaïa et Bechar, ont manifesté une sensibilité aux concentrations de l'huile essentielle d'*A. herba alba*. La croissance de ces isolats est inhibée à partir d'une concentration minimale de 2.5µl/ml tandis que la doses de 80µL/ml de l'huile essentielle de cette plante a induit un effet fongicide contre tous les isolats de *Fusarium sp*, [196].

Additionnellement, l'huile essentielle de la plante récoltée dans cinq régions de l'est du Maroc a montré d'après Btisam et al,[154, 155], une efficacité contre les moisissures *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *P. expansum*.

Peu d'études ont abordé l'effet antifongique des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* contre des espèces fongiques phytopathogènes. Dans une étude de Houicher et al.,[169], les doses de 1.25 à 20 µL/ml des huiles essentielles de cette plante se sont avérées fongicides contre 10 espèces phytopathogènes et de post-récolte. La valeur de la CMI de l'He d'*A. campestris* contre la croissance de *Fusarium graminearum* F5883 est similaire à celle rapportée par Houicher et al.,[169] et El Houiti et al., [197]avec une valeur de 1,25 µl/ml contre les souches INRA 349 et MUCL 53452 de cette espèce fongique. Erel et al.,[198]ont signalé que l'huile essentielle de l'inflorescence d'*A.campestris* présentait une activité antifongique contre *Candida albicans* (ATTC10239) avec une zone inhibition de 18 mm.

Dans la littérature, à notre opinion seules deux études [119, 199] ont étudié l'effet antifongique de l'huile essentielle de *T.polium* sur des espèces fongiques phytopathogènes (*Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*).Les travaux de Belmekki, et al.,[119]ont mentionné des résultats similaires à ceux que nous avons obtenu dans cette étude à savoir une CMI égale à 10ul/ml. Touaibia,[199] a mis en évidence une activité antifongique de l'huile essentielle de cette plante à une CMI de 15ul contre *Aspergillus flavus* avec une zone d'inhibition de 23mm. Néanmoins, les travaux de Saleh, et al.,[200]signalent que la même huile à un volume de 10ul/disque, ne présente aucun effet antifongique contre *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* et *Candida albicans*.

Très peu d'études ont examiné l'activité antifongique (effet fongistatique) de l'huile essentielle de *T.polium* contre différentes maladies fongiques mais aucun rapport n'existe sur leur effet fongicide.

Des degrés variables d'activités antimicrobiennes contre différentes espèces de champignons de maladies cliniques ont été cependant trouvés sur *Candida krusei*, *Candida*

*albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *T. soudanense*, *Aspergillus fumigatus* et *Scopulariopsis brevicaulis* [121, 160, 199, 201]

La différence de concentration minimale inhibitrice (CMI) de *T. polium* (Tp) sur les souches fongiques peut être due à une différence de la composition chimique de l'huile essentielle. Nous avons montré que l'huile de Tp d'hiver est riche en certains composés qui sont absents dans huile essentielle de Tp d'automne comme le camphre et l'eucalyptol, le camphène, le borneol, l' $\alpha$ -terpinéol et le terpène-4-alcool. La présence d'une teneur élevée en monoterpènes oxygénés (thuyones, camphre et 1,8-cinéole) dans l'huile essentielle d'*A. herba alba* récoltée en hiver est à l'origine de son activité prononcée contre *Staphylococcus aureus* par rapport à celle des échantillons récoltés en automne,[202].

L'effet antifongique des huiles essentielles est dû essentiellement à la nature de leurs composés majeurs mais en partie à la nature de leurs composés mineurs. Des phénomènes de synergie ou d'antagonisme entre les différents constituants peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires,[203]. Ourain et *al.*,[204] ont montré qu'en raison de la complexité de la composition chimique des huiles essentielles, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action. Donc, chacun des constituants d'une huile essentielle à son propre mécanisme. Plusieurs auteurs, notamment Sharma et Tripathi[205], Mares et *al.*,[206] ont constaté que les huiles essentielles peuvent causer des changements morphologiques qui se caractérisent par l'insuffisance de sporulation du champignon, la perte de pigmentation, le développement anormal des conidiophores et la déformation des hyphes.

Cependant, il est possible que d'autres molécules mineures modulent l'activité des principaux composants [207]L'activité biologique et la valeur médicinale des plantes sont généralement dues à leurs profils phytochimiques, dont la composition est totalement dépendante de facteurs géographiques et environnementaux,[207]. Cela indique donc le rôle important joué par les composants mineurs.

Certain travaux s'orientent principalement sur l'étude du mode d'action de quelques composés et leur effet antifongique, comme pour l' $\alpha$ -pinène, (+)- $\beta$ -pinène et le limonène. L'étude de Nóbrega [208] a démontré un bon potentiel antifongique de l' $\alpha$ -pinène contre *Candida spp.* isolé de l'automycose, avec la capacité de réduire la formation de blastoconidies et de pseudohyphes. Le  $\beta$ -pinène est un composé naturel à activité antifongique et le (+)- $\beta$ -

pinène présente une activité anti-biofilm contre de multiples espèces de *Candida* [209, 210]. Dans les travaux de Chee et al., [211], il a été démontré que le limonène exerce un puissant effet antifongique contre *Trichophyton. Rubrum* et ayant été caractérisé comme un effet fongicide. Le carvacrol par ailleurs, exerce une action antimicrobienne par des lésions membranaires, une fuite du contenu cytoplasmique et une déplétion en ergostérol [212].

Le camphor et l'eucalyptol sont des constituants végétaux terpénoïdes bioactifs et leurs propriétés antifongiques ont déjà été explorées Ivanov et al., [213], ont examiné la capacité de ces composés à inhiber la croissance de différentes espèces de *Candida* en suspension et en biofilm, en bloquant la transition hyphale. Le camphor a montré une excellente activité antifongique avec une concentration minimale inhibitrice de 0,125 à 0,35 mg/mL, ce qui explique son potentiel à réduire l'établissement de biofilms et la formation d'hyphes en tant que traits de virulence fongique [213], tandis que l'eucalyptol était actif dans un intervalle de CMI de 2 à 23 mg/mL.

Le Camphene a été testé dans étude de Thakre, et al., [214] où il est démontré que ce composé a inhibé de manière significative la morphogénèse et la formation de biofilm. Wang et Liu, [215] indiquent par ailleurs l'effet antifongique du borneol. Aussi, le traitement à l' $\alpha$ -terpinéol inhibe la croissance de *P. digitatum* avec une CMI de 8  $\mu$ l par ml d'après Jing, et al., [216]. Ces auteurs émettent l'hypothèse que l' $\alpha$ -terpinéol pourrait affecter la synthèse de la paroi cellulaire du champignon et affecter la morphogénèse fongique, l'intégrité de la membrane et la fuite des composants intracellulaires. L'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -terpinéol a été également signalé sur *A. ochraceus* dont il empêche complètement la croissance et élimine l'incidence de la maladie, tandis que le terpène-4-alcool réduit significativement l'incidence de la pourriture [217].

D'autres études s'orientent principalement sur l'étude du mode d'action de différents groupes de terpènes (monoterpènes hydrocarbonés, monoterpènes oxygénés, sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés) et leur effet antifongique. Dans l'ensemble, ces études suggèrent d'une part que les monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés présents dans les huiles essentielles peuvent avoir des propriétés antifongiques.

L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* par exemple, s'est révélée riche en monoterpènes oxygénés et a montré une activité antifongique contre des moisissures isolées de poissons fumés et séchés, [218].

D'autre part, les huiles essentielles contenant des hydrocarbures sesquiterpéniques ont un fort pouvoir inhibiteur contre les espèces fongiques testées [219]. Les sesquiterpènes oxygénés comme ceux ayant été isolés d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* et *Salvia officinalis* sont une classe de composés organiques dont l'activité antifongique a été aussi démontrée [220, 221, 222, 223, 224], ce qui en fait une source potentielle d'agents antifongiques [221]. Toutefois, une étude a montré que les sesquiterpènes oxygénés pourraient ne pas jouer un rôle important en tant qu'antifongique puissant pour les souches de *Saccharomyces* et de *Candida* [225].

Un autre paramètre important déterminant l'activité antifongique de l'huile essentielle est le type de microorganismes ciblé en relation avec son degré de sensibilité. Les résultats rapportés dans cette étude ont montré que les différentes souches fongiques testées n'ont pas une sensibilité similaire vis à vis des huiles essentielles des plantes étudiées. L'activité antifongique des huiles essentielles d'*Artemisa campestris*, *Artemisia herba alba* et de *Teucrium polium* a été remarquable sur certaines souches alors que d'autres ont manifesté une résistance à ces dernières ou pas de réponse (absence d'effet). Ainsi, certains champignons sont plus résistants vis-à-vis de l'huile essentielle de *T. polium* par rapport à d'autres. De même, les huiles essentielles étudiées sont présentées des effets différents sur les souches. Elles sont fongostatiques pour certaines et révèlent à la fois une activité fongostatique et fongicide pour d'autres même si ces souches appartiennent aux mêmes genres (par exemple une activité à la fois fongicide et fongostatique sur les *Aspergillus flavus*, *Penicillium glabrum* et une activité fongostatique de l'huile essentielle sur toutes les souches testées dans cette étude).

Magan et Olsen [226] ont montré l'existence de cette différence de sensibilité à l'huile entre différentes espèces appartenant aux mêmes genres et entre les diverses structures fongiques du même genre: spores, sclérotites et fragments mycéliens. Sachant que cette activité n'est pas générale pour tous les types des moisissures, certains d'entre elles peuvent même consommer les terpènes en tant que source de carbone, les dégrader ou les transformer, ce qui peut expliquer l'inefficacité de certaines de ces molécules vis-à-vis de certains microorganismes, [227].

#### IV. Activité antibactérienne

D'après cette étude, les souches bactériennes testées *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, *Salmonella enterica serovar Typhi* ont été inhibées à partir d'une concentration de 10 µl/ml (v/v).

##### - Effet de l'huile essentielle de *T. polium*

Une CMB de 20 µl/ml de l'huile essentielle de *T.polium* des deux périodes de récolte a un effet bactéricide sur *Listeria monocytogenes*.

Nos résultats de l'effet inhibiteur de l'He de *T. polium* ont révélé des CMI plus importantes que celles enregistrées par d'autres auteurs. Purnavab, et al.,[228] ont trouvé des CMI variant entre 12.5 et 25uL/disque et des CMB avec des valeurs supérieures à 25uL/disque contre quelque souches bactériennes. Les travaux de Oroojalian, et al.,[229] signalent des CMI de 0.24 mg/ml contre *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 et *Ps. Aeruginosa*. *E.coli* (250µl/ml) *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (125µl/ml) CMI [164]. Raei et al.,[230] mentionnent des CMI et des CMB de 0.62 mg/ml sur la souche *K. pneumoniae* ATCC 10031. Lograda, et al.,[121] trouvent une différence de l'activité bactériostatique à une CMI de 10 uL/disque selon trois origines différentes de la plante, avec des diamètres de zones d'inhibition qui varient de 14 mm à 33.5 mm contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et d'autres diamètres de zones d'inhibition de 7mm et 17 mm contre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Khadhri, et al.,[231] signalent des CMI de 8.3 µg/mL et des CMB de 16.6 µg/ mL sur *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *S. aureus* ATCC 29213.

D'après Touaibia, et al.,[199], l'He de *T.polium* a une activité bactériostatique avec une CMI de 15µl/ml contre *Bacillus subtilis* ATCC 7033, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des zones d'inhibition respectives de 25 mm, 17mm et 16mm. Cependant, Saleh, et al.,[200] montrent que la concentration de 10 µL/disque est suffisante pour inhiber la croissance des souche bactériennes *B. subtilis* ATCC6633, *S. aureus* ATCC29213 et *E. coli* ATCC25922.

##### - Effet de l'huile essentielle d'*A. campestris*

L'activité antibactérienne prononcée de l'huile essentielle d'*A.campestris* dans la présente étude contre *E.coli* et *S. aureus* a été rapportée par d'autres auteurs [153]. Akrouf et

*al.*, [153] ont rapporté que l'huile essentielle de la plante originaire de Tunisie a montré un fort effet sur *E. coli* et une activité antibactérienne modérée contre *S. aureus*. D'autres travaux signalent des activités antimicrobiennes très différentes de celles de nos échantillons contre *E. coli* et *S. aureus*, [152, 172, 198, 232].

L'activité antimicrobienne de l'He isolée des graines de *A. campestris* d'origine marocaine a été évaluée contre six souches bactériennes : *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus anthracis* et *Brevundimona vesicularis* [232]. L'essai antibactérien a révélé que l'He isolée des graines d'*A. campestris* avait une faible activité inhibitrice contre *P. aeruginosa* en dessous d'un volume de 10 ml d'He. De même, *E. coli* a montré une résistance à l'égard de l'He, les effets microbiocides augmentant en fonction de la concentration. L'efficacité majeure a été obtenue contre *S. aureus* présentant la zone d'inhibition la plus élevée allant de 34 mm à 73 mm, jusqu'à une inhibition totale lorsque le volume de l'He utilisé atteignait 15 µL [232].

L'activité antibactérienne d'huiles essentielles d'*A. herba alba* extraites par hydrodistillation de la partie aérienne, est évaluée sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (*E. coli* ATCC 25922 *E. coli* clinique *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 *Ps. Pyocyane* *Enterobacter cloacae*, *St. aureus* clinique, *St. aureus* ATCC 29213 et *Enterococcus faecium*). Les résultats ont montré que l'huiles essentielles examinées ont une importante activité antimicrobienne vis-à-vis des souches testées avec MIC (1.25, 2.5, >20, >20 et 1.25, 2.5, 2.5 et 5) µL/mL respectivement [233].

- *Effet de l'huile essentielle d'A. herba alba*

L'huile essentielle d'*A. herba alba* a une activité anti bactérienne variable sur les six souches bactériennes: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Bacillus cereus* (ATCC, 11778), *Enterococcus faecalis* (ATCC, 29212) et *Salmonella typhimurium* (NRRLB, 4420), avec des zones d'inhibition comprises entre 8 mm et 23 mm, [194], la plus sensible des espèces bactériennes testées étant *Bacillus cereus*.

L'huile essentielle d'*A. herba alba* de Djelfa, a montré un effet antibactérien avec des concentrations minimales inhibitrices de 0.84, 21, 0.84 et 0.1 (mg/ml) contre *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC12228, et *Staphylococcus aureus* respectivement [174]. D'après Goudjil et al., [265], l'He de l'*A. herba alba* de Djelfa a

une activité bactériostatique à des CMI de 0.83, 0.25, 0.12, 0.71, 0.2 et 0.16 mg/mL contre les souches bactériennes respectives *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus*.

La différence entre nos présents résultats et la littérature peut s'expliquer par la différence dans la quantité et la qualité des molécules bioactives présentes dans les He de différentes plantes étudiées et par le type de souches bactériennes utilisées ainsi que les concentrations d'huile essentielle utilisé. Cependant, Rowayshed, et al.,[234] ont signalé que les souches les plus sensibles sont *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (CMI de 2 mg/ml) par rapport aux bactéries *Bacillus subtilis* (CMI de 20 mg/ml), *Listeria monocytogenes* (10 mg/ml) *Staphylococcus aureus* (5 mg/ml). La résistance de *Staphylococcus aureus* ATCC6538 et *E. coli* Q157:H7 et la sensibilité prononcée de *P. aeruginosa* aux huiles essentielles ont également été rapportées par Rowayshed, et al.,[234]. Par contre, Boukhebt, et al.,[162] ont signalé que *P. aeruginosa* est plus résistante que les souches *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, tandis que Belmekki, et al.,[119] montrent que *S. aureus* ATCC 25923 est plus sensible que *E. coli* ATCC 25922 à des CMI de 3 µl/ml et 4 µl/ml respectivement. La résistance de *P. aeruginosa* et la sensibilité prononcée d'*E. coli* et de *S. aureus* aux huiles essentielles ont également été rapportées dans la littérature [235].

En raison de leur hydrophobie, les huiles essentielles et leurs composants peuvent désintégrer les lipides des membranes cellulaires. Cela rend les membranes des cellules et des mitochondries plus perméables. En conséquence, des fuites d'ions et du contenu des cellules peuvent se produire [236].

L'observation d'un effet antimicrobien contre les micro-organismes nous montre que les plantes contenant des huiles essentielles peuvent être utilisées à des fins de traitement et peuvent être une alternative aux antibiotiques de synthèse [237]. La corrélation entre l'activité antimicrobienne des He et leur composition chimique suggère que l'activité des He pourrait être attribuée à la présence de fortes concentrations des principaux composés [238]. Cependant, de nombreux rapports ont suggéré que l'action synergique ou antagoniste des composants majeurs et mineurs des He doivent être prises en considération pour expliquer leurs propriétés antimicrobiennes [239, 240]. Les composants ayant le plus large spectre d'activité sont le carvacrol, l' $\alpha$ -terpinéol, le terpinen-4-ol, le ( $\pm$ )-linalool, (-)-thujone,  $\beta$ -pinène, R(+)-limonène,  $\alpha$ -pinène,  $\alpha$ -terpinène, bornéol, (+)-sabinène,  $\gamma$ -terpinène, terpinolène, 1,8-cinéole myrcène,  $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -ocimène et p-cymène,[202] , [241].

Cette différence d'activité antibactérienne pourrait être attribuée à la différence de la teneur des groupes terpéniques tels que les monoterpènes hydrocarbonés, monoterpènes oxygénés, sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés. Les monoterpènes oxygénés sont des composés présents dans les huiles essentielles qui ont été étudiés pour leurs propriétés antimicrobiennes [242, 243, 244]. Les activités antibactériennes de 21 monoterpènes oxygénés, dont le bornéol, le camphre, le citronellal et le linalol, ont été testées contre 63 souches bactériennes à l'aide d'une méthode de diffusion sur disque. Les résultats ont montré que les monoterpènes oxygénés présentaient un degré variable d'activités antibactériennes, le nérol, le linalol, l'alpha-terpinéol, le fenchol et le terpinen-4-ol présentant une activité à large spectre [243]. Une autre étude a montré que les monoterpènes oxygénés citral et carvacrol provoquaient des dommages oxydatifs chez *Escherichia coli* sans impliquer le cycle de l'acide tricarboxylique et la réaction de Fenton [242].

