

UNIVERSITÉ DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

THÈSE DE DOCTORAT

En Biologie

Spécialité : Biotechnologies Végétales

ÉVALUATION QUALITATIVE ET QUANTITATIVE ET
PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES DE
QUELQUES ESPÈCES DE *LAVANDULA* PROVENANT DE
DIFFÉRENTES RÉGIONS DE L'ALGÉRIE

Par

Amina LATRECHE

Devant le jury composé de :

W. HAMZI	MCA, U. de Blida 1	Présidente
N. SAADOUNE	Professeur, U.M.M Tizi Ouzou	Examinatrice
D. CHABANE	Professeur, U.S.T.H.B	Examinatrice
F. NABI	MCA, U.Y.F Médéa	Examinatrice
A. ROUIBI	Professeur, U. de Blida 1	Directeur de thèse
F. SAIDI	Professeur, U. de Blida 1	Co-directrice de thèse

Blida, 26 octobre 2024

RESUME

Les ressources aromatiques locales, telles que quelques espèces de lavandes, demeurent largement méconnues en Algérie. Ces plantes poussent sur de vastes étendues géographiques et s'adaptent à des conditions écologiques variées. Dans le but de caractériser ces ressources et d'identifier des possibilités de valorisation durable, ce travail a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques des huiles essentielles de deux espèces du genre *Lavandula*, en l'occurrence *Lavandula stoechas* L., communément appelée el halhal, qui croît à l'état spontané dont l'utilisation traditionnellement est répandue en Algérie, tandis que *Lavandula angustifolia* Mill., communément appelée khezzama, est cultivée. *L. stoechas* a été récoltée dans les régions de Blida et Tissemsilt tandis que *L. angustifolia* a été cueillie dans les régions de Blida et Chlef.

Les huiles essentielles sont extraites à partir des espèces de *L. angustifolia* et *L. stoechas* par hydrodistillation et analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). L'analyse révèle des profils chimiques complexes, avec plus d'une centaine de composés volatils identifiés. Des variations significatives dans les teneurs des principaux constituants sont mises en évidence entre les deux espèces. Ainsi, le chémotype linalol domine chez *L. angustifolia*, avec (41,25%- 41,71%) de linalol. *L. stoechas* se caractérise par un chémotype à fenchone, avec (36,36 %- 44,30%) de fenchone. Ces huiles essentielles présentent des activités biologiques intéressantes. L'évaluation du potentiel antioxydant des huiles essentielles par le test au DPPH met en évidence des activités anti-radicalaires comprises entre $246,29 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ et $399,48 \pm 0,98 \mu\text{g/ml}$ selon les échantillons. Les 4 huiles essentielles ont été testées pour leur activité insecticide contre *Tribolium castaneum* L., un ravageur des grains stockés. La méthode de fumigation a été utilisée, exposant les insectes à diverses concentrations de ces huiles pendant 24 heures. Les résultats ont révélé une activité prometteuse contre *T. castaneum*. Une activité antimicrobienne appréciable est observée,

particulièrement sur les bactéries à Gram positif. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) varient de 0,39 et 6,25 mg/ml selon les micro-organismes ciblés et les huiles essentielles testées. Un effet bactéricide et ou fongicide est mis en évidence. Il est à signaler qu'il apparaît une importante variabilité des activités des huiles essentielles testées pour chaque espèce de *L. angustifolia* et de *L. stoechas* récoltées dans les différentes régions de l'Algérie.

Ces résultats soulignent la biodiversité remarquable et les potentialités de valorisation de ces ressources algériennes encore peu explorées. Ils ouvrent des perspectives prometteuses d'applications pharmaceutiques, agroalimentaires, cosmétiques et d'insecticides biologiques.

Mots clés : *Lavandula stoechas* L., *Lavandula angustifolia* Mill., huile essentielle, chémotype, potentiel antioxydant, activité insecticide, activité antimicrobienne.

ABSTRACT

Local aromatic resources, such as some lavender species, remain largely unknown in Algeria. These plants grow over vast geographical areas and adapt to various ecological conditions. To characterize these resources and identify sustainable valorization possibilities, this work focused on the phytochemical study and evaluation of some biological activities of essential oils from two species of the genus *Lavandula*, namely *Lavandula stoechas* L., commonly called el halhal, which grows wild and is traditionally used in Algeria, while *Lavandula angustifolia* Mill., commonly called khezzama, is cultivated. *L. stoechas* was harvested in the regions of Blida and Tissemsilt, while *L. angustifolia* was collected in the regions of Blida and Chlef.

Essential oils were extracted from *L. angustifolia* and *L. stoechas* species by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). The analysis reveals complex chemical profiles, with over a hundred volatile compounds identified. Significant variations in the content of major constituents are highlighted between the two species. Thus, the linalool chemotype dominates in *L. angustifolia*, with (41.25%- 41.71%) of linalool. *L. stoechas* is characterized by a fenchone chemotype, with (36.36%- 44.30%) of fenchone. These essential oils exhibit interesting biological activities. The evaluation of the antioxidant potential of essential oils by the DPPH test shows anti-radical activities ranging from $246.29 \pm 0.71 \mu\text{g/ml}$ to $399.48 \pm 0.98 \mu\text{g/ml}$ depending on the samples. The 4 essential oils were tested for their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* L., a stored grain pest. The fumigation method was used, by exposing insects to various concentrations of these oils for 24 hours. Results revealed promising activity against *T. castaneum*. Appreciable antimicrobial activity is observed, particularly on Gram-positive bacteria. Minimum inhibitory concentrations (MIC) range from 0.39 to 6.25 mg/ml depending on the targeted microorganisms and the essential oils tested. A bactericidal and/or fungicidal effect is demonstrated. It should be noted that there appears to be significant variability in the activities of the essential oils tested for each species of *L. angustifolia* and *L. stoechas* harvested in different regions of Algeria.

These results highlight the remarkable biodiversity and valorization potential of these still little-explored Algerian resources. They open promising perspectives for pharmaceutical, food, cosmetic, and biological insecticide applications.

Keywords: *Lavandula stoechas* L., *Lavandula angustifolia* Mill., essential oil, chemotype, antioxidant potential, insecticidal activity, antimicrobial activity.

ملخص

تبقى الموارد العطرية المحلية، مثل بعض أنواع الخزامى، غير معروفة إلى حد كبير في الجزائر. حيث تنمو هذه النباتات على مساحات جغرافية واسعة وتتأقلم مع ظروف بيئية متنوعة. وبهدف توصيف هذه الموارد وتحديد إمكانات الاستفادة المستدامة منها وتثمينها، تم تركيز هذا العمل على الدراسة الكيميائية النباتية وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية للزيوت الأساسية لنوعين من جنس الخزامى *Lavandula stoechas* L. : المعروفة باسم "الحلال"، والتي تنمو بشكل طبيعي وتستخدم تقليدياً في الجزائر، و *Lavandula angustifolia* Mill. ، المعروفة باسم "الخزامة"، والتي تزرع. تم جمع *L. stoechas* في مناطق البلدية وتيسمسيلت، بينما جمعت *L. angustifolia* في مناطق البلدية والشلف.

تم استخراج الزيوت الأساسية من أنواع *L. stoechas* و *L. angustifolia* بواسطة التقطير بالبخار وتم تحليلها باستخدام كروماتوغرافيا الغاز المتصلة بمطياف الكتلة (GC/MS). كشفت التحاليل عن تراكيب كيميائية معقدة، مع تحديد أكثر من مئة مركب طيار. تم تسليط الضوء على تباينات كبيرة في محتويات المكونات الرئيسية بين النوعين. وبالتالي، يهيمن النمط الكيميائي لينالول في *L. angustifolia* ، بنسبة (41.25% - 41.71%) لينالول. يتميز *L. stoechas* بالنمط الكيميائي فينشون، بنسبة (36.36% - 44.30%) فينشون. تظهر هذه الزيوت الأساسية أنشطة بيولوجية مثيرة للاهتمام. أظهر تقييم القدرة المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية بواسطة اختبار DPPH أنشطة مضادة للجذور الحرة تتراوح بين 0.71 ± 246.29 ميكروغرام/مل و 0.98 ± 399.48 ميكروغرام/مل حسب العينات. تم اختبار الزيوت الأساسية الأربعة لنشاطها المبيد للحشرات ضد: *Tribolium castaneum* L. ، وهو آفة الحبوب المخزنة. تم استخدام طريقة التبخير، حيث تم تعريض الحشرات لتركيزات مختلفة من هذه الزيوت لمدة 24 ساعة. أظهرت النتائج نشاطاً واعداً ضد *T. castaneum*. لوحظ نشاط مضاد للميكروبات ملحوظ، خاصة ضد البكتيريا موجبة الجرام. تراوحت تراكيز التثبيط الدنيا (MIC) بين 0.39 و 6.25 مل/مل حسب الكائنات الدقيقة المستهدفة والزيوت الأساسية المختبرة. تم إثبات تأثير مبيد للبكتيريا و/أو الفطريات. يجب ملاحظة أنه يظهر تباين كبير في أنشطة الزيوت الأساسية المختبرة لكل نوع من *L. angustifolia* و *L. stoechas* التي تم جمعها من مختلف مناطق الجزائر.

تسلط هذه النتائج الضوء على التنوع البيولوجي اللافت وإمكانات الاستفادة من هذه الموارد الجزائرية التي لم يتم استكشافها بشكل كبير بعد. تفتح هذه النتائج آفاقاً واعدة للتطبيقات الصيدلانية، الغذائية الزراعية، التجميلية والمبيدات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: *Lavandula stoechas* L. ، *Lavandula angustifolia* Mill. ، زيت

أساسي، النمط الكيميائي، القدرة المضادة للأكسدة، نشاط مبيد للحشرات، نشاط مضاد للميكروبات.

REMERCIEMENTS

Je souhaite exprimer ma sincère gratitude au Prof SAIDI, directrice du laboratoire de recherche de biotechnologies, environnement et santé et co-directrice de ma thèse. Son accueil chaleureux, son soutien indéfectible et ses précieux conseils ont été déterminants tout au long de mon parcours. Sa disponibilité et son expertise ont contribué à ma formation. Je vous suis profondément reconnaissant pour votre patience et votre bienveillance tout au long de ce projet.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance au Prof ROUIBI, mon directeur de thèse. Sa patience exceptionnelle, son dévouement et le temps considérable qu'il m'a consacré ont été déterminants dans la réalisation de ce travail. Je vous suis reconnaissant pour la confiance que vous m'avez accordée vers l'aboutissement de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers les membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail :

Au Docteur W. HAMZI, pour l'honneur qu'elle me fait en présidant ce jury. Je souhaite également remercier chaleureusement : Le Prof N. SAADOUNE, Le Prof D. CHABANE et Le Docteur F. NABI. Je suis honorée de votre présence dans ce jury et reconnaissante pour le temps que vous consacrez à l'examen de mon travail.

Je souhaite remercier chaleureusement mon amie Docteur Siham BENTOURA pour son aide précieuse et son soutien indéfectible tout au long de la réalisation de cette thèse.

Je souhaite également exprimer ma sincère gratitude au Docteur L. CASASNI pour toute l'aide précieuse qu'elle m'a accordée ainsi qu'aux doctorantes Nesrine BENKSIRET et Zahra HENNI.

Je garde une profonde reconnaissance envers tous les enseignants qui ont contribué à notre formation. J'adresse également mes sincères remerciements à

la doyenne de la Faculté de Technologie de l'Université de Blida 1 pour son soutien inestimable.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à M^{me} Mouna MESSAOUDI, coordinatrice au laboratoire d'hygiène de référence de la wilaya de Blida, pour son soutien constant et ses encouragements. Mes remerciements vont également à M^r D. TEFFAHI, chef de service au laboratoire d'hygiène de référence de la wilaya de Blida, pour sa patience et son aide précieuse.

Je souhaite aussi exprimer ma reconnaissance à toutes mes collègues, aux responsables et ingénieurs des laboratoires où j'ai effectué mes analyses. Leur collaboration, leur expertise et leur accueil ont été essentiels à la réalisation de ce travail de recherche. À tous ceux qui ont aidé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents,

Dont l'amour inconditionnel, l'affection constante et les innombrables sacrifices ont pavé le chemin de ma réussite. Sans vous, je ne serais pas là aujourd'hui. Votre soutien indéfectible a été le pilier de mes accomplissements.

À mon beau-père Hadj Ahmed,

Pour vos encouragements constants et votre soutien précieux tout au long de mon parcours.

À la mémoire de ma belle-mère,

Qui m'a tant encouragée. Que ce travail soit un hommage à ta mémoire et que tu y trouves ici l'expression de ma gratitude éternelle.

À mon cher mari Lotfi,

Pour ton soutien constant à chaque étape de ce parcours et ta patience inébranlable. Ta présence et tes encouragements ont été ma force motrice. Je suis fière de partager cette réussite avec toi.

À mes adorables enfants, Mohamed Aymen, Ahmed Adem et Émilie,

Vous êtes ma joie et ma motivation. Je vous adore infiniment.

À ma chère sœur Chahrazed, mon bras droit et à mon frère Sid Ahmed, pour votre soutien et votre amour.

À mes beaux-frères et mes belles-sœurs

À toute ma famille maternelle et paternelle,

À mes chères amies Sanaa, Naziha et Siham et à tous ceux qui me sont chers.

TABLE DES MATIERES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

DEDICACES

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION	20
1 CHAPITRE 1	22
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	22
1.1 Famille des Lamiaceae	22
1.1.1 Genre <i>Lavandula</i>	22
1.1.2 Classification taxonomique	23
1.1.3 Caractéristiques morphologiques du genre <i>Lavandula</i>	26
1.2 Généralités sur l'espèce <i>L. angustifolia</i> .	29
1.2.1 Appellations et étymologie	29
1.2.2 Description botanique	30
1.2.3 Répartition géographique	31
1.2.4 Culture et exigences	31
1.2.5 Etude chimique	31
1.2.6 Propriétés thérapeutiques	32
1.2.7 Effets secondaires et précaution d'emploi	35
1.3 Généralités sur l'espèce <i>L. stoechas</i>	35
1.3.1 Appellations et étymologie	36
1.3.2 Description botanique	36
1.3.3 Répartition géographique	37
1.3.4 Culture et exigence	38
1.3.5 Etude chimique	38
1.3.6 Propriétés thérapeutiques	38

1.3.7	Effets indésirables	40
1.3.8	Utilisation	40
1.4	Les huiles essentielles	40
1.4.1	Définition	41
1.4.2	Répartition et localisation	41
1.4.3	Propriétés physiques	43
1.4.4	Composition chimique	44
1.4.5	La notion de chémotype	46
1.4.6	Rôle écologique	47
1.4.7	Les activités biologiques	47
2	CHAPITRE 2	54
	MATERIEL ET METHODES	54
2.1	Matériel d'étude	54
2.2	Méthodes	55
2.2.1	Etude botanique	55
2.2.1.1	Recherche des sites sécréteurs	55
2.2.2	Etude phytochimique	57
2.2.2.1	Détermination de la teneur en eau	57
2.2.2.2	Détermination de la teneur en cendres	57
2.2.2.3	Screening phytochimique	58
2.2.2.4	Préparation des extraits méthanoliques	62
2.2.2.5	Dosage des polyphénols totaux	64
2.2.2.6	Extraction des huiles essentielles	65
2.2.2.7	Étude analytique des huiles essentielles	66
2.2.2.8	Analyse chromatographique des huiles essentielles par CG/SM	68
2.2.3	Contrôle microbiologique des parties séchées	68
2.2.4	Etude des activités biologiques des huiles essentielles	74
2.2.4.1	Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles	74
2.2.4.2	Etude de l'activité insecticide des huiles essentielle	74

2.2.4.3	Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	77
2.2.4.4	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	80
2.2.4.5	Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF) en milieu solide	81
2.2.4.6	Analyses statistiques	82
3	CHAPITRE 3	83
	RESULTATS ET DISCUSION	83
3.1	Résultats de l'étude botanique de la plante et recherche des sites sécréteurs	83
3.1.1	Observation macroscopique	83
3.1.2	Observation microscopique des sites sécréteurs	88
3.2	Résultats de l'étude phytochimique	115
3.2.1	Teneur en eau	115
3.2.2	Teneur en cendres	118
3.2.3	Screening phytochimique	120
3.2.4	Extraction des composés polaires	124
3.2.5	Dosage des polyphénols totaux	126
3.2.6	Extraction des huiles essentielles et caractérisation physico-chimique	129
3.2.6.1	Caractéristiques organoleptiques	129
3.2.6.2	Rendement d'extraction des huiles essentielles	130
3.2.6.3	Caractéristiques physico-chimique	133
3.2.7	Composition chimique des huiles essentielles	135
3.3	Contrôle microbiologique des parties séchées	149
3.4	Résultats des activités biologiques	155
3.4.1	Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles	155
3.4.2	Évaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles	159

3.4.2.1	Évaluation de la mortalité des adultes de <i>T. castaneum</i> traités par l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> par effet de fumigation.	160
3.4.2.2	Évaluation de la mortalité des adultes de <i>T. castaneum</i> traités par l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> par effet de fumigation.	162
3.4.3	Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	166
3.4.3.1	Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme	166
3.4.3.2	Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne par la méthode des microdilutions en milieu liquide	172
CONCLUSION		176
APPENDICES		
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Cladogramme des angiospermes (APG II modifié)	24
Figure 1.2: Arbre de classification des espèces du genre <i>Lavandula</i> basé sur les séquences nucléaire ITS	24
Figure 1.3 : Variation de la morphologie des feuilles des espèces du genre <i>Lavandula</i>	26
Figure 1.4 : Schémas des inflorescences du genre <i>Lavandula</i>	27
Figure 1.5 : Inflorescences (thyrses) de 8 sections du genre <i>Lavandula</i>	28
Figure 1.6: Variation de la morphologie des corolles de certaines espèces du genre <i>Lavandula</i>	29
Figure 1.7: planche botanique de <i>L. angustifolia</i>	30
Figure 1.8 : planche botanique <i>L. stoechas</i>	37
Figure 1.9 : Trois types de trichomes sur calice de <i>L. angustifolia</i> (MEB x500 12kV)	42
Figure 1.10 : Trichomes de <i>L. stoechas</i> sous microscope électronique à Balayage A/ trichomes glandulaire capité ; B/ taille des têtes de trichomes (1) trichome pelté (2)	42
Figure 1.11 : les 4 types de trichomes glandulaires observés chez <i>L. angustifolia</i>	43
Figure 1.12 : Schéma d'un trichome pelté de lavande	43
Figure 1.13 : Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes détectés dans le genre <i>Lavandula</i>	46
Figure 1.14: <i>Tribolium castaneum</i> , adulte	50
Figure 1.15 : Cycle biologique de <i>T castaneum</i>	51
Figure 2.1 : Représentation schématique d'un appareil soxhlet	63

Figure 3.1 : Vue d'une feuille de <i>L. angustifolia</i> (face dorsale et face ventrale).	83
Figure 3.2 : Trichomes sur la face dorsale et ventrale de la feuille de <i>L. angustifolia</i> à la loupe binoculaire (Gx 8) (Trichome Tecteur (Tr T); Trichome Glandulaire (Tr G)).	84
Figure 3.3 : Inflorescence en épi de <i>L. angustifolia</i> (A : Observation à l'œil nu, B : Observation à la loupe Gx 0,8).	84
Figure 3.4 : (A) : Calice ; (B) : corolle de <i>L. angustifolia</i> à la loupe Gx 8.	85
Figure 3.5: Vue d'une feuille de <i>L. stoechas</i> (Face dorsale et ventrale).	85
Figure 3.6 : Face dorsale et ventrale de la feuille de <i>L. stoechas</i> à la loupe binoculaire (Gx 8) (Trichome Tecteur (Tr T) ; Trichome glandulaire (Tr G) ; Face dorsale (FD) ; FI Face ventrale (FV)).	86
Figure 3.7 : Inflorescence en épi de <i>L. stoechas</i> .	86
Figure 3.8: (A) Fleur hermaphrodite de <i>L. stoechas</i> (loupe binoculaire (Gx 2,5)) ; (B) Corolle pubescente de <i>L. angustifolia</i> (loupe Gx 8) ; (C) Calice de <i>L. angustifolia</i> (loupe Gx 4) ; (D) Calice (loupe Gx 8).	87
Figure 3.9 : Coupe transversale de la feuille de <i>L. angustifolia</i>	89
Figure 3.10: Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la feuille de <i>L. angustifolia</i> vus au MP Gx400 après double coloration (trichome glandulaire pelté (Tr Gp) ; trichome glandulaire capité (Tr Gc) ; trichome tecteur ramifié (Tr Tr) Parenchyme pallissadique (PP) ; Epiderme (EP).	89
Figure 3.11 : Vue d'ensemble de la coupe transversale de la tige au MP Gx40 après double coloration.	90
Figure 3.12 : Structure anatomique de la tige de <i>L. angustifolia</i> en coupe transversale montrant les vaisseaux conducteurs au MO Gx100 (Collenchyme (Co), cuticule (Cu), épiderme (Ep), sclérenchyme (Sc), liber (Li), parenchyme corticale (Pc),), bois (Bs)).	91

Figure 3.13: Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la tige de *L. angustifolia* Mill. vus au MO Gx40 après double coloration (trichome glandulaire pelté (Tr Gp) ; trichome tecteur (Tr T)). 91

Figure 3.14 : Structure anatomique de la feuille de *L. stoechas* en coupe transversale après double coloration : vue générale de la nervure principale de la feuille au MP Gx 100. 92

Figure 3.15 : Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la feuille de *L. stoechas* vus au MP Gx100 après double coloration. 93

Figure 3.16 : Structure anatomique de la tige de *L. stoechas* en coupe transversale : (a,b) Vue générale de la tige (Gx 100); (b) parenchyme médullaire (Gx 400); (c) détails d'une partie de la tige (Gx 400). 94

Figure 3.17: Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la tige de *L. stoechas* vus au MP Gx400 après double coloration (trichome glandulaire pelté (Tr Tp), trichome glandulaire capité (Tr Tc), trichome tecteur ramifié (Tr Tr), trichome tecteur pédicellé (Tr Tp), cuticule (Cu), épiderme (Ep)). 95

Figure 3.18 : Micrographies électroniques à balayage d'une partie du calice des fleurs de *L. angustifolia* récoltée dans la région de Blida (500 µm). 97

Figure 3.19 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires à la surface du calice des fleurs de *L. angustifolia* de Blida (A : trichome pelté (100 µm) ; B : trichome pelté (50 µm)). 98

Figure 3.20 : Micrographies électroniques à balayage d'une partie du calice des fleurs de *L. angustifolia* de Chlef (500 µm). 99

Figure 3.21 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires à la surface du calice des fleurs de *L. angustifolia* de Chlef (A - trichome pelté (100 µm) ; enchevêtrement des trichomes tecteurs non glandulaires (100 µm)). 100

Figure 3.22 : Micrographies électroniques à balayage du calice et de la corolle de la fleur de *L. stoechas* de Blida (A - Calice (100 µm) ; corolle (500 µm). 101

Figure 3.23 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires à la surface du calice <i>L. stoechas</i> de Blida (50 µm).	101
Figure 3.24 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires à surface des fleurs de <i>L. stoechas</i> à de Tissemsilt (1mm).	102
Figure 3.25 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface du calice <i>L. stoechas</i> de Tissemsilt (50 et 100 µm).	103
Figure 3.26 : Micrographies électroniques à balayage de la face dorsale de la feuille <i>L. stoechas</i> de Blida (500 µm).	106
Figure 3.27 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la feuille de <i>L. stoechas</i> de Blida (50 et 100 µm).	107
Figure 3.28 : Micrographies électroniques à balayage à la face ventrale de la feuille <i>L. stoechas</i> de Tissemsilt (500 µm).	108
Figure 3.29 : Micrographies électroniques à balayage du trichome glandulaire et des trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la feuille de <i>L. stoechas</i> de Tissemsilt (30 µm).	108
Figure 3.30 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes de la tige de <i>L. stoechas</i> de Blida (200 µm).	110
Figure 3.31 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la tige de <i>L. stoechas</i> de Blida (1 mm).	111
Figure 3.32 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes tecteurs non glandulaires la tige de <i>L. stoechas</i> de Tissemsilt (1 mm).	112
Figure 3.33 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la tige de <i>L. stoechas</i> de Tissemsilt (1 mm).	112
Figure 3.34 : Pourcentage de la teneur en eau chez <i>L. angustifolia</i> .	116

Figure 3.35 : Pourcentage de la teneur en eau et de la matière sèche de <i>L. stoechas</i> .	117
Figure 3.36 : Teneurs des cendres et de la matière organique de <i>L. angustifolia</i> .	118
Figure 3.37 : Teneurs des cendres et de la matière organique de <i>L. stoechas</i> .	119
Figure 3.38 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> récoltée dans la région de Blida analysée par CG/SM.	137
Figure 3.39 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> récoltée dans la région de Chlef analysée par CG/SM.	140
Figure 3.40: Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> récoltée dans la région de Blida analysée par CG/SM	144
Figure 3.41 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> récoltée dans la région de Tissemsilt analysée par CG/SM.	147
Figure 3.42 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> ans les deux régions de récolte.	155
Figure 3.43 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> dans les deux régions de récolte.	157
Figure 3.44 : Pourcentage de Mortalité par effet de fumigation des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> vis-à-vis de <i>T. castaneum</i> dans les deux régions de récolte.	160
Figure 3.45 : Pourcentage de Mortalité par effet de fumigation des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> vis-à-vis de <i>T. castaneum</i> dans les deux régions de récolte.	163

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1: Taxonomie du genre <i>Lavandula</i>	25
Tableau 1.2: Les principaux constituants chimiques de <i>L. angustifolia</i>	32
Tableau 2.1 : Situation géographique des stations d'échantillonnage.	54
Tableau 2.2 : interprétation des diamètres d'inhibition.	77
Tableau 2.3 : Caractéristiques des souches microbiennes ATCC testées	78
Tableau 3.1 : Pourcentages de la teneur en eau chez <i>L. angustifolia</i> .	116
Tableau 3.2 : Pourcentages de la teneur en eau chez <i>L. stoechas</i> .	117
Tableau 3.3 : Teneurs des cendres et de la matière organique chez <i>L. angustifolia</i> .	118
Tableau 3.4 : Teneurs des cendres et de la matière organique chez <i>L. stoechas</i> .	119
Tableau 3.5: Les résultats de screening phytochimique.	120
Tableau 3.6: Les résultats de screening phytochimique.	122
Tableau 3.7 : Rendements en (%) des extraits bruts méthanolique de <i>L. angustifolia</i> .	124
Tableau 3.8. : Rendements en (%) des extraits bruts méthanolique de <i>L. stoechas</i> .	125
Tableau 3.9: Teneurs en polyphénols totaux chez <i>L. angustifolia</i> .	126
Tableau 3.10: Teneurs en polyphénols totaux chez <i>L. stoechas</i> .	127
Tableau 3.11 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> .	129
Tableau 3.12 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> .	130

Tableau 3.13 : Rendements en (%) des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i>	130
Tableau 3.14 : Rendement moyen en (%) des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i>	132
Tableau 3.15 : Caractéristiques physico-chimique de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> .	133
Tableau 3.16 : Caractéristiques physico-chimique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> .	134
Tableau 3.17 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> .	135
Tableau 3.18 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> (Chlef)	138
Tableau 3.19 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> (Blida).	141
Tableau 3.20 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> (Tissemsilt).	144
Tableau 3.21 : Résultat du contrôle microbiologique des fleurs séchées de <i>L. angustifolia</i> de la région de Blida.	150
Tableau 3.22 : Résultats du contrôle microbiologique des fleurs sèches de <i>L. angustifolia</i> de la région de Chlef.	151
Tableau 3.23 : Résultats du contrôle microbiologique des parties aériennes fleuries <i>L. stoechas</i> récoltées de Blida.	152
Tableau 3.24 : Résultats du contrôle microbiologique des parties aériennes fleuries <i>L. stoechas</i> récoltées à Tissemsilt.	153
Tableau 3.25 : Activité antioxydante des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> .	155
Tableau 3.26 : Activité antioxydante des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> .	157

Tableau 3.27 : Activité insecticide des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> vis-à-vis de <i>T. castaneum</i> après 24h de traitement.	160
Tableau 3.28 : Activité insecticide des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> vis-à-vis de <i>T. castaneum</i> après 24h de traitement.	162
Tableau 3.29 : Les zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> et des antibiotiques contre les microorganismes étudiés.	166
Tableau 3.30 : Les zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>L. angustifolia</i> et des antibiotiques contre les microorganismes étudiés.	168
Tableau 3.31 : CMI et CMB des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> sur les 4 souches microbiennes.	172
Tableau 3.32 : CMI et CMB des huiles essentielles de <i>L. angustifolia</i> sur les 4 souches microbiennes.	174

INTRODUCTION

Les huiles essentielles sont utilisées depuis des siècles en médecine, en parfumerie, en cosmétique et sont utilisés comme condiments alimentaires, sous forme d'épices ou d'herbes. Près de 3000 huiles essentielles différentes sont connues et 300 sont utilisées commercialement sur le marché des arômes et des parfums [1].

Ces dernières années, de nouvelles tendances vers un retour à la pratique de l'aromathérapie, la médecine traditionnelle, douce ou naturelle, réapparaissent. Cette tendance a pris de l'ampleur durant la pandémie due à la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) [2]. En effet, les huiles essentielles représentent un marché mondial en pleine essor avec une prévision de plus de 14 milliards de dollars en 2024 [3].

Les huiles essentielles sont produites par 17 500 espèces de plantes aromatiques appartenant principalement aux familles des Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae et Asteraceae [4]. Parmi elles, Les lavandes (*Lavandula* spp.) appartiennent à la famille des Lamiaceae et sont utilisées depuis des siècles, soit sous forme séchée, soit sous forme d'huile essentielle, à des fins thérapeutiques et cosmétiques variées [5].

En Algérie, ce genre est représenté par sept espèces spontanées, *L. stoechas*, *L. multifida*, *L. coronopifolia*, *L. pubescens*, *L. dentata* et les plus récemment décrites *L. antineae* et *L. sahariensis* [6], [7]. *L. stoechas* est connue sous le nom local "Helhal" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine traditionnelle algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant [8]. *L. angustifolia* est connue sous le nom de "Khezama" [9].

Au cours des dernières années, l'exploitation économique des espèces du genre *Lavandula* a augmenté en raison de l'utilisation de leurs huiles essentielles. Ces huiles peuvent être obtenues de plantes spontanées ou cultivées [10]. Plusieurs travaux en Algérie ont étudié la composition chimique et l'activité

biologique des huiles de lavande *L. angustifolia* et *L. stoechas* [11], [12], [13], [14], [15], [9], [16], [17], [18].

Pour une même espèce, la variabilité des activités biologiques des huiles essentielles correspond régulièrement à la variation de leur composition chimique, qui est fortement influencée par les facteurs environnementaux et génétiques [19]. Cependant, l'influence spécifique de ces facteurs sur les rendements, compositions et bioactivités des huiles essentielles de *L. angustifolia* et *L. stoechas* algériennes reste à préciser.

Dans le cadre des activités de recherche du laboratoire de biotechnologies, environnement et santé de l'université de Blida 1, ce travail vise à valoriser le potentiel thérapeutique et conservateur de deux plantes médicinales. L'objectif principal est de caractériser la diversité chimique et les chémotypes des huiles essentielles de deux espèces du genre *Lavandula* : *L. angustifolia* cultivée et *L. stoechas* spontanée. Les deux espèces sont récoltées dans différentes régions climatiques d'Algérie à savoir humides et semi-arides afin d'étudier l'influence du lieu de récolte sur leurs rendements d'extraction, compositions chimiques et activités biologiques.

CHAPITRE 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Famille des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae, aussi appelée Labiatae, est une importante famille de plantes appartenant à l'ordre des Lamiales [20]. Elle comprend 236 genres et entre 6700 et 7200 espèces [21]. Ces espèces sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres [22]. Elles sont reconnaissables à leurs tiges quadrangulaires, leurs feuilles opposées sont dépourvues de stipules, leurs fleurs souvent bilabiées et leur fruit est fragmenté en 4 akènes à maturité [23].

Les Lamiaceae sont une famille bien représentée en région méditerranéenne par des plantes très aromatiques source d'HEs très utiles pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques et dans la préparation culinaire (hamama). Elle comprend des espèces mellifères et des espèces cultivées comme plantes condimentaires et ornementales. Parmi les nombreux genres de la famille des Lamiaceae : *Ajuga*, *Origanum*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Melissa*, *Ocimum*, *Teucrium*, *Stachys*, *Thymus*. [21], [23], [10].

1.1.1 Genre Lavandula

Le mot *Lavandula* vient du latin *lavare* qui signifie « laver » et évoque l'emploi de la plante pour parfumer le bain [24].

Le genre *Lavandula* a une aire de répartition naturelle qui s'étend de la Macaronésie (îles du Cap Vert, Canaries et Madère) à travers l'Afrique du Nord et tropicale, l'Europe Méditerranéenne, le moyen orient, la péninsule Arabique, l'Iran occidental jusqu'au Sud-est de l'Inde [22].

1.1.2 Classification taxonomique

Selon la classification APG (Angiosperms Phylogeny Group) de 1998, modifiée en 2003 (APG II), le genre *Lavandula* appartient à l'ordre des Lamiales qui appartient aux Eudicots* évolués gamopétales* [25] (Figure 1.1) :

- Sous classe des Astéridées,
- Euastéridées I,
- Ordre des Lamiales,
- Famille des Lamiaceae,
- Genre *Lavandula*.

Le genre *Lavandula* appartient à la sous-famille des *Nepetoideae* du fait du caractère hexaperturé des grains de pollen. La sous-famille des *Nepetoideae* est divisée en 3 tribus dont celle des *Ocimeae* dans laquelle sont placées les lavandes. Le genre *Lavandula* a été rattaché à cette tribu sur la base d'une étude phylogénétique conduite à partir de l'étude du polymorphisme de séquences d'ADN chloroplastique [26]. Dès la renaissance déjà 5 espèces de lavande étaient reconnues. Le nombre d'espèces décrites n'a cessé d'augmenter au fil des explorations botaniques dans le Maghreb et l'Asie. La classification phylogénétique du genre *Lavandula* a été réexaminée par Upson et Andrews (2004) (Figure 1.2). Cette étude a conduit à reconnaître 39 espèces différentes réparties en trois sous-genres *Fabricia*, *Sabaudia* et *Lavandula* et huit sections [7]. Le sous-genre *Lavandula* est divisé lui aussi en 3 sections (*Lavandula*, *Dentatae* et *Stoechas*) et la section *Lavandula* en 4 espèces cultivées: la lavande fine (*L. angustifolia*), l'espèce la plus commune qui regroupe de nombreuses variétés ; la lavande aspic (*L. latifolia*) ; le lavandin (*L. × intermedia*), un hybride stérile de *L. angustifolia* et *L. latifolia* ; et *L. lanata*. L'hybridation du lavandin est naturelle et est apparue initialement dans les Alpes, zone de cohabitation entre les deux espèces [22]. Cette structuration taxonomique est appuyée aussi par une analyse phylogénétique du polymorphisme de séquences ITS (Internal Transcribed Spacer –séquence interne traduite) [27] (Figure 1.2), (Tableau 1.1).

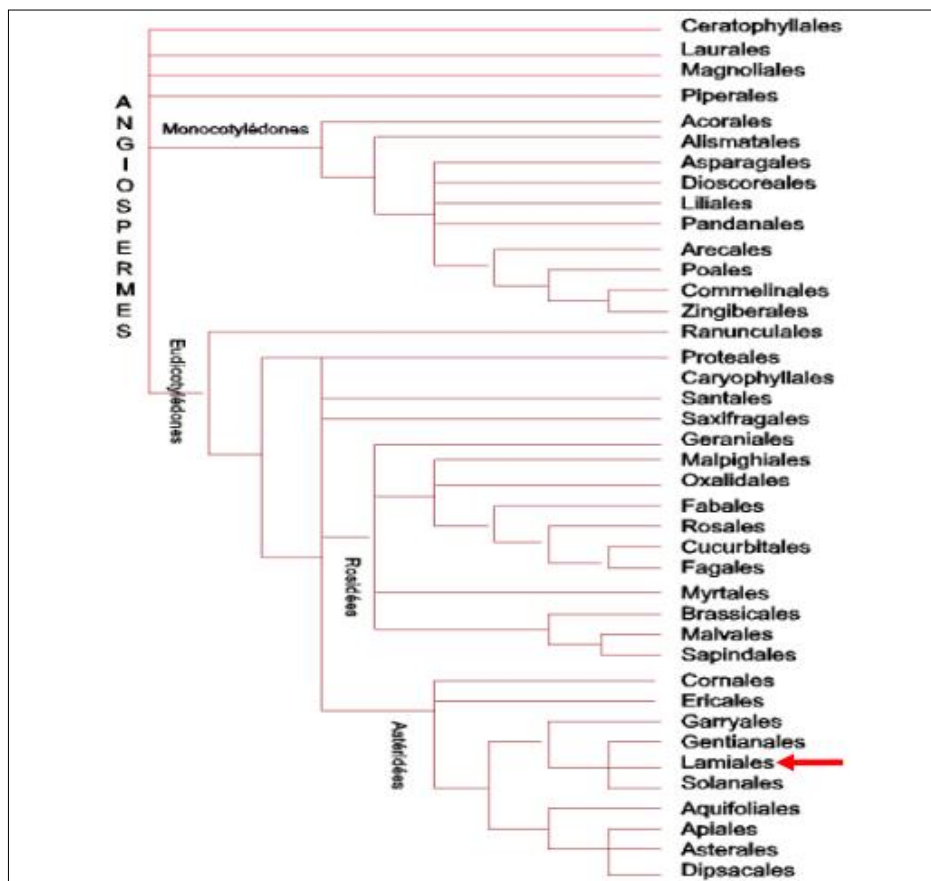


Figure 1.1: Cladogramme des angiospermes (APG II modifié) [25].

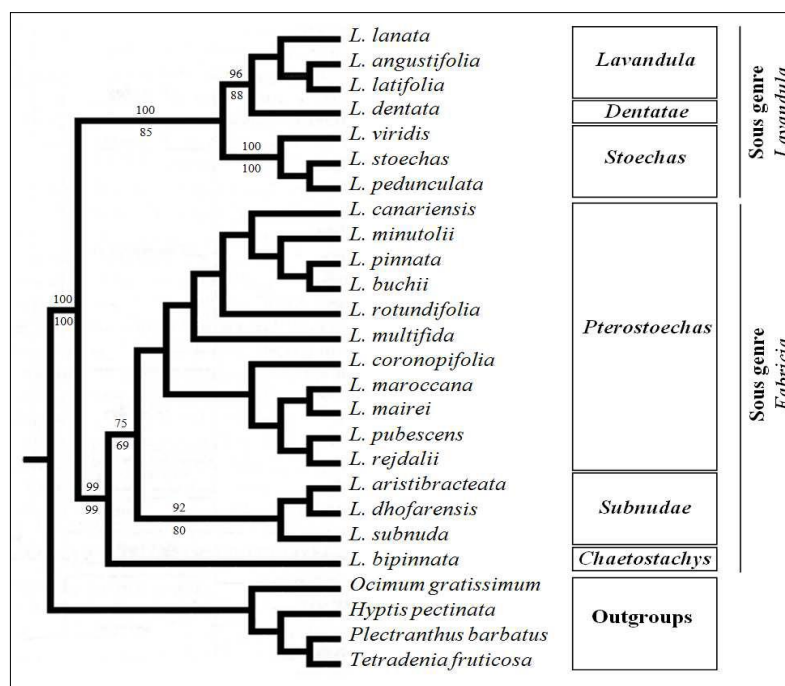


Figure 1.2: Arbre de classification des espèces du genre *Lavandula* basé sur les séquences nucléaire ITS [7].

Tableau 1.1: Taxonomie du genre *Lavandula* [7].

<i>Lavandula</i>	<i>Lavandula</i>	<i>Lavandula</i>	<i>L. angustifolia</i> Mill.
			<i>L. lanata</i> Medik.
			<i>L. latifolia</i> Boiss.
		<i>Dentatae</i>	<i>L. dentata</i> L.
		<i>Stoechas</i>	<i>L. pedunculata</i> (Mill) Cav.
			<i>L. stoechas</i> L.
			<i>L. viridis</i> L'Hér.
	<i>Fabricia</i>	<i>Pterostoechas</i>	<i>L. multifida</i> L.
			<i>L. canariensis</i> Mill.
			<i>L. minutolii</i> Bolle.
			<i>L. brammwellii</i> Upson & S.Andrews
			<i>L. pinnata</i> L. f.
			<i>L. buchii</i> Webb & Berthel.
			<i>L. rotundifolia</i> Benth.
			<i>L. maroccana</i> Murb.
			<i>L. tenuisecta</i> Coss. ExBall
			<i>L. rejadalii</i> Upson & Jury
			<i>L. mairei</i> Humbert
			<i>L. coronopifolia</i> Poir.
			<i>L. saharica</i> Upson & Jury
			<i>L. antinea</i> Maire
			<i>L. pubescens</i> Decne.
			<i>L. citriodora</i> A.G.Mill.
		<i>Subnudae</i>	<i>L. subnuda</i> Benth.
			<i>L. macra</i> Baker
			<i>L. dhofarensis</i> A.G.Mill.
			<i>L. samhanensis</i> Upson & S.Andrews
			<i>L. setifera</i> T. Anderson
			<i>L. qishnensis</i> Upson & S.Andrews
			<i>L. nimmoi</i> Benth.
			<i>L. galgalloensis</i> A.G.Mill.
			<i>L. aristibracteata</i> A.G.Mill.
			<i>L. somaliensis</i> Chaytor
		<i>Chaetostachys</i>	<i>L. bipinnata</i> (Roth) Kuntz
			<i>L. gibsonii</i> J.Graham
		<i>Hasikenses</i>	<i>L. haskinensis</i> A.G.Mill.
			<i>L. sublepidota</i> Rech.f.
	<i>Sabaudia</i>	<i>Sabaudia</i>	<i>L. atriplicifolia</i> Benth.
			<i>L. erythraeae</i> (Chiov.) Cufod

1.1.3 Caractéristiques morphologiques du genre *Lavandula*

Ce sont des sous-arbrisseaux hauts de 20 à 80 cm. Les racines sont pivotantes. Les rameaux fleuris de la tige sont quadrangulaires. Les caractères qui permettent de distinguer les différentes espèces sont la morphologie des feuilles, la forme de l'inflorescence, les bractées, le calice et la corolle même si d'autres caractères moins facilement visibles entrent aussi en compte dans la détermination des espèces comme le nombre de chromosomes, la forme des grains de pollen ou encore celle des graines [22], [7], [25], [28], [29], [30].

La morphologie des feuilles dans le genre *Lavandula* est très variable (Figure 1.3). Alors que les feuilles du sous-genre *Lavandula* et *Sabaudia* sont simples et allongées, celles du sous-genre *Fabricia* sont très diversement lobées et dentées [31].

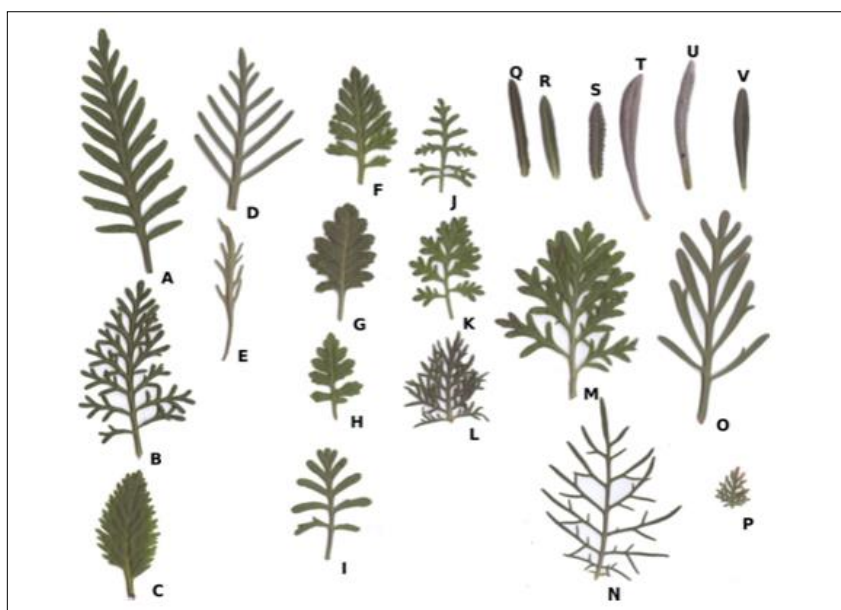


Figure 1.3 : Variation de la morphologie des feuilles des espèces du genre *Lavandula* [28].

- A) *L. minutolii* B) *L. canariensis* subsp *canariae* C) *L. rotundifolia* D)
L. buchii var *buchii* E) *L. buchii* var *tolpidifolia* F) *L. aristibracteata* G)
L. samhanensis H) *L. dhofarensis* I) *L. citriodora* J) *L. maroccana* K) *L. marei* L)
L. coronopifolia M) *L. rejdalii* N) *L. bipinnata* O) *L. pinnata* P) *L. antinea* Q)
L. viridis R) *L. pedunculata* S) *L. dentata* T) *L. latifolia* U) *L. lanata* V)
L. angustifolia

A l'opposé des feuilles, la structure de l'inflorescence constitue un caractère commun à l'ensemble des lavandes. Les fleurs de lavandes sont organisées en une inflorescence composée mixte ressemblant à un épi de cymes (mais dont les fleurs ont un pédicelle). L'inflorescence principale ressemble donc à un épi plus ou moins lâche. L'inflorescence secondaire est une cyme. Celle-ci est bipare et scorpioïde dans le sous-genre *Lavandula* ou uniflore dans les sous-genres *Sabaudia* et *Fabricia* [22], [32] (figure 1.4).

Dans la majorité des espèces du genre, les bractées et les cymes sont opposées décussées, ce qui donne à l'épi composé une forme quadrangulaire. Cette forme de thyrses spiciforme est particulièrement bien visible dans la section *Pterostoechas* du sous genre *Fabricia*. A l'opposé, dans le sous-genre *Lavandula* les cymes à plusieurs fleurs donnent un aspect cylindrique à ce thyrses. Dans les autres sections du sous-genre *Fabricia* ainsi que dans le sous-genre *Sabaudia* les bractées et les cymes sont organisées en spirale le long de l'axe floral [7] (figures 1.4 et figure 1.5). L'inflorescence est parfois surmontée par des bractées florales stériles colorées dans les sections *Stoechas* et *Dentatae* [10].

Les bractées sont portées au niveau des points de ramification, à la base de chaque cyme de fleurs. Chez les espèces *L. stoechas* et *L. dentata*, des bractées très développées sont également présentes à l'apex de l'inflorescence. Ces dernières sont allongées, colorées, stériles et très attractives pour les pollinisateurs [33]. Chez les espèces *L. angustifolia* les bractées sont aussi longues que larges [34] (figure 1.4).

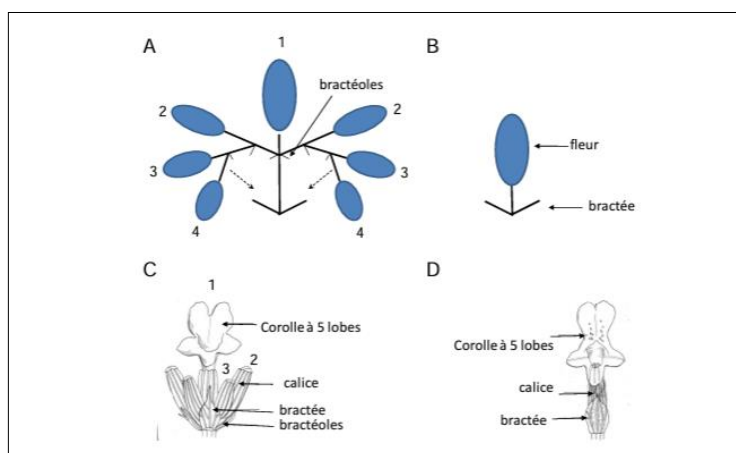


Figure 1.4 : Schémas des inflorescences du genre *Lavandula* [29].

A : une cyme à plusieurs fleurs (bipare et scorpioïde) B : une cyme à fleur unique. C : dessin d'une cyme à plusieurs fleurs. D : dessin d'une cyme à fleur unique.

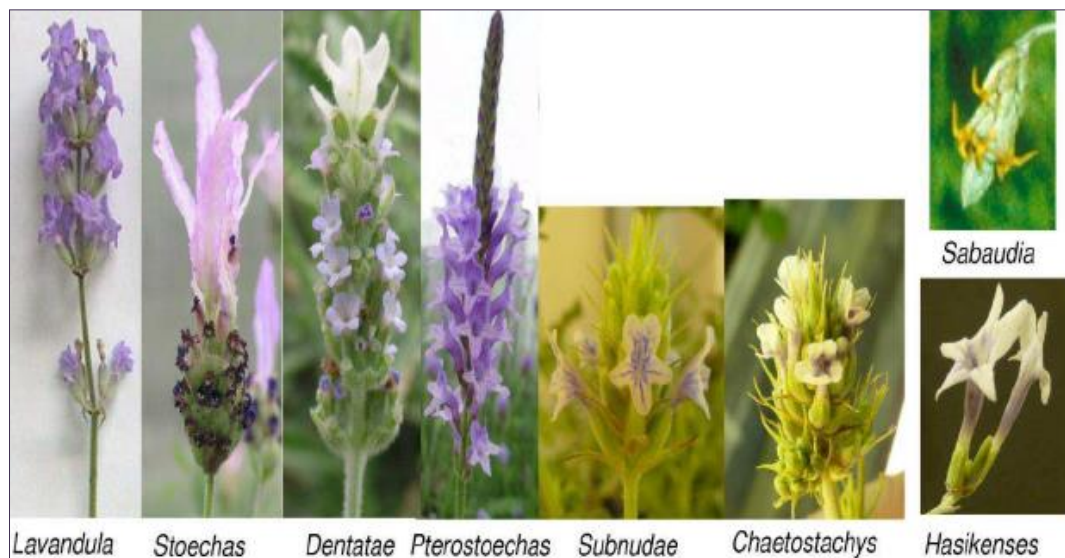


Figure 1.5 : Inflorescences (thyrses) de 8 sections du genre *Lavandula* [28].

Le calice présente cinq sépales soudés en 3 lobes dorsaux et 2 lobes ventraux [30]. Chez quelques lavandes comme *L. angustifolia* le calice est le site préférentiel de la production de l'HE du fait de la très forte densité de trichomes sécréteurs. La corolle bilabée, composée de 5 pétales soudés, a une couleur allant généralement du bleu au violet. Elle est soudée avec les 4 étamines. La lèvre supérieure est à deux lobes, l'inférieure à trois lobes et les lobes sont de taille variable (figure 1.6). Les 4 étamines sont inclinées (courbant vers le bas), généralement didynames (deux paires d'étamines inégales en longueur), la paire antérieure étant plus longue et incluse dans le tube. Le stigmate est unique, bilobé ou capité. Les lobes nectarifères sont positionnés en face des ovaires. Les glandes sécrétrices d'HE ne sont présentes que sur la face inférieure de la corolle. Le fruit est tétrakène, les 4 parties sont ovales, comprimées, brunes et luisantes. Les graines sont ovoïdes, de couleur brun noir et lisses [35],[30].

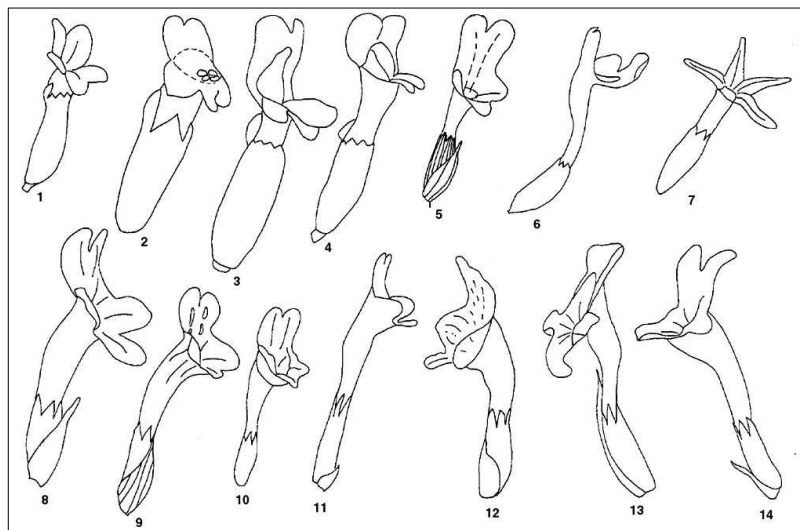


Figure 1.6: Variation de la morphologie des corolles de certaines espèces du genre *Lavandula* [19].

Toutes les corolles sont présentées x 100 sauf pour 1, 2, 3 et 14 sont x 160.

1. *L. dentata* var. *dentata*, 2. *L. viridis*, 3. *L. latifolia*, 4. *L. lanata*, 5. *L. multifida*, 6. *L. bipinnata*, 7. *L. atriplicifolia*, 8. *L. canariensis*, 9. *L. pubescens*, 10. *L. tenuisecta*, 11. *L. coronopifolia*, 12. *L. maroccana*, 13. *L. aristibracteata*, 14. *L. subnuda*.

Dans le cadre de ce projet de thèse, 2 espèces ont été étudiées : *L. angustifolia* Mill et le *L. stoechas*.

1.2 Généralités sur l'espèce *L. angustifolia*.

Plante millénaire connue pour son parfum et ses vertus thérapeutiques, son usage date d'une époque lointaine. Les Egyptiens l'utilisaient pour momifier leurs morts alors que les Phéniciens et les peuples d'Arabie faisaient de cette plante un parfum [36]. Sainte Hildegarde de Bingen (1098-1179) la recommandait pour éradiquer les poux [24].

1.2.1 Appellations et étymologie

L. angustifolia Mill. est communément dénommée lavande officinale , lavande vraie, lavande de Provence, lavande fine, lavande commune, lavande femelle, faux Nard, garde robes [37], [25]. Le nom vernaculaire utilisé est "khezzama" [8].

Le nom scientifique est : *L. angustifolia*, *L. officinalis* ou *L. vera*. le mot *angustifolia* prend en considération la forme des feuilles qui est étroite [38].

1.2.2 Description botanique

L. angustifolia un arbrisseau de 20 à 60 cm de haut à longues tiges ligneuses. Les feuilles sont persistantes, de 2 à 4 cm, opposées, simples et entières. Elles sont linéaires étroites et enroulées sur les bords. Elles sont cendrées et tomenteuses lorsqu'elles sont jeunes, vertes plus tard. Les fleurs sont très odorantes, presque régulières, disposées en épis. Le calice est bleuâtre légèrement cotonneux. On observe la présence de quatre étamines didynames surmontées d'anthères ovoïdes. Les inflorescences sont situées à l'aisselle des feuilles supérieures et chaque pédoncule porte un ensemble de fleurs réparties en verticilles formant un épi. Il existe un seul épi par tige. Les bractées sont élargies, avec 5 à 7 nervures très distinctes en éventail, d'un brun jaunâtre. Le fruit est un tétrakène ovale, brun et luisant. Il est logé au fond d'un calice persistant [39], [40], [41] (Figure 1.7).