Les sesquiterpènes hydrocarbonés sont présents dans les huiles essentielles de diverses plantes, et certaines études ont porté sur leur activité antimicrobienne. Une étude sur l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. a révélé que les Sesquiterpènes hydrocarbonés représentaient 34,44 % de l'huile et que celle-ci présentait une activité antimicrobienne [164]. L'huile essentielle d'*Artemisia annua* L. contient des sesquiterpènes hydrocarbonés, parmi d'autres composés, et présente une activité antimicrobienne [245].

Dans l'ensemble, ces études suggèrent que les sesquiterpènes hydrocarbonés peuvent contribuer à l'activité antimicrobienne de certaines huiles essentielles. Toutefois, il est important de noter que l'activité spécifique et le mécanisme d'action peuvent varier en fonction de l'espèce végétale et d'autres facteurs.

Les sesquiterpènes oxygénés sont un type de sesquiterpène que l'on trouve dans diverses huiles essentielles et qui ont été étudiés pour leur activité antimicrobienne [246, 247]. Par exemple, une étude sur les huiles essentielles de *Croton adipatus*, *Croton thurifer* et *Croton collinus* a montré que les sesquiterpènes oxygénés étaient présents dans les huiles et présentaient une activité antimicrobienne [246]. Une autre étude sur les huiles essentielles de *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc. a révélé la présence de sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés et leur activité antimicrobienne [247]. Dans l'ensemble, ces études suggèrent que les sesquiterpènes oxygénés peuvent avoir des propriétés antimicrobiennes. La présence d'une fonction oxygène dans la structure augmente les propriétés antimicrobiennes des terpénoïdes.

L'action bactériostatique et fongistatique des terpénoïdes est accrue lorsqu'ils sont carbonylés. La stéréochimie a une influence sur l'activité antibactérienne [153].

#### V. Effet biocide des huiles essentielles étudiées sur la bruche du pois chiche

##### - Par inhalation

Une différence dans la réponse des espèces d'insectes aux huiles essentielles a déjà été signalée pour les insectes ravageurs des produits stockés [248, 249]. L'huile essentielle et l'extrait de *T. polium* testée ont également une activité insecticide contre d'autres insectes. A une CL50 de 80 ppm, l'huile essentielle de cette espèce a entraîné une mortalité de 50 % des fourmis [250]. La CL50 de cette huile contre les adultes de *C. maculatus* et de *T. castaneum* était respectivement de 148.96 ( $\mu\text{L/L}$  air) et de 360.25 ( $\mu\text{L/L}$  air)[248].

Dans l'ensemble, les résultats de la recherche suggèrent que les huiles essentielles d'*Artemisia*, y compris *A. campestris* et *A. herba alba*, ont des propriétés insecticides qui peuvent être efficaces contre *C. maculatus* avec une DL50 de 49.3  $\mu\text{L/L}$  air et 7.7  $\mu\text{L/L}$  air pour *A. campestris* et *A. herba alba* respectivement [173]. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* testée par fumigation à différentes concentrations contre *Callosobruchus maculatus*, provoque en 24 heures, la mortalité de 100% de la population à la concentration de 1,24g/4,6L d'air [251]. D'autres travaux ont révélé que la CL50 de l'huile essentielle d'*A. herba alba* sur les adultes de *C. maculatus* était de 99.35  $\mu\text{L/L}$  air [249] et de 2.18  $\mu\text{L/L}$  air [252].

Il est suggéré que la variabilité des activités biologiques entre les huiles essentielles extraites de différentes espèces végétales pourrait être due à des différences dans leur composition chimique [253]. La composition chimique des huiles essentielles est généralement caractérisée par la présence de composés mono- et sesquiterpéniques. Même si les huiles essentielles extraites de différentes espèces végétales partagent plusieurs composés, les proportions de ces composés peuvent varier et affecter leur activité biologique [182].

Hummelbrunner et Isman[254] ont également signalé que l'E-anéthole agit en synergie avec d'autres substances monoterpénoïdes, notamment le thymol, le citronellal, l' $\alpha$ -terpinéol et le  $\gamma$ -terpinène, contre *Spodopteralitura*. L'activité insecticide de chaque huile essentielle pourrait résulter de l'interaction entre tous ses constituants chimiques, plutôt que de l'activité des principaux composants individuels. Il a été suggéré que les composants des huiles trouvés en faibles pourcentages peuvent agir comme des synergistes qui augmentent l'efficacité des principaux composants par une variété de mécanismes [253, 254, 255].

La perte d'activité biologique des huiles essentielles est probablement due à leur grande volatilité et à la dégradation rapide des composés actifs. Au cours de l'utilisation des huiles, de nombreux facteurs affectent négativement leur activité. Il a été rapporté que l'oxydation des composés mono- et sesquiterpéniques pouvait se produire, conduisant à la perte de leur activité biologique [253, 255].

- *Par répulsion*

L'huile essentielle testée n'était pas seulement un insecticide actif contre *C. maculatus*, mais aussi un répulsif efficace. D'après nos résultats, les adultes de ce coléoptère ont été repoussés par les huiles essentielles testées, même à de très faibles concentrations.

Les résultats de cette étude mettent en évidence un effet dose pour les six huiles essentielles testées. *A. herba alba*, *T. polium* ont montré une activité insecticide plus marquée (très répulsive) par rapport aux huiles essentielles de *A. campestris*. Nos résultats sont en accord avec ceux de Heydarzade et al.,[182] qui ont rapporté que le pourcentage moyen de répulsion de *T. polium* à la concentration la plus élevée (3µL/mL d'acétone) était de 84,9 % et de 76,1 % sur les mâles et les femelles de *C. maculatus*, respectivement. Le mode d'action de l'huile essentielle de *Teucrium polium* contre *C. maculatus* n'est pas complètement compris. Cependant, selon certaines études, l'huile essentielle pourrait avoir des effets répulsifs et insecticides contre ce ravageur. Selon une étude, l'huile essentielle de *T. polium subsp. aurum* et *T. polium subsp. polium* était efficace contre les insectes des produits stockés, y compris *Callosobruchus maculatus*,[248].

L'huile essentielle extraite des feuilles d'*A. herba alba* s'est avérée avoir un effet sur *C. maculatus*. Cependant, certaines études ont examiné la composition chimique des huiles essentielles d'autres espèces d'*Artemisia* et leurs propriétés insecticides contre *C. maculatus*. Par exemple, une étude a montré que l'huile essentielle d'*A. maritima* avait une activité insecticide contre *C. maculatus* et d'autres coléoptères [256]. Une autre étude a examiné les huiles essentielles d'*A. aragonensis* et d'*A. herba alba* et a constaté qu'elles avaient des effets insecticides significatifs contre ce ravageur[245].

Le mécanisme d'action des huiles essentielles d'*Artemisia* contre *C. maculatus* n'est pas entièrement compris, mais certaines études ont suggéré qu'elles pouvaient agir par plusieurs voies différentes telles par inhibition des enzymes de détoxification. Une étude a montré que l'huile essentielle d'*A. maritima* avait des effets inhibiteurs sur les enzymes de détoxification

de *C. maculatus*, ce qui pourrait contribuer à son activité insecticide,[256], également des effets inhibiteurs sur l'acétylcholinestérase (AChE),[257].

Il a été démontré que les huiles essentielles ont un effet dissuasif sur la ponte de *C. maculatus*, pouvant être dus aux mono terpènes qui sont responsables de la toxicité et de l'inhibition de la reproduction chez d'autres insectes [251]. Ceci peut réduire le nombre d'œufs pondus par les coléoptères femelles et limiter leur succès reproductif [245]. L'activité insecticide des huiles essentielles d'*Artemisia* peut être due à leur toxicité fumigène, qui peut provoquer une insuffisance respiratoire chez les insectes [245, 258].

Les terpènes ont été bien documentés en tant que fumigants, répulsifs et insecticides actifs contre les insectes des produits stockés [259]. L'activité insecticide des huiles essentielles étudiées dans notre étude peut être attribuée à leurs principaux composants terpénoïdes.

Les monoterpènes hydrocarbonés se sont révélés avoir des propriétés insecticides contre divers espèces d'insectes. Plusieurs études ont démontré les activités insecticides et répulsives de monoterpènes tels que le 3-carène, la carvone, la dihydrocarvone, la fenchone, l'oxyde de limonène, la menthone, le terpinène-4-ol, le p-cymène, le cinéol, le limonène, le terpinolène et le thymol [230, 260, 261]. Ces composés ont montré une forte activité insecticide avec une mortalité de 100 % à toutes les doses après traitement. L'activité insecticide des monoterpènes hydrocarbonés purs (camphène,  $\alpha$ -pinène et  $\beta$ -pinène) sur les larves de deuxième stade de *Spodoptera frugiperda* a été déterminée par Murillo et al.,[262].

Dans une autre étude, les effets insecticides des monoterpènes hydrocarbonés et des monoterpènes oxygénés ont été testés sur un autre ravageur des produits stockés : *Sitophilus zeamais*. Les résultats ont montré que la plupart des monoterpènes ont des effets insecticides significatifs sur les insectes testés, les monoterpènes oxygénés tels que le bornéol, le fenchol, le linalol, le menthol et le terpinen-4-ol ayant des effets insecticides plus importants que les monoterpènes hydrocarbonés[263]. L'activité insecticide des monoterpènes peut varier en fonction du type de parasite et de la dose utilisée [230, 260].

Les huiles essentielles sont souvent la source de substances insecticides très efficaces et peu toxiques. Les analyses de chromatographie en phase gazeuse, de spectrométrie de masse, de chromatographie sur colonne et de spectres de résonance magnétique nucléaire ont permis d'identifier vingt terpènes dans les huiles essentielles d'*Artemisia nakaii*. Il s'agit

principalement de monoterpènes (49,01 %) et de sesquiterpènes (50,76 %). Les terpènes les plus concentrés dans les He d'*A. nakaii* se sont révélés avoir une activité insecticide [26].

### Conclusion générale et perspectives

Ce présent travail nous a permis d'étudier la composition chimique et l'activité antimicrobienne et insecticide des trois plantes *Artemisia herba alba*, *A.campestris* et *Teucrium polium*. Ces espèces ont été récoltées au cours de deux saisons et deux localités différentes dans la région de Laghouat qui se caractérise par deux climats l'un de type semi aride froid, l'autre saharien frais.

Il semble que le rendement d'*A. campestris* récoltée à Aflou et Laghouat soit comparable (0.6 % et 0.65 % respectivement). Nos résultats montrent une différence de teneurs en huiles essentielles de *T. polium* de 0,2 % en octobre et 0,42 % en décembre dans la même zone d'étude à Aflou. Pour *A. herba alba* le rendement varie considérablement selon les mois de récolte, avec un pourcentage de 0,6 % en octobre et de 1,2 % en décembre.

L'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles a permis d'identifier 42 composés et 44 composés pour *A. campestris* dans les échantillons de la plante prélevée à Kasr Elhirane et à Guelat Sidi Saad, et 60 et 51 composés dans les échantillons respectifs de la plante *A. herba alba* prélevée en octobre et décembre au niveau de la même zone d'étude à Aflou. L'échantillon de *T. polium* d'octobre est constitué de 39 constituants alors que l'échantillon du mois de décembre a permis d'identifier 49 composants avec une variation quantitative et qualitative du profil chimique entre les différents échantillons .

Nos résultats ont mis en évidence que l'huile essentielle d'*A.herba alba* a exercé un effet fongicide important contre la majorité des souches testées, suivi de celui de l'huile essentielle d'*A. campestris*, et celui de *T. polium*. La comparaison entre les résultats de l'effet fongicide des deux chemotypes d'*A.herba alba* montre que l'huile essentielle de la plante récoltée en décembre a exercé une activité fongicide contre les 6 souches fongiques testées pour une concentration de 5 µl/ml, tandis que l'huile essentielle de la plante récoltée en octobre a un effet fongicide avec cette même concentration contre seulement 3 souches fongiques.

L'huile essentielle de *T.polium* a présenté la plus faible activité antifongique contre les souches testées en comparaison avec l'essence d'*A.campestris* et *A. herba alba*, L'effet fongicide de cette huile est détecté à la concentration de 20 µl/ml pour certaines souches, alors que sur les autres souches, il n'a été montrée aucun effet fongicide (> 20 µl/ml).

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles en milieu liquide montrent que *F.graminearum* et *A.carbonarius*, sont les champignons les plus résistants pour toutes les essences utilisées dans cette étude. *F.culmorum* est l'espèce la plus sensible aux huiles essentielles, L'huile essentielle d'*A.campestris* a exercé une forte activité antifongique contre *F.culmorum*, suivi de celle d'*A.herba alba*, et de *T. polium* récolté au mois de décembre, avec des concentrations fongicides de 1.25, 5 et 20 µl/ml (v/v), respectivement.

Concernant l'activité antibactérienne, l'huile essentielle d'*A. campestris* a exercé un effet bactéricide important contre la majorité des souches testées, suivi de celle d'*A.herba alba*, et de *T. polium*. La comparaison entre les résultats de l'effet bactéricide des deux chemotypes d'*A.campestris* montre que l'huile essentielle de cette plante a exercé une activité bactéricide contre 4 souches bactériennes pour une concentration de 10 µl/ml. L'huile essentielle de *T.polium* a présenté la plus faible activité antibactérienne, pour toutes les souches où il n'est montré aucun effet bactéricide (CMB > 20 µl/ml).

Les huiles des plantes étudiées se sont montrées répulsives à l'égard des adultes de *C. maculatus* même à la plus faible dose (2µl). Les taux de mortalité des adultes de la bruche du pois chiche augmentent en fonction des doses d'huiles essentielles utilisées. L'huile essentielle de la plante pourrait devenir une alternative viable aux stratégies conventionnelles de lutte chimique. Toutefois, d'autres études doivent être menées afin d'évaluer la sécurité de l'huile avant son utilisation pratique dans la lutte contre les insectes des produits stockés.

À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que les huiles essentielles des trois plantes possède des propriétés antimicrobiennes et insecticide, qui peuvent être utilisées comme pesticide naturels.

L'étude que nous avons menée met en lumière l'intérêt de l'utilisation dans différents domaines, des extraits des plantes spontanées aromatiques et médicinales du sud Algérien et plus précisément dans le territoire bioclimatique de la région de Laghouat. Pour l'industrie agroalimentaire et les denrées alimentaires stockées céréales et légumineuses ... comme perspectives en tant qu'alternatifs aux produits chimiques, afin de réduire la dépendance des pesticides synthétiques et de garantir une meilleure production agricole et la disponibilité des cultures de base qui répondent aux besoins nutritionnels de la population. Il en est de même pour de futures recherches biotechnologiques,

pharmaceutiques et médicales : la biodiversité, l'industrie alimentaire et les biopesticides peuvent tous bénéficier de ces résultats.

Pour faire suite à cette étude, différentes pistes de travail peuvent être envisagées comme perspectives :

La conservation des populations qui doit se faire en tenant compte des facteurs bioclimatiques. Pour améliorer la conservation et les applications des plantes spontanées locales, l'étude de la diversité environnementale de plusieurs populations devrait être utilisée en conjonction avec l'analyse chimique et le potentiel bioactif.

La mise en place d'une stratégie de développement de la filière PAMs en Algérie dans une perspective de durabilité et de viabilité de ressource naturelles et la création des pépinières pour la valorisation des plantes spontanées médicinales et aromatiques tant que source des pesticides botaniques.

La variation chimique des huiles essentielles de *Artemisia herba alba*, *A.campestris* et *T.polium* en fonction de l'interaction entre les différents facteurs externes et internes (des conditions environnementales et facteurs génétiques) peut être utilisée pour promouvoir des cultivars intéressants.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer les effets antimicrobiens et insecticides et les potentiels bioactifs des huiles essentielles de ces plantes *in vivo*.

Par ailleurs, des études toxicologiques sur ces huiles essentielles avant leur application comme des pesticides naturels dans les cultures agricoles et les denrées de stockage sont nécessaires.

Des études à l'échelle moléculaire seront complémentaires pour déterminer, d'une part les composés des huiles essentielles des trois plantes (notamment ce qui concerne l'identification et la purification des composés terpéniques) qui peuvent être responsables de tels effets et d'autre part, le mécanisme par lequel ces composés accomplissent leurs potentiel bioactif.

## Reference

1. Chaib Baghdad. (2019). The Question of Food Security in Algeria: Between the Collapse of Petrol Price and the Growing Needs of the Population. In *Advances in Economics and Business*. <https://doi.org/10.13189/aeb.2019.070103>
2. E. Kopnova, & L. Rodionova. (2017). Modeling the influence of foreign investments on food security based on panel cointegration models. <https://doi.org/10.17323/1998-0663.2017.3.20.29>
3. Tharanathan, S. Mahadevamma, Grain legumes—a boon to human nutrition, *Trends Food Sci. Tech.* 14 (2003) 507-518.
4. Deshpande, Food legumes in human nutrition: a personal perspective, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32 (1992) 333-363.
5. Djremoun, A.2009. La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*.n°01/Juin 2009.p (45-5)
6. Hajam, Y. A., & Kumar, R. (2022). Management of stored grain pest with special reference to *Callosobruchus maculatus*, a major pest of cowpea: A review. *Heliyon*, e08703.
7. Befikadu, D. (2014). Factors affecting quality of grain stored in Ethiopian traditional storage structures and opportunities for improvement. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 18(1), 235-257.
8. Belyagoubi, L.2006. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse magistère : Université Abou Becker Belkaid. 110p.
9. Y.J. Chiu, F.J. Messina, Effect of experience on host preference in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae): Variability among populations, *J. Insect Behav.* 7 (1994) 503-515.
10. B. Prakash, P. Singh, S. Yadav, S.C. Singh, N.K. Dubey, Safety profile assessment and efficacy of chemically characterized *Cinnamomum glaucescens* essential oil against storage fungi, insect, aflatoxin secretion and as antioxidant, *Food Chem. Toxicol.* 53 (2013) 160-167.
11. B.P. Mainali, H.J. Kim, C.G. Park, J.H. Kim, Y.N. Yoon, I.S. Oh, S. Do Bae, Oviposition preference and development of azuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis*, on five different leguminous seeds. *J. Stored Prod. Res.* (2015) doi:10.1016/j.jspr.2015.01.001.
12. Paster, N., and Barkai-Golan, R. (2008). Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part 2, *World Mycotoxin J.* 1(4): 385-396.
13. Fallik, E. (2008). Physical control of mycotoxigenic fungi. In R. Barkai/Golan, & N. Paster (Eds.).*Mycotoxins in fruits and vegetables* (pp. 297–310). San Diego, CA, USA: Academic Press.
14. Toba, S., Adebayo, E., and Anthony. H., (2013). Control of Toxigenic Fungi and Mycotoxins with Phytochemicals: Potentials and Challenges. *Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries*, Chapter 8: 181-202. In Tech. doi: 10.5772/53477.

15. Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. (2013). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Biotechnologie, agronomie, société et environnement.
16. Fillatre, Y. 2011. Produits phytosanitaires : développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat : université Angers. 288p.
17. Anjorin, T. S., Salako, E. A., & Makun, H. A. (2013). Control of toxigenic fungi and mycotoxins with phytochemicals: Potentials and challenges. In H. A. Makun (Ed.). Mycotoxin and food safety in developing countries. 181–202.
18. Thompson J.D. et al., 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotype. *Journal Chemistry and Ecology* .Vol.29.n.4.p.859-880.
19. Robert, G. (2004). Huile essentielle de niaouli *Melaleuca quinquenervia* dans la prévention des radiodermes du cancer du sein. *Phytothérapie*. n : 3.p 72/76.
20. Giordain, R., Kaloustin, J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles : leurs utilisations concomitantes avec des médicaments antifongiques. *Phytopharmacologie*. 18/20 mars.n .3.p121/124.
21. Laib, I. 2011. Etude des activités antioxydants et antifongiques de huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Thèse de magistère : Université Mentouri Constantine. 122
22. Amri, L. Hamrouni, M. Hanana et al. 2014. Propriétés antifongiques des huiles essentielles de *Biotaorientalis* L. *Phytothérapie Springer-Verlag France* 12:170-174.
23. Chiasson, H., & Beloin, N. (2007). Les huiles essentielles, des biopesticides «Nouveau genre». *Bulletin de la Société d'Entomologie du Québec*, 14 (1), 3-6.
24. Hamza N, Berke B, Umar A, Cheze C, Gin H, Moore N. 2019. A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes *J Ethnopharmacol* 238: 111841. DOI: 10.1016/j.jep.2019.111841
25. Gurib/Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1/93.
26. Aziz M, Karim A, EL Ouariachi E, Bouyanzer A, Amrani S, Mekhfi H, Ziyat, A, Melhaoui A, Bnouham B, Legssyer A. 2012. Relaxant effect of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso. on rodent jejunum contractions. *Scientia Pharmaceutica* 80 (2): 457-467 . DOI: 10.3797/scipharm.1106-13
27. Sarri M, Mouyeta FZ, Benziane M, Cherieta A. 2014. Traditional use medicinal plants in a city at steppe character (M'sila, Algeria) *Pharmacol Pharmacogn Res* 2: 31-35.
28. Benarba B, Belabid L, Riqhi K, Bekkar A A, Elouissi M, Khaldi A, Hamimed A. 2015. Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *J Ethnopharmacol* 175: 626-636. DOI: 10.1016/j.jep.2015.09.030
29. Ozenda P. 1983. Flore du Sahara Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique -Paris- 441p.

30. Marcel, K. O. M. A. D. A. N., Kabirou, S. O. U. L. E. Y., Mouzoun, S., & Ibouaïma, Y. A. B. I. (2022). Gestion des stocks alimentaires dans les communes de Lokossa et de Dogbo au sud-benin. *Espace Géographique et Société Marocaine*, 1(65).
31. Mballo, A. D. (2020). Vers une approche de collecte de données plus efficace pour la mesure des pertes post-récolte de céréales. *Stateco*, (114).
32. Ahmad, R., Hassan, S., Ahmad, S., Nighat, S., Devi, Y. K., Javeed, K., ... & Hussain, B. (2021). Stored grain pests and current advances for their management. Postharvest technology-recent advances, new perspectives and applications.
33. Guo Si-wen, M. Iqbal, & Pradeep Kumar. (2021). Smart Agriculture and Food Storage System for Asia Continent: A Step Towards Food Security. In *Int. J. Agric. Environ. Inf. Syst.* (Vol. 12, pp. 68–79). <https://doi.org/10.4018/IJAEIS.20210101.OA5>
34. Oura, a., waongo, a., yamkoulga, m., traore, f., ilboudo, z., & sanon, a (2022). Stockage post récolte des céréales et statut du grand capucin des grains, *Prostephanus truncatus* (Horn)(Coleoptera: Bostrichidae) au Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 178, 18609-18623.
35. Ps Cissokho, M. Gueye, E. Sow, & K. Diarra. (2015). Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. In *International Journal of Biological and Chemical Sciences* (Vol. 9, pp. 1644–1653). <https://doi.org/10.4314/IJBCS.V9I3.43>
36. Sylwia Łaba, G. Cacak-Pietrzak, Robert Łaba, A. Sułek, & K. Szczepański. (2022). Food Losses in Consumer Cereal Production in Poland in the Context of Food Security and Environmental Impact. In *Agriculture*.
37. Momotaz, Tanjinul Haque Mollah, Anannya Mazumder, & Takaaki Nihei. (2019). Current scenario and challenges of agricultural production to future food security in Bangladesh. In *Journal of Agricultural Extension and Rural Development* (Vol. 11, pp. 208–224). <https://doi.org/10.5897/jaerd2019.1081>
38. Asravor, R. K., & Sarpong, D. B. (2023). Risk preferences and management strategies of farmers in Ghana: Does the type of crop grown matter?. *Journal of International Development*, 35(6), 1080-1098.
39. Kebede, E. (2020). Grain legumes production and productivity in Ethiopian smallholder agricultural system, contribution to livelihoods and the way forward. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1722353.
40. Koulibi Fidèle Zongo, E. Hien, J. Drevon, Didier Blavet, Dominique Massé, & C. Clermont-Dauphin. (2016). Typologie et logique socio-économique des systèmes de culture associant céréales et légumineuses dans les agro-écosystèmes soudano-sahéliens du Burkina Faso. In *International Journal of Biological and Chemical Sciences* (Vol. 10, pp. 290–312). <https://doi.org>
41. Alconada, T. M., & Moure, M. C. (2022). Deterioration of lipids in stored wheat grains by environmental conditions and fungal infection—A review. *Journal of Stored Products Research*, 95, 101914.
42. Zhu, L., Ma, Q., Chen, J., & Zhao, G. (2022). Current progress on innovative pest detection techniques for stored cereal grains and thereof powders. *Food Chemistry*, 133706.

43. Yaseen, M., Kausar, T., Praween, B., Shah, S. J., Jan, Y., Shekhawat, S. S., ... & Azaz Ahmad Azad, Z. R. (2019). Insect pest infestation during storage of cereal grains, pulses and oilseeds. *Health and Safety Aspects of Food Processing Technologies*, 209-234.
44. Pierre, F. 2000. Le grain de blé. Paris : Quae. 313p.
45. Zaid, N., Pierre, G. 2011. Danger dans l'assiette. Paris : Quae. 184p
46. Dubois-Brissonnet, F., & Guillier, L. (2020). Les maladies microbiennes d'origine alimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 55(1), 30-38.
47. Cabello-Olmo, M., Oneca, M., Torre, P., Díaz, J. V., Encio, I. J., Barajas, M., & Araña, M. (2020). Influence of storage temperature and packaging on bacteria and yeast viability in a plant-based fermented food. *Foods*, 9(3), 302.
48. Aliou, D., Jan, K. 1991. Bulletin de service agricole FAO : guide pour établissement des opérations et la gestion des banques de céréales. FAO. 92p
49. FAO, 1995. N°27. Les sorghos et les mils dans la nutrition humaine. 198p.
50. Loukiadis, E., Callon, H., Mazuy-Cruchaudet, C., Vallet, V., Bidaud, C., Ferré, F., ... & Danan, C. (2012). Surveillance des *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC) dans les denrées alimentaires en France (2005-2011).
51. Berthold-Pluta, A., Pluta, A., Garbowska, M., & Stefańska, I. (2019). Prevalence and toxicity characterization of *Bacillus cereus* in food products from Poland. *Foods*, 8(7), 269.
52. Tabuc, C. 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de des mycotoxines. Thèse de doctorat. Toulouse. 190p
53. Sarmast, E., Fallah, A. A., Jafari, T., & Khaneghah, A. M. (2021). Occurrence and fate of mycotoxins in cereals and cereal-based products: a narrative review of systematic reviews and meta-analyses studies. *Current Opinion in Food Science*, 39, 68-75.
54. Hoffmans, Y., Schaarschmidt, S., Fauhl-Hassek, C., & van der Fels-Klerx, H. J. (2022). Factors during production of cereal-derived feed that influence mycotoxin contents. *Toxins*, 14(5), 301.
55. Gury, P. 1997. Maladies d'elvages des porcs. France : France agricole. 210p
56. Payros, D., Garofalo, M., Pierron, A., Soler-Vasco, L., Al-Ayoubi, C., Maruo, V. M., ... & Oswald, I. P. (2021). Les mycotoxines en alimentation humaine: un défi pour la recherche. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 56(3), 170-183.
57. FAO. 2003. Manuel du système de l'analyse des risques-points critiques pour leurs maîtrises (HACCP) pour la prévention et contrôle des mycotoxines . 92p
58. Asma, H., & Maizi Nahla, B. B. (2021). Recherche des *Aspergillus Flavi* dans le blé et évaluation des risques des mycotoxines sur la santé humaine.
59. Mériem, H. O. U. F. A. N. I. (2022). *Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé* (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).
60. Fofana-Diomande, A., Kouakou, K. J. M., Aka-Diemeleou, C., Traore, K. S., & Dembele, A. (2019). Exposition alimentaire aux mycotoxines cancérigènes dans le département de Séguéla (Nord-Ouest de la Côte d'Ivoire): cas de l'aflatoxine B1. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13 (2), 937-949.

61. Keon, D., Proost, C. 2002. L'impact de la nutrition sur la sante. Belgique: Garant. 221p.
62. Gerard, A., El-Hajjaji, S., Daube, G., & Sindic, M. (2020). La réalisation de tests de provocation et d'études de vieillissement pour évaluer la croissance de *Listeria monocytogenes* au sein des denrées alimentaires: le cas de produits laitiers fermiers. *Food Science and Law*, 2020.
63. Harry, V. 2004. Production de semences à petite échelle avec l'amélioration des variétés. Pays Bas : Fondation Agromisa, Wagening 1 ier édition. 106p.
64. Bernard, P., Francis, F., Charles, P.2000. La lutte physique en phyto-protection. Paris: Quae. 348p.
65. Bernard C.B. et Philogène B.J.R., 1993. Insecticide synergists: role, importance and perspectives. *J. Toxicol. Env. Health*, 38. P.19-22.
66. Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., & Mishra, V. (2021). An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plants*, 10(6), 1185.
67. Daniel, R., Chaurmont, J., Cleur,C., et al. 2008. Conseilles en aromathérapie. 2iem édition France : Wolters kluwer. 187p.
68. Daniel,R. , Olide , C. 2007.Botaniques pharmacognosies phytothérapies. 3 eme édition. France : Wolters Kluwer.145 p.
69. Laurence,A., Nathahie,L .2009. Agriculture biologique : grande principe de la production . France : Educagri. 239 p.
70. Homsy, M. 2009. Progrès en dermato-allergologie . France : John Eurotexte.393 p. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765.2006.02011>.
71. Bogdal, D. (2005). *Microwave-assisted organic synthesis: one hundred reaction procedures*. Elsevier.
72. Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales* (Lavoisier, Paris ed.).
73. Weniger, B., Lobstein, A., Um, B. H., Vonthron-Sénéchau, C., Anton, R., Usuga, N. J., ... & Lugnier, C. (2005). Bioactive triterpenoids from *Vochysia pacifica* interact with cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme PDE4. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(1), 75-77.
74. Garneau F.-X. (2005). *Le materiel vegetal et les huiles essentielles* (Laseve-UQAC, Chicoutimi ed)
75. Chicoutimi ed)
76. Jeane-claud, L.2002. *Traité de phytothérapie: médecine et endobiologie*. Paris: Maisson.827p
77. Beneteaud, E. 2011. Document ressource. Source : comité française du parfum.
78. Nelly,G. 2007.L'aromathérapie tout simplement. Parie : Eyrolles codex. 360p.
79. Jeane-Marc, et al.2011. *Sources actuelles et futures du médicament-chimie du médicament (cours+QCM)*. Elsevier Masson. 239p
80. Ozenda P. 1977. *Flore du Sahara* Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique -Paris- 441p.

- 
81. Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E.,and Sonboli. A.2007. Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. OilRes.* 19 : 326–329
  82. Akrou, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.
  83. Quezel et Santa. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990p.
  84. Dib, I., Mihamou, A., Berrabah, M., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A., ... & Ziyat, A. (2017). Identification of *Artemisia campestris* L. subsp. *glutinosa* (Besser) Batt. from Oriental Morocco based on its morphological traits and essential oil profile. *J Mater Environ Sci*, 8(1), 180-87.
  85. Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., & Kaloustian, J. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*, 8(5), 277-281.
  86. Vernin G., Merad O., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M. and Parkanyi C.1995. GC-MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria.*Dev. Food Sci.* 37A : 147-205.
  87. Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. 2007. Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology.* 50 (3): 358-361.
  88. Philippe M. 2014. les famille des plante à flours d'Europe, botanique, systematique et utilitaire.2<sup>eme</sup> ed. Presse universitaires de namur Belgique. 280p
  89. Dob T., Dahmane D., BerramdaneT., Chelghoum C.2005. Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria . *J. Pharm. Bio.* 43( 6): 512–514.
  90. Sefi M., Fetoui H., MakniM., and Najiba Zeghal N. 2010. Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem.Toxicol.* 48 :
  91. Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., Aouni1 M. 2007. Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio* . 45 (5) : 421–428
  92. Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A.2010 . Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish gocephaluslagocephalus extract-induced oxidative damage in rats. *Exp.Tox.Pathol.* 62 : 601–605.
  93. Mucciaralli et al, 1995, Essentiels oils frome *Artimisia* species growing spontaneously in North-West Italy. *Flavour and Fragrance journal*, vol 10. 25-32
  94. Mohammed, A., Syed, S., Syed, M. Y., & Ali, A. D. (2018). Use of herbal extract from *Artemisia herba-alba* (Shih) in pharmaceutical preparations for dental hygiene. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(6), 822-828.
  95. Gazel, M., Hemmati, C., Bhat, A. I., & Rao, G. P. (2023). Update on phytoplasma diseases associated with medicinal plants and spices in Asian Countries. In
-

- Phytoplasma Diseases of Major Crops, Trees, and Weeds* (pp. 233-263). Academic Press.
96. Moufid, A., & Eddouks, M. (2012). *Artemisia herba alba*: a popular plant with potential medicinal properties. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 15(24), 1152-1159.
97. Boudjouref M. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits 'Artemisia campestris L. Mémoire de Magister En Biochimie . Université Ferhat Abbas, Sétif . 99p
98. Dif, M. M., Toumi, F. B., Boukaaza, H., Mokaddem, F., Benyahia, M., & Bouazza, S. (2018). Phenolic content and antioxidant activity of *Artemisa herba-alba*, A medicinal plant from Algerian arid zone. *Phytothérapie*, 16 (2), 91-95.
99. Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H., & Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia herba-alba essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3), 380-386.
100. Alshehri, M. A. (2022). Cardioprotective properties of *Artemisia herba alba* nanoparticles against heart attack in rats: A study of the antioxidant and hypolipidemic activities. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2336-2347.
101. Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. 2010. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.
102. Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A and Ziyat A. 2002. Ethnopharmacology Forum: Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes and Metabolism*, 10, 33-50.
103. Charif, N., & Louizini, L. (2016). L'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
104. Touil, S., & Benrebaha, F. Z. (2014). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* asso et *Artemisia campestris* l de la région aride de Djelfa. *LRBPV*, 4, 40-45
105. Mehani, M., Segni, L., Terzi, V., Morcia, C., Ghizzoni, R., Goudgil, B., & Benchikh, S. (2018). Antifungal activity of Artemisia herba-alba on various fusarium. *Phytothérapie*, 16(2), 87-90.
106. Twaij, H. A., & Al-Badr, A. A. (1988). Hypoglycemic activity of *Artemisia herba alba*. *Journal of ethnopharmacology*, 24(2-3), 123-126.
107. Memmi A . Sansa G., Rjeibi I., El aye M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z.,and Fekhih A. 2007. Use of medicinal plants against scorpionic and ophidian venoms. *Arch. Inst. Pasteur. Tunis* . 84 (1-4) : 49-55.
108. Ben Nasr H, Hammami T. Serria, et al. 2014. Aqueous leaves extract of *Artemisia campestris* inhibition of the scorpion venom induced hypertension . *Journal of Medicinal Plant Research* . Vol. 8(13), pp. 538-542.
109. Bukhari, N. A., Al-Otaibi, R. A., & Ibrahim, M. M. (2015). Biodiversity characteristics of *Teucrium polium* species in Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 181-185.