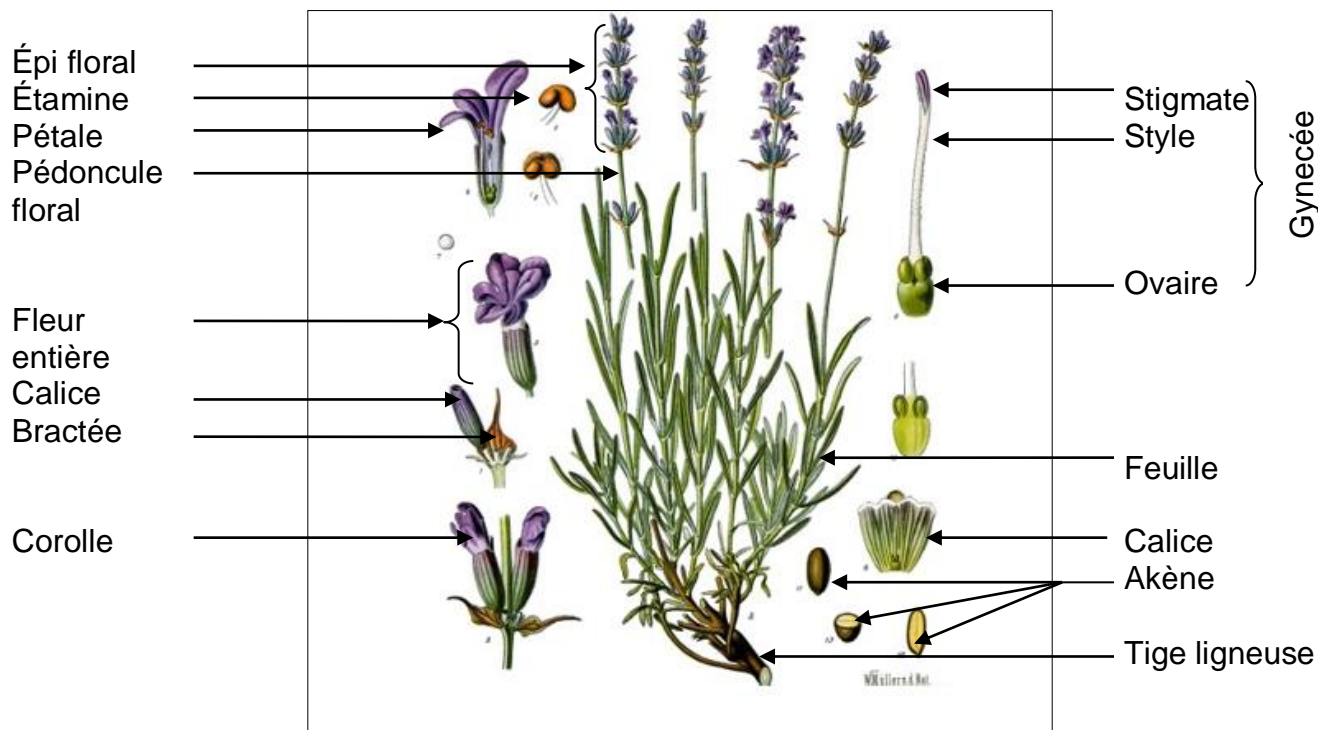


Figure 1.7: planche botanique de *L. angustifolia* [19].

1.2.3 Répartition géographique

L. angustifolia se trouve sur les coteaux ensoleillés et les montagnes jusqu'à 1800 m d'altitude [42]. Elle évolue dans les endroits pierreux, rupestres et calcaires des collines [43]. Elle pousse à l'état spontané dans le Sud de la France, en Espagne, en Italie, en Turquie et en Afrique du Nord [7].

1.2.4 Culture et exigences

L. angustifolia peut être pré-cultivée dès mars et plantée à partir de fin mai. Sa culture requiert un climat méditerranéen avec des étés chauds. Elle demande un sol calcaire, drainant et une exposition ensoleillée et protégée du vent [44], [7].

La plante peut être multipliée par division des plantes âgées à l'automne ou par semis en couches au printemps. Les jeunes plantes sont repiquées définitivement à l'automne [45]. Le bouturage est réalisé dans le cas des lavandes clonales et des lavandins [46].

1.2.5 Etude chimique

1.2.5.1 Les huiles essentielles

La composition chimique des HEs de *L. angustifolia*, cultivées dans différentes régions dans le monde, a fait l'objet de beaucoup de travaux [47], [48], [14], [49], [18], [50]. Les constituants majoritaires sont de nature terpénique et principalement monoterpénique. Les terpènes ont une masse moléculaire peu élevée et sont volatils. Ils peuvent être cycliques, acycliques, aromatiques voir hétérocycliques [51]. Le linalol et l'Acétate de linalyle sont les constituants les plus importants des essences de l'inflorescence de *L. angustifolia* [52], alors que GAMEZ *et al.*, indiquent que le 1-8 cinéol était le plus dominant constituant [53]. Les conditions écologiques et climatiques influencent considérablement la composition de cette HE [42] (tableau 1.2).

Tableau 1.2: Les principaux constituants chimiques de *L. angustifolia* [52], [53].

Famille	Composé
Terpènes/ Monoterpénols	Linalol ; α -terpinéol ; terpinène-4-ol ; Bornéol ; Lavandulol, p-cymen-8-ol.
Terpènes/Esters terpéniques	Acétate de linalyle ; Acétate de géranyle ; Acétate de néryle, Acetate de lavandulyle.
Terpènes / Monoterpène	Myrcène ; α -pinène ; β -pinène ; Camphène.
Terpènes/Oxydes terpéniques	1,8-cineole
Terpènes/Sesquiterpènes	β -caryophyllène ; β -farnésène ; Germacrène.
Cétone	Camphre ; Octanone-3 ; Cryptone.

1.2.5.2 Autres constituants

L. angustifolia contient des tanins, surtout de l'acide rosmarinique, des flavonoïdes, des traces de phytostérols et de triterpènes [42].

1.2.6 Propriétés thérapeutiques

L. angustifolia est polyvalente dans ses propriétés, au même titre que le romarin, la sauge et d'autres labiées aromatiques [54].

1.2.6.1 Propriétés antispasmodique et sédatives

L. angustifolia est douée de vertus antispasmodiques [54]. LIS-BALCHIN et COLL. ont analysé le mode d'action de la *L. angustifolia* sur l'iléon de cochon d'inde *Cavia porcellus* et l'utérus de la ratte *Rattus norvegicus*. L'HE montre une *activité* antispasmodique in vitro. Son mécanisme d'action implique l'AMPc (adénosine monophosphate cyclique), qui est l'intermédiaire dans l'action des hormones ou neurotransmetteurs, il agit comme un inducteur de contraction au niveau des muscles squelettiques. Le linalol apparaît être responsable de cette propriété [55].

Une autre étude a porté sur l'effet de l'HE de *L. angustifolia* sur les coliques chez les nourrissons [56]. Cette recherche a été menée sur un groupe de quarante nourrissons âgés de 2 à six semaines. Ils ont reçu un massage

abdominal avec l'huile de lavande tandis que ceux du groupe témoin n'ont pas été soumis à l'essai. Les symptômes de coliques ont significativement diminué dans le groupe expérimental par rapport au groupe témoin. Le massage à l'aromathérapie utilisant l'huile de *L. angustifolia* s'est révélé efficace pour réduire les coliques.

Plusieurs études cliniques et précliniques ont démontré des effets sédatifs et améliorants la qualité du sommeil de la lavande officinale chez l'être humain [57], [58], [59]. Ces effets sont principalement dus à le linalol [57]. Elle réduit l'activité motrice et prolonge la durée du sommeil [24]. Un traitement à base de l'HE de lavande sur 40 sujets soumis à un électro-encéphalogramme montre une augmentation de l'onde bêta, caractéristique des états de détente [60].

1.2.6.2 Effets de la lavande sur les maladies cardiovasculaires

Puissant tonique, *L. angustifolia* agit comme régulateur, susceptible d'apaiser l'éréthisme, la tachycardie et les crises paroxystiques [54]. Les travaux de ZIAEE et *al.*, en 2015 visaient à évaluer les effets cardioprotecteurs de l'HE de *L. angustifolia* contre l'infarctus du myocarde induit par l'isoprénaline chez des rats. Les résultats ont montré que l'HE a amélioré le schéma électrocardiographique, réduit le rapport poids du cœur sur le poids du corps, diminue les marqueurs de peroxydation lipidique et d'activité des neutrophiles et améliore les paramètres hémodynamiques. Ces résultats suggèrent que *L. angustifolia* pourrait protéger le myocarde contre l'infarctus induit par l'isoprénaline en raison de ses propriétés antioxydantes [61].

1.2.6.3 Effets sur le système digestif

Elle agit efficacement sur l'estomac et l'intestin, en stimulant les sécrétions gastriques et la motricité intestinale. Elle a des effets cholagogues et cholérétiques. A faible dose quotidienne et par voie interne, la lavande est également diurétique [54].

1.2.6.4 Pouvoir antiseptique

Puissant antiseptique, l'HE *L. angustifolia* est utilisé par voie interne pour soigner les affections du système génito-urinaire (cystites, blennorragies et

leucorrhées). On l'utilise aussi pour stopper les fermentations putrides et les affections intestinales [54].

1.2.6.5 Propriétés antioxydantes

L'activité protectrice des composés phénoliques vis-à-vis de la peroxydation lipidique a été démontrée par certains travaux [42], [62], [61], [63]. L'HE de la lavande et 2 de ses constituants chimiques, Cinéole et Béta –pinène ont ralenti le taux normal d'une réaction chimique d'oxydation en piégeant le radical hydroxyle [64].

1.2.6.6 Propriétés antimicrobiennes

Plusieurs études ont démontré une activité antibactérienne de l'HE de *L. angustifolia*, ainsi que de certains de ses constituants isolés (linalol, acétate de linalyle) contre différentes bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif présentes dans les cavités orales, la peau et le tractus respiratoire notamment *Haemophilus influenza*, *Streptococcus Pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *Escherichia coli* [49], [65], [66], [67].

L. angustifolia a un effet inhibiteur sur la croissance du mycélium contre *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum*; la souche de *F. oxysporum* semble être la plus sensible à ce qu'il est comparé aux autres souches représentées par *F. oxysporum* et *A. alternata* [68].

1.2.6.7 Propriétés insecticide

L. angustifolia, plantée en bordure des jardins éloigne les pucerons et les fourmis [44].

BARKER ET ALTMAN [69] et MOHAMMED ET AL-QAZWINI [70] ont permis de démontrer l'efficacité de l'HE de *L. angustifolia* dans le traitement de l'infestation du cuir chevelu par des poux *Pediculus humanus capitis* [69].

Une autre étude a porté sur l'utilité de l'HE de *L. angustifolia* et l'HE de thym ainsi que leurs composants majoritaires le linalol et le thymol, en combinaison avec des insecticides contre le puceron vert du pêcher *Myzus persicae* [71].

Une étude menée par MARTYNOV et *al.*, a montré que l'HE de *L. angustifolia* a présenté des propriétés répulsives vis-à-vis de *Tribolium confusum* [72]. Gharsan et *al.*, (2018) ont évalué la toxicité de cinq huiles dont l'huile de *L. angustifolia* sur 2 insectes ravageurs *Tribolium castaneum* et *Oryzaephilus surinamensis*. Les résultats ont montré que l'huile de lavande était l'une des plus toxiques principalement contre *T. castaneum*. Elle a également démontré une grande efficacité contre *O. surinamensis*. Ces résultats suggèrent que l'huile de *L. angustifolia* pourrait être une alternative prometteuse et respectueuse de l'environnement pour le contrôle de ces ravageurs dans les produits stockés.

1.2.6.8 Propriétés dermatologiques

Par voie externe, *L. angustifolia* est employée avec succès dans le traitement des brûlures, de l'ulcère, des ecchymoses, des engelures, des radiodermites et des maladies de la peau [54].

1.2.6.9 Utilisation en médecine vétérinaire

L'HE de *L. angustifolia* est peu employée en médecine vétérinaire. Lors du transport des animaux, l'inhalation de la lavande est préconisée [73]. La réduction de leur motilité se réalise par l'intermédiaire de 2 molécules le linalol et le l'actate de linalyl [74].

1.2.7 Effets secondaires et précaution d'emploi

L'HE de *L. angustifolia* est très peu toxique, fiable et très bien tolérée [75]. Néanmoins selon GRÜNWALD ET JÄNICKE [24] il a été observé des cas rares d'allergies ; Ainsi, selon ROUX ET CARTIER [76] il serait judicieux d'utiliser HE avec précaution.

1.3 Généralités sur l'espèce *L. stoechas*

Les lavandes de la section *Stoechas* ont probablement été les premières à être utilisées pour leurs HEs. Les Romains, les Grecs et les Arabes ont tous reconnu ses propriétés médicinales, antiseptiques et nettoyantes [10]. *L. stoechas* appartient à la section *Stoechas* du sous-genre du genre [7].

1.3.1 Appellations et étymologie

Le nom scientifique est *L. Stoechas* L., synonyme de *Stoechas officinarum* Mill. Elle est communément appelée Lavande papillon, Lavande stéchade, lavande à fleurs alignées, lavande à toupet, lavande des maures, lavande des stoechades, lavande maritime, lavande stéchas, lavande d'Arabie [40]. Le nom vernaculaire arabe est Halhal. Le nom targui ou berbère : Amezzir, Timerza, lmezzir [77].

D'autres appellations à travers le monde sont attribuées à *L. stoechas* L. Telles que [77] :

- *En anglais*: Arabic lavender, Butterfly lavender, French lavender, Spanish lavender;
- *En Allemand*: Ährenförmiger Lavendel, Schopf-Lavendel;
- *En Italien*: Lavanda Di Monte, Lavanda Selvatica, Lavanda Stoechas, Steca, Stecaole, Stigadosso ;
- *En Espagnol* : Arca, Astecados, Azaya, Cantahueso, Cantuerca, Cantueso, Cantueso Morisco, Cap D'ase, Estecados, Hierba De San Juan, Lavándula ;
- *En turc* : Karabaşotu [77].

Le terme *Stoechas*, du grec *stoickas* : aligné, est un ancien nom de la lavande [40].

1.3.2 Description botanique

L'espèce *L. stoechas* est un sous-arbrisseau très ramifié, de 30 à 60 cm de hauteur. Elle se distingue facilement des autres lavandes grâce à ses rameaux courts, feuillés sur toute leur longueur jusqu'à l'épi. Les feuilles sont petites, étroites, linéaires à linéaires-lancéolées, sessiles, de couleur vert-gris et d'environ 1 à 2 cm de long. L'inflorescence se décrit par un épi dense, courtement pédonculé, portant des petites fleurs pourpres. Elle est surmontée d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur, disposées perpendiculairement à l'inflorescence (d'où le nom de lavande papillon). Les bractées fertiles sont largement ovales à obovales-subtrilobées, brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que

le calice. Le calice est sessile, à treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La corolle est de couleur violet foncée à mauve (figure 1.8). Les variantes blanches sont appelées forme *leucantha* Ging. et les variétés à fleurs rose-rouge ou rose sont nommées forme *rosea* Maire. Le fruit est un tétrakène sec, se divisant à maturité en 4 petits akènes bruns [78], [7], [22].

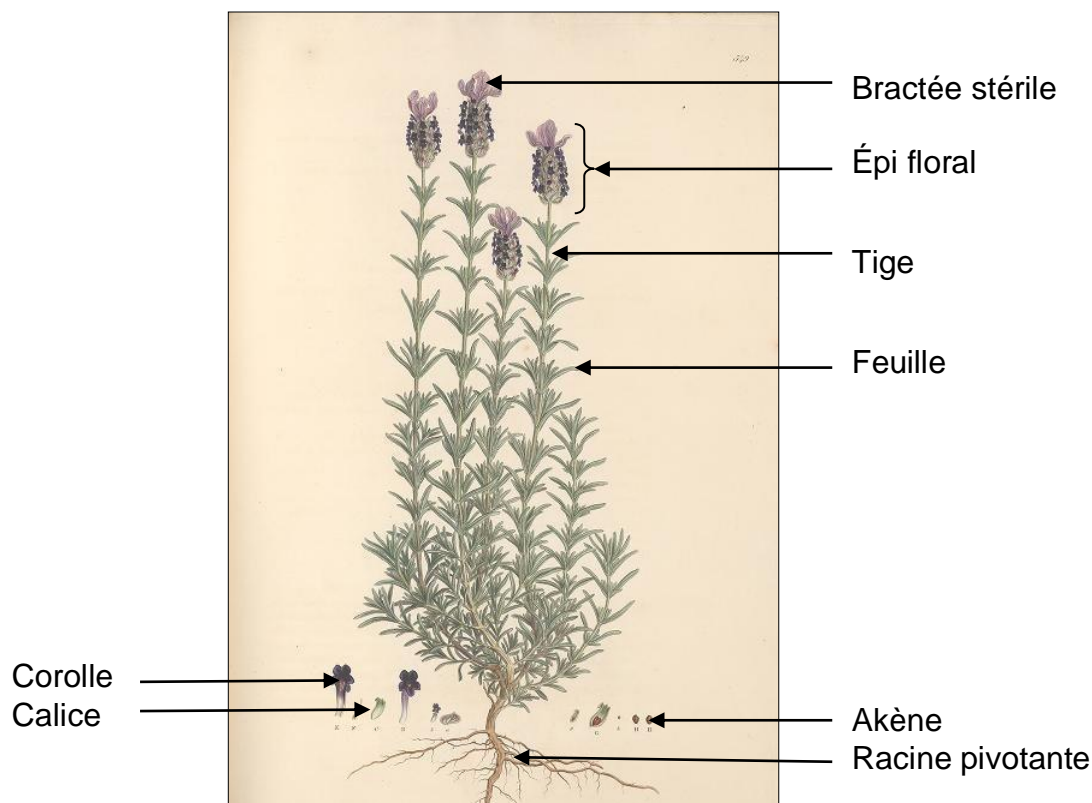


Figure 1.8 : Caractères botaniques de *L. stoechas* [23].

1.3.3 Répartition géographique

L'espèce est indigène du nord-ouest de l'Afrique (Algérie, le Maroc et la Tunisie), des îles de Madère, des îles Canaries, du sud de l'Europe (la Grèce, l'Italie, la France, le Portugal et l'Espagne) et de l'ouest de l'Asie (Chypre, Israël, le Liban, la Syrie et la Turquie). Elle a été introduite dans toute l'Europe et dans des zones tempérées et subtempérées en Amérique, en Asie et en Australie [77]. En Algérie, *L. stoechas* est localisée au nord du pays [12].

1.3.4 Culture et exigence

L. stoechas préfère les sols siliceux. Elle supporte la mi-ombre et tolère le froid jusqu'à -5°C. La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne [7].

1.3.5 Etude chimique

La composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* a été étudiée à partir de plantes spontanées et cultivées récoltées dans plusieurs pays méditerranéens [12]. Elle renferme des composés phytochimiques tels que : α pinène, β pinène, borneol, camphre, fenchone couramment identifiés sont le camphre, le 1,8-cinéole et la fenchone. Plusieurs études ont montré que les chémotypes fenchone/camphre sont les composés majeurs dans les HEs de *L. stoechas*.

D'autres composés chimiques ont été identifiés tels que les flavonoïdes comme apigénine 7-glucoside, lutéoline 7-glucoside et lutéoline 7-glucuronide [79], [80], [81], [82]. Ainsi que des dérivés de longipinène [83] et de triterpénoïdes [84].

1.3.6 Propriétés thérapeutiques

1.3.6.1 Propriétés antioxydantes

L'HE de *L. stoechas* a montré des capacités de piégeage des radicaux libres et inhibition de la peroxydation lipidique [85], [86]. L'HE a été testée sur des souris *Mus musculus* pour appuyer son effet protecteur contre le stress oxydatif induit par le malathion, un insecticide qui, à des doses élevées (200 mg/kg de poids corporel comme dose subléthale et 400 mg/kg de poids corporel comme dose léthale médiane), attaque principalement le foie et les reins. L'huile a présenté une activité hépatoprotectrice et néphroprotectrice significative [86].

SEBAI et *al.*, ont démontré que l'HE de *L. stoechas* exerce des effets protecteurs contre les dommages reproductifs et le stress oxydatif chez les rats *Rattus norvegicus* diabétiques induits par l'alloxane (molécule qui exerce une toxicité sélective sur les cellules du pancréas productrices d'insuline) [87].

1.3.6.2 Pouvoir anxiolytique

L'effet anxiolytique de l'HE de *L. stoechas* a été confirmé. En effet, dans une étude menée par NAJAFI et COLL [88] l'efficacité de l'inhalation de l'HE a été évaluée chez des patients ayant subi un infarctus du myocarde. Les résultats obtenus révèlent une réduction significative de l'anxiété chez ces patients.

1.3.6.3 Propriétés antibactériennes et antifongiques

En raison de sa teneur en 1,8-cinéole et en fenchone, l'HE de *L. stoechas* présente des propriétés antibactériennes marquées contre les bactéries Gram positif et Gram négatif y compris les souches résistantes à plusieurs antibiotiques, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* [89], [90], [12]. L'huile a également inactivé efficacement *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* (champignons pathogènes des plantes), mais était moins efficace contre *Aspergillus flavus* [91].

D'après les travaux de LOUKHAOUKHA [92], l'HE de *L. stoechas* ainsi que ses 2 composés majoritaires, le camphre et la fenchone, ont été évalués in vitro pour leur activité antibactérienne contre deux bactéries phytopathogènes *Erwinia amylovora* et *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. Les résultats obtenus ont montré que cette HE de *L. stoechas* présente une très bonne activité antibactérienne, inhibant efficacement la croissance des 2 bactéries phytopathogènes testées.

1.3.6.4 Propriétés anti-inflammatoires

D'après les travaux de AMIRA et *al.*, [93] il a été observé que l'extrait de *L. stoechas* présente une activité anti-inflammatoire modérée lorsqu'il est appliqué sur l'œdème de la patte de la souris *Mus musculus*, attribuée à l'apoptose des neutrophiles et à l'activité antioxydante.

1.3.6.5 Propriétés insecticides

EL OUALI LALAMI et *al.*, [94] ont constaté que l'HE de *L. stoechas* montre un effet larvicide contre *Anopheles labranchiae*, un vecteur de la transmission du paludisme.

Selon BEN SLIMANE l'HE présente une toxicité élevée par contact sur les 4 stades larvaires de l'*Orgyia trigotephras*, un papillon nuisible pour les chênes. Elle peut également agir par ingestion et par fumigation. L'efficacité insecticide de la *L. stoechas* est attribuée à sa composition en monoterpènes, reconnus pour leurs propriétés insecticides [95].

1.3.6.6 Autres propriétés thérapeutiques

Diverses études ethnobotaniques ont rapporté l'utilisation de *L. stoechas* pour traiter le diabète ou réduire les niveaux d'hyperglycémie [96], [97], [98], [99]. Cependant, peu d'études ont évalué l'effet antidiabétique de l'extrait et de l'HE de *L. stoechas* [100], [101]. Une étude *in vivo* menée par SEBAI et *al.* sur l'activité antidiabétique de l'HE de *L. stoechas* a révélé un effet protecteur contre l'hyperglycémie et le stress oxydatif [101].

1.3.7 Effets indésirables

L'HE de *L. stoechas* peut provoquer des réactions allergiques liées à la présence de linalol et de limonène. Elle est neurotoxique, irritante pour la peau et pour les voies respiratoires [102].

1.3.8 Utilisation

L. stoechas est employée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs des coliques [103], [104]. Elle est également utilisée pour de multiples maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine, elle est ainsi nommée « le balai du cerveau » [105]. Cette espèce est employée pour traiter les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma [106]. *L. stoechas* a été utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne en tant qu'agent antiseptique et stimulant [107], [108].

1.4 Les huiles essentielles

Les HEs sont des substances naturelles utilisées depuis l'antiquité, on en trouve la trace en Egypte, 4000 ans environ avant Jésus Christ. Les HEs servaient alors à parfumer les onguents, à combattre la putréfaction lors de l'embaumement des corps et à la conservation des aliments. Les arabes participèrent activement

aux techniques de distillation des HEs, ils inventèrent l'alambic grâce auquel, ils purent obtenir des HEs très pures dont la médecine et la parfumerie en ont fait un grand usage [109]. Les HEs livrent progressivement leurs secrets depuis l'avènement de la chimie organique à la fin du XIX^{ème} siècle [110].

1.4.1 Définition

Les HEs sont un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de plantes grâce à des procédés physiques, les HEs sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante [111].

En 2000, AFNOR a défini les HEs comme des produits obtenus soit à partir de la matière première naturelle par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques. Ils sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques [112].

1.4.2 Répartition et localisation

Les HEs sont largement réparties dans le règne végétal et certaines familles en sont particulièrement riches, les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae, les Myrtaceae et les Poaceae. Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux et sont localisées soit dans, des cellules sécrétrices isolées, des poils épidermiques, des cellules épidermiques, des poches et des canaux excréteurs [76].

Chez les Lamiaceae, les HEs sont stockés dans des structures généralement glandulaires à la surface des fleurs et des feuilles [113]. Il existe 2 types de structures dans cette famille : les trichomes peltés et les trichomes capités [27] (Figure 1.9) et (Figure 1.10). Ces trichomes glandulaires sont typiquement composés de quelques cellules épidermiques basales qui par division donnent de une à plusieurs cellule(s) de pied de taille variable surmontées d'une à plusieurs cellules de tête sécrétrices [114] (Figure 1.11). On observe chez *L. angustifolia*, huit cellules de tête pour les glandes peltées et une ou 2 cellules de tête pour les trichomes capités [35] (Figure 1.12). L'HE est accumulée sous la cuticule de ces cellules de tête [113]. La séquestration des HEs dans l'espace sous-cuticulaire s'explique en partie par le fait que certains terpènes sont

phytotoxiques et qu'il est donc indispensable de les accumuler dans des structures externes spécialisées [115], [116].

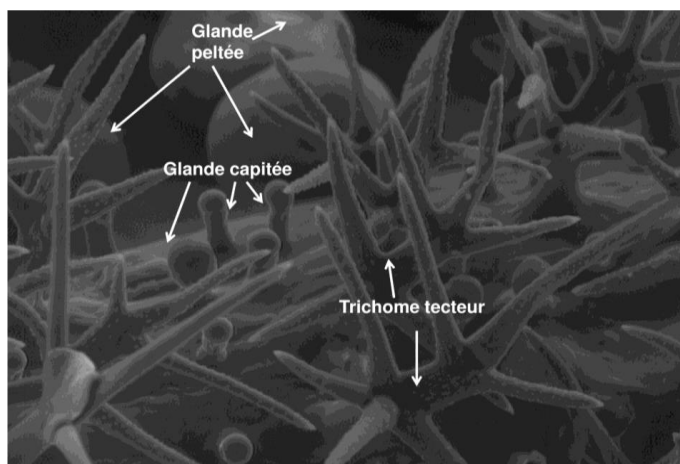


Figure 1.9 : Trois types de trichomes sur calice de *L. angustifolia* (MEB x500 12kV) [27].