110. Bahramikia, S., Gavyar, P. H. H., & Yazdanparast, R. (2022). *Teucrium polium* L: An updated review of phytochemicals and biological activities. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 12(3), 224.
111. Khazaei, M., Nematollahi-Mahani, S. N., Mokhtari, T., & Sheikhbahaei, F. (2018). Review on *Teucrium polium* biological activities and medical characteristics against different pathologic situations. *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 4 (1).
112. Nematollahi-Mahani S, Rezazadeh-Kermani M, Mehrabani M, Nakhaee N. Cytotoxic effects of *Teucrium polium* on some established cell lines. *Pharm Biol*. 2007;45:295–298.
113. Mahdinia Z, Eftekharvaghefi R, Nabipour F. In vitro inhibition of the growth of glioblastoma by *Teucrium polium* crude extract and fractions. *Int J Phytomed*. 2013;4:582–588.
114. Rahmouni, F., Saoudi, M., & Rebai, T. (2021). Therapeutics studies and biological properties of *Teucrium polium* (Lamiaceae). *BioFactors*, 47(6), 952-963.
115. Mahmoudi, R., & Nosratpour, S. (2013). *Teucrium polium* L. essential oil: phytochemical
116. Sadrizadeh, N., Khezri, S., Dehghan, P., & Mahmoudi, R. (2018). Antibacterial effect of *Teucrium polium* essential oil and *Lactobacillus casei* probiotic on *Escherichia coli* O157: H7 in Kishk. *Applied Food Biotechnology*, 5(3), 131-140.
117. Motamedi H, Alivand S, Ebrahimian M, Moosavian S. The antibacterial properties of methanolic extract of *Teucrium polium* against MRSA. *J Kermanshah Univ Med Sci*. 2015;18:557–562.
118. Mitić, V., Jovanović, O., Stankov-Jovanović, V., Zlatkovic, B., & Stojanovic, G. (2012). Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. capitatum from the Balkan Peninsula. *Natural Product Communications*, 7(1), 1934578X1200700129.
119. Belmekki, N., Bendimerad, N., & Bekhechi, C. (2013). Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(14), 897-902.
120. Raei, F., Ashoori, N., Eftekhar, F., & Yousefzadi, M. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Teucrium polium* essential oil against urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Essential Oil Research*, 26(1), 65-69.
121. Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., Figueredo, G., & Deghar, A. (2014). Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from eastern Algeria. *Am J Adv Drug Deliv*, 2(6), 697-710.
122. Kabouche, A., Kabouche, Z., Ghannadi, A., & Sajjadi, S. E. (2007). Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. aurasiacum from Algeria. *Journal of essential oil Research*, 19(1), 44-46.
123. Shahidi F. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications: The American Oil Chemists Society; Illinois, USA, 1997.
124. Kadifkova Panovska T, Kulevanova S, Stefova M. In vitro antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). *Acta Pharm*. 2005;55:207–214

- 
125. Suboh S, Bilty Y, Aburjai T. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res.* 2004;18:280–284
126. Torres IC, Suarez JC. A preliminary study of hypoglycemic activity of *Lythrum salicaria*. *J Nat Prod.* 1980;43:559–563
127. Jemal A. Global burden of cancer: opportunities for prevention. *Lancet.* 2012; 380:1797–1799.
128. Gharaibeh MN, Elayan HH, Salhab AS. Hypoglycemic effects of *Teucrium polium*. *J Ethnopharmacol.* 1988;24:93–99.
129. CDF.2012.Biographie de la région de Laghouat. Rapport,5p.
130. Salemkour N., Benchouk K., Nouasria D., Kherief Nacereddine S., Benhamra M., 2013. Effets de la mise en défens en repos sur les caractéristiques floristiques et pastorales des parcours steppiques de la région de Laghouat (Algérie). *Journal Algérien des Régions Arides*, 12, 1-12.
131. Houyou Z., 2015. Impact de la mise en culture en pluvial sur la dégradation du sol par érosion éolienne dans la steppe centrale (cas de la région de Laghouat). Thèse Doctorat, USTHB, Alger. 168p.
132. Quézel P., 2002. Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen. IBISPRESS : 112p.
133. Djebaili S., 1984. Recherches phytosociologiques et phytoécologiques sur la végétation des Hautes plaines steppique et de l'Atlas saharien. O.P.U Alger, 177p. + Ann.
134. Djellouli Y et Nedjraoui D., 1995. Evolution des parcours méditerranéens. In pastoralisme, troupeau, espaces et société. Hatier Ed. 440-454.
135. Djellouli Y., Djebaili S., 1984. Synthèse des relations flore-climat en zone aride : cas de la wilaya de Saida. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 181. Actual. Bot. 2. 3.4, 249-264
136. Sauvage Ch., 1963. Etages bioclimatiques. Atlas du Maroc, notice explicative, Rech. Inst.Sc Rabat: 44 p.
137. Djellouli Y., 1981. Etude climatique et bioclimatique des hauts plateaux du sud oranais (wilaya de Saida). Thèse Doctorat 3ème cycle, usthb, Alger, 178 p. + Ann.
138. Bagnouls F., Gaussen H., 1953. Saison sèche et indice xérothermique. *Bull. Soc. Hist. Nat Toulouse*, 88, 193-239
139. Emberger L., 1955. Une classification biogéographique des climats. *Rev. Trav. Lab. Bot., Montpellier*, 7, 3-43.
140. Kalimouni, C. 2010. Caractérisation chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse doctorats : Universités de Toulouse 263p
141. Espinel-ingroff, A., Caton, E. 2007. Antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. In: Schwalbe, R., Steele-Moore, L & Goodwin, A. C (Eds), *Antifungal susceptibility testing protocols* .USA: CRC Press , Taylor & Francis Group, LLC, ,p 210-240.
142. Jilani G, Saxena R.C. 1990. Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and a neem based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera, Bostrychidae). *Journal of Economic Entomology* 83: 629-634.
-

143. Mc Donald L.L., Guy R.H., Speirs R.D. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Research Report. n° 882. Washington: Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture. 183 p.
144. Souhila, T. O. U. I. L., & Tahar, B. F. Z. H. S. (2017). influence of seasonal variation on chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of field wormwood *Artemisia campestris*. *Agro Biologia*, 7(2), 502-511.
145. Saihi .R. 2011. Etude phytochimique, extraction des produits actifs de la plantes *Artemisia campestris*, de région de Djelfa . mise en évidence de l'activité biologique. Thèse de magistère en chimie. Universiti d'Oran. 83p
146. Juteau, F., Masotti, V., Bessière, J. M., & Viano, J. (2002). Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochemical systematics and ecology*, 30 (11), 1065-1070.
147. Belhattab, R., Boudjouref, M., Barroso, J. G., Pedro, L. P., & Figueirido, A. C. (2011). Essential oil composition from *Artemisia campestris* grown in Algeria. *Advances in Environmental Biology*, 5(2), 429-432.
148. Maarfia, S., Zellagui, A., Alma, M. H., Göçeri, A., Karaoğul, E., & Gherraf, N. (2018). Essential Oils of *Bellis Sylvestris*, *Asteriscus Maritimus* and *Artemisia Campestris* Stems Growing in Different Areas in Algeria. *World*, 7(2), 79-84.
149. Dib, I., Fauconnier, M. L., Sindic, M., Belmekki, F., Assaidi, A., Berrabah, M., ... & Ziyat, A. (2017). Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet et effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC complementary and alternative medicine*, 17 (1), 1-15.
150. Aloui, Z., Messaoud, C., Haoues, M., Neffati, N., Bassoumi Jamoussi, I., Essafi-Benkhadir, K., ... & Karoui, H. (2016). Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* essential oils trigger apoptosis and cell cycle arrest in *Leishmania infantum* promastigotes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
151. Ghorab, H., Laggoune, S., Kabouche, A., Semra, Z., & Kabouche, Z. (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia campestris* L. from Khenchela (Algeria). *Der Pharmacia Lettre*, 5 (2), 189-192.
152. Al Jahid, A., Essabaq, S., Elamrani, A., Blaghen, M., & Jamal Eddine, J. (2016). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the hydro-alcoholic extract of *Artemisia campestris* L. leaves from southeastern Morocco. *Journal of biologically active products from nature*, 6(5-6), 393-405.
153. Akrouit, A., El Jani, H., Amouri, S., & Neffati, M. (2009). Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoff. et Link. growing wild in the Southern of Tunisia. *Recent Research in Science and Technology*, 2(1).
154. Btisam, O., Badr, S., Mohamed, G., Lahsen, G., Mariam, F., Balouiri, M., ... & Eddine, B. Y. S. (2016). Provenance effect on the yield, chemical composition and antimicro-bial activity of the essential oils of *Artemisia herba alba* in the Eastern of Morocco<sup>1</sup>

- 
155. Btisam, O., Mohamed, G., Badr, S., Lahsen, E. G., Mariam, F., Mounyr, B., ... & Eddine, B. Y. S. (2016). Effect of harvest date on yield, chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* essential oil. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 7(2), 600-606<sup>2</sup>.
156. Belhattab, R., Amor, L., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Figueiredo, A. C. (2014). Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(2), 243-251.
157. Bellili, S., Dhifi, W., Khsif Al Garni, A. B., Flamini, G., & Mnif, W. (2016). Essential oil composition and variability of *Artemisia herba-alba* Asso. growing in Tunisia: comparison and chemometric investigation of different plant organs.
158. Miloudi, k., tilmatine, a., benmimoun, y., hamimed, a., taibi, a., & bellebna, y. (2018, october). intensification of essential oil Extraction of *Artemisia herba alba* Using Pulsed Electric Field. In *2018 International Conference on Electrical Sciences and Technologies in Maghreb (CISTEM)* (pp. 1-5). IEEE.
159. Bendjabeur, S., Benchabane, O., Bensouici, C., Hazzit, M., Baaliouamer, A., & Bitam, A. (2018). Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2278-2288.
160. Othman, M. B., Salah-Fatnassi, K. B. H., Ncibi, S., Elaissi, A., & Zourgui, L. (2017). Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. *gabesianum* (LH) from Tunisia. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(3), 723-729.
161. Sayyad, R., & Farahmandfar, R. (2017). Influence of *Teucrium polium* L. essential oil on the oxidative stability of canola oil during storage. *Journal of food science and technology*, 54(10), 3073-3081.
162. Boukhebt, h., ramdani, m., lasmi, i., katfi, f., chaker, a. n., & lograda, t. (2019). chemical composition, antibacterial activity, and anatomical study of *Teucrium polium* l. *Asian J Pharm Clin Res*, 12(6), 337-341.
163. Sabzeghabaie, A., & Asgarpanah, J. (2016). Essential oil composition of *Teucrium polium* L. fruits. *Journal of Essential oil rEsEarch*, 28(1), 77-80.
164. Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., & Khaled, M. B. (2017). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6), 346-353.
165. Lianopoulou, V., Bosabalidis, A. M., Patakas, A., Lazari, D., & Panteris, E. (2014). Effects of chilling stress on leaf morphology, anatomy, ultrastructure, gas exchange, and essential oils in the seasonally dimorphic plant *Teucrium polium* (Lamiaceae). *Acta physiologiae plantarum*, 36(8), 2271-2281.
166. McCaskill, D., Gershenzon, J., & Croteau, R. (1992). Morphology and monoterpene biosynthetic capabilities of secretory cell clusters isolated from glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Planta*, 187(4), 445-454.
167. Maizi, Y., Meddah, B., Tir Touil Meddah, A., & Gabaldon Hernandez, J. A. (2019). Seasonal variation in essential oil content, chemical composition and
-

- antioxidant activity of *Teucrium polium* L. growing in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(4), 151-157.
168. Boulila, A., Béjaoui, A., Messaoud, C., & Boussaid, M. (2008). Variation of volatiles in Tunisian populations of *Teucrium polium* L.(Lamiaceae). *Chemistry & biodiversity*, 5(7), 1389-1400.
169. Houicher, A., Hechachna, H., & Özogul, F. (2016). In vitro determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria. *International Journal of Food Properties*, 19(8), 1749-1756.
170. Boukhalkhal, S., Gourine, N., Pinto, D. C., Silva, A. M., & Yousfi, M. (2018). Variability of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oils of two subspecies of *Artemisia campestris* L. growing in Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1829-1842.
171. Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46, 85-96.
172. Rafika, G., Zahia, H., & Nesma, H. (2018). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia campestris* ssp. *glutinosa* (J. Gay) Batt. and *A. judaïca* ssp. *sahariensis* (Chev.) Species Endemic to the Algerian Sahara. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(3), 779-788.
173. Titouhi, F., Amri, M., Messaoud, C., Haouel, S., Youssfi, S., Cherif, A., & Jemâa, J. M. B. (2017). Protective effects of three *Artemisia* essential oils against *Callosobruchus maculatus* and *Bruchus rufimanus* (Coleoptera: Chrysomelidae) and the extended side-effects on their natural enemies. *Journal of Stored Products Research*, 72, 11-20.
174. Lakehal, S., Meliani, A., Benmimoune, S., Bensouna, S. N., Benrebaha, F. Z., & Chaouia, C. (2016). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *Med. Chem*, 6(6), 435-439. DOI: 10.4172/2161-0444.1000382
175. Amel, D., Faiza, T., Sabrina, B., Mahieddine, B., Nacera, H. S., & Azzedine, C. (2017). Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Artemisia herba alba* (Asteraceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Int J. Biosci*, 10(2), 130-137.
176. Bertella, A., Benlahcen, K., Abouamama, S., Pinto, D. C., Maamar, K., Kihal, M., & Silva, A. M. (2018). *Artemisia herba-alba* Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity. *Industrial Crops and Products*, 116, 137-143.
177. Dob, T., & Benabdelkader, T. (2006). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 18(6), 685-690.
178. Hudaib, M. M., & Aburjai, T. A. (2006). Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *Journal of Essential Oil Research*, 18(3), 301-304.
179. Mighri, H., Akrouit, A., Neffati, M., Tomi, F., & Casanova, J. (2009). The essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso cultivated in arid land (South Tunisia). *Journal of Essential Oil Research*, 21(5), 453-456.

- 
180. Amri, I., De Martino, L., Marandino, A., Lamia, H., Mohsen, H., Scandolera, E., ... & Mancini, E. (2013). Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in Tunisia. *Natural product communications*, 8(3), 1934578X1300800333.
181. Hussain, J., Rehman, N. U., Al-Harrasi, A., Ali, L., Khan, A. L., & Albroumi, M. A. (2013). Essential oil composition and nutrient analysis of selected medicinal plants in Sultanate of Oman. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(6), 421-428.
182. Heydarzade, A., & Moravvej, G. (2012). Contact toxicity and persistence of essential oils from *Foeniculum vulgare*, *Teucrium polium* and *Satureja hortensis* against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius)(Coleoptera: Bruchidae) adults. *Turkish Journal of Entomology*, 36(4), 507-518.
183. Kokkini, S. et al. 1997b. Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry* .Vol. 44.n 5.p. 883-886.
184. Russo, M., Galletti, C., Bocchini, P et al . 1998. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice ( *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link)): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *Journal of Agricultural and Food chemistry* . 46.p.3741-3746.
185. Karousou R., Koureas D.N. & Kokkini S., 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in natura 2000 sites of Crete. *Photochemistry* .66.p.2668-2673.
186. Reaisi, Z., Yadegari, M., & Shirmardia, H. A. (2019). Effects of Phenological Stage and Elevation on Phytochemical Characteristics of Essential Oil of *Teucrium polium* L. and *Teucrium orientale* L. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 6(1), 89-99.
187. Nik ZB, Mirza M, Ghaffari M (2008) Effect of drought stress on growth and essential oil contents in *Parthenium argentatum* Gray. *J Essent Oil Bear Plants* 11:423-429
188. Abdelmajeed NA, Danial EN, Ayad HS (2013) The effect of environmental stress on qualitative and quantitative essential oil of aromatic and medicinal plants. *Arch Sci* 66:100-120
189. Singh Sangwan N, Abad Farooqi AH, Singh Sangwan R (1994) Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. *New Phytol* 128:173-179
190. Wang, M., Zeng, L., Lu, S., Shao, M., Liu, X., Yu, X., Chen, W., Yuan, B., Zhang, Q., Hu, M., Zhang, Z., 2014. Development and validation of a cryogen-free automatic gas chromatograph system (GC-MS/FID) for online measurements of volatile organic compounds. *Anal. Meth.* 6, 9424-9434
191. Kwazou, N., Jazet, D., Tatsadjieu, L., et al. 2009. Propriétés antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes du genre *Aframomum* de Cameroun contre *Aspergillus flavus*. *Cameroon journal of experimental*. Vol.05. n :1. P44-51.
192. Połec, K., Wójcik, A., Flasiński, M., Wydro, P., Broniatowski, M., & Hąc-Wydro, K. (2019). The influence of terpinen-4-ol and eucalyptol—The essential oil components—on fungi and plant sterol monolayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1861(6), 1093-1102.
-

- 
193. Hąc-Wydro, K., Blecharz, A., & Wydro, P. (2018). The influence of eucalyptol/terpinen-4-ol mixtures on monolayers imitating plant pathogen *Botrytis cinerea* membranes. *Journal of Molecular Liquids*, 271, 472-480.
194. Zouari, S., Zouari, N., Fakhfakh, N., Bougatef, A., Ayadi, M. A., & Neffati, M. (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 871-880.
195. Kolai, n., saiah, f., & boudia, a. (2012). Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d'artemesia herba alba sur deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. radialis-lycopersici. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 2(1), 6-6.
196. Sidaoui, A., Karkachi, N., Bertella, A., Boudeffeur, S., Chhiba, M., Tebyaoui, A., ... & Kihal, M. (2017). Morphological study and characterisation of *Fusarium oxysporum* f. sp. albedinis by isozymes systems. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 8, 1764-1768.
197. Elhouiti, F., Benabed, K. H., Tahri, D., Ouinten, M., & Yousfi, M. (2022). Antioxidant and antifungal activities of essential oils from Algerian spontaneous plants against five strains of spp. *Hellenic Plant Protection Journal*, 15(1), 30-39.
198. Erel, Ş. B., Reznicek, G., Şenol, S. G., YAVAŞOĞLU, N. Ü. K., Konyalıoğlu, S., & Zeybek, A. U. (2012). Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia L.* species from western Anatolia. *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 75-84.
199. Touaibia, M. M. Dhoha Abdelali, Faiza Raber Elmaizi & Fairouz Saidi (2021). Phytochemical characterization and evaluation of some biological activities of felty germander essential oil: *Teucrium polium* L.(LAMIACEAE). *RHAZES: Green and Applied Chemistry*, 11, 97-107.
200. Saleh, I., Abd-ElGawad, A., El Gendy, A. E. N., Abd El Aty, A., Mohamed, T., Kassem, H., ... & Hegazy, M. E. F. (2020). Phytotoxic and antimicrobial activities of *Teucrium polium* and *Thymus decussatus* essential oils extracted using hydrodistillation and microwave-assisted techniques. *Plants*, 9(6), 716.
201. Roukia, H., Mahfoud, H. M., & Ould El Hadj, M. D. (2013). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Teucrium polium* geyrii (Labiatae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(20), 1506-1510.
202. Dorman, H.J.D., Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88: 308-316.
203. Senhaji, O., Faid, M., Kalalou, L. 2006. Etude de pouvoir antifongique de l'huile essentielle de Cannelle. *Phytothérapie expérimentale*. n : 24.p 24-30.
204. Ourain, O., Agoumi, A., Alouik, et al. 2005. Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines. *Pharmacologie*. n .1. p.3-12.
205. Sharma, N., & Tripathi, A. (2008). Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological research*, 163(3), 337-344.
206. Mares, D., Tosi, B., Poli, F., Andreotti, E., & Romagnoli, C. (2004). Antifungal activity of *Tagetes patula* extracts on some phytopathogenic fungi:
-

- ultrastructural evidence on *Pythium ultimum*. *Microbiological Research*, 159(3), 295-304.
207. Jalal, Z., El Atki, Y., Lyoussi, B., & Abdellaoui, A. (2015). Phytochemistry of the essential oil of *Melissa officinalis* L. growing wild in Morocco: Preventive approach against nosocomial infections. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(6), 458-461.
208. Nóbrega, J. R., Silva, D. D. F., Andrade Júnior, F. P. D., Sousa, P. M. S., Figueiredo, P. T. R. D., Cordeiro, L. V., & Lima, E. D. O. (2020). Antifungal action of  $\alpha$ -pinene against *Candida* spp. isolated from patients with otomycosis and effects of its association with boric acid. *Natural Product Research*, 35(24), 6190-6193.
209. de Macêdo Andrade, A. C., Rosalen, P. L., Freires, I. A., Scotti, L., Scotti, M. T., Aquino, S. G., & de Castro, R. D. (2018). Antifungal activity, mode of action, docking prediction and anti-biofilm effects of (+)- $\beta$ -pinene enantiomers against *Candida* spp. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18 (29), 2481-2490.
210. Feng, X. Z., Xiao, Z., Zhang, L., Liao, S., Chen, S., Luo, H., ... & Wang, Z. (2020). Antifungal activity of  $\beta$ -pinene-based hydronopyl quaternary ammonium salts against phytopathogenic fungi. *Natural Product Communications*, 15(8), 1934578X20948365.
211. Chee, H. Y., Mm, H., & Lee, M. H. (2009). In vitro antifungal activity of limonene against *Trichophyton rubrum*. *Mycobiology*, 37 (3), 243-246.
212. Chavan, P. S., & Tupe, S. G. (2014). Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Control*, 46, 115-120.
213. Ivanov, M., Kannan, A., Stojković, D. S., Glamočlija, J., Calhella, R. C., Ferreira, I. C., ... & Soković, M. (2021). Camphor and eucalyptol—anticandidal spectrum, antivirulence effect, efflux pumps interference and cytotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 483.
214. Thakre, A. D., Mulange, S. V., Kodgire, S. S., Zore, G. B., & Karuppayil, S. M. (2016). Effects of cinnamaldehyde, ocimene, camphene, curcumin and farnesene on *Candida albicans*. *Advances in Microbiology*, 6(09), 627.
215. Wang, Y., & Liu, H. (2021). Liquid and vapor-phase antifungal activities of natural borneol against *Candida albicans* and its germ tube formation. *bioRxiv*.
216. Jing, G. X., Tao, N. G., Jia, L., & Zhou, H. E. (2015). Influence of  $\alpha$ -terpineol on the growth and morphogenesis of *Penicillium digitatum*. *Botanical Studies*, 56(1), 1-6.
217. Kong, Q., Zhang, L., An, P., Qi, J., Yu, X., Lu, J., & Ren, X. (2019). Antifungal mechanisms of  $\alpha$ -terpineol and terpene-4-alcohol as the critical components of *Melaleuca alternifolia* oil in the inhibition of rot disease caused by *Aspergillus ochraceus* in postharvest grapes. *Journal of applied microbiology*, 126(4), 1161-1174.
218. Issakou, B. V., Espérance, L., Ossoga, G. W., Ousman, A. H., Valéry, M. B., Tidjani, A., & Chantal, M. (2022). Activité Antifongique de l'Huile Essentielle de *Cymbopogon Citratus* (DC) Stapf (Poaceae): Cas des Moisissures Isolées des Poissons Fumés et Séchés des Marchés de N'Djaména. *health sciences and disease*, 23(12).

219. Antoinette, Y. C. C. C., & Traoré, R. B. G. (2021). Évaluation de l'activité antifongique des extraits de zeste de Citrus limon sur une souche d'*Aspergillus fumigatus* responsable d'allergie respiratoire, Abidjan (Côte d'Ivoire) Evaluation of the *Antifungal* activity of Citrus limon zest extracts on a strain of *Aspergillus fumigatus* responsible for respiratory allergy.
220. Alilou, H., & Akssira, M. (2016). Isolement, Identification et activite antifongique de deux sesquiterpenes d'*Asteriscus graveolens* Subsp. *Odorus* (Schousb.) Greuter. *European Scientific Journal*, 12, 33.
221. Dongmo, P. M. J., Kuate, J., Boyom, F. F., Ducelier, D., Damesse, F., Zollo, P. H. A., ... & Bessiere, J. M. (2002). Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. *Fruits*, 57(2), 95-104.
222. Rguez, S., Daami-Remadi, M., Cheib, I., Laarif, A., & Hamrouni, I. (2013). Composition chimique, activité antifongique et activité insecticide de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. *Tunis J Med Plants Nat Prod*, 9(2), 65-76.
223. Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
224. Omoruyi, B. E., Afolayan, A. J., & Bradley, G. (2014). Chemical composition profiling and antifungal activity of the essential oil and plant extracts of *Mesembryanthemum edule* (L.) bolus leaves. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(4), 19-30.
225. Pereira, F. G., Marquete, R., Domingos, L. T., Rocha, M. E., Ferreira-Pereira, A., Mansur, E., & Moreira, D. L. (2017). Antifungal activities of the essential oil and its fractions rich in sesquiterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Sw. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89, 2817-2824.
226. Magan N. Olsen M., 2004-Mycotoxines in food: Detection and control, Woodhead Publishing in Food Science and Technology.P:190-203.
227. Heyen, U. Harder J. 1995. Geranic acid formation, an initial reaction of Gram-bacteria. *Journal of Applied Microbiology*.25.p:259-270.
228. Purnavab, S., Ketabchi, S., & Rowshan, V. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of methanolic extract and essential oil of Iranian *Teucrium polium* against some of phyto-bacteria. *Natural product research*, 29(14), 1376–1379. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.1000320>
229. Oroojalian, F., Orafaee, H., & Azizi, M. (2017). Synergistic antibacterial activity of medicinal plants essential oils with biogenic silver nanoparticles. *Nanomedicine Journal*, 4(4), 237-244.
230. Reis, S. L., Mantello, A. G., Macedo, J. M., Gelfuso, E. A., Da Silva, C. P., Fachin, A. L., ... & Belebony, R. O. (2016). Typical monoterpenes as insecticides and repellents against stored grain pests. *Molecules*, 21(3), 258.
231. Khadhri, A., Aouadhi, C., Masson, E., & Pizzi, A (2022). Comparison of Essential Oil Composition, Phenolic Compound and Biological.
232. Al Jahid, A., Elamrani, A., Lahlou, F. A., Hmimid, F., Bourhim, N., Blaghen, M., & Eddine, J. J. (2017). Chemical composition and antibacterial activity of the

- essential oil isolated from the seeds of Moroccan *Artemisia campestris* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(2), 375-384.
233. Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Manresa, A., Zerouali, K., & Amghar, S. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Artemisia herba-alba* and *Mentha pulegium* essential oils. *Journal of Life Sciences*, 8(1).
234. Rowayshed, G. H., Abd-Elhameed, A. A., Abd-Elghany, M. E. A., Shahat, A. A., & Younes, O. A. A. (2014). Effective chemical compounds and antibacterial activities of marjoram leaves, teucrium leaves and fennel fruits essential oils. *Middle East J. Appl. Sci*, 4, 637-647.
235. Bouhdid, S., Skali, S.N., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Amensour, M., Abrini, J. 2008. Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. *Afr. J. Biotechnol.*, 7(10): 1563-1570.
236. Sikkema, J., de Bont, J. A., & Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of biological Chemistry*, 269(11), 8022-8028.
237. Sevindik, E., Abacı, Z. T., Yamaner, C., & Ayvaz, M. (2016). Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Teucrium polium* and *Achillea millefolium* grown under North Anatolian ecological conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(2), 375-380.
238. Siddique, S., Parveen, Z., & Mazhar, S. (2020). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from leaves of three *Melaleuca* species of Pakistani flora. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 67-74.
239. Cutillas, A. B., Carrasco, A., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., & Tudela, J. (2018). Thyme essential oils from Spain: Aromatic profile ascertained by GC–MS, and their antioxidant, anti-lipoxygenase and antimicrobial activities. *Journal of food and drug analysis*, 26(2), 529-544.
240. Fadli, M., Saad, A., Sayadi, S., Chevalier, J., Mezrioui, N. E., Pagès, J. M., & Hassani, L. (2012). Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection–bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine*, 19(5), 464-471.
241. Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.*, 79: 213-220.
242. Chueca, B., Pagán, R., & García-Gonzalo, D. (2014). Oxygenated monoterpenes citral and carvacrol cause oxidative damage in *Escherichia coli* without the involvement of tricarboxylic acid cycle and Fenton reaction. *International journal of food microbiology*, 189, 126-131.
243. Kotan, R., Kordali, S., & Cakir, A. (2007). Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(7-8), 507-513.
244. Badawy, M. E., Marei, G. I. K., Rabea, E. I., & Taktak, N. E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activities of hydrocarbon and oxygenated monoterpenes

- against some foodborne pathogens through in vitro and in silico studies. *Pesticide biochemistry and physiology*, 158, 185-200.
245. Chebbac, K., Benziane Ouaritini, Z., El Moussaoui, A., Chalkha, M., Lafraxo, S., Bin Jordan, Y. A., ... & Guemmouh, R. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chemically Analyzed Essential Oil of *Artemisia annua* L.(Asteraceae) Native to Mediterranean Area. *Life*, 13(3), 807.
246. Cucho-Medrano, J. L. L., Mendoza-Beingolea, S. W., Fuertes-Ruitón, C. M., Salazar-Salvatierra, M. E., & Herrera-Calderon, O. (2021). Chemical profile of the volatile constituents and antimicrobial activity of the essential oils from *Croton adipatus*, *Croton thurifer*, and *Croton collinus*. *Antibiotics*, 10 (11), 1387.
247. Martins, C. D. M., Nascimento, E. A. D., de Moraes, S. A., de Oliveira, A., Chang, R., Cunha, L., ... & de Aquino, F. J. (2015). Chemical constituents and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc. essential oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
248. Khani, A., & Heydarian, M. (2014). Fumigant and repellent properties of sesquiterpene-rich essential oil from *Teucrium polium* subsp. capitatum (L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(12), 956-961.
249. Sharifian, I., Hashemi, S. M., Aghaei, M., & Alizadeh, M. (2012). Insecticidal activity of essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso against three stored product beetles. *Biharean biologist*, 6(2), 90-93.
250. Bigham, M., Hosseinaveh, V., Nabavi, B., Talebi, K., & ESMAEILZADEH, N. S. (2010). Effects of essential oil from *Teucrium polium* on some digestive enzyme activities of *Musca domestica*. *Entomological Research*, 40(1), 37-45.
251. Mohammed, E., Riffi, O. R., Fliou, J., El Idrissi, M., & Amechrouq, A. (2021). composition of the essential oil of the leaves of *Artemisia herba alba* asso (asteraceae) and its insecticidal activity on *callosobruchus maculatus* fabricius (coleoptera: bruchidae). *journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 10(6), e3293-e3293.
252. Aimad, A., Bourhia, M., Hana, H., Sanae, R., Salamatullah, A. M., Soufan, W., ... & Mohamed, F. (2022). Essential oils from *Artemisia herba alba* asso., *maticaria recutita* L., and *dittrichia viscosa* L.(asteraceae): a promising source of eco-friendly agents to control *callosobruchus maculatus* fab. Warehouse pest. *Journal of Chemistry*, 2022.
253. Ilboudo, Z., Dabiré, L. C. B., Nébié, R. C. H., Dicko, I. O., Dugravot, S., Cortesero, A. M., & Sanon, A. (2010). Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 46(2), 124-128
254. Hummelbrunner, L. A., & Isman, M. B. (2001). Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and food chemistry*, 49(2), 715-720.
255. Ngamo, T. S. L., Ngatanko, I., Ngassoum, M. B., Mapongmestsem, P. M., & Hance, T. (2007). Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three

- aromatic plants towards four major stored product insect pests. *African Journal of Agricultural Research*, 2(4), 173-177.
256. Chauhan, N., Kashyap, U., Dolma, S. K., & Reddy, S. G. E. (2022). Chemical composition, insecticidal, persistence and detoxification enzyme inhibition activities of essential oil of *Artemisia maritima* against the pulse beetle. *Molecules*, 27 (5), 1547.
257. Mssillou, I., Saghrouchni, H., Saber, M., Zannou, A. J., Balahbib, A., Bouyahya, A., ... & Derwich, E. (2022). Efficacy and role of essential oils as bio-insecticide against the pulse beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) in post-harvest crops. *Industrial Crops and Products*, 189, 115786.
258. Jayaram, C. S., Chauhan, N., Dolma, S. K., & Reddy, S. E. (2022). Chemical composition and insecticidal activities of essential oils against the pulse beetle. *Molecules*, 27(2), 568.
259. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
260. Tanoh, E. A., Boué, G. B., Nea, F., Genva, M., Wognin, E. L., Ledoux, A., ... & Fauconnier, M. L. (2020). Seasonal effect on the chemical composition, insecticidal properties and other biological activities of *Zanthoxylum leprieurii* guill. & perr. essential oils. *Foods*, 9(5), 550.
261. Balahbib, A., El Omari, N., Hachlafi, N. E., Lakhdar, F., El Menyiy, N., Salhi, N., ... & Bouyahya, A. (2021). Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. *Food and Chemical Toxicology*, 153, 112259.
262. Murillo, M. C. Á., Suarez, L. E. C., & Salamanca, J. A. C. (2014). Chemical composition and insecticidal properties of essential oils of *Piper septuplinervium* and *P. subtomentosum* (Piperaceae). *Natural Product Communications*, 9(10), 1934578X1400901031.
263. Yıldırım, E., Emsen, B., & Kordalı, S. (2013). Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae).
264. Liu, Z., Li, Q. X., & Song, B. (2022). Pesticidal activity and mode of action of monoterpenes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(15), 4556-4571.
265. Goudjil, M. B., Ladjel, S., Bencheikh, S. E., Zighmi, S., & Hamada, D. (2015). Chemical compounds profile, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the *Artemisia herba-alba* of Southern Algeria. *Int. J. Biol. Chem*, 9, 70-78.
266. Khalil, S. Y., Nhari, B., Insaf, M., & Mohamed, F. Life cycle study of *Callosobruchus maculatus* (Fab.)(Coleoptera: Chrysomelidae) and insecticidal activity of essential oils of *Origanum compactum*.

## ANNEXE

### ANNEXE 01

Plages de la densité optique et taille de l'inoculum pour les moisissures communes et rares

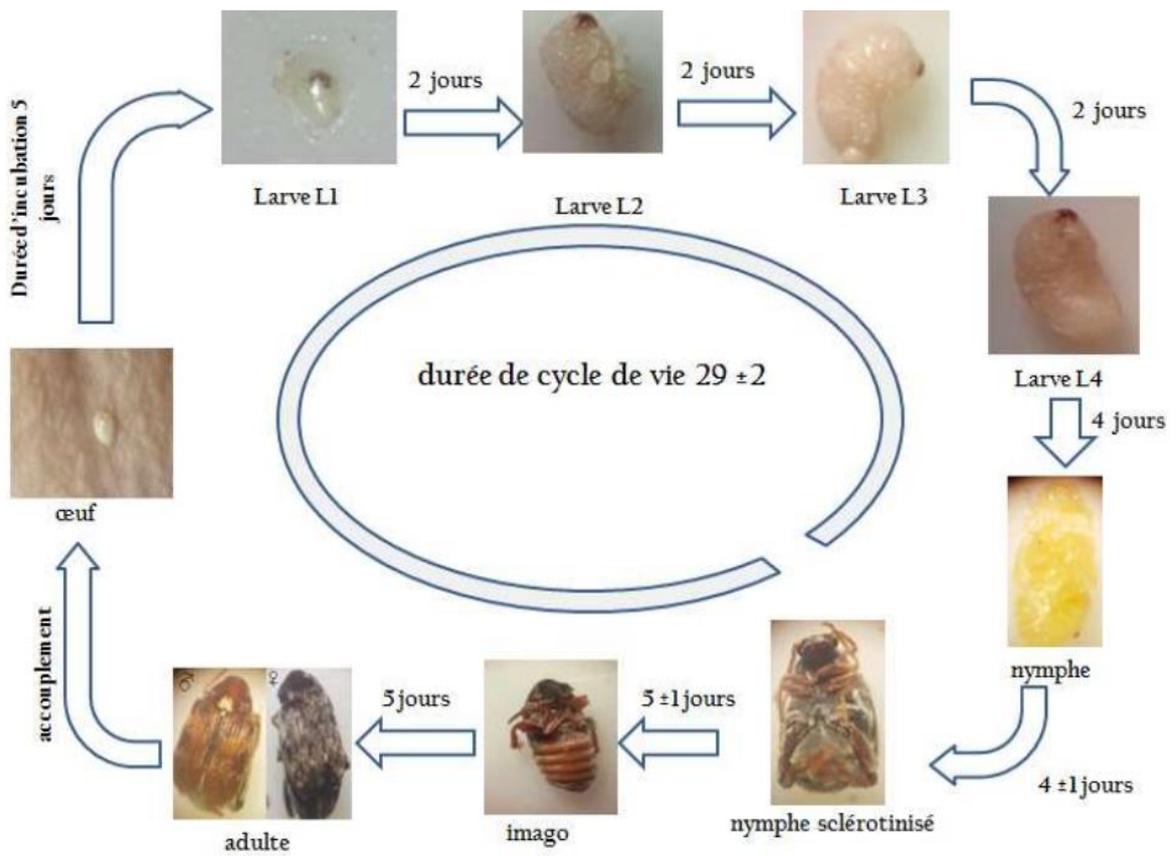
Species	OD Range (%T) <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> CFU/mL Range
<i>A. nidulans</i>	0.09–0.11 (80–82)	1.1–2
<i>A. flavus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.4–4
<i>A. fumigatus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.6–5
<i>A. terreus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.9–5
<i>Bipolaris hawaiiensis</i>	0.2–0.3	0.07–0.4
<i>B. spicifera</i>	0.2–0.3	0.3–3
<i>Cladophialophora bantiana</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.4–3.1
<i>Dactylaria constricta</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.4–1
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.8–5
<i>F. solani</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.5–5.9
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.09–0.13	0.8–2.3
<i>P. variotii</i>	0.09–0.11 (80–82)	ND
<i>Scedosporium apiospermum</i>	0.15–0.17	0.4–3.2
<i>R. arrhizus</i>	0.15–0.17	0.4–2.6
<i>S. prolificans</i>	0.15–0.17	0.6–1.7
<i>S. schenckii</i>	0.09–0.11	
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	0.09–0.11	0.7–2.3
<i>Wangiella dermatitidis</i>	0.15–0.17	1.2–3.7

<sup>a</sup> %T = percent transmission.