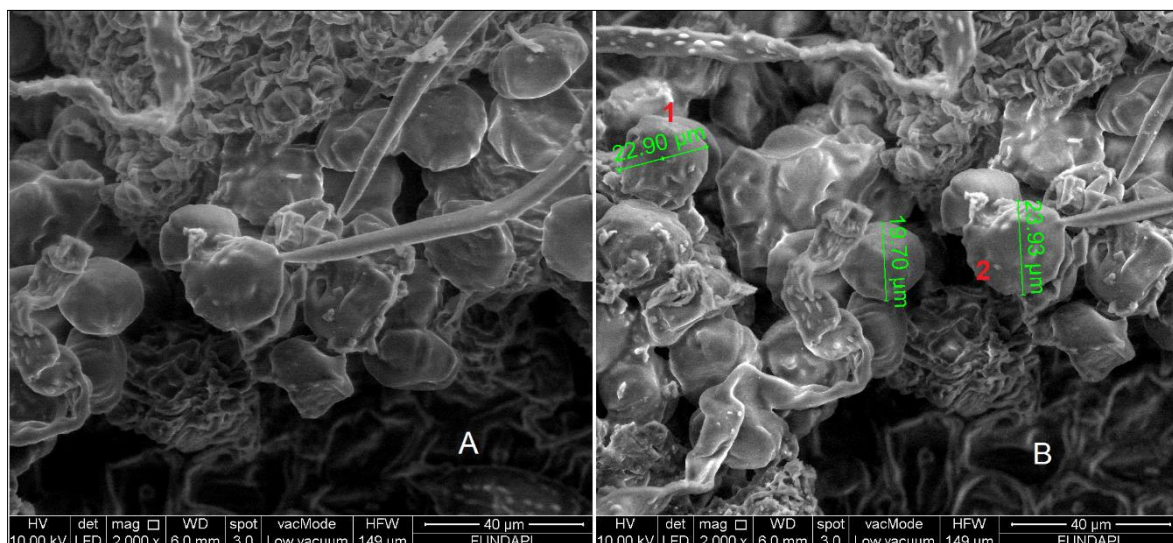


Figure 1.10 : Trichomes de *L. stoechas* sous microscope électronique à Balayage A/ trichomes glandulaire capité ; B/ taille des têtes de trichomes (1) trichome pelté (2) [92].

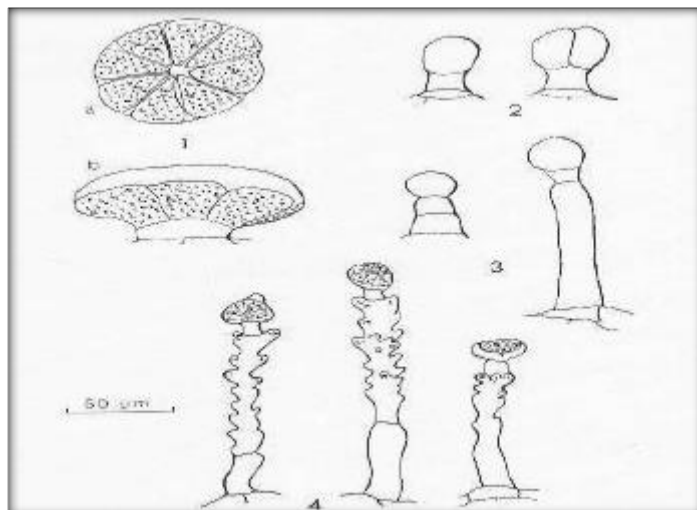


Figure 1.11 : les 4 types de trichomes glandulaires observés chez *L. angustifolia* [46].

(1) Poil pelté, (a) vue de dessus, (b) vue de profil ; (2) Poil capité court ; (3) Poil capité long ; (4) Poil sécréteur bosselé à différents stade de la sécrétion

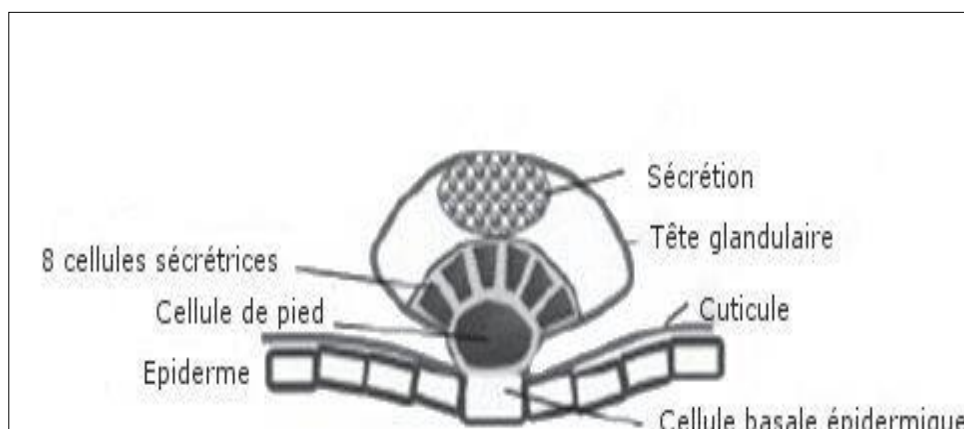


Figure 1.12 : Schéma d'un trichome pelté de Lavande [113].

1.4.3 Propriétés physiques

Les HEs présentent un certain nombre de caractères communs malgré leurs nombreuses différences dans la composition. Ce sont généralement des liquides à odeur aromatique forte. Elles sont peu solubles dans l'eau mais sont solubles dans les solvants organiques [117]. Elles sont volatiles et entraînables à la vapeur d'eau. Leur densité est généralement inférieure à 1 [76].

1.4.4 Composition chimique

Les constituants des HEs appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupes des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Ces derniers sont moins fréquents [51].

1.4.4.1 Les terpénoïdes

Les terpènes, sont une classe d'hydrocarbures produits par de nombreuses plantes. Ce sont des substances naturelles organiques, volatiles ou non [27]. Ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unités isopréniques (C₅H₈)_n constituant leurs structures carbonées [42]. On distingue ainsi selon le nombre de carbone constituant les molécules de ce groupe : Les monoterpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀), les triterpènes en (C₃₀), les tetraterpènes (C₄₀) et les polyterpènes qui comportent plus de 500 carbones [118].

Les terpènes les plus rencontrés dans les HEs sont les terpènes les plus volatils. Les monos et les sesquiterpènes [51],[76]. Ainsi plus de 200 monoterpènes et sesquiterpènes différents ont pu être caractérisés dans l'ensemble des espèces analysées du genre [27]. Par ailleurs, certaines espèces telles que *L. stoechas* synthétisent plus de 100 terpènes différents alors que d'autres espèces telle que *L. canariensis* expriment une diversité terpénique beaucoup plus faible [27].

A. Les monoterpènes

Les monoterpènes peuvent être acycliques (myrcène et ocimène), monocycliques (α - et γ -terpinène, *p*-cymène) ou bicycliques (pinène, Δ^3 -carène, camphène) [51]. La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions:

- ✓ Alcools : acycliques (géraniol, linalol, citronello) monocycliques (menthol, α terpinéol, 1-terpinènes-4-ol) ou bicycliques (bornéol, fenchol).
- Aldéhydes : le plus souvent acycliques (géraniol, néral, citronellal).

- Cétone : acycliques (tagetone), monocycliques (menthone, carvone, pulégone) ou bicycliques (camphre, fenchone, thuyones).
- Esters : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronnellyle), monocycliques (acétate de menthyle, d' α -terpinyl) ou bicycliques (acétate d'isobornyle).
- Peroxydes : ascaridole.
- Ethers : cinéole (on dit aussi eucalyptol).
- Phénols : thymol, carvacrol [51].

B. Les sesquiterpènes

Ce groupe comprend un nombre importants de structures différentes : plus de 120 squelettes identifiés pour plus de mille composés identifiés [119]. De nombreuses configurations sont possibles : linéaires, ramifiés, mono- bi- ou tricycliques. Les sesquiterpènes sont, en termes de fréquence, le deuxième groupe le plus présent dans les HEs après les monoterpènes [120].

Ce sont les monoterpènes et les sesquiterpènes qui donnent à la lavande son parfum caractéristique et à ces huiles leurs propriétés [121] (figure 1.13). La proportion des principaux terpènes dans l'HE est un critère d'évaluation de la qualité de l'HE (AFNOR 1996) et joue un rôle dans le choix de telle ou telle variété par l'herboriste ou l'industriel [122].

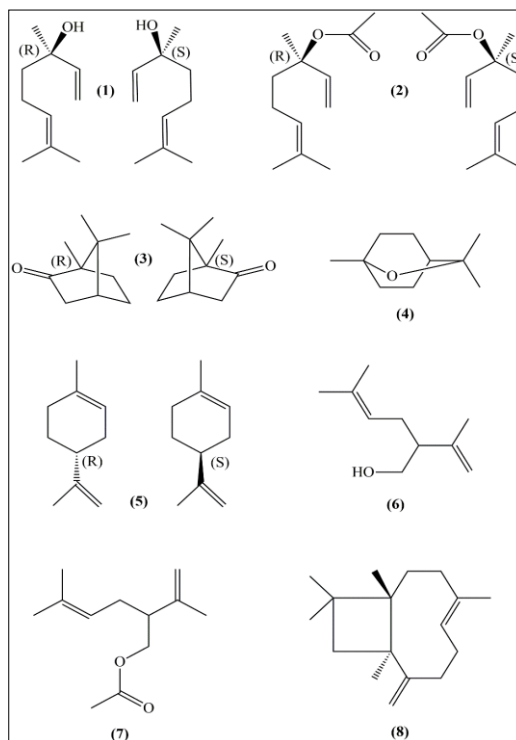


Figure 1.13 : Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes détectés dans le genre *Lavandula* [123].

(1) linalol, (2) acétate de linalyle, (3) camphre, (4) 1,8-cineole, (5) limonène, (6) lavandulol, (7) acétate de lavandulyle, (8) β-caryophyllène.

1.4.4.2 Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ils sont moins répandus que les terpènes. Ce sont souvent des allylphénols quelquefois aussi des aldéhydes tels que l'anéthol et l'eugénol. La vanille est assez fréquente parmi les composés aromatiques [76].

1.4.5 La notion de chémotype

La notion de chémotype (chimiotype ou race chimique) est une notion clé en aromathérapie. Le chémotype désigne un groupe chimiquement défini au sein d'une population d'individus morphologiquement indiscernables [124]. Le concept de chémotype permet de distinguer 2 ou plusieurs HEs de composition chimique différente produites à partir de plantes de la même espèce [125].

la composition d'une HE dépend de nombreux facteurs autres que la détermination génétique comme le pays d'origine, la qualité du sol, l'altitude et d'autres conditions climatiques [125], [126].

1.4.6 Rôle écologique

Beaucoup de plante produisent les HEs en tant que métabolites secondaires mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est mal connu [127]. Les HEs jouent un rôle écologique par des phénomènes de défense directe ou indirecte, par communication ou bien par des tolérances aux stress [128]. Les HEs peuvent aussi jouer d'autres rôles écologiques tels que l'attraction de pollinisateurs [129].

1.4.7 Les activités biologiques

Les propriétés des HEs se distinguent selon l'importance d'un élément par apport à un autre présent dans sa composition. Cependant, certaines propriétés se retrouvent fréquemment pour un grand nombre d'essences [130].

1.4.7.1 Activité antimicrobienne

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Les antibiotiques sont des substances antibactériennes produites par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique [131]. Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) [132]. Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action [131]. Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: Bêtalactamines: pénicilline et céphalosporines; Aminosides: streptomycine, gentamycine; chloramphénicol et thiamphénicol; cyclines: tétracyclines, doxycycline ; macrolides et apparentés : érythromycine, oléandomycine [133].

La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agent peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base de plantes [134].

Le pouvoir antibactérien des HEs s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibiorésistantes [51]. Les HEs agissent aussi bien sur les germes à gram positif que les germes à gram négatif [135]. Chaque espèce microbienne réagit de façon particulière aux

différentes HEs. Certains constituants d'HE ont des effets inhibiteurs spécifiques sur une espèce donnée. Il existe une CMI des différentes HEs spécifique à chaque bactérie [136].

En effet, en raison de leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en HE conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques des micro-organismes [111]. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées [137].

Certaines HEs sont également actives sur des champignons responsables de mycoses et sur des levures (*Candida*) [51]. Elles agissent sur les champignons en inhibant la production de toxine, la croissance du mycélium et la division cellulaire [138].

1.4.7.2 Activité spasmolytique et sédative

De très nombreuses plantes à HE sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux et pour traiter les individus souffrant d'insomnies. On l'utilise aussi pour diminuer de la nervosité [51].

1.4.7.3 Activité antioxydante

1.4.7.3.1 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont définis comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe [139]. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique [140].

Du fait de leur caractère très électrophile, les espèces radicalaires vont tenter de rattraper leurs électrons célibataires. Elles agressent toute molécule susceptible de se faire arracher un électron [141]. L'espèce agressée devient à son tour radicalaire initiant de cette façon un processus de réaction en chaîne. Ce processus se caractérise par trois étapes ; (i) initiation, (ii) propagation et (iii) terminaison provoquant enfin une perturbation de la cellule vivante [140].

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) : le radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}) et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$) [139]. Ces ERO sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose) [142].

1.4.7.3.2 Définition stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [143].

1.4.7.3.3 Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs. La capacité antioxydante des HEs est étroitement liée à tout le contenu phénol [144].

1.4.7.4 Activité insecticide

1.4.7.4.1 Généralités

Les denrées alimentaires sont habituellement attaquées par les insectes au cours de leur entreposage depuis le début de la civilisation humaine. Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens [145], [146]. Parmi les coléoptères, le *Tribolium castaneum* Herbst.. cet insecte ravageur cause des pertes exceptionnelles en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés [147]. Cette espèce est répandue dans le monde grâce aux échanges commerciaux [148].

1.4.7.4.2 Description du *Tribolium castaneum*

Tribolium castaneum est communément appelé le Tribolium rouge de la farine ou petit ver de la farine (figure 1.14). C'est un Coléoptère appartenant au sous ordre des *Polyphages*, de la famille des *Tenebrionides* et au genre *Tribolium* [149], [150].

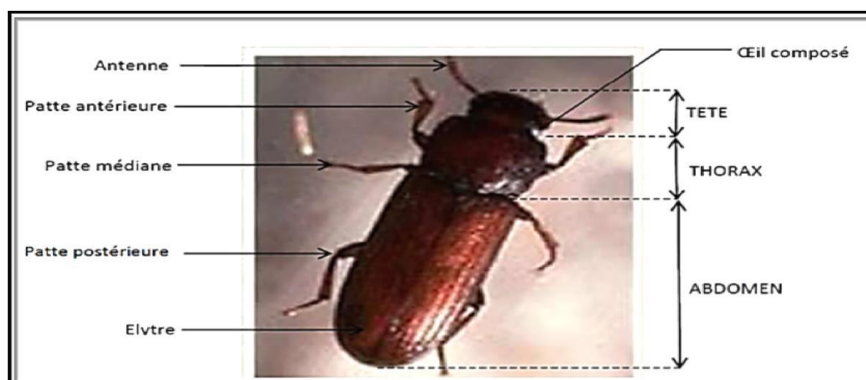


Figure 1.14: *Tribolium castaneum*, adulte [188].

1.4.7.4.3 Systématique du *Tribolium castaneum*

D'après Perrier, Weidner et Rack [151], [152], [153] la classification de ce ravageur est comme suit:

Règne	Animale
Embranchement	Arthropodes
Sous embranchement	Antennates
Classe	Insectes
Sous classe	Pterygotes
Ordre	Coléoptères
Sous ordre	Polyphages
Famille	Ténébrionidés
Genre	<i>Tribolium</i>
Espèce	<i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)

1.4.7.4.4 Cycle de vie du *Tribolium castaneum*

T. castaneum peut vivre à des températures variant de 22 à 40 °C et une humidité relative comprise entre 1 et 90%. Les conditions optimales de développement sont : une température de 35°C et 75% d'humidité relative pour accomplir un cycle au bout de 20 jours [154]. Dès l'âge de trois jours, la femelle pond entre 500 à 800 œufs. Les larves sont mobiles et se nourrissent. Ils sont d'une teinte blanche avec du jaune et passent par 5 à 11 mues avant d'atteindre 5 mm à la fin de leur croissance. Au terme du stade larvaire, les larves s'immobilisent, cessent de se nourrir et se transforment en nymphes immobiles. Ce processus s'étend sur 3 à 9 semaines. Les nymphes se retrouvent nues, dans les mêmes aliments que les larves. Elles sont blanches au départ mais leur couleur s'assombrit graduellement avant de devenir adultes 9 à 17 jours plus tard, les adultes se nourrissent des mêmes aliments que les larves et vivent entre 15 et 20 mois [155] (figure 1.15).

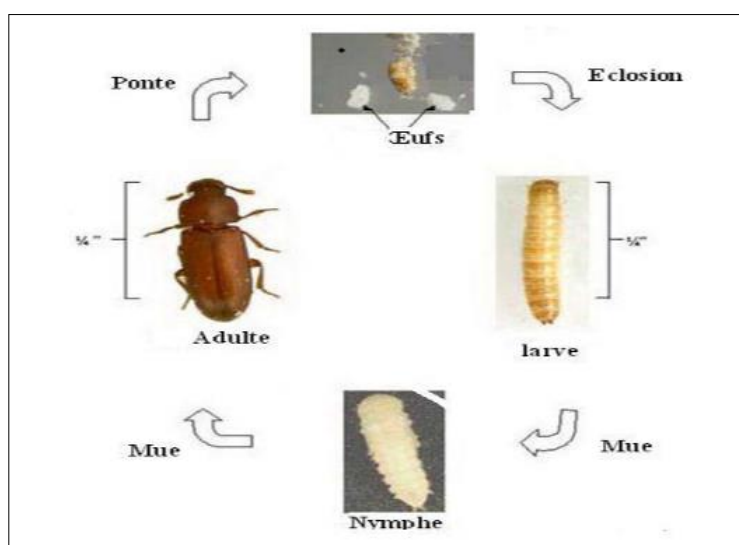


Figure 1.15 : Cycle biologique de *T castaneum* [156].

1.4.7.4.5 Dégâts causés par *Tribolium castaneum*

C'est un insecte nuisible cosmopolite et euryphage, Il attaque les céréales et les produits céréaliers, arachides, noix, cacao, fruits secs et parfois les légumineuses [157], [147]. Ce sont des lithophages secondaires car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures. Ils attaquent les grains endommagés [158] cas de forte infestation, l'adulte libère des substances quinoléiques qui confèrent à la denrée une odeur répulsive caractéristique [159].

En plus, l'activité des insectes peut entraîner un dégagement de chaleur dans les céréales ainsi que l'humidification du grain, favorisant le développement des microorganismes qui contribuent à leur tour à la détérioration de la denrée avec production de mycotoxines [160], [161]. Elle constitue aussi un support nutritif pour un grand nombre d'acariens saprophytes, y compris le Triglyphe de la farine *Acarus siro* L., lequel se développe aux dépens du germe des grains humides détruisant ainsi leur faculté germinative [162], [163].

1.4.7.5 Mécanismes d'action des huiles essentielles sur les insectes

Le mode d'action des HEs est relativement peu connu chez les insectes [164], [165]. Les mécanismes de toxicité des HEs peuvent être d'ordre physiologique ou physique.

1.4.7.5.1 Effets physiologiques

Les HEs ont des effets anti-appétents, ils affectent la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. Des travaux récents montrent que les monoterpènes inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase au niveau du système nerveux de l'insecte [166], [167]. Selon ROEDER (1999) [168] et Isman (2000) [165], les HEs agissent sur les récepteurs de l'octopamine, neurotransmetteur spécifique du système nerveux des invertébrés. L'octopamine régule diverses fonctions vitales comme la motricité, la ventilation, les battements de cœur, le vol et le métabolisme. ENAN (2000) [169] et ISMAN (2000) [165] ont établi un lien entre l'application de l'eugénol, de l'alpha-terpinéol et de l'alcool cinnamique et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Il conclut que l'effet peut varier d'un terpène à l'autre et que les HEs peuvent agir soit comme des agonistes soit comme des antagonistes du neuro transmetteur. ENAN (2005) [169] a également démontré un effet sur la Tyramine, autre neurotransmetteur des insectes.

De plus, l'action rapide de certaines HEs contre certains nuisibles est révélatrice d'un mode d'action neurotoxique [170], ils agissent directement au niveau des neurones, provoquant ainsi la paralysie puis la mort de l'insecte [171].

1.4.7.5.2 Effets physiques

Les HEs agissent directement sur la cuticule des arthropodes à corps mou. La nature lipophile de l'HE peut dégrader la couche cireuse de la cuticule et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduits de cette couche cireuse et sont affectés par l'HE ce qui peut entraîner l'asphyxie [165]. D'autres travaux ont démontré que l'HE de *Thymus persicus* possède un effet répulsif et toxique vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* et *Tribolium castaneum* [172].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel d'étude

2.1.1 Matériel non biologique (Appendice B)

2.1.2 Matériel végétal

2.1.2.1 Récolte des plantes

Les espèces étudiées ont été récoltées d'une manière aléatoire sur quatre sites de récolte différents en Algérie (Tableau 2.1), situées dans 2 étages bioclimatiques allant de l'humide au semi-aride (Appendice C).

Les parties aériennes de *L. stoechas* (feuilles, tiges et inflorescences) poussant à l'état spontané ont été collectées en pleine floraison durant le mois d'avril 2021 dans la région montagneuse de Hai Driouche à Blida (centre de l'Algérie) et Tissemsilt (ouest de l'Algérie) (Tableau 2.1).

Les fleurs de *L. angustifolia* sur lesquels l'expérimentation a porté sont cultivés au sein du foyer militaire de la région de Blida (centre de l'Algérie) et ceux de Chlef proviennent de la région d'Oued Fodda (ouest de l'Algérie) (Tableau 2.1). Les fleurs de *L. angustifolia* ont été collectées au mois de juillet 2021 en période de floraison.

Tableau 2.1 : Situation géographique des stations d'échantillonnage.

Espèce	Station de récolte	Latitude	Longitude	Altitude	Etage bioclimatique	Période de récolte
<i>L. stoechas</i>	Blida (Bouarfa)	36°28'15"N	36°28'15"N	357 m	Humide	Avril
	Tissemsilt	36°11'57.4"N	1°26'03.8"E	826 m	Semi-aride	Avril
<i>L. angustifolia</i>	Blida centre	36°28'15"N	36°28'15"N	250 m	Humide	Juillet
	Oued Fodda Chlef	36°11'57.4"N	1°26'03.8"E	149 m	Semi-aride	Juillet

Les espèces de *L. stoechas* et *L. angustifolia* sont récoltées par temps secs et ensoleillé. Ensuite, elles sont séchées dans un endroit sombre, sec et aéré. Elles sont conservées dans des bocaux en verre.

2.1.2.2 Identification botanique des plantes

L'identification botanique de *L. angustifolia* et *L. stoechas* a été réalisée aux laboratoires de botanique du département d'agronomie de l'université de Blida 1 et de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA) d'El Harrach, en se basant sur la clé de détermination de Quézel et Santa [6] (Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales).

2.2 Méthodes

2.2.1 Etude botanique

2.2.1.1 Recherche des sites sécréteurs

2.2.1.1.1 Observation macroscopique

Des observations macroscopiques, ont été effectuées pour distinguer des trichomes qu'ils soient non glandulaires et/ou glandulaires sécréteurs dans les organes végétaux (feuilles, fleurs et tige) de *L. angustifolia* et *L. stoechas*. Elles sont réalisées à l'aide d'une loupe binoculaire à un grossissement de 0.8x et 8x.

2.2.1.1.2 Observation microscopique des sites sécréteurs

a. Observation des sites sécréteurs au microscope optique

Des observations microscopiques, ont été réalisées pour distinguer les sites sécréteurs et la précision dans leur localisation à la surface des organes végétaux et éventuellement dans les tissus entre les cellules à l'intérieur des organes végétaux. Ainsi, des coupes transversales ont été réalisées seulement au niveau des feuilles et des tiges. Pour cela nous avons utilisé la technique de la double coloration.

✓ Confection des coupes

Sur des organes végétaux (feuilles et tiges) fraîchement récoltés, des coupes transversales sont réalisées à main levée à l'aide d'une lame de rasoir pour observer les sites sécréteurs et les tissus internes.

La coloration est ensuite effectuée en suivant le protocole adopté au sein du laboratoire de biologie végétale du département de biologie à l'université de Blida 1.

Les coupes ainsi préparées sont mises dans un creusé contenant de l'eau puis elles sont immergées successivement dans les bains suivants :

- Eau de javel (Hypochlorite de sodium) à 12° pendant 15 min, pour vider le contenu cytoplasmique des cellules,
- l'eau pendant 20 min pour le rinçage, pour neutraliser l'excès d'eau de javel
- l'acide acétique à 5% pendant 1 min, pour éliminer totalement l'eau de Javel et assurer la fixation du colorant sur la paroi,
- l'eau distillée pendant 20 min, pour le rinçage,
- le vert de méthyle pendant 10 min, pour la coloration des parois lignifiées ou tubérisées,
- l'eau distillée pendant 20 min,
- le rouge Congo pendant 10 min, pour la coloration des parois pectocellulosique, l'eau pour un dernier rinçage des coupes.
- Les coupes sont ensuite mises entre lame et lamelle pour l'observation au microscope optique au G ×10 puis G ×40.

b. Observation des sites sécréteurs au microscope électronique à balayage

Les fleurs séchées de *L. angustifolia* ainsi que les fleurs, tiges et feuilles de *L. stoechas* ont été étudiées pour identifier leurs sites sécréteurs à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB : Quanta 650). Chaque organe végétal, a été fixé sur des supports en aluminium recouverts de carbone. Les observations ont été réalisées sous vide partiel, avec une tension d'accélération de 10 kV et une pression maintenue à 130 Pa.

2.2.2 Etude phytochimique

2.2.2.1 Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau des plantes a été déterminée par le procédé de séchage à l'étuve, à 105°C [173], [174]. Pour chaque espèce, 100 g de la matière fraîche ont ainsi été étuvés pendant deux heures répétées jusqu'à l'obtention d'un poids stable; trois répétitions ont été réalisées pour chaque échantillon, dont la moyenne représenterait la teneur en eau.

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{\text{Masse fraîche} - \text{Masse sèche}}{\text{Masse fraîche}} \times 100$$

Mf : Masse fraîche de l'échantillon (g)

Ms : Masse sèche de l'échantillon (g)

Trois répétitions ont été réalisées pour chaque échantillon

2.2.2.2 Détermination de la teneur en cendres

Les cendres d'un matériel biologique représentent les résidus inorganiques obtenus après calcination de la matière organique. Ces cendres généralement de couleur blanchâtre donne une idée sur la quantité d'éléments minéraux présents dans l'aliment. En pratique, la calcination est réalisée dans un four à température comprise entre 450 et 550°C [175].

✓ Mode opératoire

Le dosage des cendres est effectué par incinération d' 1g d'échantillon sec dans un four à moufle à 550°C pendant 3 à 5 heures (jusqu'à obtention d'une poudre blanche). La matière organique correspond à la différence entre la prise d'essai et les cendres qui en résultent [176].

✓ Expression des résultats

Cette quantité est reportée à 100 g de plante sèche par la formule suivante :

$$(\%) \text{ cendre totales} = \frac{M_1}{M} \times 100$$

M_1 : masse de Cendres contenues dans la capsule.

M : Masse de la drogue prise essai.