#### Contrôle de stérilité



ANNEXE 02:



Cycle de vie de *Callosobruchus maculatus* [266]

## ANNEXE

### ANNEXE 03 : Analyse de la variance Effet répulsif

-ANOVA à un facteur contrôlé (*Artemisia herba alba*) en fonction de la concentration

#### Analyse de variance

Source	Som. Car			Valeur F	Valeur de p
	DL	ajust	CM ajust		
Concentration	10	38258	3825,82	89,54	0
Erreur	44	1880	42,73		
Total	54	40138			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia herba alba* S1) en fonction de la concentration

#### Analyse de variance

Source	SomCar			Valeur F	Valeur de p
	DL	ajust	CM ajust		
concentration	5	34096,7	6819,33	227,31	0
Erreur	24	720	30		
Total	29	34816,7			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia herba alba* S2) en fonction de la concentration

#### Analyse de variance

Source	SomCar			Valeur F	Valeur de p
	DL	ajust	CM ajust		
concentration	5	34817	6963,33	130,56	0
Erreur	24	1280	53,33		
Total	29	36097			

-ANOVA à un facteur contrôlé (*Artemisia campestris*) en fonction de la concentration

#### Analyse de variance

Source	SomCar			Valeur F	Valeur de p
	DL	ajust	CM ajust		
concentration	10	37884	3788,36	143,7	0
Erreur	44	1160	26,36		
Total	54	39044			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia campestris* S1) en fonction de la concentration

#### Analyse de variance

Source	SomCar			Valeur F	Valeur de p
	DL	ajust	CM ajust		
concentration	5	33347	6669,33	153,91	0
Erreur	24	1040	43,33		
Total	29	34387			

## ANNEXE

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia campestris* S2) en fonction de la concentration

Analyse de variance

Source	DL	Som Car		Valeur F	Valeur
		ajust	CM ajust		de p
concentration	5	32706,7	6541,33	654,13	0
Erreur	24	240	10		
Total	29	32946,7			

-ANOVA à un facteur contrôlé (*T.polium*) en fonction de la concentration

Analyse de variance

Source	DL	Som Car		Valeur F	Valeur
		ajust	CM ajust		de p
concentration	10	40352,7	4035,27	277,43	0
Erreur	44	640	14,55		
Total	54	40992,7			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*T.polium* S1) en fonction de la concentration

Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
concentration	6	C1; C2; C3; C4; C5; TEM

Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur
		ajust	CM ajust		de p
concentration	5	35376,7	7075,33	326,55	0

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*T.polium*S2) en fonction de concentration

Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
concentration	6	C1; C2; C3; C4; C5; TEM

Analyse de variance

Source	DL	Som Car		Valeur F	Valeur
		ajust	CM ajust		de p
concentration	5	36976,7	7395,33	739,53	0
Erreur	24	240	10		
Total	29	37216,7			

## ANNEXE

### Annexe 03 : Analyse de variance : Effet par Inhalation

-ANOVA à un facteur contrôlé (*Artemisia herba alba*) en fonction de la concentration

#### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
TRT	10	AHS1-D1; AHS1-D2; AHS1-D3; AHS1-D4; AHS1-D5; AHS2-D1; AHS2-D2; AHS2-D3; AHS2-D4; AHS2-D5

#### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
TRT	9	4032	448	26,35	0
Erreur	40	680	17		
Total	49	4712			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia herba alba* S1) en fonction de concentration

#### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
DOSE\$	5	DOSE1; DOSE2; DOSE3; DOSE4; DOSE5

#### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
DOSE\$	4	1624	406	11,94	0
Erreur	20	680	34		
Total	24	2304			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia herba alba* S2) en fonction de concentration

#### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
DOSE	5	DOSE1; DOSE2; DOSE3; DOSE4; DOSE5

#### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
DOSE	4	2400	600	*	*
Erreur	20	0	0		

-ANOVA à un facteur contrôlé (*Artemisia campestris*) en fonction de concentration

#### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
TRT_1	10	ACS1-D1; ACS1-D2; ACS1-D3; ACS1-D4; ACS1-D5; ACS2-D1; ACS2-D2; ACS2-D3;

## ANNEXE

ACS2-D4; ACS2-D5

### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
TRT_1	9	26272	2919,1	13,33	0
Erreur	40	8760	219		
Total	49	35032			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia campestris* S1) en fonction de concentration

### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
DOSE\$	5	DOSE1; DOSE2; DOSE3; DOSE4; DOSE5

### Analyse de variance

Source	DL	Som Car		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
DOSE\$	4	8496	2124	18,31	0
Erreur	20	2320	116		
Total	24	10816			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*Artemisia campestris* S2) en fonction de concentration

### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
DOSE\$	5	DOSE1; DOSE2; DOSE3; DOSE4; DOSE5

### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
DOSE\$	4	12776	3194	9,92	0
Erreur	20	6440	322		
Total	24	19216			

ANOVA à un facteur contrôlé (*T.polium*) en fonction de concentration

### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
TRT_2	10	TPS1-D1; TPS1-D2; TPS1-D3; TPS1-D4; TPS1-D5; TPS2-D1; TPS2-D2; TPS2-D3; TPS2-D4; TPS2-D5

## ANNEXE

### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
TRT_2	9	10272	1141,33	29,26	0
Erreur	40	1560	39		
Total	49	11832			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*T.polium* S1) en fonction de concentration

### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
DOSE\$	5	DOSE1; DOSE2; DOSE3; DOSE4; DOSE5

### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
DOSE\$	4	3360	840	26,25	0
Erreur	20	640	32		
Total	24	4000			

-ANOVA à un facteur contrôlé : (*T.polium* S2) en fonction de concentration

### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
DOSE\$	5	DOSE1; DOSE2; DOSE3; DOSE4; DOSE5

### Analyse de variance

Source	DL	SomCar		Valeur F	Valeur de p
		ajust	CM ajust		
DOSE	4	6784	1696	36,87	0
Erreur	20	920	46		
Total	24	7704			

Research Article

## Seasonal variation of yield, chemical composition and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil growing in the south of Algeria

Hind Hechachna<sup>1\*</sup>, Leila Allal Benfekih<sup>1</sup>, Nadhir Gourine<sup>2</sup> and Mohamed Yousfi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Research of Medicinal and Aromatic Plants, Faculty of Science of Nature and Life, University of Blida 1, BP 270, Soumaa, Blida (09000) Algeria

<sup>2</sup> Laboratoire des Sciences Fondamentales (LSF), Université Amar Têlidji, Laghouat, BP. 37G (03000), Laghouat, Algeria

**Corresponding Author**

Hind Hechachna  
[hindhechachna@gmail.com](mailto:hindhechachna@gmail.com)

**Received** 15 May 2023

**Revised** 23 August 2023

**Accepted** 24 August 2023

**Abstract**

Essential oils (EOs) have been recognized as potential secondary products of aromatic plants that are environmentally friendly while performing a variety of biological properties. In this research, the essential oil of aerial parts *Teucrium polium* L. (Lamiaceae), collected in winter and autumn in the south of Algeria was characterized in order to better understand differences in yield, chemical composition and antimicrobial activity. Seasonal changes have been recorded in the yield and composition of *T. polium* L. essential oil with a percentage of 0.20% (v/w) in autumn and a highest yield 0.42% (v/w) in winter. The autumn samples contained  $\beta$ -pinene (23.97%) and  $\gamma$ -muurolene (17.7%) as the major compounds while the winter samples contained mainly camphor (22.09%) and eucalyptol (13.70%). Six different bacteria strains consisting of three Gram positive, three Gram negative bacteria and nine toxigenic fungal strains were used for antimicrobial activity. A concentration of 10  $\mu$ l/ml (v/v) of both seasons essential oils inhibited the growth of *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. For the other bacterial strains, the winter essential oil was more active than the autumn one with a minimal inhibitory concentration of 5  $\mu$ l/ml and 10  $\mu$ l/ml respectively. The essential oils from autumn and winter seasons inhibited the growth of *Listeria monocytogenes* at a minimal inhibitory concentration of 20  $\mu$ l/ml. These essential oils exhibited fungicidal activity at the minimal fungicidal concentrations of 20  $\mu$ l/ml for some strains, while the other strains showed no fungicidal effect ( $>20$   $\mu$ l/ml). *Aspergillus flavus* and *Fusarium graminearum* were inhibited from a concentration of 10  $\mu$ l/ml (v/v), whereas *A. flavus* and *Penicillium glabrum* were sensitive at a minimal fungicidal concentration of 20  $\mu$ l/ml. Overall, essential oils obtained in winter show more effective antifungal activity than autumn essential oil against the majority of fungal strains.

**Keywords**

Antimicrobial activity, bactericidal activity, essential oil, fungicidal effect, season, *Teucrium polium*

### Introduction

Antibiotics, pesticides, and plant protection products have become frequently discussed issues in present day society. The necessity of focusing scientific study on phytomolecules from medicinal plants has always been important since they have historically been alternatives to synthetic pesticides and antibiotics. This is due to the concern about microbial infections caused

by pathogen species that have gained multitude resistances. Furthermore, the negative effects of synthetic pesticides and antibiotics encourage their substitution for natural agents from medicinal plants<sup>1-3</sup>. Essential oils, considered as natural bioactive substances, are a good choice in the discovery of new molecules that are widely used for their antibacterial, antifungal

and insecticidal activities and have attracted the interest of several researchers due to the number of their enumerable biological properties such as anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, genotoxic, anti-diabetic, anti-tyrosinase, anti-cholinesterase, anti-urolithic activities<sup>4-10</sup>.

Due to its geographical position, there are different bioclimatic stages in Algeria, leading to a biodiversity of plants that are used as condiments, natural foods, and for therapeutic purposes<sup>11</sup>. The region of Laghouat (south of Algeria), with its Saharan characteristics and its geographical and bioclimatic semi arid and arid stages, offers a considerable wealth of flora. Some of its plant species are known for their aromatic and/or medicinal properties, including the genus *Teucrium* (Lamiaceae) that is found abundantly in the Algerian flora<sup>12</sup>. The species *Teucrium polium* L. (Feltly germander) commonly called “Jaaida” or “Kheyata” is often used by the Algerian population. It generally develops spontaneously in well drained soils in sunny regions, belonging to semi arid and arid bioclimatic stages. It is used for therapeutic purposes<sup>12,13</sup>, and is characterized by its richness in essential oils of different compositions, which has led to the identification of several chemotypes<sup>14-16</sup>. Research works have indicated that this plant has important biological properties<sup>14,17,18</sup>. Although, few of them have been devoted to the evaluation of the fungistatic effect and bactericidal power of *Teucrium polium* essential oils against different fungal diseases, yet, no report exists on their fungicidal effect. Indeed, the geographical origin of this medicinal species, the heat and the exposure to solar radiation can influence the development of protection mechanisms based on the synthesis of specific secondary metabolites, with characteristics and biological activities to be investigated<sup>14-16</sup>. The present study aims to characterize the essential oil produced by this plant growing wild in Algerian arid and semi arid areas and collected in two different seasons. We focus particularly on the antimicrobial effect of the essential oil (EO) isolated from the aerial parts of this plant in order to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC), minimum fungicide concentration (MFC) and

the minimum bactericidal concentration (MBC) of this essential oil, according to the season.

## **Materials and methods**

### ***Plant material***

*Teucrium polium* (aerial parts) samples were collected during the vegetative phase in autumn (October) and in winter (December), in the Aflou zone, corresponding to the following coordinates: 34°6'26.951" N, 2°6'3.055" E, located at 100 km from the northwest of Laghouat city, southern Algeria. Average annual precipitations are 42.225 mm with average maximum and average minimum temperatures of 21.91°C and 6.38°C respectively. For the study year 2018, the lowest temperature was recorded in February with an average value of 4.4°C, while the highest temperature was that of July with 28.3°C. Emberger's Bioclimatic Quotient Q2<sup>19</sup>, classifies Aflou in the semi arid bioclimatic stage with a mild winter. The plant species identification was confirmed by Professor Kouidri Mohamed at the Agricultural Department, Laghouat University, Algeria, using Quezel and Santa, (1963)<sup>12,13</sup> North Africa Flora key. The collected plant material was dried for 15 days in the shade at room temperature, then ground and stored in paper sacks until use.

### ***Essential oils extraction***

EOs were extracted by hydrodistillation for three hours using a Clevenger type apparatus according to the European Pharmacopoeia method. The obtained EOs were collected separately with respect to season collection, then dried over anhydrous sodium sulfate (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and stored at 4°C in amber glass vials until analysis and testing. The yield was evaluated in triplicate based on initial fresh dried plant weight (yield% v/w).

### ***Gas chromatography analysis***

Gas chromatography analysis of *Teucrium polium* EO was conducted in the Research Laboratory of Fundamental Sciences at the University of Laghouat. The GC analysis was performed using a gas chromatography type GC5400 Skyray instruments, equipped with a flame ionization detector (FID) and a capillary DB-5 column

(30 m × 0.32 mm; 0.1 µm film thickness). The injector and detector temperature was held at 250°C and 280°C, respectively. The column temperature program was 50°C, increasing at 3°C/min towards 280°C and held at 280°C for 10 min. A volume of 0.2 µL of diluted samples (1/50 n/C<sub>5</sub>, v/v) was injected manually using split less mode (50:1). H<sub>2</sub> was employed as the carrier gas at a flow rate of mL/min.

#### **Gas chromatography/mass spectrometry analysis**

The GC/MS was performed using SHIMADZU GCMS/QP2020 instruments, equipped with a fused Rxi®-5ms capillary column (Phase: Crossbond® 5% Diphenyl/ 95% Dimethyl Polysiloxane). The column dimensions were 30 m × 0.25 mm, with a film thickness of 0.25 µm. It had a similar phase as the following columns: HP-1ms, HP-1msUI, DB-1ms, DB-5ms, DB-1msUI, Ultra-1, VF-1ms, ZB-1, ZB-1ms. It is also considered equivalent to USP G1, G2, G38 phases. A volume of 0.5 µL solution prepared by 10% volume of the sample dilution in *n*-hexane was injected in split mode (80:1). The injection port temperature was 250°C, and that of the detector was 310°C. The column temperature was programmed at 60°C fixed for 3 min, then increased to 310°C with an increasing increment of 2°C/min, and then left at 310°C for 10 min. The carrier gas used was helium (99.995% purity) with a flow rate of 1 mL/min. The mass spectrometer conditions were 70 eV ionization voltage, 200°C ion source temperature and electron ionization mass spectra was acquired over a mass range of 45/600 m/z, during 138 minutes.

#### **Identification of essential oil (EO) components**

Linear retention indices (LRI) were calculated for separate compounds relative to a homologous *n*-alkanes serial (*n*-C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub>). The linear retention indices and mass spectra of the EO components were compared to those of the computer library to determine which ones they were<sup>20,21</sup> as well as their mass spectra with those recorded by the NIST (National Institute of Standards and Technology) and Wiley libraries “NIST17.lib, W11N17MAI and FFNSC1.2.lib”.

#### **Antimicrobial activity**

##### *Microbial strains*

In this study, six different bacteria constituted by three Gram positive *Staphylococcus aureus* (ATCC 44300), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Listeria monocytogenes* (ATCC 13932), and three Gram negative bacteria, including *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10231), *Salmonella enteric* serovar *Typhi* (ATCC 14028) were considered. Moreover, nine toxigenic fungal strains, *Aspergillus carbonarius* (M333), *A. ochraceus* (ATCC 3174), *A. flavus* (NRRL 3251), *A. parasiticus* (CBS 100926), *A. alliaceus*, *Penicillium expansum*, *P. glabrum*, *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* were used. The strains were obtained from the microbial culture collection of the Laboratory for research on Microbial Systems Biology (LBSM), at the Normal Superior School, Kouba (Algiers).