2.2.2.3 Screening phytochimique

Afin de caractériser les différents groupes chimiques présents dans les plantes étudiées des analyses qualitatives (marqué positive : + et/ou négative : -) ont été effectuées. Nous avons suivi les protocoles de DIALLO [177] et N'GUESSAN *et al.*, [178]. Le principe repose sur la formation de complexes colorés en utilisant des réactions de coloration (conjugaison ou insaturation dans une molécule), ou sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation.

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, composés phénoliques, dérivés anthracéniques, mucilage).

2.2.2.3.1 Réaction de révélation des tanins

Dans le but de caractériser les tanins, l'infusé à 5 % a été préparé de la manière suivante :

✓ Préparation de l'infusé à 5%

- 5 g de poudre sèche ont été placés dans un bécher contenant 100 ml d'eau distillée bouillante,
- après infusion pendant 15 mn, le mélange a été filtré sur papier, suivi d'un rinçage avec un peu d'eau chaude afin d'obtenir 100 ml de filtrat.

✓ Caractérisation des tanins par le chlorure ferrique

- Dans un tube à essai, 5 ml de l'infusé à 5% ont été introduits, suivi de l'addition de 1 ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1%. En présence de tanins, une coloration verdâtre ou bleu noirâtre apparaît.
- Pour caractériser la présence de tanins catéchiques, 1 ml d'acide chlorhydrique filtré sur papier a été ajouté. En cas de tanins catéchiques, un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique concentré s'est formé avec 5 ml d'infusé à 5%. Ensuite, le mélange a été porté à ébullition pendant 15 minutes.

✓ Différenciation des tanins

- La différenciation entre les tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny. Pour ce faire, 30 ml d'infusé à 5% ont été mélangés avec 15 ml de réactif de Stiasny (composé de 10 ml de formol à 40% et 5 ml d'acide chlorhydrique concentré), puis chauffés au bain-marie à 90 °C pendant 15 minutes. La présence d'un précipité indique la présence de tanins catéchiques. Ensuite, le filtrat a été saturé avec de l'acétate de sodium pulvérisé. Après l'ajout de 1 ml d'une solution de FeCl_3 à 1%, l'apparition d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins non précipités par le réactif de Stiasny, identifiés comme des tanins galliques.

2.2.2.3.2 Réaction de révélation des flavonoïdes

a) Les anthocyanes

- À 5 ml d'infusé à 5%, 5 ml d'acide sulfurique ont été ajoutés, suivis de 5 ml de NH_4OH . Si la coloration s'accroît par acidification et vire au bleu violacé en milieu basique, cela permet de conclure à la présence d'anthocyanes.

✓ La réaction à la cyanidine

- 5 ml d'infusé ont été introduits dans un tube à essai. Ensuite, 5 ml d'alcool chlorhydrique (mélange d'alcool à 95°, d'eau distillée et d' HCl concentré en volume égaux), 1 ml d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium ont été ajoutés. Il se produit une réaction de crépitation pendant quelques minutes. L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose- violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso-amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine), les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction à la cyanidine a été répétée sans l'ajout de copeaux de magnésium en chauffant pendant 15 minutes au bain-marie (80°C). En cas de présence de leucoanthocyane, une coloration rouge cerise ou

violacée se manifeste, tandis que la présence de catéchols se traduit par une teinte brun-rouge.

2.2.2.3.3 Réaction de révélation des dérivés anthracéniques : y compris les quinones et les anthraquinones

Afin de caractériser les dérivés anthracéniques, les solutions suivantes ont été préparées :

- ✓ Extrait chloroformique : La poudre de la plante (1 g) a été mélangée à 10 ml de chloroforme et chauffée au bain-marie pendant 3 minutes (80°C). Ensuite, la solution a été filtrée à chaud et complétée jusqu'à atteindre 10 ml si nécessaire.

Hydrolysât : À une partie du résidu issu de la poudre épuisée par le chloroforme, 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés. Le mélange a ensuite été chauffé dans un bain-marie en ébullition pendant 15 minutes. Après refroidissement sous un courant d'eau, la solution a été filtrée, puis ajustée à un volume final de 10 ml avec de l'eau distillée.

- b) Dérivés anthracéniques libres : A 1 ml d'extrait chloroformique est ajouté 1 ml de NH_4OH dilué. Après agitation ; la coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres.
- c) Dérivés anthracéniques combinés
 - O-hétérosides (anthraquinones) : 5 ml d'hydrolysât sont agités en présence de 5 ml de chloroforme. Ensuite, l'ajout de 1 ml de NH_4OH dilué a été suivi d'une agitation, révélant la présence d'anthraquinones par une coloration rouge plus ou moins intense.
 - O-hétérosides à génines réduites : Dans 5 ml d'hydrolysât, 3 à 4 gouttes de FeCl_3 à 10% ont été ajoutées, puis la solution a été chauffée pendant 5 minutes au bain-marie. Après refroidissement, une agitation a été réalisée en présence de 5 ml de chloroforme. La phase chloroformique a ensuite été récupérée. Par la suite, 1 ml de NH_4OH dilué a été ajouté et agité. En présence de produits d'oxydation des anthranols ou anthrones, l'intensité de la coloration rouge est accrue.

- C-hétérosides : La phase aqueuse conservée lors de la caractérisation des O-hérosides a été reprise en ajoutant 10 ml d'eau distillée et 1 ml de FeCl_3 à 10%. Le tube à essai a été maintenu dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes. Après refroidissement, une agitation en présence de 5 ml de chloroforme a été effectuée, suivie de la récupération de la phase chloroformique. A cette solution, on ajoute 1 ml de NH_4OH dilué et en agitant, une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

2.2.2.3.4 Réaction de révélation des alcaloïdes

Une macération sous agitation a été réalisée pendant 24 heures avec 10 g de poudre végétale dans 50 ml de H_2SO_4 dilué au 1/10, à la température ambiante de du laboratoire ($22^\circ\text{C} \pm 2$). Après filtration sur papier, un lavage à l'eau distillée a été effectué pour obtenir environ 50 ml de filtrat.

- ✓ Caractérisation : 1ml du macéré est introduit dans 2 tubes à essai puis 5 gouttes de réactif de Mayer ont été ajoutées dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Wagner (Appendice E.3) ont été ajoutées dans le deuxième. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes.

2.2.2.3.5 Réaction de révélation du mucilage

A 1 ml de décocté à 10 % sont ajoutés 5 ml d'éthanol absolu. La présence de mucilages est indiquée par l'apparition d'un précipité floconneux lors du mélange.

2.2.2.3.6 Réaction de révélation des saponosides

L'indice de mousse (IM) est fourni par le degré de dilution d'un décocté aqueux de la plante qui, dans des conditions déterminées, donne une mousse persistante.

- Dans une fiole conique de 500 ml, 100 ml d'eau bouillante et 1,0 g de poudre grossière ont été introduits, puis maintenus à ébullition pendant 30 minutes. Après filtration et refroidissement, le filtrat a été ajusté à 100 ml. Ensuite, dans une série de 10 tubes à essai, des volumes successifs de 1,

2, 3..., 10 ml de décocté ont été introduits. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Après agitation de chaque tube longitudinalement, pendant 15 secondes, la hauteur de la mousse a été mesurée après 15 minutes de repos.

- Si la hauteur de mousse est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'IM est inférieur à 100 ;
- Si la hauteur de mousse est de 1 cm dans l'un des tubes, la dilution dans ce tube est l'IM cherché. Si la hauteur de mousse est supérieure à 1 cm dans tous les tubes, l'IM est supérieur à 1 000. Diluez le décocté et recommencez la détermination.

Dans cette expérience, les résultats sont représentés comme suit :

- Une réaction franchement positive est représentée par : +++
- Une réaction moyennement positive est représentée par : ++
- Une réaction faiblement positive est représentée par : +
- L'absence de la substance est représenté par : -

2.2.2.4 Préparation des extraits méthanoliques

2.2.2.4.1 Extraction au soxhlet

La méthode d'extraction par le soxhlet (Figure 2.1) permet d'extraire des quantités plus importantes de principes actifs, en l'occurrence les polyphénols et les anthraquinones, à partir de la poudre sèche. C'est une technique couramment pratiquée [179].

✓ Principe

Le solvant est porté à ébullition dans un ballon placé dans un dispositif chauffant et ses vapeurs sont condensées dans un tube réfrigéré. Le solvant condensé tombe goutte à goutte sur l'échantillon solide placé dans une cartouche poreuse. Un système de siphon permet de vidanger le réceptacle contenant l'échantillon quand le volume du solvant atteint un niveau donné, le solvant, aspiré dans le ballon de distillation, entraîne les composés organiques extraits. Ceux-ci restent dans le ballon où leur concentration dans le solvant augmente progressivement [180].

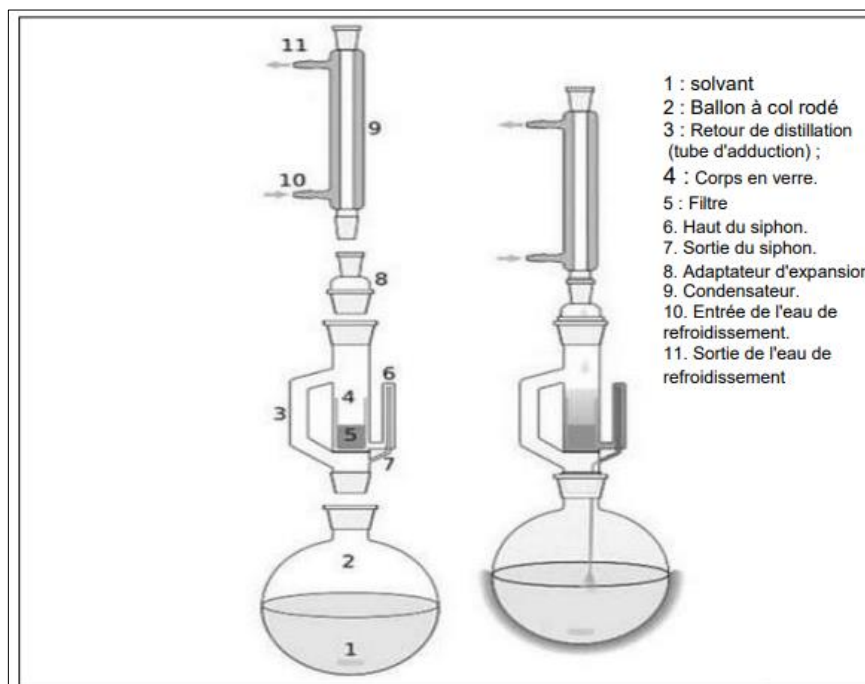


Figure 2.1 : Représentation schématique d'un appareil soxhlet [181].

✓ Mode opératoire

L'extraction a été effectuée d'abord par un solvant apolaire, qui est l'éther de pétrole. Après séchage du matériel végétal, une autre extraction a été réalisée par un solvant polaire, qui est le méthanol.

- 20 g de plante entière, soigneusement lavée et séchée, est introduite dans la cartouche en papier filtre et placée au niveau du soxhlet ;
- 250 ml d'éther de pétrole sont incorporés à un ballon à col rodé à fond plat qui est lui-même placé dans un bain-Marie et porté à ébullition ;
- Après une douzaine de siphonages, nous récupérons d'une part, le ballon contenant le solvant enrichi en substances solubles (fraction lipidique) d'autre part la matière végétale contenue dans la cartouche de papier filtre que l'on nommera marc et qu'on laisse sécher à l'air libre ;
- Le marc récupéré et séché est réintroduit dans une seconde cartouche et soumis à une seconde extraction au soxhlet en utilisant cette fois-ci du méthanol afin de récupérer les substances polaires solubles dans les alcools ou autres solvants polaires ;

- Après une douzaine de siphonages, nous récupérons un marc et le ballon contenant le solvant ainsi que la fraction polaire de la plante (sucres, flavonoïdes, tanins, divers glycosides) [83] ;
- Les extraits, méthanolique et étheré secs sont obtenus par évaporation du solvant grâce à un évaporateur rotatif.
- Le ballon contenant l'extrait méthanolique sec est pesé avant et après extraction afin de déterminer la teneur de la fraction polaire.

✓ Rendement d'extraction

Une fois les extraits ont été obtenus, nous avons déterminé leurs caractéristiques organoleptiques et le rendement (Rdt) de l'extrait méthanolique par rapport à la quantité initiale de la poudre sèche :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{\text{poudre}}} \times 100$$

M extrait : La masse de l'extrait

M poudre : La masse de la poudre de la plante (M poudre = 20 g)

2.2.2.5 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux présents dans les extraits méthanoliques des feuilles de *L. stoechas* et des fleurs de *L. angustifolia* a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (FC), selon la méthode décrite par SINGLETON et *al.*, [182].

✓ Principe

Le réactif de FC est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [183]. La coloration résultante est directement proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

✓ Mode opératoire

Après avoir mélangé 0,2 ml de chaque extrait avec 0,8 ml de solution de Na_2CO_3 (7,5%) et agité le mélange, 1 ml de solution de Folin Ciocalteu (diluée préalablement dix fois dans de l'eau distillée) a été introduit. Après une incubation de 2 heures à température ambiante ($22^\circ\text{C} \pm 2$) dans le laboratoire, l'absorbance a été mesurée à 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible, par rapport à un blanc ne contenant pas d'extrait.

Une courbe d'étalonnage est élaborée parallèlement dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de l'acide gallique à différentes concentrations. Toutes les étapes sont effectuées en triplicata. La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage. Elle est exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$).

2.2.2.6 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des HEs a été réalisée par la technique d'hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger [5]. Pour chaque essai, 100 g de fleurs sèches ont été traités. La distillation a duré trois heures à partir de l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur. L'HE obtenue a été conservée à 4°C dans un flacon de couleur opaque fermé hermétiquement. Les quantités des HEs obtenues permettent le calcul du rendement par la formule suivante [184].

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M'}{M} \times 100$$

Avec : RHE : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage ;

M' : masse d'huile essentielle obtenue en gramme ;

M : masse de la matière végétale sèche utilisé en gramme.

2.2.2.7 Étude analytique des huiles essentielles

2.2.2.7.1 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles

Les caractéristiques organoleptiques telles que l'aspect, la couleur et l'odeur des HEs de *L. angustifolia* et *L. stoechas* ont été notées.

2.2.2.7.2 Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

2.2.2.7.2.1 Mesure des indices chimiques

a) Détermination de l'indice d'acide : (NF ISO 1242 : 1999 (T 75-103)) [112]

C'est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres contenus dans 1g d'HE. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'éthanol titrée de KOH.

Mode Opératoire :

Dans un erlenmeyer, on mélange 1 gramme d'HE, 5 millilitres d'éthanol à 96% et environ 5 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré. On procède ensuite à un titrage de ce mélange en ajoutant progressivement une solution alcoolique de KOH à 0,05 Normalité, jusqu'à ce que la couleur vire au rose de façon persistante. L'indice d'acide (I_a) est ensuite calculé à l'aide de la formule :

$$I_a = \frac{V \times C \times 56,11}{M}$$

Avec :

I_a = Indice d'acide.

V = Volume de KOH utilisé en ml.

C = Concentration exacte, en moles par litre de la solution de KOH.

M = Masse de la prise d'essai.

56.11 : Masse molaire de KOH (mg/mmol).

b) Mesure du pH

La mesure du pH, indique le degré d'acidité, a été réalisée à l'aide un pH-mètre de marque STARTER à la température ambiante du laboratoire ($22^{\circ}\text{C} \pm 2$). Avant utilisation, ce pH-mètre a été étalonné avec des solutions tampons. L'électrode a ensuite été rincée à l'eau distillée, puis immergée dans les HEs à analyser. Une fois la lecture stabilisée sur l'appareil, la valeur du pH a été relevée.

2.2.2.7.2.2 Mesure des grandeurs physiques

a. Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une HE est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante de 20°C .

Mode Opératoire :

L'indice de réfraction est mesuré en utilisant un réfractomètre de marque ABBE 5 couplé à un bain-marie réfrigéré de la marque LAUDA. Quelques gouttes d'eau distillée servent d'étalon sur le prisme du réfractomètre, calibré à 1,333. Après avoir essuyé ces gouttes, on les remplace par des gouttes de l'HE, puis on effectue la lecture. L'indice de réfraction de l'HE est ensuite calculé à l'aide d'une formule :

$$N = n + 0,00004 (t' + t).$$

Où

N : indice de réfraction

n : la valeur obtenue lors de la lecture à la température (t') à laquelle a été effectuée la détermination.

t' : la température à laquelle a été effectuée la détermination.

t : la température de référence.

b. Détermination de la densité relative

La densité relative est le rapport d'un certain volume d'HE à 20°C et la masse d'un même volume d'eau distillée à la même température.

2.2.2.8 Analyse chromatographique des huiles essentielles par CG/SM

L'étude analytique a été réalisée au niveau du laboratoire du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico- Chimiques (CRAPC).

Les analyses chromatographiques (CG/SM) de l'HE de *L. angustifolia* et *L. stoechas* ont été effectuées au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard (série HP 6890) couplé avec un spectromètre de masse (série HP 5973). La fragmentation est réalisée par impact électronique à 70eV. L'injection a été effectuée en mode splitless avec un volume d'injection de 0,2 µl. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m x 0,25 mm) avec une épaisseur du film de 0,25 µm. La température de la colonne a été programmée comme suit : la température initiale d'injection est de 60 °C pendant 8 min, puis elle a été augmentée à 250 °C à raison de 2 °C.min⁻¹. Elle a été maintenue en isotherme pendant 10 min. Le débit du gaz vecteur l'hélium a été fixé à 0,5 ml.min⁻¹. La température de l'interface du spectromètre de masse a été fixée à 280°C. Pour calculer les indices de rétention des différents constituants de l'huile, un mélange d'alcane a été injecté en GC /MS sous les mêmes conditions.

2.2.2.8.1 Identification des composés des huiles essentielles

Les constituants de l'huile ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (IR) de Kovats déterminés par rapport à une série de n-alcane C8-C29 avec ceux des composés standards de la banque de données informatisée (WILEY et NIST) [185] et de littérature.

2.2.3 Contrôle microbiologique des parties séchées

Les plantes contiennent naturellement un grand nombre d'organismes bactériens et fongiques, toujours mis en évidence par un contrôle microbiologique

de type dénombrement sur plaques avec comptage des unités formant des colonies (UFC) [186].

Le protocole utilisé pour la recherche et le dénombrement des germes dans les organes des plantes étudiées composées de feuilles, tiges et fleurs est celui adopté au laboratoire d'hygiène de référence de la wilaya de Blida. Ce dernier provient du protocole établi par l'Institut Pasteur d'Alger. Les germes recherchés pour les plantes séchées comprennent les coliformes fécaux *E. coli*, les clostridiiums sulfito-réducteurs à 46°C, les Salmonelles, les staphylocoques à coagulase positive, *Bacillus cereus* et les moisissures. Les résultats obtenus ont été interprétés en référence aux normes spécifiées dans le Journal Officiel Algérien N°39, publié le 2 juillet 2017 (APPENDICE F).

2.2.3.1.1 Préparation de la solution mère (10^{-1}), les solutions 10^{-2} et 10^{-3}

Une quantité de 2.5 g de feuilles et de fleurs séchées de *L. angustifolia* et *L. stoechas* est mélangée avec 22.5 ml de bouillon TSE (Eau physiologique péptonée) dans un flacon de 250 ml. Cette préparation est dite solution mère (SM) ou solution à 10^{-1} , ensuite elle est placée en incubation à 37°C pendant 30 minutes. A partir de cette solution (SM), des dilutions décimales sont préparées afin d'obtenir des dilutions de 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} .

2.2.3.1.2 Recherche et dénombrement Staphylocoques à coagulase positive

La recherche de *Staphylococcus aureus* a été réalisée en 2 phases : une phase d'enrichissement et une phase d'isolement. Pour ce faire, le milieu liquide de Giolitti Cantoni a été utilisé. Le pyruvate, le mannitol et la glycine favorisent la croissance des Staphylocoques à coagulase positive, qui réduisent également le tellurite en tellure métallique, éliminant ainsi sa toxicité. La formation de tellure noir indique donc la croissance de *Staphylococcus* [187]. L'enrichissement implique l'ajout de 1 ml de chaque dilution à 15 ml de milieu de Giolitti Cantoni contenant du tellurite de potassium, suivi d'une incubation à 37°C pendant 48 heures. L'isolement est réalisé sur gélose Chapman, contenant une concentration élevée de NaCl (7,5%) pour favoriser la croissance des espèces de *Staphylococcus* au détriment des autres bactéries. La gélose Chapman contient également du mannitol avec du rouge de phénol comme indicateur de pH. La production d'acide

par utilisation du mannitol se traduit par un changement de couleur du rouge au jaune. À partir des tubes présumés positifs, une à deux gouttes sont ensemencées sur la gélose Chapman et incubées à 37°C pendant 48 heures. En cas de test positif, au moins 3 colonies de chaque type caractéristique et non caractéristique doivent être confirmées dans chaque boîte, les colonies sont ensuite soumises au test de la catalase, l'identification se poursuit par le test de la coagulase.

Le calcul dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive par gramme ou millilitre de produit (N) selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum a}{V \times a \times F}$$

a : le nombre de staphylocoques de la 1ère dilution retenue,

V : volume inoculé = 0,1 ml,

F : taux de dilution correspondant à la 1ère dilution retenue.

2.2.3.1.3 Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli*

Dans les boîtes de Pétri, 1ml de chaque dilution est ensemencé par la méthode en masse dans la gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose). Les boîtes ensemencées sont incubées à 44°C pendant 24 heures. Toutes les colonies caractéristiques qui poussent à 44°C sont considérées comme coliformes thermotolérants ou fécaux. En parallèle, une boîte de VRBL non inoculée est mise en incubation dans des conditions identiques pour servir de témoin. Après incubation, un dénombrement des colonies rouges pourpres à rouge foncé, entourées d'un précipité rouge violacé est réalisé. Ce sont des coliformes fécaux. Une confirmation des résultats est faite par repiquage des colonies typiques sur milieu liquide urée indole. Ce milieu est incubé durant 18 à 24h à 37°C.

La réaction est révélée par l'ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs (le diméthylamino-4-benzaldéhyde). Après agitation, l'interprétation de la réaction se fait après une minute. Pour une souche d'*E. coli*, une coloration rosée à rouge cerise se manifeste en surface.

Cette réaction permet la mise en évidence simultanée de:

- la production d'indole par l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase.
- L'hydrolyse de l'urée par une uréase entraîne la production de dioxyde de carbone et d'ammoniac. L'ammoniac ainsi produit rend le milieu alcalin, ce qui est confirmé par le changement de couleur du rouge de phénol au rose (réaction positive).

Il convient d'appliquer cette formule pour estimer le nombre d'*E. coli* par boîte ou par dilution.

$$a_1 = \frac{b}{A} \times c$$

- a_1 : nombre d'*E. coli* de la 1ère dilution retenue.
- c : nombre total de coliformes thermotolérants de la 1ère dilution retenue.
- A : nombre de colonies repiquées par boîte ($A = 3$).

Pour le calcul du nombre d'*E. coli*, il convient d'utiliser cette formule.

$$N = \frac{\sum a}{V_{ml} \times (n_1 + 0,1 n_2) \times d_1}$$

- **N** : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial ;
- **$\sum a$** : sommes des colonies des boîtes interprétables ;
- **Vml** : volume de solution déposé (1 ml) ;
- **n1** : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue ;
- **n 2**: nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue ;
- **d1**: facteur de la première dilution retenue.

$$*a = a_1 + a_2$$

2.2.3.1.4 Recherche des clostridiiums Sulfito-réducteurs à 46°C

1 ml de la dilution 10^{-1} et 10^{-2} est mélangé dans 15 ml de milieu viande foie (VF) contenant des additifs d'Alun de fer (2ml) et de sulfite de sodium (5 ml). On utilise 2 tubes pour chaque dilution. Les tubes sont incubés dans un bain-marie à

80°C pendant 10 minutes. Ensuite, Les tubes subissent un choc thermique en étant rapidement plongés dans de l'eau froide à 10°C. Après, ces tubes sont incubés à l'étuve à 37°C pendant 48 heures. La lecture est effectuée toutes les 24 heures.

Seules les colonies entourées d'un halo noir, présentant une croissance en profondeur, doivent être prises en compte. Il convient de vérifier que chaque colonie mesure au moins 5 mm de diamètre.

Le dénombrement des spores sulfito-réducteurs est réalisé par la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V_{ml} \times (n_1 + 0,1 n_2) \times d_1}$$

- **N** : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial,
- **Σc** : sommes des colonies des tubes interprétables,
- **V_{ml}** : volume de solutionensemencé (1 ml),
- **n₁** : nombre de tubes considérés à la première dilution retenue,
- **n₂** : nombre de tubes considérés à la seconde dilution retenue,
- **d₁** : facteur de la première dilution retenue.

2.2.3.1.5 Recherche des salmonelles

Lors de la phase de pré-enrichissement, 25 g du produit à analyser sont prélevés aseptiquement et ajoutés à 225 ml d'Eau Peptonée Tamponnée. Le mélange est incubé à l'étuve à 37°C pendant 24 heures, ce qui favorise la croissance des bactéries présentes. Après le pré-enrichissement, 1 ml de la solution est transféré dans un bouillon sélectif spécifique pour Salmonella. Il s'agit du bouillon SFB (bouillon au sélénite acide de sodium+ cystine) additionnée avec quelques gouttes de sélénite de sodium. L'incubation se poursuit à une température de 37°C pendant 24 heures.

L'isolement sur des milieux sélectifs se réalise par l'ensemencement en stries sur une gélose sélective Hektoen. L'incubation se fait à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Identification des colonies suspectes : Les colonies typiques de *Salmonella* présentent souvent des caractéristiques visuelles spécifiques. Elles apparaissent vertes ou bleuâtres. Cette coloration est due à la fermentation des sucres présents dans le milieu.

2.2.3.1.6 Recherche de moisissures

4 gouttes de chaque dilution sont déposées sur des boîtes de Pétri contenant une gélose OGA (Oxytétracycline glucose agar). L'ensemencement se fait en râteau. Ensuite, les boîtes sont incubées à une température de 25°C pendant une période de 5 jours. Une boîte de la gélose OGA non ensemencée est incubée en parallèle avec les boîtes testées (témoin).

Le dénombrement des moisissures est réalisé par la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V_{ml} \times (n_1 + 0,1 n_2) \times d_1}$$

2.2.3.1.7 Recherche de *Bacillus cereus*

1 ml de chaque dilution est ensemencé en profondeur dans des boîtes de Pétri contenant le milieu gélose amidon. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant une période de 24 à 48 heures. Pour l'identification présomptive, il est recommandé d'observer les colonies suspectes, qui se présentent sous forme de colonies plates, sèches, rugueuses et irrégulières. Quelques gouttes de réactif de Lugol doivent être déposées sur ces colonies. Les colonies de *B. cereus* se coloreront en brun-noir, indiquant une réaction amylolytique positive. Si nécessaire, des tests de confirmation supplémentaires, tels que la coloration de Gram, l'évaluation de la mobilité et de la sporulation, peuvent être réalisés. Enfin, pour le dénombrement, les colonies typiques de *B. cereus* doivent être comptées sur les boîtes de dilution appropriées.

2.2.4 Etude des activités biologiques des huiles essentielles

2.2.4.1 Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles

La mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des HEs a été effectuée par la méthode de piégeage du radical libre 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH). Le DPPH est un radical libre et stable. Il possède une coloration violette foncée. Lorsqu'il est réduit, sa coloration devient jaune pâle, formant le diphénylpicrylhydrazine. 25 µl de chacune des solutions méthanoliques des HEs à différentes concentrations (0,1-1 mg/ml) sont mélangées avec 975 µl d'une solution méthanolique de DPPH (60 µM). Les mêmes concentrations ont été préparées avec l'acide ascorbique et l'α-tocophérol, utilisées comme témoins positifs. Un blanc a également été réalisé avec le méthanol absolu. Pour chaque concentration, le test est répété trois fois. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) des radicaux libres en utilisant la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{éch}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

Avec : A Contrôle: Absorbance du contrôle.

A éch: Absorbance de l'échantillon testé.

✓ Calcul des IC50

La concentration IC50 ou concentration inhibitrice représente la concentration de l'échantillon testé requise pour réduire 50 % du radical DPPH. Les valeurs IC50 sont déterminées graphiquement en effectuant des régressions linéaires sur les graphiques correspondants.

2.2.4.2 Etude de l'activité insecticide des huiles essentielle

Ce travail consiste à évaluer l'effet biocide résultant de l'inhalation des HEs de 2 espèces *L. angustifolia* et *L. stoechas* récoltées dans 2 régions différentes vis-à-vis d'un insecte ravageur du blé stocké *Tribolium castaneum* (Herbst) dans les conditions de laboratoire.

2.2.4.2.1 Elevage de l'insecte ravageur *Tribolium castaneum*

Les imagos de *Tribolium castaneum*, échantillonnés dans un sac de stock de semoule contaminé, sont maintenus en élevage de masse. L'élevage s'est déroulé dans les conditions semi contrôlés au sein du laboratoire de recherche de biotechnologies, santé et environnement de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Blida 1.

L'identification de l'insecte a été réalisée par le Dr NÉBRI R., du laboratoire de parasitologie de l'Institut des sciences vétérinaires, et le Prof. BENDJOUDI D., du laboratoire de Biotechnologies, environnement et santé, de l'université de Blida1. L'identification précise de l'espèce a été effectuée à partir du manuel de référence *Stored Grain Pests and their Identification*, édité par le National Institute of Plant Health Management (NIPHT), confirmant ainsi la détermination taxonomique initiale [188].

L'élevage a été maintenu dans des boîtes en plastique placées dans une étuve réglée à une température constante de 30°C avec une humidité relative maintenue à 70 % et à l'obscurité étant donné que ces insectes présentent un phototropisme négatif.

2.2.4.2.2 Test de toxicité

La toxicité des HEs a été évaluée en mesurant la mortalité des adultes par fumigation. La méthode utilisée est celle de « l'air saturé » adoptée par MEJDOUB et *al.*, [189]. Cette méthode permet de déterminer la toxicité des HEs par inhalation sur les insectes adultes.

✓ Mode opératoire

Six concentrations de l'HE de chaque espèce (8 ; 10 ; 15 ; 25 ; 45 ; 65 µl/ml d'air) ont été préparées sans solvant. Ces concentrations ont été appliquées sur des disques de papier filtre Whatman N°1 de 2 cm de diamètre. Elles ont été placées dans des boîtes de Pétri de 90 mm. Chaque boîte a ensuite été infestées avec 15 insectes adultes non sexés de *Tribolium castaneum*.

Toutes les boîtes de Pétri préparées sont scellées avec une moustiquaire à fines mailles pour permettre l'aération du milieu tout en empêchant

les insectes de s'échapper. Ensuite, elles sont numérotées et sont replacées dans la chambre d'élevage, maintenues aux mêmes conditions de température et d'humidité que celle de l'élevage de masse.

Pour chaque concentration d'HE testée, trois répétitions ainsi qu'un témoin sans HE ont été réalisées.

La mortalité des insectes a été vérifiée 24 h après le début de l'exposition aux HEs. L'efficacité de l'HE est évaluée en calculant la mortalité des insectes. Cependant, les résultats obtenus ne présentent pas uniquement la mortalité causée par l'huile, mais comprennent aussi la mortalité naturelle. Le comptage des insectes adultes morts est effectué 24 h après exposition. La mortalité observée est ensuite corrigée à l'aide de la formule d'Abbott afin de distinguer la mortalité due à l'HE essentielle de la mortalité naturelle [190].

$$MC = \frac{MT - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

MC : Mortalité corrigée

MT : mortalité observée pendant le traitement;

Mt : mortalité observée chez le témoin;

$$\text{Mortalité (\%)} = \frac{NDI}{NII} \times 100$$

NI, nombre d'insectes morts

NII, nombre d'insectes introduits.

- Calcul des doses létales DL50 ET 90

L'efficacité des différents traitements se détermine par l'estimation la DL50 et la DL90 (dose létale pour 50% ou 90% de la population) en utilisant la méthode des probits [191]. La DL50 ET DL90 sont obtenues graphiquement à partir de la droite de régression des Probits, qui correspondent aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des doses de traitement. Plus la DL50 et DL90 sont faibles, on parlera d'efficacité du traitement.

2.2.4.3 Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

2.2.4.3.1 Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HES chémotypées est effectuée selon la méthode de diffusion des disques sur gélose appelée aromatogramme.

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques sur gélose décrite par DULGER ET GONUZ [192] et PAREKH ET CHANDA [193]. La méthode de diffusion sur disque consiste à déposer un disque stérile imbibé de l'extrait à tester sur un tapis bactérien en début de croissance. On mesure ensuite le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque, où les bactéries n'ont pas pu se développer à cause de l'extrait. Le diamètre de cette zone d'inhibition (ZI), qui traduit l'activité antibactérienne des extraits, est ainsi déterminé.

Pour interpréter les résultats du test qualitatif, nous avons suivi la méthode de MUTAI et *al.*, [194] qui utilise une échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (Tableau 2.2). Cette échelle classe les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne "D" en cinq (5) catégories distinctes.

Tableau 2.2 : interprétation des diamètres d'inhibition.

Très fortement sensible	$D \geq 30\text{mm}$
Fortement sensible	$21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$
Modérément sensible	$16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$
Légèrement sensible	$11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$
Résistante	$D \leq 10\text{mm}$

Le test microbiologique a été réalisé au sein du laboratoire d'hygiène de référence de la wilaya de Blida.

2.2.4.3.1.1. Les souches microbiennes

Six souches microbiennes de référence sous forme de lots “American Type Culture Collection” ATCC et “Collection de l’institut de Pasteur Paris” CIP ont été testées : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231.

Toutes les souches microbiennes ont été choisies par leurs fréquences élevées de contamination et leur pathogénicité dominante (Tableau 2.3). Elles proviennent du centre de recherche et de développement de Saidal de Médéa.

Tableau 2.3 : Caractéristiques des souches microbiennes ATCC testées

Souches testées	Gram	Forme	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Cocci	Micrococcaceae
<i>Bacillus subtilis</i>	+	Bacille	Bacillaceae
<i>Escherichia coli</i>	-	Bacille	Entérobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Bacille	Pseudomonadaceae
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	/	Mycélium	Trichocomaceae
<i>Candida albicans</i>	/	Ovoïdes	Cryptococcaceae

2.2.4.3.1.2. Milieux de culture

La gélose nutritive (GN) est utilisée pour l’isolement et la conservation des souches, c’est un milieu adéquat pour la majorité des bactéries.

La gélose Mueller Hinton (MH) est utilisée dans les tests de sensibilité des souches bactériennes aux différentes HES.

La Gélose de Dextrose de Sabouraud (GDS) est utilisé dans le test de sensibilité de la levure et du champignon.

2.2.4.3.1.3 Repiquage des espèces bactériennes

Les souches microbiennes sont repiquées en stries, afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum. Par la suite, les souches bactériennes sont incubées à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures, tandis que la levure est incubée à 25°C pendant 48 heures. *A. brasiliensis* est incubé à 25°C pendant 5 jours pour permettre une croissance optimale.

2.2.4.3.1.4 Préparation de l'inoculum

A partir d'une colonie jeune de 24h, 2 à 3 colonies sont collectées à l'aide d'une anse de platine stérile, puis elles sont homogénéisées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %. La densité optique de chaque suspension de l'inoculum est mesurée en utilisant un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 680 nm. La densité optique doit être équivalente à 108 UFC/ml (0,5 Mac Farland).

2.2.4.3.1.5 Préparation des disques

Des disques de papier Whatman n°1 d'un diamètre de 6 mm, préalablement stérilisés (par autoclavage à 120 °C pendant 15 minutes), sont chargés avec les HEs à tester. De manière similaire, des antibiogrammes sont préparés avec des disques contenant des antibiotiques (utilisés comme témoins positifs) adaptés et prêts à l'emploi. Ces derniers ont été employés pour la comparaison avec les résultats des HEs testés. Les antibiotiques utilisés comprennent : la gentamicine CN (30) µg, la ciprofloxacine CIP (5 µg) et le chloramphénicol C 30 (30 µg). L'antifongique utilisé est l'amphotéricine B AMP (10 µg). Des disques stériles de 6 mm imprégnés de DMSO (Diméthylsulfoxyde) sont utilisés comme témoins négatifs.

2.2.4.3.1.6 Ensemencement

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis frotté sur l'ensemble de la surface gélosée, de haut en bas, en effectuant des stries serrées.

Cette opération est répétée 2 fois en pivotant la boîte de 60° à chaque fois. Ensuite, des disques imprégnés d'HE, à raison de 15 µl, sont délicatement déposés sur la surface de la gélose déjàensemencée à l'aide d'une pince stérile.

2.2.4.3.1.7 Incubation

Les boîtes de Pétri ensemencées par les souches bactériennes et présentant un disque contenant de l'HE et/ou d'antibiotique sont incubées à une température de 37°C pendant 24 heures. Et celles ensemencées par la souche de levure sont incubées durant 48 heures à une température de 25° C. Alors que pour les moisissures l'incubation est réalisée durant 5 jours à une température de 30°C (*A. brasiliensis*).

2.2.4.3.1.8 Lecture

La lecture s'effectue en mesurant les zones d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour chaque essai, 3 mesures ont été réalisées avec \pm écart type.

2.2.4.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

a. Principe

On ensemence différentes concentrations décroissantes d'HE par une suspension. Après incubation, l'observation de la gamme permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus faible concentration d'HE capable d'inhiber la croissance de 90 % de la population microbienne [195].

Selon ALIGIANNIS *et al.*, (2001) [196], l'activité antimicrobienne est considérée comme forte lorsque les valeurs de CMI se situent entre 0.05 mg/ml et 0.50 mg/ml, modérée quand elles sont entre 0.6 mg/ml et 1.50 mg/ml et faibles quand elles sont supérieures à 1.50 mg/ml.

b. Méthode

La détermination de CMI a été effectuée selon la méthode d'ELOFF [197] et CHEBAIBI *et al.*, [195]. Une microdilution des HEs à tester est produite dans une

microplaque (Appendice I 1) contenant 20 μ l DMSO, ce qui permet de créer une série de dilutions de base 2. Ces dilutions sont ensuite réparties dans les 96 puits de la microplaque pour former une gamme de concentrations.

Une dilution géométrique de base deux de l'HE est préparée dans les puits d'une microplaque. Pour chaque souche bactérienne ou levure testée, 160 μ l de bouillon (bouillon Mueller Hinton (BMH) pour les souches bactériennes ou milieu Sabouraud liquide (BS) pour les levures) sont additionnés de 20 μ l d'une suspension microbienne à concentration définie (10^6 UFC/ml pour les souches bactériennes, 10^8 UFC/ml pour les levures). Cette suspension est ensuite répartie dans les puits contenant les dilutions d'HE (20 μ l).

Chaque ligne est attribuée à une souche spécifique. Ce travail a été effectué sur trois souches donc sur trois lignes. Des puits témoins positifs (milieu BMH/BS + microorganisme) et négatifs (milieu BMH/BS + DMSO) sont préparés. Après incubation pendant 24h à 37°C pour les souches bactériennes et 48h à 25°C pour les levures, la CMI de l'HE est déterminée à partir du premier puits de la gamme où aucune croissance microbienne n'est observée.

2.2.4.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF) en milieu solide

Les concentrations minimales bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) correspondent à la plus faible concentration en HE capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbien initial [198]. Cette valeur détermine l'effet bactéricide ou fongicide de l'HE. La détermination de CMB ET CMF a été effectuée selon la méthode de CHEBAIBI et *al.*, [195].

Selon MARMONIER (1990) [199], une substance antimicrobienne est qualifiée de bactéricide lorsque son rapport d'activité CMB/CMI est inférieur ou égal à 4 (≤ 4) et bactériostatique si ce rapport est supérieur à 4 (> 4).

Méthode

Pour ce faire, 5 μ l de la suspension microbiennes sont repiqués à partir des puits ne montrant aucune croissance, ils sont ensuite déposés "en strie" sur des géloses appropriées pour chaque type de micro-organisme (MH pour les bactéries

et GSD pour les levures). Les boîtesensemencées sont incubées pendant 24 h à 37°C pour les souches bactériennes et 48 heures à 25°C pour les levures. La CMB de l'HE est déterminée à partir de la première où aucune croissance bactérienne n'est observée.

2.2.4.6 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS® version 20.0.0 pour Windows™. Les moyennes ont été analysées par une analyse de variance (ANOVA) suivie d'un test Post hoc de Tukey. Les valeurs de $p \leq 0,05$ ont été considérées comme significatives.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSION

3.1 Résultats de l'étude botanique de la plante et recherche des sites sécréteurs

3.1.1 Observation macroscopique

A. *L. angustifolia*

✓ La feuille

Les feuilles, prélevées de manière aléatoire, mesurent environ 40 mm de longueur et présentent une forme lancéolée. Elles sont simples et entières, avec des bords légèrement enroulés, de couleur vert grisâtre (figure 3.1). À la loupe binoculaire à un grossissement de 4x, nous notons la présence d'un tapis de poils épidermiques, composés de trichomes non glandulaires et de trichomes glandulaires sur les faces dorsales et ventrales de la feuille (figure 3.2).

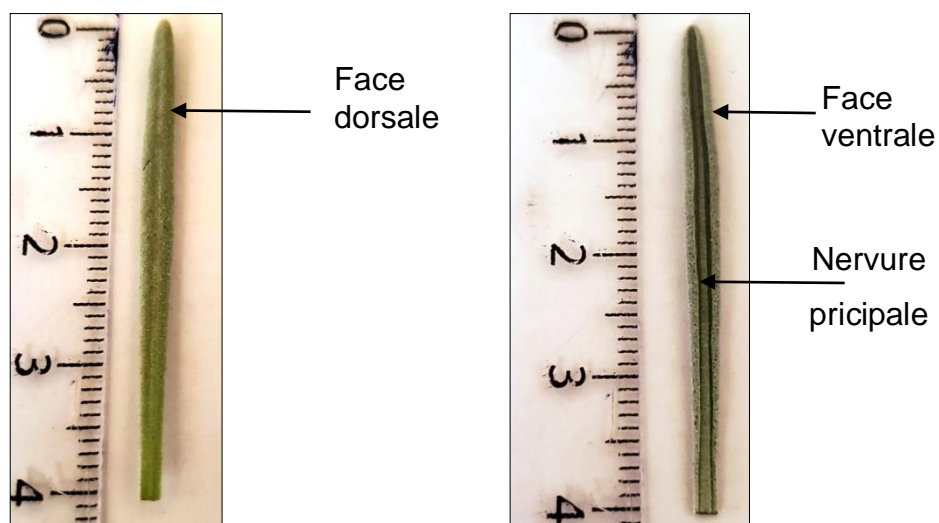


Figure 3.1 : Vue d'une feuille de *L. angustifolia* (face dorsale et face ventrale).

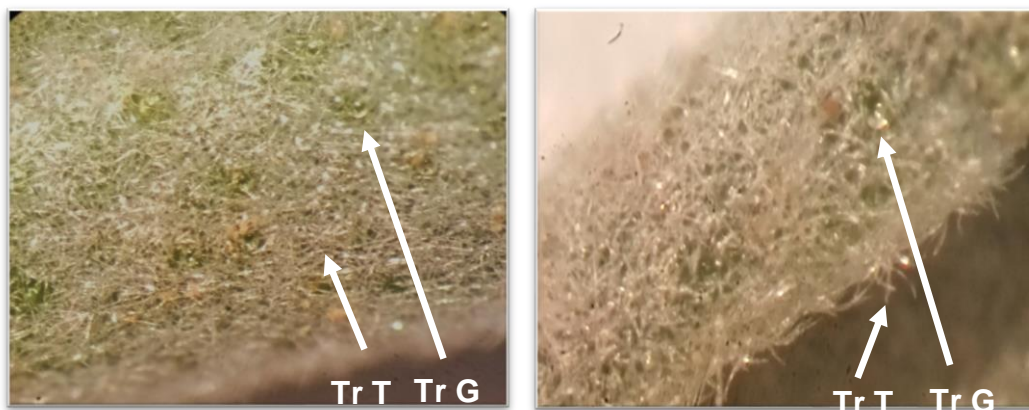


Figure 3.2 : Trichomes sur la face dorsale et ventrale de la feuille de *L. angustifolia* à la loupe binoculaire (Gx 8) (Trichome Tecteur (Tr T); Trichome Glandulaire (Tr G)).

✓ Les fleurs

Elles sont petites, de quelques mm de diamètre et d'une coloration violacée. Elles sont sessiles, situées sur un long pédoncule formant un épi. Elles sont disposées en faux verticilles. Chaque verticille est formé de 6 à 10 fleurs et présente à sa base deux bractées étroites et brunâtres. Le calice présente des stries longitudinales. La corolle quant à elle, est formée de 5 pétales soudés en un tube allongé de teinte violette (figure 3.3). Lorsque nous observons le calice et la corolle à un grossissement de 4,5x, nous pouvons clairement distinguer les détails de sa surface veloutée recouverte de trichomes visibles (trichomes tecteurs non glandulaires et trichomes glandulaires) (figure 3.4).

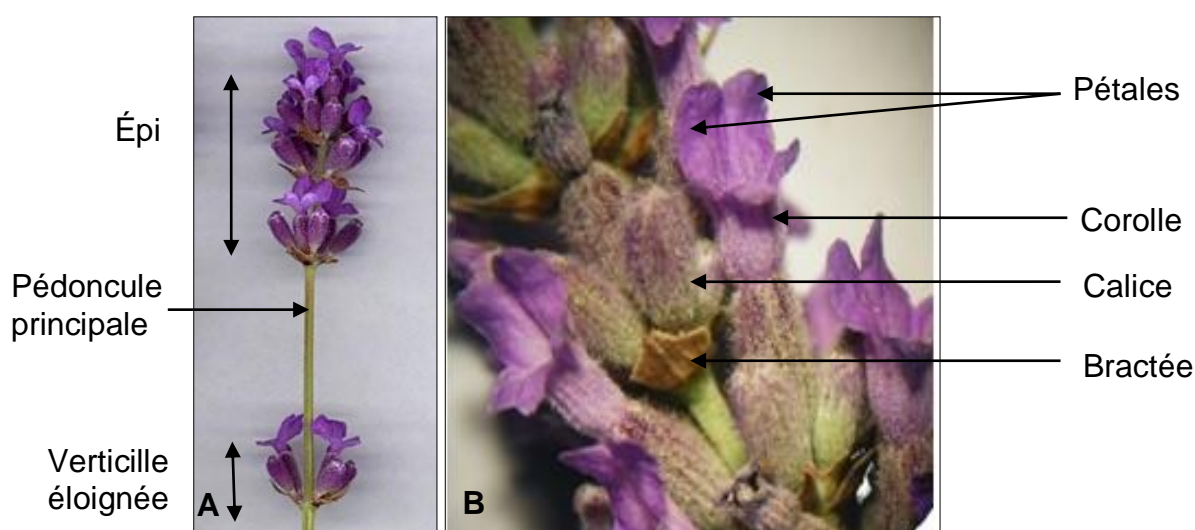


Figure 3.3 : Inflorescence en épi de *L. angustifolia* (A : Observation à l'œil nu, B : Observation à la loupe Gx 0,8).

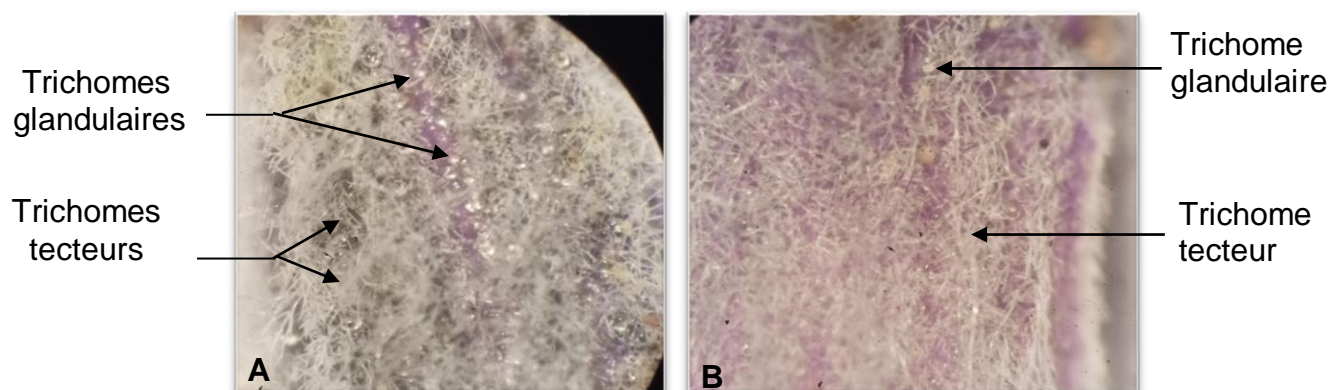


Figure 3.4 : (A) : Calice ; (B) : corolle de *L. angustifolia* à la loupe Gx 8.

B. *L. stoechas*

✓ La feuille

Les feuilles, prélevées de manière aléatoire, sont simples et de forme lancéolée. Elles mesurent environ 2,5 cm de long. Leur bordure est enroulée (figures 3.5). Sous la loupe binoculaire à un grossissement de 8x, nous observons un tapis de poils épidermiques, composé de trichomes tecteurs non glandulaires sur les deux faces de la feuille et de trichomes glandulaires visibles seulement la face dorsale (figure 3.6).



Figure 3.5: Vue d'une feuille de *L. stoechas* (Face dorsale et ventrale).

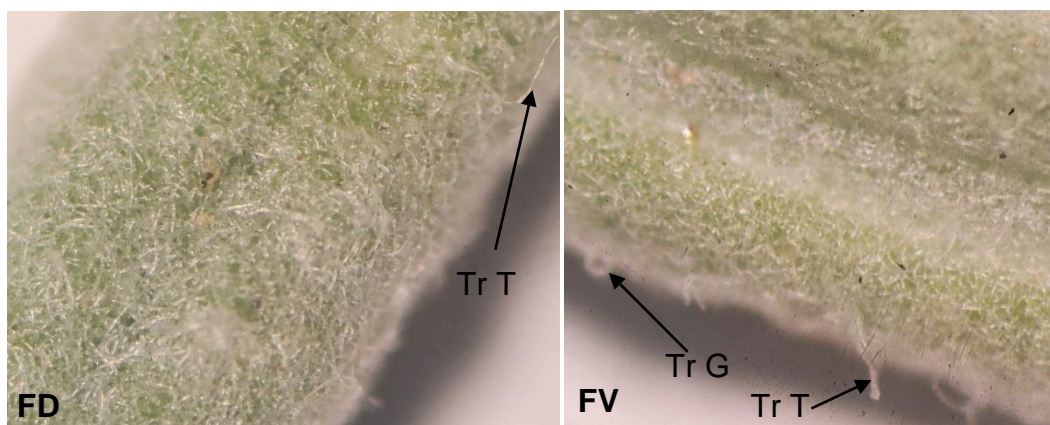


Figure 3.6 : Face dorsale et ventrale de la feuille de *L. stoechas* à la loupe binoculaire (Gx 8) (Trichome Tecteur (Tr T) ; Trichome glandulaire (Tr G) ; Face dorsale (FD) ; Face ventrale (FV)).

✓ Fleurs

Les fleurs sont regroupées en épis floraux au sommet des tiges. Elles sont petites, sessiles et de couleur violette. Elles sont surmontées de petites bractées stériles violacées. Chaque épi est composé de cymes bipares, comportant de 4 à 10 fleurs chacune (figure 3.7).

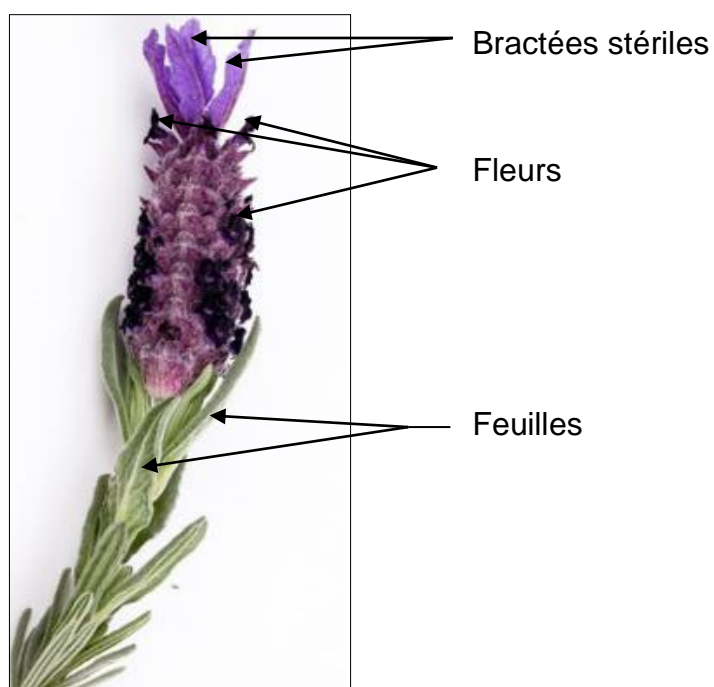


Figure 3.7 : Inflorescence en épi de *L. stoechas*.

Sur la figure 3.8 A, à la loupe à un grossissement de 2,5x, nous observons la corolle qui a une forme tubulaire allongée d'une teinte violette. Elle est constituée d'un ensemble de pétales soudés, formant une corolle gamopétale. À un grossissement plus élevé de 8x (figure 3.8 B), nous pouvons apprécier les détails de sa surface, elle est recouverte d'une multitude de trichomes, à la fois trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires. Ces trichomes confèrent à la corolle sa texture veloutée.

Nous distinguons également le calice, qui se présente sous la forme d'un petit tube ovoïde vert charnu, situé sous la corolle de la fleur. Sa surface semble légèrement pubescente (figure 3.8 C, Gx 4). À un grossissement de 8x, les détails du calice sont clairement visibles. Nous distinguons les deux types de trichomes, trichomes tecteurs non glandulaires et sécréteurs qui recouvrent la surface externe du calice, ainsi que les stries longitudinales formées par les sépales soudés qui composent le calice (figure 3.8 D).