##### *Antimicrobial screening*

A broth macrodilution method was used to determine the minimal inhibitory concentrations (MIC), minimal fungicidal concentrations (MFC), and minimum bactericidal concentrations (MBC) of *T. polium* essential oils, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>22</sup>. The solubilization and the preparation of the different concentrations were carried out in pure Dimethyl Sulfoxide (DMSO, Sigma 34943, USA), with concentrations ranging from 0.04 to 20 µL/mL. The final concentration of DMSO was ≤1%. The inoculum suspension was obtained by taking colonies from recent cultures. The colonies were suspended in a sterile 0.9% aqueous solution of NaCl and were shaken for 20 seconds. The density was adjusted to the turbidity of a 0.4-5 McFarland Standard (10<sup>4</sup>-10<sup>8</sup> CFU/ml). All experiments were conducted in potato dextrose broth (PDB) for fungal strains, and Mueller Hinton broth (MHB) for bacterial strains. After inoculation, the test tubes were incubated aerobically at (35-37°C) for 48-72 h in an incubator, including two control tubes per strain and then the MICs were determined. The MIC is the lowest concentration at which the microorganism does not demonstrate visible growth. After the MIC reading, aliquots (20 µL) of broth from each negative tube were

taken and cultured in Sabouraud dextrose agar (Eur/Pharm, 1024.00, Spain) plates in order to evaluate MFC, and in Mueller Hinton agar in order to evaluate MBC. The plates were then incubated for 72 h at 35°C in an incubator. The MFC and MBC were defined as the lowest essential oil concentration showing either no growth or fewer than three colonies to obtain an approximately 99-99.5% killing activity. The assays were performed in triplicate.

## Results and discussion

### *Chemical analysis of T. polium EO*

The essential oils obtained from *T. polium* aerial parts collected in autumn and winter presented a transparent yellow color, with a yield of 0.20% (v/w) and 0.42% (v/w), respectively. These yields are comparable to those of *T. polium* EOs studied in northwestern Algeria (0.21%)<sup>16</sup> and *T. polium* EOs one (0.45%) studied in Iran<sup>23</sup>.

The chemical composition of the different EO samples is presented in Table 1. Thirty-one (31) components were identified in the EO sample of autumn and twenty-seven (27) components in that of winter season. In each case, several major components presented a substantial variability. Camphor was the predominant compound in the winter EO sample with a percentage of 22.09%, whereas it was completely absent in the EO extracted from aerial parts in autumn. This latter was predominantly composed of  $\beta$ -pinene (23.97%) while it was recorded with a lower content (7.47%) in the winter sample. The eucalyptol was one of the major compounds found in the EO sample of winter (13.70%), whereas it was considerably lower (0.28%) in the autumn sample. Another major detected compound was the  $\gamma$ -muurolene in the autumn season (17.77%) although it was inexistent in the EO sample of the winter season. In the same way, on one hand, representative minor compounds were as well varying importantly as follows (winter/autumn): camphene (7.76-0.24%), borneol (8.24-0%),  $\alpha$ -terpineol (6.53-0.27%), carvacrol (0.04-11.59%) and bicyclogermacrene (0-7.21%). On the other hand, both EOs samples showed almost similar percentages of myrcene (3 and 3.15%), limonene (5.13 and

6.38%) and  $\alpha$ -pinene (10.90 and 8.13%). These compositional differences in the *T. polium*'s EOs may indicate the occurrence of different chemotypes within the species; suggesting that they can be associated alternatively with the prevailing seasonal environmental conditions.

Multiple studies have demonstrated that under various geographic and climatic situations, *T. polium*'s essential oil composition can exhibit chemical polymorphism. In the Mascara region (northwestern Algeria), this aromatic plant's vegetative part essential oil is distinguished by a chemotype based on limonene (29.87%), spathulenol (17.24%), camphor (8.2%) and pinocarvone (7.76%)<sup>14</sup>. Germacrene D (25.0%),  $\beta$ -pinene (11.3%), and bicyclogermacrene (10.4%) constitute the majority of the *T. polium*'s EOs components in Bouira region located in the high plains in central part of Algeria<sup>24</sup>. In Setif, in the eastern part of the country, Boukhebti *et al.*<sup>25</sup> have found  $\beta$ -pinene (30.61%), carvacrol (13.09%) and  $\alpha$ -pinene (10.40%) as the major components in the EO of *T. polium* aerial parts, while in the southeastern part of the Arabian Peninsula in Oman, *T. polium* EO was constituted mainly by ledeneoxide II (20.47%),  $\beta$ -eudesmol (11.59%) and linalyl acetate (11.16%)<sup>26</sup>. Moreover, the *T. polium*'s essential oil in Iran is predominantly composed of 8 constituents: piperitenone oxide (21.72%),  $\alpha$ -pinene (11.33%), carvone (11.29%), spathulenol (6.23%) and  $\beta$ -pinene (5.77%)<sup>27</sup>. Phenology influenced essential oil constituents, differing chemotypes, drying conditions, mode and part of plant for distillation and/or extraction and geographic or climatic factors. This is explained by the great quantitative and qualitative variability of the chemotype which highlights the disparity in this plant EOs composition in reported results<sup>28-31</sup>. Identification of chemotypes was based on predominant compounds<sup>31</sup>. Due to the obvious difference in the life cycle of the plant, a large number of secondary metabolites often occur at a certain stage of plant growth. This signifies that the yield of essential oils is directly correlated to the density and degree of development of the glands secreting the essential oil<sup>32</sup>. However, under certain types of stress, such as salinity,

**Table 1.** Composition of *Teucrium polium* (TP) essential oil characterized using GC/MS

S. no	Compound Name	R. Time	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	Area%	
					TP winter	TP autumn
1	$\alpha$ -Thujene	7.264	923	924	0	0.08
2	$\alpha$ -Pinène	7.697	934	932	10.90	8.13
3	Camphene	8.260	947	946	7.76	0.24
4	Verbenene	8.394	951	952	0.02	0
5	Sabinene	9.157	969	969	0	0.17
6	$\beta$ -Pinène	9.453	976	975	7.47	23.97
7	Myrcene	10.039	991	990	3.15	3
8	$\alpha$ -Phellandrène	10.634	1004	1004	0.26	0
9	$\alpha$ -Terpinène	11.360	1017	1017	0.20	0.19
10	o-Cymene	11.554	1021	1020	0	1.58
11	Limonene	11.793	1025	1024	5.13	6.38
12	Eucalyptol	11.898	1027	1021	13.70	0.28
13	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	12.595	1040	1052	4.15	0
14	(E)- $\beta$ -Ocimene	13.017	1048	1044	0.07	0.32
15	$\gamma$ -Terpinène	13.566	1058	1060	1.15	1.22
16	Terpinolene	15.148	1087	1087	0.54	0.12
17	Linalool	15.833	1099	1101	0.47	0.48
18	Nopinone	17.839	1131	1135	0	0.74
19	Camphor	18.300	1139	1141	22.09	0.11
20	Pinocarvone	19.443	1157	1160	0.05	1.03
21	Borneol	19.663	1161	1163	8.24	0.25
22	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	19.769	1162	1166	0	0.28
23	Terpinen-4-ol	20.416	1173	1174	2.53	0.15
24	$\alpha$ -Terpineol	21.279	1187	1186	6.53	0.27
25	Citronellol	23.873	1227	1226	0.02	0
26	Carvone	24.638	1239	1239	0	0.20
27	Bornyl acetate	27.507	1284	1284	1.24	0
28	Thymol	27.960	1291	1290	0	0.30
29	Carvacrol	28.622	1301	1298	0.06	11.59
30	Caryophyllene	35.805	1415	1405	1.18	0.25
31	$\alpha$ -Humulène	37.805	1448	1454	0.14	0
32	$\gamma$ -Muurolene	39.590	1478	1477	0.06	17.77
33	Bicyclogermacrene	40.484	1492	1495	0	7.21
34	$\delta$ -Cadinene	42.104	1520	1522	0.10	2.21
35	(-)-Spathulenol	45.119	1572	1577	0.47	3.45
36	$\tau$ -Cadinol	48.709	1636	1635	0	2.08
37	epi- $\alpha$ -Muurolol	49.453	1649	1654	0	1.23
	Total				97.68%	95.28%

Table 1 cont.

Compound Name	Area%	
	TP winter	TP winter
Monoterpene Hydrocarbons (S. No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16)	36.65%	45.04%
Oxygenated Monoterpenes (S. No. 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29)	59.08%	15.68%
Sesquiterpenes hydrocarbons (S. No. 30, 31, 32, 33, 34)	1.48%	27.44%
Oxygenated sesquiterpenes (S. No. 35, 36, 37)	0.47%	6.76%

<sup>a</sup>Calculated retention indices relative to *n*-alkanes (C7-C20), <sup>b</sup>Comparison of retention index with those of literature<sup>16,17,20,21,26,39</sup>, R. Time: retention time

the metabolism can be reoriented to regulate the production of active principles accordingly. They can also accumulate terpenes, in the form of essential oils<sup>33,34</sup>.

The chemical polymorphism of *T. polium*'s EO's share in relation to the harvesting season is demonstrated by different works<sup>14,15</sup>, and according to the phenological stage of the plant *T. polium*<sup>35</sup> and share in relation to the harvesting region of the plant<sup>36</sup>. Results mentioned by Maizi *et al.*<sup>14</sup> have also confirmed EO seasonal variation and chemical composition in Mascara region (northwestern Algeria). Thus, the majority of components present in the essential oil of *T. polium* harvested in winter are absent in the essential oil harvested in spring. Contrarily, other components present in the essential oil of the sample harvested in spring are absent in the essential oil of *T. polium* harvested in winter<sup>14</sup>. On the other hand, Lianopoulou *et al.*<sup>15</sup> have mentioned a chemical diversification in relation to the difference in the harvesting season of the same species in winter with predominantly germacrene D (19.5%) and linalool (7.8%), while in summer, the predominant components were germacrene D (8.7%) and  $\beta$ -pinene (8.2%).

#### Antimicrobial activity

We have distinguished inhibition from the fungicidal and bactericidal effect of *T. polium* EOs for all tested strains regarding the season effect. For some fungal strains, *T. polium* EOs from winter was more active than the one from the autumn season. For both winter and

autumn *T. polium* EOs, the fungal strains *A. flavus* and *F. graminearum* were inhibited from a concentration of 10  $\mu$ l/ml (v/v). Only for winter season, the concentration of 5  $\mu$ l/ml (v/v) was sufficient to inhibit the growth of *A. parasiticus* and *P. expansum*; but the 10  $\mu$ l/ml (v/v) concentration was necessary for the growth inhibition of *P. glabrum*, *A. carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. alliaceus* and also *F. culmorum*. For the essential oil of autumn *T. polium*, *A. parasiticus*, *F. graminearum* and *P. expansum* were inhibited from a concentration of 10  $\mu$ l/ml (v/v), and a concentration of 20  $\mu$ l/ml of inhibition was needed against *P. glabrum*, *F. culmorum*, *A. carbonarius*, *A. ochraceus* and *A. alliaceus* (Table 2).

The fungicidal effect was detected for both seasons at the concentration of 20  $\mu$ l/ml for some strains (*A. flavus* and *P. glabrum*), while no fungicidal effect was shown (> 20  $\mu$ l/ml, Table 2) for the other strains (*A. alliaceus*, *A. carbonarius* and *A. parasiticus*). Winter *T. polium* EOs exhibited a fungicidal effect on *P. expansum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *A. ochraceus* at the concentration of 20  $\mu$ l/ml but no effect (> 20  $\mu$ l/ml) was observed on *P. expansum*, *F. graminearum*, *F. culmorum* and *A. ochraceus*.

In the literature, there are only two studies<sup>16,18</sup> that have investigated the antifungal effect of the essential oil of *T. polium* on phytopathogenic fungal species (*A. flavus*, *F. oxysporum* and *A. niger*). The work of Belmekki *et al.*<sup>16</sup> has shown similar results (MIC=10 $\mu$ l/ml) to those we have obtained in the present study. Touaibia<sup>18</sup>

**Table 2.** Antimicrobial activity of *Teucrium polium* essential oil determined using a broth macrodilution method

Strains	Autumn		Winter	
	MIC ( $\mu$ l/ml)	MBC or MFC ( $\mu$ l/ml)	MIC ( $\mu$ l/ml)	MBC or MFC ( $\mu$ l/ml)
<i>Penicillium expansum</i>	10	>20	5	20
<i>Penicillium glabrum</i>	20	20	10	20
<i>Fusarium graminearum</i> F 5883	10	>20	10	20
<i>Fusarium culmorum</i>	20	>20	10	20
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 3251	10	20	10	20
<i>Aspergillus ochraceus</i> ATCC 3174	20	>20	10	20
<i>Aspergillus alliaceus</i>	20	>20	10	>20
<i>Aspergillus carbonarius</i> M 333	20	>20	10	>20
<i>Aspergillus parasiticus</i> CBS 100926	10	>20	5	>20
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10	>20	10	>20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 44300	10	>20	10	>20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10231	10	>20	10	>20
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	20	>20	20	>20
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	10	>20	5	>20
<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhi</i> ATCC 14028	10	>20	5	>20

mentioned that TP EOs has antifungal activity against *Aspergillus niger* ATCC 6275 with a MIC=15  $\mu$ l and an inhibition diameter of 23 mm. Additionally, Saleh *et al.*<sup>17</sup> mentioned that *T. polium* EOs does not present any antifungal effect against *A. niger*, *F. solani* and *C. albicans* for a volume of 10 $\mu$ l /disc. The essential oils of *T. polium* and *T. polium sp.* have also reported varying degrees of antimicrobial activities against different species of clinical disease molds<sup>18,37-39</sup>.

Our results showed that the tested bacteria strains *B. subtilis*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa* were inhibited from a concentration of 10  $\mu$ l/ml (v/v). The winter TP EO is more active than the autumn *T. polium* EO against the other bacterial strains, with a MIC value of 5  $\mu$ l /ml and 10  $\mu$ l /ml, respectively. The concentration (CMB=20  $\mu$ l/ml) of *T. polium* oil from both seasons has a bactericidal effect on *L. monocytogenes* (Table 2).

Our findings seem to be interesting compared with those of Purnavab *et al.*<sup>41</sup>, who showed that

the obtained MIC and MBC against some clinical bacterial strains varied between 12.5 and 25 $\mu$ l /disc and from 25 up to 25 $\mu$ l /disc respectively. In the work of Lograda *et al.*<sup>37</sup>, MIC values were 0.24 mg/mL against *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 and *P. Aeruginosa*. These researchers showed that TP EOs from three different regions presented, a difference in bacteriostatic activity for a MIC=10  $\mu$ l /disc, depending on the origin of the plant. For Fertout Mouri *et al.*<sup>30</sup>, MIC was 250  $\mu$ l/mL for *E. coli*, and 125  $\mu$ l/mL for *S. aureus*, *P. aeruginosa*. According to Khadhri *et al.*<sup>42</sup>, MIC and MBC values were 8.3  $\mu$ g/ mL and 16.6  $\mu$ g/ mL respectively for *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *S. aureus* ATCC 29213. However, Rowayshed *et al.*<sup>43</sup> reported that the most sensitive strains were *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes* and *S. aureus*. The resistance of *S. aureus* ATCC6538 and *E. coli* Q157:H7 and the pronounced sensitivity of *P. aeruginosa* against essential oils was also reported<sup>43</sup>. On the

other hand, Boukhebt *et al.*<sup>25</sup> mentioned that *P. aeruginosa* was more resistant than *S. aureus* and *E. coli* O157:H7 strains, while Belmekki *et al.*<sup>16</sup> showed that *S. aureus* ATCC 25923 was more sensitive than *E. coli* ATCC 25922. Accordingly, Touaibia *et al.*<sup>18</sup> demonstrated a bacteriostatic activity of *T. polium*'s EOs with a MIC=15µl/mL against the bacterial strains *B. subtilis* ATCC 7033, *S. aureus*, *E. coli* ATCC 25922. Indeed, Saleh *et al.*<sup>17</sup> highlighted that the 10 µL/disc concentration was sufficient for inhibiting the growth of *B. subtilis* ATCC6633, *S. aureus* ATCC29213 and *E. coli* ATCC25922<sup>17</sup>.

The difference between our findings and the previous studies discussed in this work can be explained by the quantity and quality of bioactive molecules present in the plant essential oil, the type of microbial strains used, and also the quantities of the used essential oil. The work of Houicher *et al.*<sup>44-46</sup> confirms the importance of the quantity and quality of bioactive molecules available in the essential oil on the antifungal activity against the same fungal strains tested in this study.

The antimicrobial activity of terpenes and the components of essential oils are directly related to incorporate these compounds into cell membranes. Thus, the differences in lipid composition of different pathogenic membranes may be the determining factor for the activity of these molecules<sup>47</sup>. However, Ouraini *et al.*<sup>48</sup> explained that due to the complexity of the chemical composition of essential oils, it is difficult to give a precise idea about their mode of action in the sense that each essential oil's constituents have their own mechanism. Additionally, other minor molecules may modulate the activity of the main components<sup>49</sup>. Similarly, the essential oil presented different effects on the strains. For example, it is fungistatic for some, and reveals both fungistatic and fungicidal activity for others, even if they belong to the same genera.

The study of Nóbrega<sup>50</sup> demonstrated the good antifungal potential of  $\alpha$ -pinene against *Candida* spp. This component was isolated from otomycosis, with the ability to reduce the formation of blastoconidia and pseudohyphae. In addition, the  $\beta$ -pinene is a natural compound with

antifungal activity<sup>51,52</sup>. It has been also shown that limonene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, and carvacrol have a potent antifungal effect and antibacterial activity<sup>53</sup>. Carvacrol antibacterial effects were mediated by ergosterol depletion, cytoplasmic leakage, and membrane damage<sup>52,54-59</sup>. The monoterpene  $\alpha$ -pinene was found to have a very potent antimicrobial activity against gram positive than on gram negative strains<sup>60</sup>.

The difference in minimum inhibitory concentration (MIC) of the same plant on the same species of microorganism may be due to a difference in the chemical composition of the essential oil. For example, the essential oil of winter *T. polium* is rich in some compounds that are absent in the essential oil of *T. polium* of autumn containing camphor and eucalyptol, camphene, borneol,  $\alpha$ -terpineol and terpene-4-alcohol compounds.

Camphene and camphor plant molecules significantly inhibited morphogenesis and showed considerable activity against biofilm establishment and hyphae formation, i.e. to reduce fungal virulence traits<sup>61,62</sup>. Ojeda-Sana *et al.*<sup>55</sup>, Han<sup>56</sup>, Gupta *et al.*<sup>57</sup>, Hachlafi *et al.*<sup>58</sup>, Kachur and Suntres<sup>59</sup> and Wang *et al.*<sup>63</sup> have previously showed the antifungal effect and antibacterial activity of camphor, eucalyptol, borneol and Camphene. According to Jing *et al.*<sup>64</sup> and Kong *et al.*<sup>65</sup>,  $\alpha$ -terpineol could affect cell wall synthesis and lead to cell wall disruption and have also completely prevented the growth of *A. ochraceus* while terpene-4-alcohol significantly reduced the incidence of rot disease and severity.

## Conclusion

In the present work, the chemical composition and antimicrobial effect of *T. polium* essential oils were evaluated. Overall, the essential oils obtained from winter and autumn season had an inhibitory effect on fungal and bacterial microorganisms. The antimicrobial activity of essential oils was mainly due to its chemical profile, concentration, and type of strains. In light of the acquired results, it can be concluded that the essential oil of *T. polium* possesses antimicrobial properties, which can be used as natural antimicrobial agents for humans,

infectious diseases, in biological control and food preservation. To confirm whether this antimicrobial effect occurs *in vivo*, further research is needed. The significant chemical variation of *T. polium* essential oils with season can be used to promote interesting cultivars. *In situ*, conservation of populations should be carried out taking into account bioclimatic factors. To improve the conservation and applications of *T. polium*, the study of the environmental diversity of several populations should be used in conjunction with chemical analysis. Future biotechnological, pharmaceutical and medical research, biodiversity, food and biopesticide industries can all benefit from these results.

## References

1. **Toba, S., Adebayo, E. and Anthony. H. (2013).** Control of Toxigenic Fungi and Mycotoxins with Phytochemicals: Potentials and Challenges. Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries, Chapter 8: 181-202. In Tech. doi: 10.5772/53477.
2. **Paster, N. and Barkai-Golan, R. (2008).** Moldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part 2, World Mycotoxin J. 1(4): 385-396.
3. **Fallik, E. (2008).** Physical control of mycotoxigenic fungi. In book: Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Doi: 10.1016/B978-0-12-374126-4.00015-2.
4. **Lal, M., Begum, T., Gogoi, R., Sarma, N., Munda, S., Pandey, S.K. and Saikia, S. (2022).** Anethole rich *Clausena heptaphylla* (Roxb.) Wight & Arn., essential oil pharmacology and genotoxic efficiencies. Sci. Rep. 12(1): 9978.
5. **Gogoi, R., Sarma, N., Begum, T., Chanda, S.K., Lekhak, H., Sastry, G.N. and Lal, M. (2023).** Agarwood (*Aquilaria malaccensis* L.) a quality fragrant and medicinally significant plant based essential oil with pharmacological potentials and genotoxicity. Ind. Crops Prod. 197: 116535.
6. **Gogoi, R., Begum, T., Sarma, N., Pandey, S.K., Bhandari, S., Saikia, S. and Lal, M. (2022).** Elemicin-rich *Cymbopogon khasianus* (Hack) Stapf (ex Bor) essential oil: Pharmacological Effects, toxicological Investigation, and compositional analysis. Curr. Anal. Chem. 18(10): 1092-1107.
7. **Gogoi, R., Sarma, N., Begum, T., Pandey, S.K., and Lal, M. (2020).** North-East Indian *Chromolaena odorata* (L. King Robinson) aerial part essential oil chemical composition, pharmacological activities-neurodegenerative inhibitory and toxicity study. J. Essent Oil Bear Plants. 23(6): 1173-1191.
8. **Thompson, J.D. (2003).** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotype. J. Chem. Ecol. 29(4): 859-880.
9. **Robert, G. (2004).** Huile essentielle de niaouli *Melaleuca quinquenervia* dans la prévention des radiodermes du cancer du sein. Phytothérapie. 2(3): 72-76.
10. **Giordain, R. and Kaloustian, J. (2006).** Action anticandidosique des huiles essentielles: leurs utilisations concomitantes avec des médicaments antifongiques. Phytothérapie. 4(3): 121-124.
11. **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol. Aspects Med. 27(1): 1-93.
12. **Quezel, P. and Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris, P 788.
13. **Ozenda P. (1977).** Flore du Sahara. Ed.: CNRS, Paris, P 441.
14. **Maizi, Y., Meddah, B., Tir Touil Meddah, A. and Gabaldon Hernandez, J.A. (2019).** Seasonal variation in essential oil content, chemical composition and antioxidant activity of *Teucrium polium* L. growing in Mascara (North West of Algeria). J. Appl. Biotechnol. Rep. 6(4): 151-157.
15. **Lianopoulou, V., Bosabalidis, A.M., Patakas, A., Lazari, D. and Panteris, E. (2014).** Effects of chilling stress on leaf morphology, anatomy, ultrastructure, gas exchange, and essential oils in the seasonally dimorphic plant *Teucrium polium* (Lamiaceae). Acta Physiol. Plant. 36(8): 2271-2281.

16. **Belmekki, N., Bendimerad, N. and Bekhechi, C. (2013).** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *J. Med. Plant Res.* 7(14): 897-902.
17. **Saleh, I., Abd-El Gawad, A., El Gendy, A.E.N., Abd El Aty, A., Mohamed, T., Kassem, H., and Hegazy, M.E.F. (2020).** Phytotoxic and antimicrobial activities of *Teucrium polium* and *Thymus decussatus* essential oils extracted using hydrodistillation and microwave-assisted techniques. *Plants.* 9(6): 716.
18. **Touaibia, M., Abdelali, M.D., Raber Elmaiz F., and Saidi, F. (2021).** Phytochemical characterization and evaluation of some biological activities of felty germander essential oil: *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *RHAZES: Green and Appl. Chem.* 11(2): 97-107.
19. **Sauvage, C.H. (1963).** Etages bioclimatiques. In : Atlas du Maroc, sect. II, pl VIb et not. Explic. Rabat, 44p.
20. **Babushok, V.I., Linstrom, P.J. and Zenkevich, I.G. (2011).** Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 40(4): 043101.1-47.
21. **Adams, R.P., (2007).** Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4<sup>th</sup> Ed. Allured Publishing Corporation 362 S. Schmale Road Carol Stream. IL. 60188-2787, 811.
22. **CLSI (2017).** Reference method for Broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, approved standard. Clinical and Laboratory Standards Institute, 3<sup>rd</sup> Ed., M38, 37 (15):14, USA.
23. **Sayyad, R. and Farahmandfar, R. (2017).** Influence of *Teucrium polium* L. essential oil on the oxidative stability of canola oil during storage. *J. Food Sci. Technol.* 5(10): 3073-3081.
24. **Bendjabeur, S., Benchabane, O., Bensouici, C., Hazzit, M., Baaliouamer, A., and Bitam, A. (2018).** Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *J. Food Meas. Charact.* 12(4): 2278-2288.
25. **Boukhebt, H., Ramdani, M., Lasmi, I., Katfi, F., Chaker, A., and Lograda T. (2019).** Chemical composition, antimicrobial activity and anatomical study of *Teucrium polium* L. *Asian J. Pharm.Clin. Res.* 12(6): 337-341.
26. **Hussain, J., Rehman, N.U., Al Harrasi, A., Ali, L., Khan, A.L. and Al broumi, M.A. (2013).** Essential oil composition and nutrient analysis of selected medicinal plants in Sultanate of Oman. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 3(6): 421-428.
27. **Heydarzade, A. and Moravej, G. (2012).** Contact toxicity and persistence of essential oils from *Foeniculum vulgare*, *Teucrium polium* and *Satureja hortensis* against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) adults (Coleoptera: Bruchidae). *Turk. J. Entomol.* 401 36(4): 507-518.
28. **Mahmoudi, R. and Nosratpour, S. (2013).** *Teucrium polium* L. essential oil: phytochemical component and antioxidant properties. *Int. Food Res. J.* 20(4): 1697-1701.
29. **Mahmoudi, R., Zare, P. and Nosratpour, S. (2015).** Application of *Teucrium polium* essential oil and *Lactobacillus casei* in yoghurt. *J. Essent Oil Bear Plants.* 18(2): 477-481.
30. **Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F. and Khaled, M.B. (2017).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie.* 15(6): 346-353.
31. **Farahbakhsh, J., Najafian, S., Hosseinifarahi, M. and Gholipour, S. (2021).** Essential oil composition and phytochemical properties from leaves of felty germander *Teucrium polium* L. and spearmint *Mentha spicata* L. *J. Essent Oil Bear Plants.* 24(1): 147-159.
32. **Boulila, A., Béjaoui, A., Messaoud, C. and Boussaid, M. (2008).** Variation of volatiles in Tunisian populations of *Teucrium polium*

- L.(Lamiaceae). Chem. Biodivers. 5(7): 1389-1400.
33. **Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M.R. and Wu, H. (2020).** The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol. Biochem.* 148: 80-89.
  34. **Borges, C.V., Minatel, I.O., Gomez Gomez, H.A. and Lima, G.P.P. (2017).** Medicinal plants: Influence of environmental factors on the content of secondary metabolites. In book: Medicinal plants and environmental challenges. Doi: 10.1007/978-3-319-68717-423\_9\_15.
  35. **Yang, L., Wen, K.S., Ruan, X., Zhao, Y.X., Wei, F. and Wang, Q. (2018).** Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules.* 23(4): 762.
  36. **Asgharipour, M.R. and Shabankare, H.G. (2017).** Comparison of chemical composition of *Teucrium polium* L. essential oil affected by phenological stages. *Bangladesh J. Bot.* 46(2): 583-588.
  37. **Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., Figueredo, G. and Deghar, A. (2014).** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from eastern Algeria. *Am. J. Adv. Drug. Deliv.* 2(6): 697-710.
  38. **Othman, M.B., Salah-Fatnassi, K.B. H., Ncibi, S., Elaissi, A. and Zourgui, L. (2017).** Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. *gabesianum* (LH) from Tunisia. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 23(3): 723-729.
  39. **Kerbouche, L., Hazzit, M., Ferhat, M.A., Baaliouamer, A. and Miguel, M.G. (2015).** Biological activities of essential oils and ethanol extracts of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. and *Origanum floribundum* Munby. *J. Essent Oil Bear Plants.* 18(5): 1197-1208.
  40. **Roukia, H., Mahfoud, H.M. and Ould El Hadj, M.D. (2013).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Teucrium polium geyrii* (Labiatae). *J. Med. Plant Res.* 7(20): 1506-1510.
  41. **Purnavab, S., Ketabchi, S. and Rowshan, V. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of methanolic extract and essential oil of Iranian *Teucrium polium* against some of phyto-bacteria. *Nat. Prod. Res.* 29(14): 1376-1379.
  42. **Khadhri, A., Aouadhi, C., Masson, E. and Pizzi, A. (2022).** Comparison of Essential Oil Composition, Phenolic Compound and Biological Activities of *Salvia microphylla* and *Teucrium polium* (Lamiaceae). *J. Renew. Mater.* 10(6): 1607-1621.
  43. **Rowayshed, G.H., Abd Elhameed, A.A., Abd Elghany, M.E.A., Shahat, A.A. and Younes, O.A.A. (2014).** Effective chemical compounds and antibacterial activities of marjoram leaves, *Teucrium* leaves and fennel fruits essential oils. *Middle East J. Appl. Sci.* 451 4(3): 637-647.
  44. **Houicher, A., Hamdi, M., Hechachna, H. and Özogul, F. (2018).** Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. *Food Biosci.* 25: 28-31.
  45. **Houicher, A., Hechachna, H. and Özogul, F. (2016a).** *In vitro* determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria. *Int. J. Food Prop.* 19(8): 1749-1756.
  46. **Houicher, A., Hechachna, H., Teldji, H. and Ozogul, F. (2016b).** *In vitro* study of the antifungal activity of essential oils obtained from *Mentha spicata*, *Thymus vulgaris*, and *Laurus nobilis*. *Recent Patents on Food Nutr. & Agric.* 8(2): 99-106.
  47. **Poleć, K., Wójcik, A., Flasiński, M., Wydro, P., Broniatowski, M. and HącWydro, K. (2019).** The influence of terpinen-4-ol and eucalyptol essential oil components on fungi and plant sterol monolayers. *BBA. Biomembranes.* 1861(6): 1093-1102.
  48. **Ouraïni, D., Agoumi, A., Alaoui, M.I., Alaoui, K., Cherrah, Y., Benlemlih, M. and Belabbas, M.A. (2005).** Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines. *Phytothérapie.* 3(1): 3-12.

49. **Jalal, Z., El Atki, Y., Lyoussi, B. and Abdellaoui, A. (2015).** Phytochemistry of the essential oil of *Melissa officinalis* L. growing wild in Morocco: Preventive approach against nosocomial infections. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 5(6): 458-461.
50. **Nóbrega, J.R., Silva, D.D.F., Andrade Júnior, F.P.D., Sousa, P.M.S., Figueiredo, P.T.R.D., Cordeiro, L.V. and Lima, E.D.O. (2020).** Antifungal action of  $\alpha$ -pinene against *Candida* spp. isolated from patients with otomycosis and effects of its association with boric acid. *Nat. Prod. Res.* 35(24): 6190-6193.
51. **Macêdo Andrade, A.C., Rosalen, P.L., Freires, I.A., Scotti, L., Scotti, M.T., Aquino, S.G. and De Castro, R.D. (2018).** Antifungal activity, mode of action, docking prediction and antibiofilm effects of (+)/ $\beta$ -pinene enantiomers against *Candida* spp. *Curr. Top. Med. Chem.* 18(29): 2481-490.
52. **Feng, X., Xiao, Z., Yang, Y., Chen, S., Liao, S., Luo, H. and Fan, G. (2021).**  $\beta$ -Pinene Derived Products With Enhanced *In vitro* Antimicrobial Activity. *Nat. Prod. Commun.* 16(2): 1-8.
53. **Chee, H.Y., Kim, H. and Lee, M.H. (2009).** *In vitro* antifungal activity of limonene against *Trichophyton rubrum*. *Mycobiology.* 37(3): 243-246.
54. **Chavan, P.S. and Tupe, S.G. (2014).** Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Contr.* 46: 115-120.
55. **Ojeda Sana, A.M., Van Baren, C.M., Elechosa, M.A., Juárez, M.A. and Moreno, S. (2013).** New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Contr.* 31(1): 189-195.
56. **Han, Y., Sun, Z. and Chen, W. (2020).** Antimicrobial susceptibility and antibacterial mechanism of limonene against *Listeria monocytogenes*. *Molecules.* 25(1): 33.
57. **Gupta, A., Jeyakumar, E. and Lawrence, R. (2021).** Strategic approach of multifaceted antibacterial mechanism of limonene traced in *Escherichia coli*. *Sci. Reports.* 11(1): 13816.
58. **Hachlafi, N.E., Aanniz, T., Menyiy, N.E., Baaboua, A.E., Omari, N.E., Balahbib, A. and Bouyahya, A. (2021).** *In vitro* and *in vivo* biological investigations of camphene and its mechanism insights: a review. *Food Rev. Int.* 39(4): 1799-1826.
59. **Kachur, K. and Suntres, Z. (2019).** The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 60(3): 1-12.
60. **Sousa Eduardo, L., Farias, T.C., Ferreira, S.B., Ferreira, P.B., Lima, Z.N. and Ferreira, S.B. (2018).** Antibacterial Activity and Time kill Kinetics of Positive Enantiomer of  $\alpha$ -pinene Against Strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Curr. Top. Med. Chem.* 18(11): 917-924.
61. **Thakre, A.D., Mulange, S.V., Kodgire, S.S., Zore, G.B. and Karuppayil, S.M. (2016).** Effects of cinnamaldehyde, ocimene, camphene, curcumin and farnesene on *Candida albicans*. *Adv. Microbiol.* 6(9): 627-643.
62. **Ivanov, M., Kannan, A., Stojković, D.S., Glamočlija, J., Calhelha, R.C., Ferreira, I.C. and Soković, M. (2021).** Camphor and eucalyptol anticandidal spectrum, antivirulence effect, efflux pumps interference and cytotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 22(2): 483.
63. **Wang, Y., Liu, H. and Zhan, F. (2022).** Effects of natural borneol on germ tube formation and preformed biofilm activity in *Candida albicans*. *Nat. Prod. Commun.* 17(9): 1934578X221129128.
64. **Jing, G.X., Tao, N.G., Jia, L. and Zhou, H.E. (2015).** Influence of  $\alpha$ -terpineol on the growth and morphogenesis of *Penicillium digitatum*. *Bot. Studies.* 56 (1): 1-6.
65. **Kong, Q., Zhang, L., An, P., Qi, J., Yu, X., Lu, J. and Ren, X. (2019).** Antifungal mechanisms of  $\alpha$ -terpineol and terpen-4-alcohol as the critical components of *Melaleuca alternifolia* oil in the inhibition of rot disease caused by *Aspergillus ochraceus* in postharvest grapes. *J. Appl. Microbiol.* 126(4): 1161-1174.

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 1**  
**Faculté des Sciences De la Nature et la Vie**  
Département des Biotechnologies et Agro-écologie



## **THESE DE DOCTORAT**

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

### **Recherche sur les potentialités bioactives de quelques plantes spontanées locales des territoires bioclimatiques de la région de Laghouat**

Par

**Hind HECHACHNA**

Devant le jury composé de :

A. ZOUAOUI	MCA, Univ. Blida 1	Président
F. ELHOUITI	MCA, Univ. Laghouat	Examinatrice
M.N. BOUKHATEM	Professeur, Univ. Blida 1	Examineur
L. ALLAL-BENFEKIH	Professeur, Univ Blida 1	Directrice de thèse