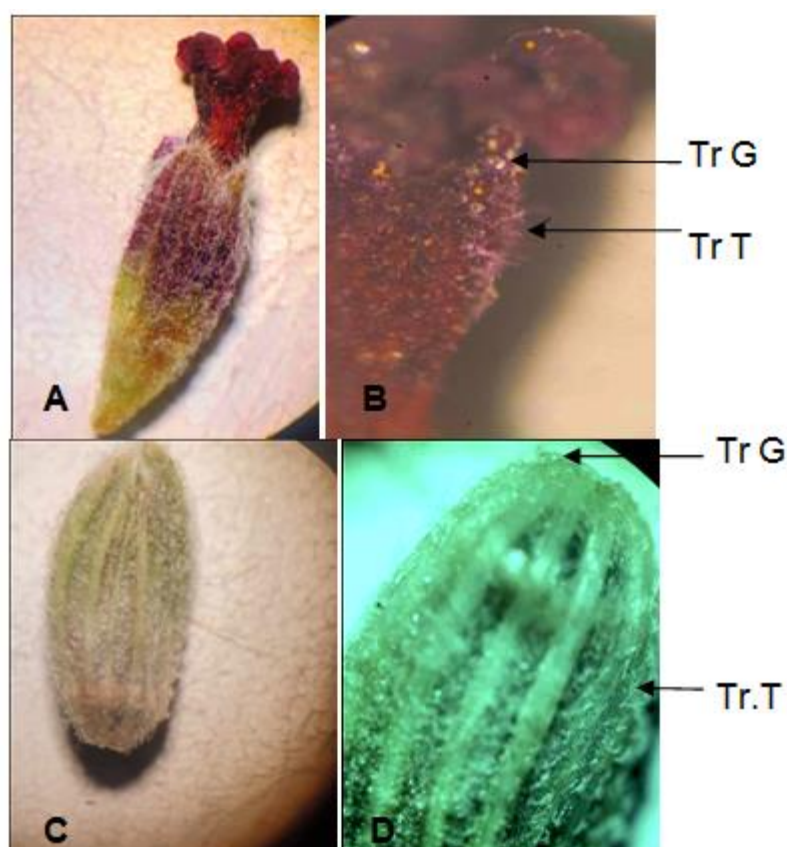


Figure 3.8: (A) Fleur hermaphrodite de *L. stoechas* (loupe binoculaire (Gx 2,5)) ;
 (B) Corolle pubescente de *L. angustifolia* (loupe Gx 8) ; (C) Calice de *L. angustifolia* (loupe Gx 4) ; (D) Calice (loupe Gx 8).
 (TrT : Trichome Tecteur ; Tr.G Trichome glandulaire).

3.1.2 Observation microscopique des sites sécréteurs

3.1.2.1 Observations microscopiques

Des observations microscopiques ont été effectuées à l'aide d'un microscope optique et un MEB.

3.1.2.1.1 Microscope optique

A. *L. angustifolia*

✓ Structure de La feuille

La coupe transversale au niveau de la feuille montre que cette dernière se compose des tissus suivants (figure 3.9 et figure 3.10) :

- La cuticule qui enveloppe et protège vers l'extérieur les cellules épidermiques,
- L'épiderme constitué par une assise de cellules dont certaines de ces cellules sont allongées vers l'extérieur pour donner des poils protecteurs ramifiés sous différentes formes trichomes tecteurs et des trichomes glandulaires peltés et capités courts,
- Un parenchyme palissadique constitué de cellules allongées formant une palissade et un parenchyme lacuneux laissant des lacunes entre les cellules,
- Une nervure principale qui renferme l'ensemble des éléments conducteurs, aussi bien ceux du méristème primaire que secondaire.

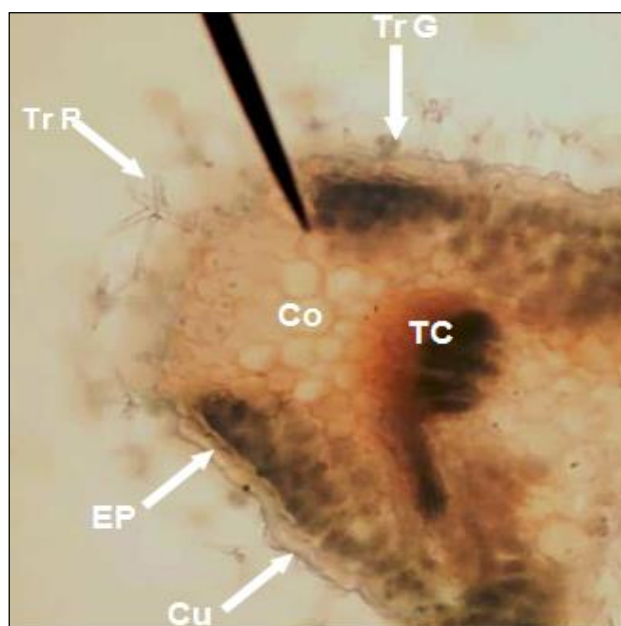


Figure 3.9 : Coupe transversale de la feuille de *L. angustifolia* vue au MO Gx 100 après double coloration.

((Trichome glandulaire (Tr G), trichome tecteur ramifié (Tr R), tissus conducteurs (TC), collenchyme (Co), cuticule (Cu), épiderme (Ep), bois (Bs), liber (Li)).

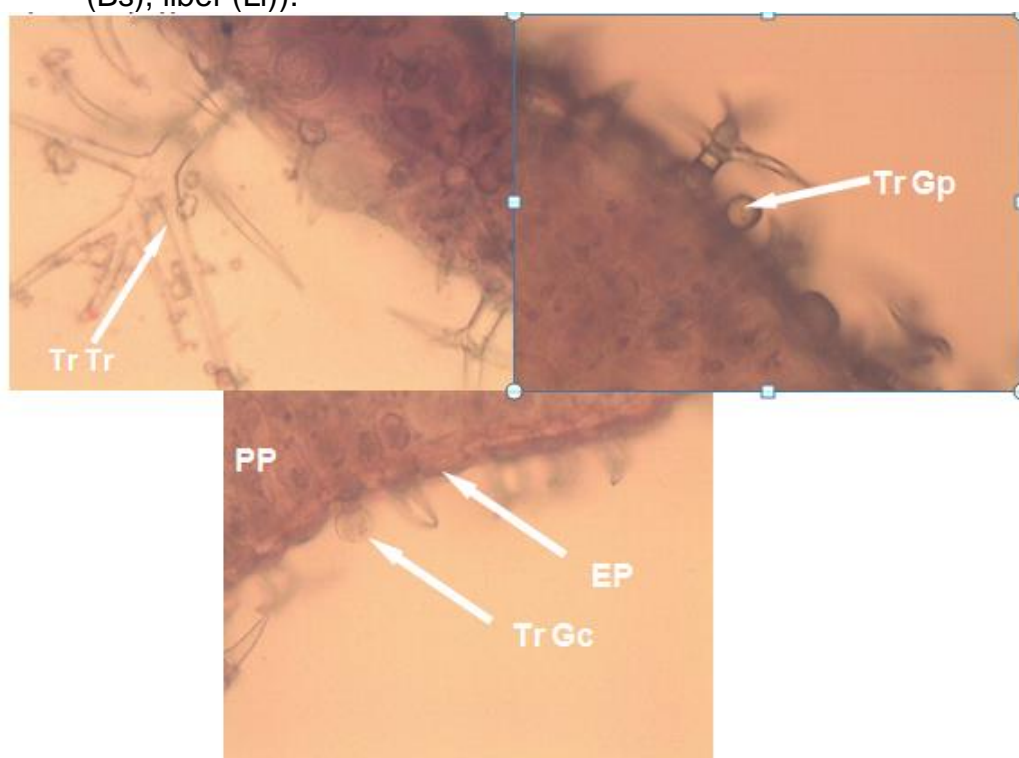


Figure 3.10: Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la feuille de *L. angustifolia* vus au MP Gx400 après double coloration (trichome glandulaire pelté (Tr Gp) ; trichome glandulaire capité (Tr Gc) ; trichome tecteur ramifié (Tr Tr) Parenchyme pallissadique (PP) ; Epiderme (EP).

✓ Structure de la tige

La tige de *L. angustifolia* présente une forme quadrangulaire typique de la famille des lamiaceae. Elle abrite les éléments conducteurs au niveau des 4 angles de la tige (figure 3.11). Les coupes transversales réalisées dans la tige ont montré les différents tissus qui la constituent. Ainsi, nous observons (figure 3.12) :

- La cuticule striée imprégnant vers l'extérieur les cellules épidermiques,
- Un épiderme constitué par une assise de cellules, Certaines de ces cellules sont allongées vers l'extérieur pour donner des trichomes tecteurs non glandulaires et des trichomes glandulaires glandulaires peltés (figure 3.13),
- suivie du collenchyme, qui est un tissu de soutien vivant. Les membranes des cellules présentent des épaississements de nature cellulosique. Il se présente sous forme d'îlot,
- Le sclérenchyme est un tissu de soutien mort. Les cellules du sclérenchyme présentent des membranes épaissies en lignine. Nous tenons à signaler que les cellules sont en voie de transformation en fibres, il se présente sous forme d'îlot,
- Le liber et le bois hétéroxylé, structures secondaires,
- Parenchyme cortical, les cellules présentent des méats entre elle.

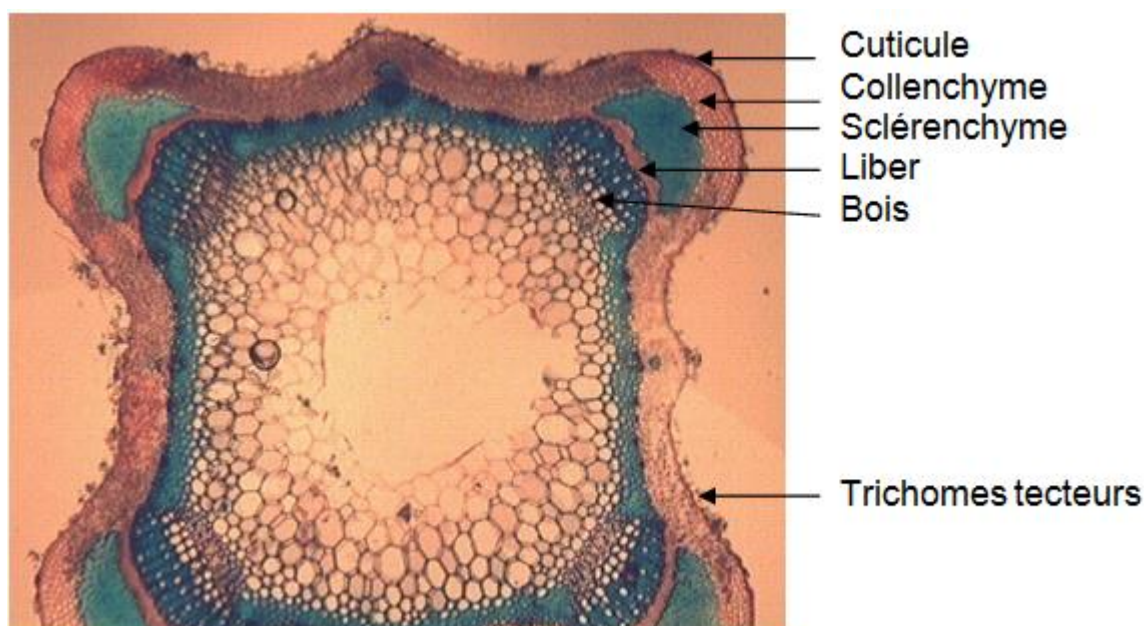


Figure 3.11 : Vue d'ensemble de la coupe transversale de la tige au MP Gx40 après double coloration.

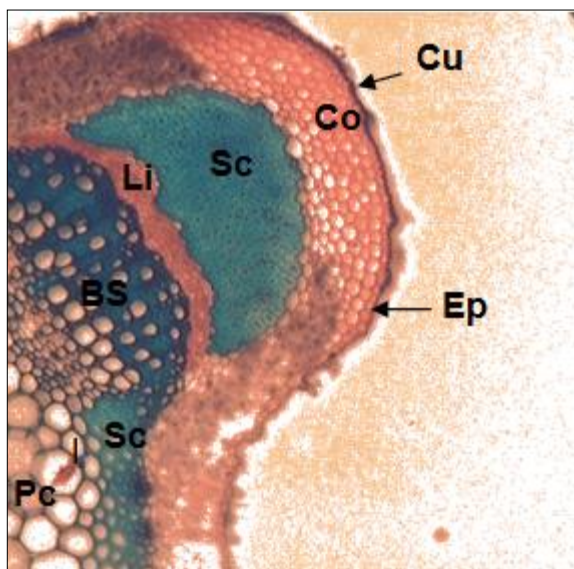


Figure 3.12 : Structure anatomique de la tige de *L. angustifolia* en coupe transversale montrant les vaisseaux conducteurs au MO Gx100 (Collenchyme (Co), cuticule (Cu), épiderme (Ep), sclérenchyme (Sc), liber (Li), parenchyme corticale (Pc),), bois (Bs)).

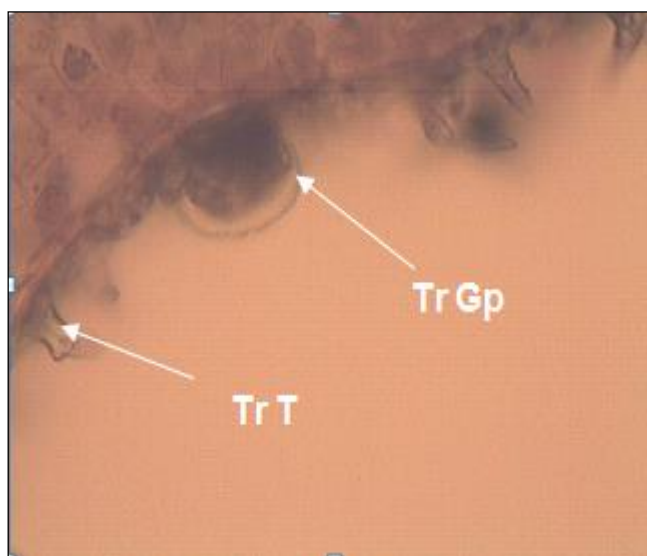


Figure 3.13: Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la tige de *L. angustifolia* Mill. vus au MO Gx40 après double coloration (trichome glandulaire pelté (Tr Gp) ; trichome tecteur (Tr T)).

En conclusion de ce travail, nous n'avons pas observés de structures sécrétrices à l'intérieur des organes végétaux entre les cellules.

B. *L. stoechas*

✓ Structure de feuille

Dans une coupe transversale de la feuille de *L. stoechas*, de l'extérieur vers l'intérieur on observe les tissus suivants.

- Un épiderme dorsal dont le bord externe des cellules est cutinisé,
- Un parenchyme palissadique constitué par deux assises de cellules allongées à dont les parois cellulaires sont fines,
- Un parenchyme lacuneux
- les parenchymes palissadique et lacuneux constituent le mésophylle hétérogène,
- , on distingue un bois secondaire suivi du liber secondaire (figure 3.14).

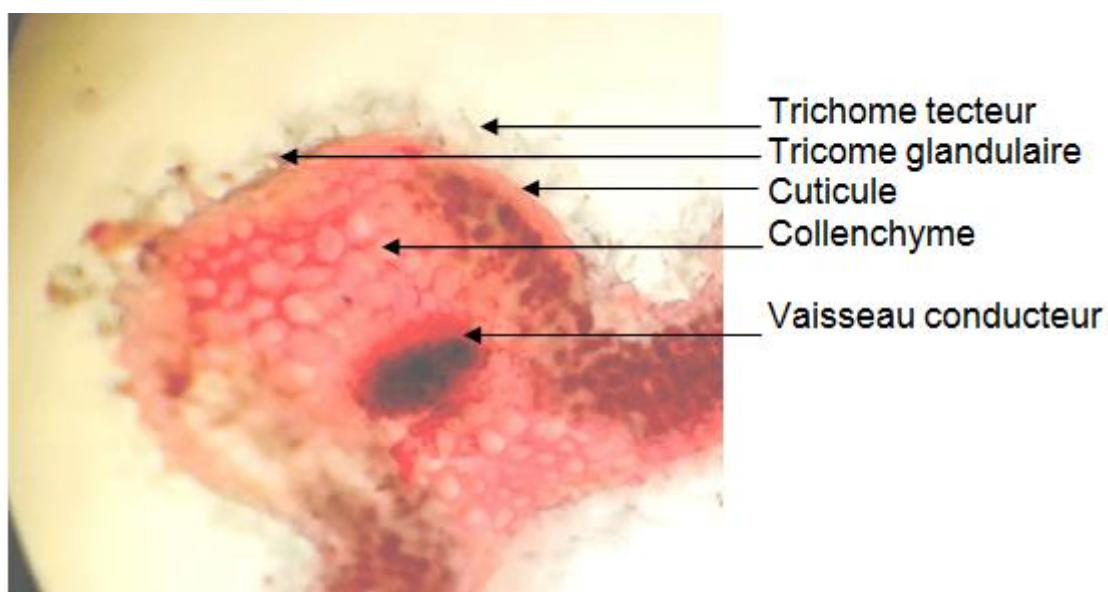


Figure 3.14 : Structure anatomique de la feuille de *L. stoechas* en coupe transversale après double coloration : vue générale de la nervure principale de la feuille au MP Gx 100.

La feuille est pourvue de trichomes glandulaires peltés et capités courts. Elle présente de nombreux trichomes tecteurs non glandulaires ramifiés (figure 3.15).

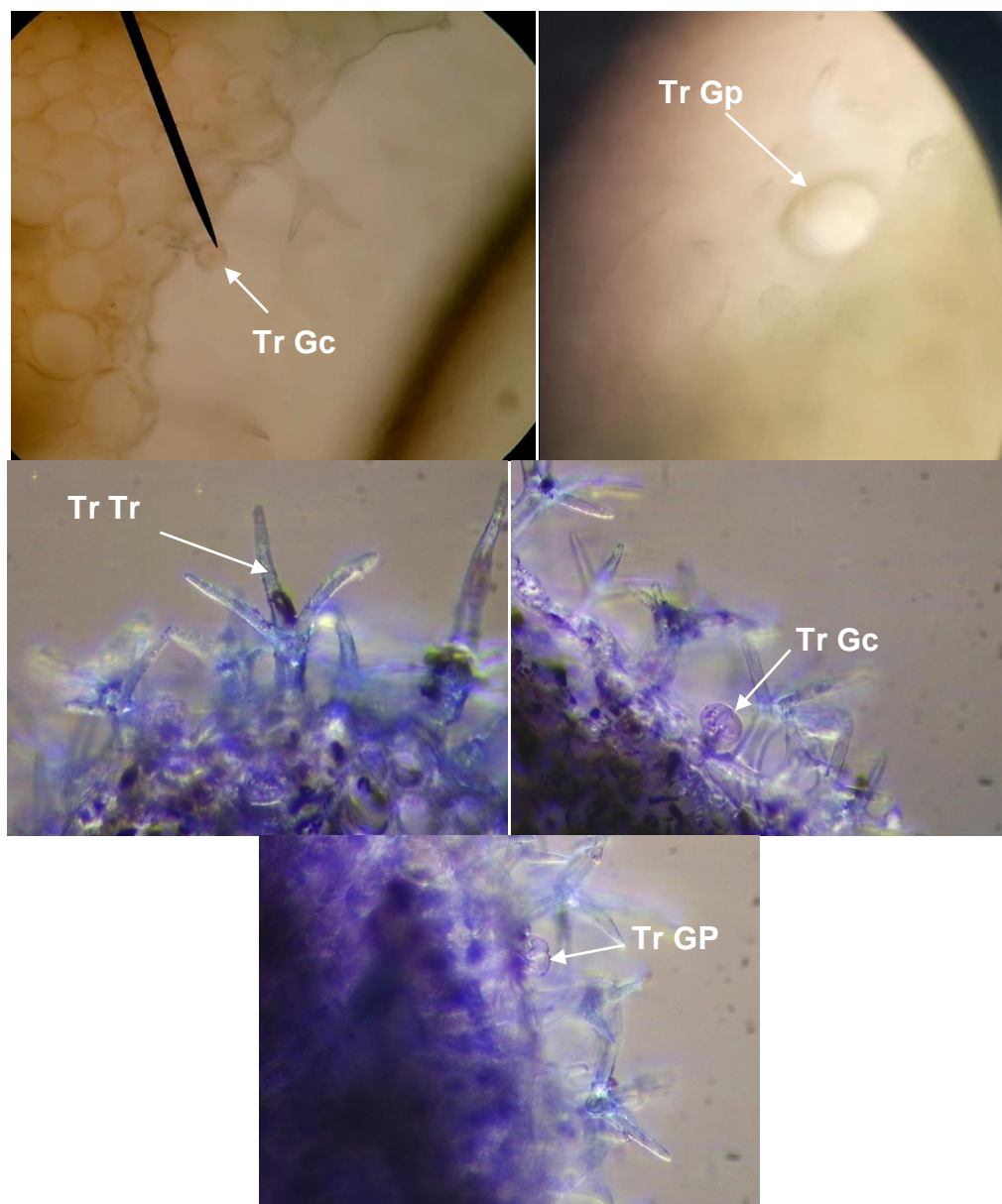


Figure 3.15 : Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la feuille de *L. stoechas* vus au MP Gx100 après double coloration.

(Trichome glandulaire pelté (Tr Gp) ; trichome glandulaire capité (Tr Gc) ; trichome tecteur ramifié (Tr Gr)).

A. Structure de la tige

Les coupes transversales réalisées au niveau de la tige montrent de l'extérieur vers l'intérieur (figure 3.16) :

- La cuticule striée qui imprègne les cellules épidermiques vers l'extérieur. Cet épiderme est caractérisé par la présence de diverses formes de trichomes, dans leur digitation. Parmi eux nous trouvons des trichomes

tecteurs non glandulaires ramifiés et pédicellés, ainsi que des trichomes glandulaires peltés et capités courts (figure 3.17).

- Suivie par un collenchyme angulaire et des fibres péricycliques qui forment un anneau continu.
- Le système vasculaire forme un anneau continu avec des formations secondaires bien représentées ; le liber et le bois.
- Le parenchyme cortical présente des cellules avec des méats entre elle.
- De plus, nous observons éventuellement entre les cellules du collenchyme des poches sécrétrices.

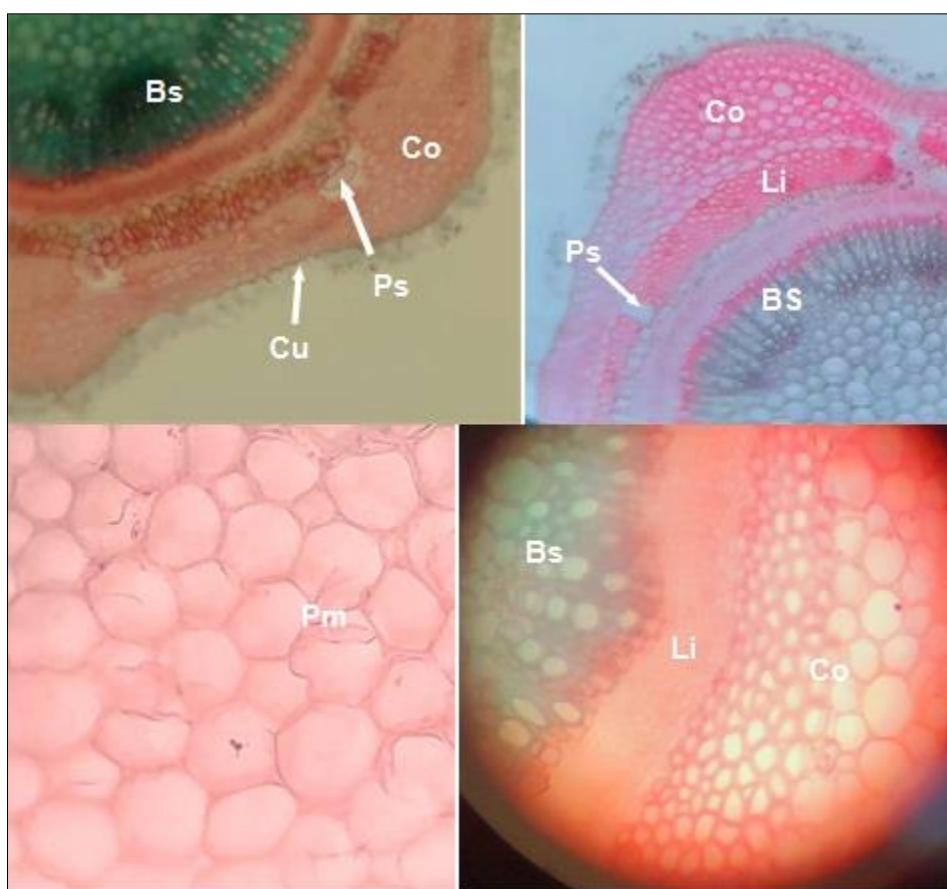


Figure 3.16 : Structure anatomique de la tige de *L. stoechas* en coupe transversale : (a,b) Vue générale de la tige (Gx 100); (b) parenchyme médullaire (Gx 400); (c) détails d'une partie de la tige (Gx 400).

(Collenchyme (Co), cuticule (Cu), épiderme (Ep), Liber (Li), parenchyme médullaire (Pm), bois (Bs)).

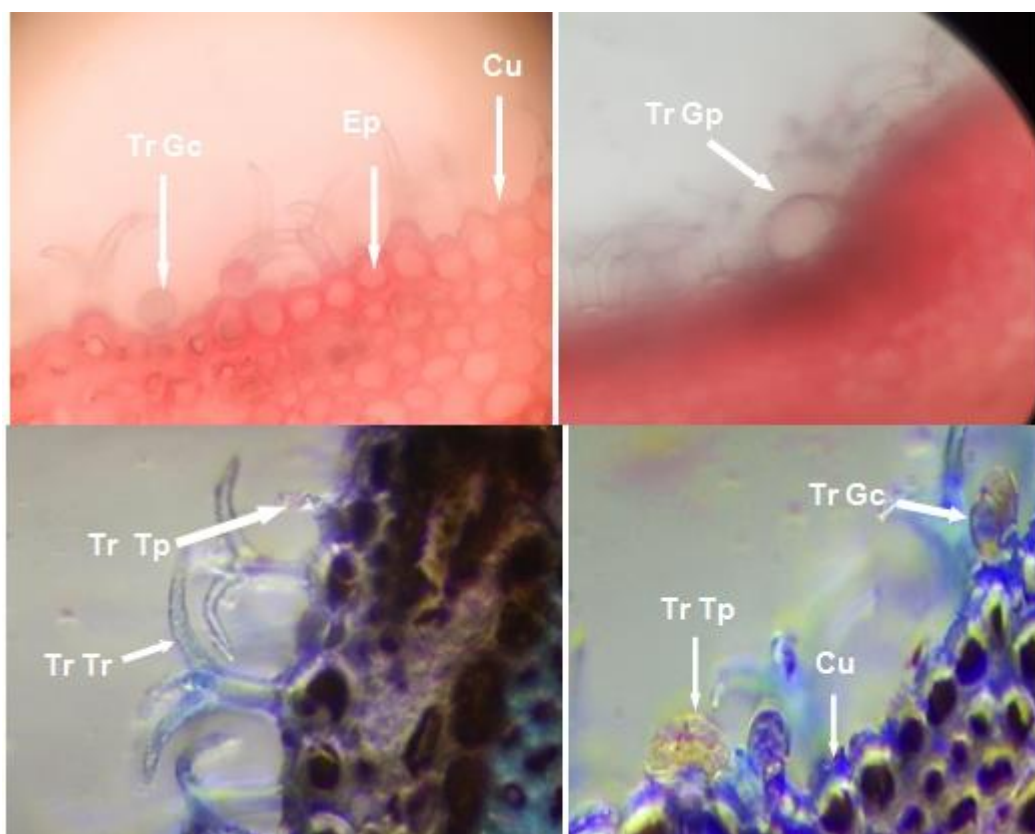


Figure 3.17: Trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires de la tige de *L. stoechas* vus au MP Gx400 après double coloration (trichome glandulaire pelté (Tr Tp), trichome glandulaire capité (Tr Tc), trichome tecteur ramifié (Tr Tr), trichome tecteur pédicellé (Tr Tp), cuticule (Cu), épiderme (Ep)).

À partir de ce modeste travail nous pouvons dire que les feuilles et les tiges de *L. stoechas* et *L. angustifolia* présentent des structures sécrétrices qui se présentent sous formes de trichomes glandulaires, peltés et des capités courts (sur pédicelle). Bien que les trichomes glandulaires soient présents sur les feuilles et les tiges, les trichomes tecteurs non glandulaires sont plus abondants. Ces poils ramifiés ne produisent pas d'HE. Ils jouent un rôle protecteur. La présence de trichomes tecteurs non glandulaires plus ou moins denses et longs constitue un caractère systématique interspécifique. Chez *L. angustifolia* ces trichomes tecteurs non glandulaires portent plusieurs branches [27].

Les trichomes glandulaires sont l'une des structures sécrétrices les plus courantes produisant et stockant des HEs dans les plantes [200], [201]. Malgré

leur importance, leurs rôles physiologiques détaillés ainsi que les bases génétiques du développement restent obscurs, probablement en raison de la faible abondance de cellules sécrétoires au sein de ces trichomes [202].

Le développement et la distribution des trichomes glandulaires dans la lavande ont été abordés dans des travaux antérieurs par AGUSTIN et *al.*, [203] et ZHANG et *al.*, [204]. Deux types morphologiques de trichomes glandulaires, capités et peltés, ont été définis. D'autres rapports publiés sur la variation et la distribution des trichomes glandulaires sous l'effet de stimuli environnementaux, comme la température [205] et d'autres facteurs abiotiques [206], [207] montrent les divers rôles des trichomes glandulaires dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes.

En conclusion, en plus des caractéristiques morphologiques, les caractéristiques anatomiques peuvent aider à reconnaître les taxons de lavande ciblés. Les résultats des études histo-anatomiques indiquent que les structures des principaux organes du genre *Lavandula* ont un plan typique pour la famille des Lamiaceae, néanmoins les taxons individuels de lavande peuvent différer par leurs caractéristiques micromorphologiques [208]. STEFAN et *al.*, [209], ont comparé la structure anatomique des feuilles et des tiges pour les cultivars de *L.-angustifolia* et de *Lavandula x intermedia*. Au niveau de la tige, ils ont remarqué que *L. angustifolia* peut être distinguée par sa section transversale de tige circulaire ; tandis que *Lavandula x intermedia* ont une section transversale de tige carrée. En termes de structure foliaire, les chercheurs ont observé la différence entre la morphologie, la densité et le type de trichomes. La densité de trichomes glandulaires est beaucoup plus importante au niveau du calice de la fleur même si les trichomes glandulaires sont aussi présents sur les feuilles [210]. STEFAN et *al.*, [209], ont observé l'absence de trichomes peltés au niveau de l'épiderme dorsale des feuilles de *Lavandula x intermedia*, les distinguant ainsi de *L. angustifolia*.

3.1.2.2 Microscope électronique à balayage

Le MEB a été employée pour examiner la structure, la forme et la répartition des trichomes glandulaires sur les organes aériens de *L. angustifolia* et *L. stoechas*. Pour *L. angustifolia*, les observations ont porté sur les fleurs, tandis que pour *L. stoechas*, elles ont inclus les fleurs, les feuilles et les tiges.

Ces observations nous ont permis de mettre en évidence des sites sécréteurs bien définis sur les organes aériens sélectionnés.

3.1.2.3 Sites sécréteurs des fleurs de *L. angustifolia*

A. Région de Blida

L'observation du calice des fleurs de *L. angustifolia* récoltées dans la région de Blida révèle une morphologie trichomale complexe et diversifiée. La figure 3.18 présente une vue de face du calice, montrant une dense couverture de trichomes non glandulaires tecteurs, longs et fins, qui forment une barrière protectrice. Parmi ces derniers, nous observons des trichomes glandulaires peltés unicellulaires, apparaissant comme des structures circulaires plus claires. Cette figure met en évidence leur disposition caractéristique sur le calice avec leur structure ronde.

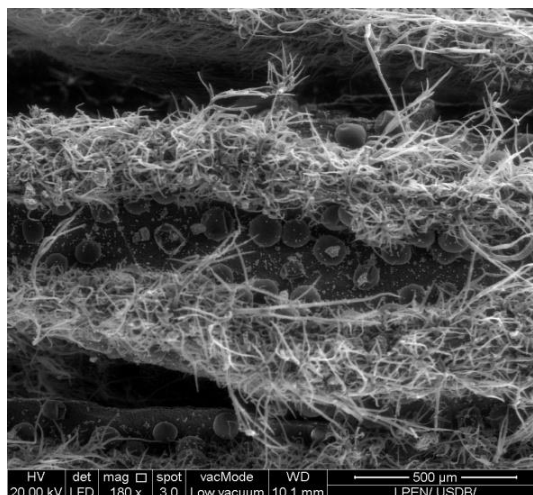


Figure 3.18 : Micrographies électroniques à balayage d'une partie du calice des fleurs de *L. angustifolia* récoltée dans la région de Blida (500 µm).

Les figures 3.19 A et B permettent d'observer en détail la structure de ces trichomes glandulaires peltés unicellulaires, tout en appréciant la hauteur relative

des trichomes non glandulaires et la distribution spatiale des trichomes glandulaires. Ces derniers sont protégés par un enchevêtrement de trichomes tecteurs non glandulaires. Les mesures effectuées révèlent que les trichomes glandulaires peltés unicellulaires présentent un diamètre des têtes qui varie de 75 à 96 μm .

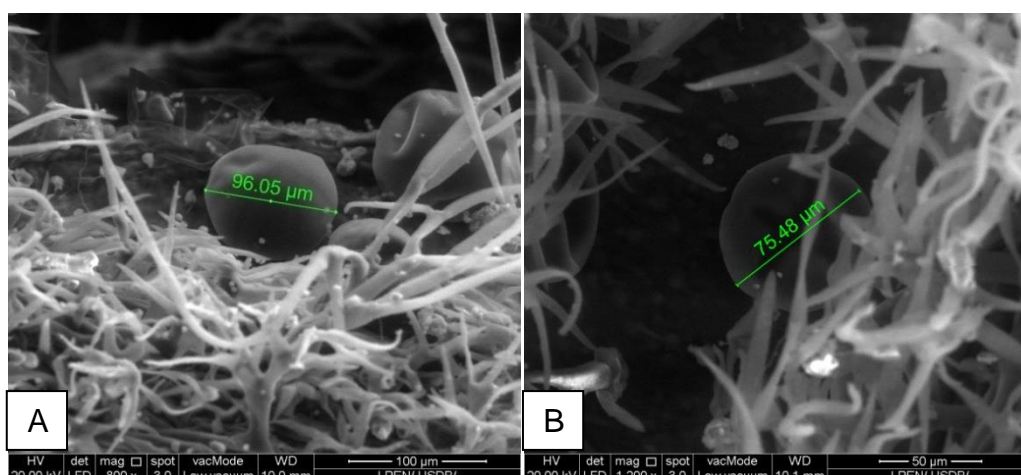


Figure 3.19 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes tecteurs non glandulaires et glandulaires à la surface du calice des fleurs de *L. angustifolia* de Blida (A : trichome pelté (100 μm) ; B : trichome pelté (50 μm)).

B. Région de Chlef

La figure 3.20 présente une vue de face d'une partie du calice d'une fleur de *L. angustifolia* (Chlef) obtenue par le MEB. Elle révèle une distribution caractéristique des trichomes tecteurs non glandulaires, parmi lesquels nous distinguons clairement les trichomes glandulaires.

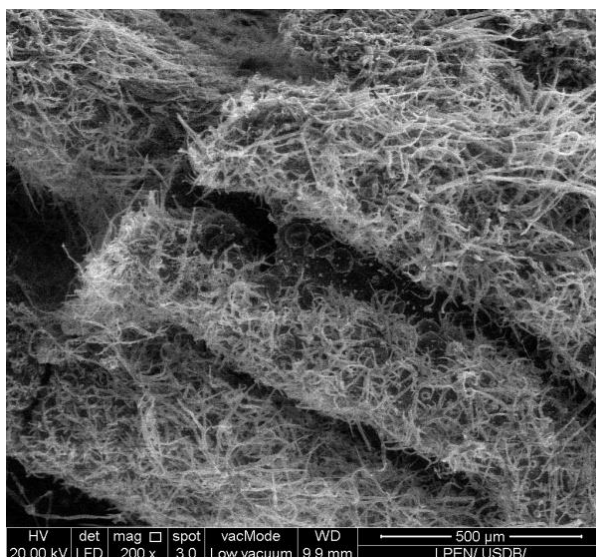


Figure 3.20 : Micrographies électroniques à balayage d'une partie du calice des fleurs de *L. angustifolia* de Chlef (500 µm).

En examinant la figure 3.21 A, nous observons en détail la structure des trichomes glandulaires peltés unicellulaires. Nous avons mesuré la tête de ces trichomes et avons constaté que leur taille varie entre 56 et 69 µm. La figure 3.21 B nous permet d'apprécier l'enchevêtrement complexe des trichomes tecteurs non glandulaires, qui forment une couverture protectrice dense sur la surface du calice. Nous remarquons que ces trichomes s'entrecroisent de manière désordonnée, allant jusqu'à recouvrir partiellement les trichomes peltés. La densité exceptionnelle de ces trichomes tecteurs non glandulaires nous empêche de visualiser clairement la surface épidermique sous-jacente, soulignant ainsi leur rôle protecteur important pour les sites sécréteurs.

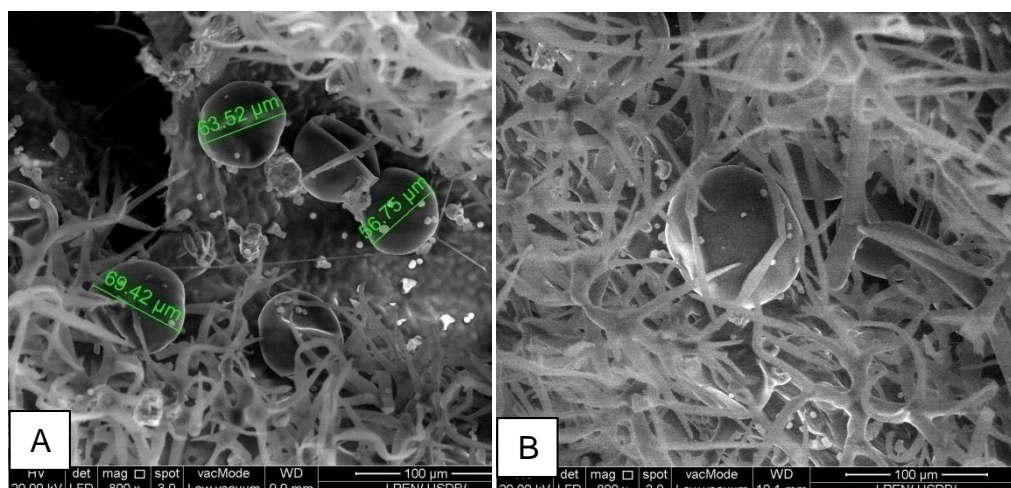


Figure 3.21 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires à la surface du calice des fleurs de *L. angustifolia* de Chlef (A - trichome pelté (100 μm) ; enchevêtrement des trichomes tecteurs non glandulaires (100 μm)).

Les observations au MEB des trichomes peltés du calice des fleurs de *L. angustifolia* récoltées à Blida ont un diamètre supérieur à celui observé sur la face du calice des fleurs de *L. angustifolia* récoltées à Chlef. Nous avons remarqué aussi que la répartition spatiale des trichomes glandulaires est plus importante sur le calice de *L. angustifolia* de Chlef en comparaison à celui de *L. angustifolia* de Blida (figure 3.19 et 3.21).

Les fleurs de *L. angustifolia* provenant de Blida et de Chlef ont été comparées à l'aide d'un test ANOVA pour évaluer la différence dans le diamètre des têtes des trichomes glandulaires. La valeur p obtenue est de 0,084. Cette valeur étant supérieure à 0,05, la différence n'est pas statistiquement significative. Cela suggère qu'il n'y a pas de différence significative dans le diamètre des têtes des trichomes glandulaires des fleurs de *L. angustifolia* des échantillons récoltés à Blida et ceux récoltés à Chlef (Appendice D).

3.1.2.4 fleurs de *L. stoechas*

A. Région de Blida

La figure 3.22 représente les constituants de la fleur de *L. stoechas* récoltées dans la région de Blida observées au MEB. La figure 3.22 A a montré une vue du calice floral, où nous observons une distribution dense de trichomes

tecteurs non glandulaires, formant une couverture protectrice. La figure 3.22 B montre une partie de la corolle, qui apparaît moins riche en trichomes, soulignant la variabilité de la distribution trichomale selon les constituants de la fleur.

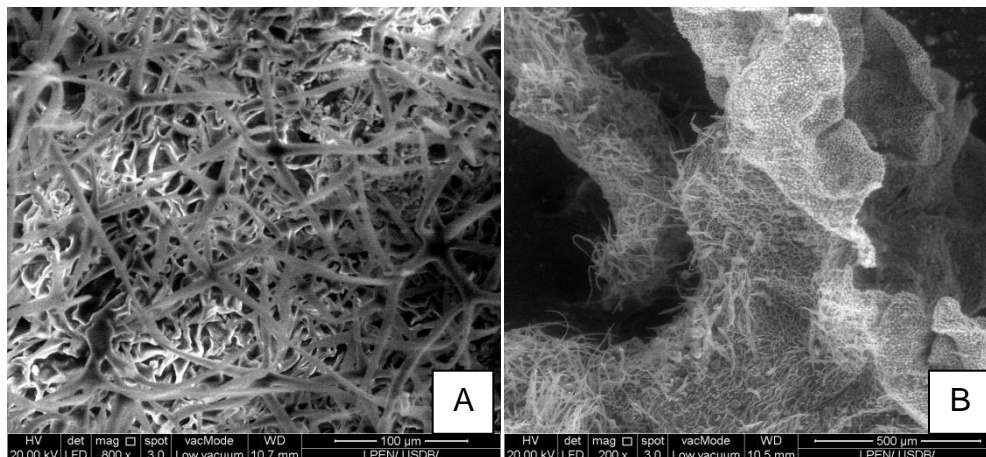


Figure 3.22 : Micrographies électroniques à balayage du calice et de la corolle de la fleur de *L. stoechas* de Blida (A - Calice (100 µm) ; corolle (500 µm)).

La figure 3.23 montre un grossissement intéressant qui met en évidence les trichomes glandulaires peleté. Ces structures, dont les diamètres des têtes varient de 27 à 28 µm, présentent une tête glandulaire caractéristique. En effet, au dessus de cette tête glandulaire apparaissent de grosses gouttes qui à notre avis représentent éventuellement une excrétion de l'HE. Ces observations nous permettent éventuellement de comprendre les mécanismes de production des HE chez *L. stoechas* au niveau des fleurs.

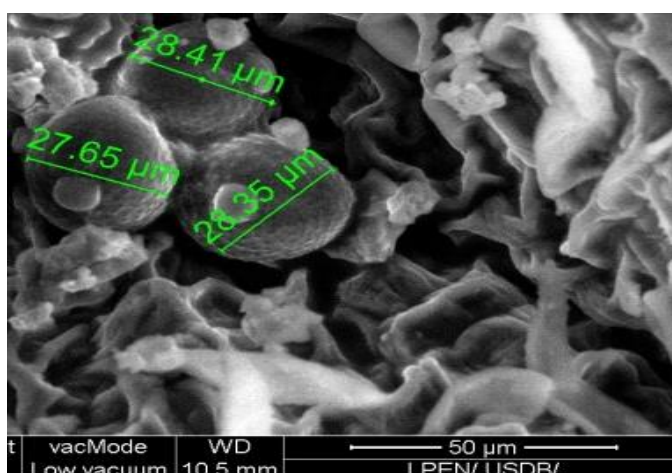


Figure 3.23 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires à la surface du calice *L. stoechas* de Blida (50 µm).

B. Région de Tissemsilt

L'observation par MEB des fleurs de *L. stoechas* récoltées dans la région de Tissemsilt révèle une grande densité des trichomes. La figure 3.24 montre une vue de face d'une fleur individuelle de *L. stoechas*, mettant en évidence sa structure complexe et la distribution des trichomes tecteurs non glandulaires. Le calice, particulièrement riche en trichomes tecteurs non glandulaires, présente une densité élevée en trichomes qui forment une couverture protectrice, donnant au calice un aspect duveteux et enchevêtré. En revanche, la corolle montre une densité de trichomes tecteurs non glandulaires nettement inférieure à celle du calice, ce qui est typique de la structure florale de *L. stoechas*. Cette variation de densité des trichomes tecteurs non glandulaires entre le calice et la corolle est remarquable, soulignant la spécialisation fonctionnelle des différents constituants de la fleur.

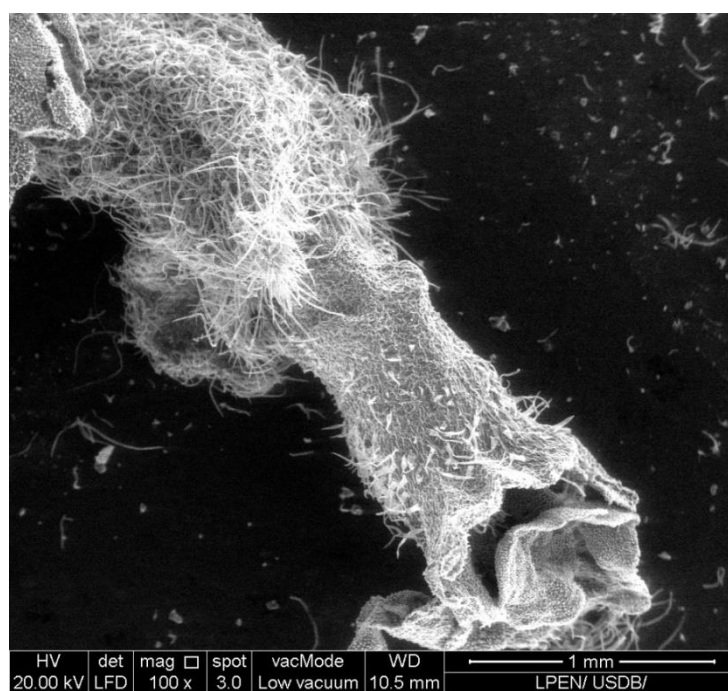


Figure 3.24 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires à surface des fleurs de *L. stoechas* à de Tissemsilt (1mm).

La figure 3.25 A offre un grossissement intéressant sur le trichome glandulaire avec un diamètre de la tête glandulaire de 47,46 μm . La figure 3.25 B montre la distribution des trichomes tecteurs non glandulaires sur le calice. Ils sont longs, ramifiés, fins et filamenteux.

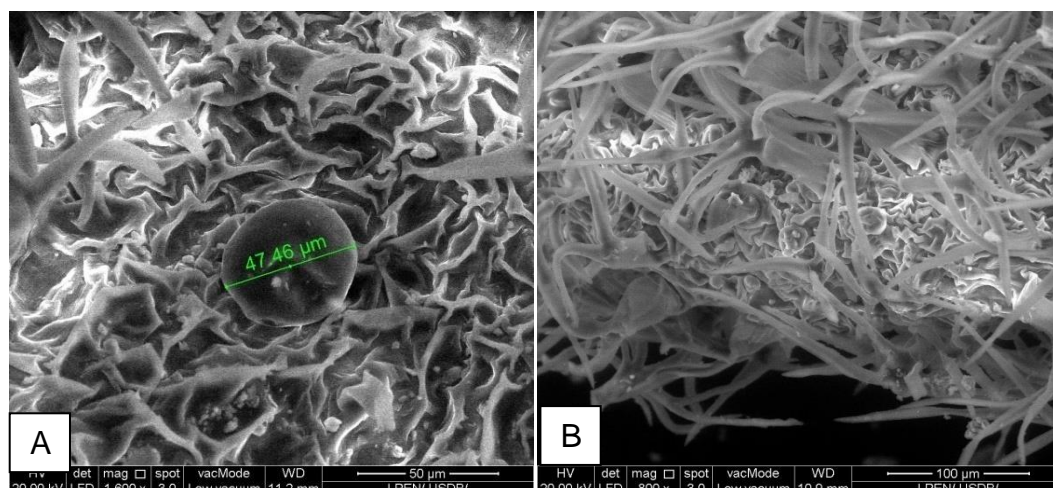


Figure 3.25 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface du calice *L. stoechas* de Tissemsilt (50 et 100 µm).

Les observations au MEB des trichomes peltés du calice des fleurs de *L. stoechas* récoltées à Tissemsilt ont des diamètres supérieurs à ceux observés sur le calice des fleurs de *L. stoechas* récoltées à Blida.

Les fleurs de *L. stoechas* provenant de Blida et de Tissemsilt ont été comparées à l'aide d'un test ANOVA pour évaluer la différence dans le diamètre des têtes des trichomes. La valeur $p < 0,001$ ($p = 0,00038$). La différence est statistiquement très significative. Cela indique une variation importante dans le diamètre des têtes des trichomes du calice des fleurs de *L. stoechas* récoltées dans la région de Blida et celle de Tissemsilt (Appendice D).

Les Lamiaceae se distinguent par une grande variété de trichomes glandulaires. Ces structures microscopiques diffèrent entre les espèces par leur type, leur répartition sur la plante, leur forme et leur densité. Ces structures représentent des critères de classification important [211].

Nos observations des trichomes sur le calice des fleurs de *L. angustifolia* ont révélé une structure similaire à celle des trichomes glandulaires décrits dans les observations sur le calice des fleurs de la même espèce de *L. angustifolia* récoltée en Italie. Les auteurs ont principalement observé des trichomes peltés, mesurant de 50 à 70 µm de diamètre avec une surface lisse, alignés le long des nervures du calice. Ces trichomes glandulaires étaient entremêlés avec des

trichomes capités, moins visibles et souvent cachés par un réseau dense de trichomes non glandulaires ramifiés [113]. Les résultats d'une autre étude ont montré que sur le calice les trichomes non glandulaires sont multicellulaires et ramifiés, tandis que les trichomes glandulaires sont peltés et capités à pédoncule court [212].

Dans une étude antérieure, le cultivar croate *Lavandula* × *intermedia* 'Budrovka' a été comparé à *L. angustifolia*, en examinant leur morphologie, les types et la répartition des trichomes. Les caractéristiques morphologiques différencient nettement *L. × intermedia* 'Budrovka' de *L. angustifolia*. Trois classes distinctes de trichomes (non glandulaires, peltés et quatre types de glandulaires capités Types I, II, III et IV) ont été observées sur les feuilles et les inflorescences des deux taxons. Bien que les trichomes montrent des différences spécifiques selon l'organe en termes d'occurrence et de densité, aucune différence spécifique aux taxons n'a été relevée [213].

D'autres observations concernant *L. stoechas* subsp. *luisieri* montrent une variété de trichomes sur ses différents organes. Les feuilles sont couvertes de trichomes non glandulaires courts à cellules unicellulaires et bicellulaires, ainsi que de trichomes pluricellulaires ramifiés de type étoilé. Des trichomes glandulaires peltés et capités de types I et II sont observés. Les bractées fertiles et les sépales portent des trichomes étoilés non glandulaires, ainsi que les mêmes types de trichomes glandulaires que les feuilles. En revanche, les pétales présentent une diversité plus restreinte avec des trichomes non glandulaires unicellulaires et pluricellulaires non ramifiés, et exclusivement des trichomes glandulaires peltés [214].

Dans une étude menée par LOUKHAOUKHA [92], les observations des fleurs de *L. stoechas* récoltées à Blida ont montré que les trichomes peltés étaient moins abondants que les trichomes capités courts. Ils présentaient une tête arrondie, leurs tailles variaient entre 19 µm et 23 µm de diamètre.

Les tests histochimiques ont révélé que les trichomes glandulaires sécrètent principalement des substances lipophiles et phénoliques. De plus, des profils comparatifs de chromatographie sur couche mince ont été établis pour les

parties individuelles des plantes des deux taxons *Lavandula x intermedia* 'Budrovka' et *L. angustifolia*. Ils ont mis en évidence la présence de flavonoïdes et de composants d'HE [213].

La morphologie et la densité des trichomes influencent plusieurs aspects de la physiologie et de l'écologie des plantes en régulant les interactions entre la plante et son environnement [116]. Les trichomes glandulaires ont diverses fonctions protectrices en synthétisant, stockant et sécrétant de nombreuses substances importantes. Chez de nombreuses espèces, il existe une corrélation négative entre la densité des trichomes et l'alimentation, la ponte des insectes, ainsi que la nutrition des larves. Les trichomes pourraient exsuder des terpènes, des phénols, des alcaloïdes ou d'autres substances qui sont des répulsifs olfactifs ou gustatifs [215]. Outre leur rôle dans la protection des plantes contre les stress biotiques et abiotiques, ils suscitent l'intérêt en raison de l'importance des composés qu'ils produisent pour l'usage humain, en tant que produits pharmaceutiques, ingrédients de saveur et de parfum, ou pesticides. En effet, l'intérêt pour les trichomes glandulaires a augmenté régulièrement au fil des ans, surtout depuis que les technologies de séquençage permettent un accès rapide à des informations complètes sur le génome et le transcriptome d'espèces autrefois considérées comme non modèles. La diversité des métabolites synthétisés dans les trichomes glandulaires garantit que ces trichomes resteront une source constante de nouvelles enzymes impliquées dans les voies métaboliques spécialisées [216].

3.1.2.5 Feuilles de *L. stoechas*

A. Région de Blida

La figure 3.26 montre que la face ventrale de la feuille de *L. stoechas* récoltée dans la région de Blida, présente une distribution dense de trichomes tecteurs non glandulaires formant une couverture protectrice. Nous notons également la présence de trichomes glandulaires sécréteurs, bien que ceux-ci soient moins nombreux.

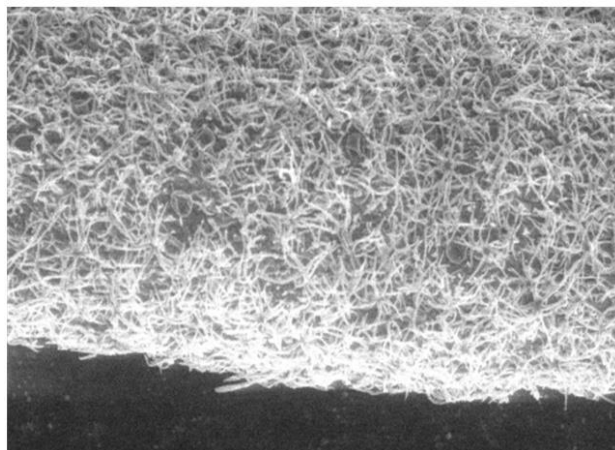


Figure 3.26 : Micrographies électroniques à balayage de la face dorsale de la feuille *L. stoechas* de Blida (500 μm).

Dans la figure 3.27, nous observons des trichomes glandulaires sécréteurs. Les figures 3.27 A et B présentent des trichomes glandulaires capités courts bien définis, avec des diamètres de 54,16 μm et 55,87 μm . La figure 3. 27 C montre un trichome glandulaire sécréteur avec un diamètre de 44,13 μm . Les trichomes tecteurs non glandulaires sont longs, fins, ramifiés et filamenteux, formant un réseau complexe qui recouvre presque entièrement la surface. Ces trichomes tecteurs non glandulaires s'entrecroisent de manière désordonnée, créant une couverture protectrice dense. Certains de ces trichomes tecteurs non glandulaires passent au-dessus du trichome capité pour mieux les protéger. Leur densité est remarquablement élevée.

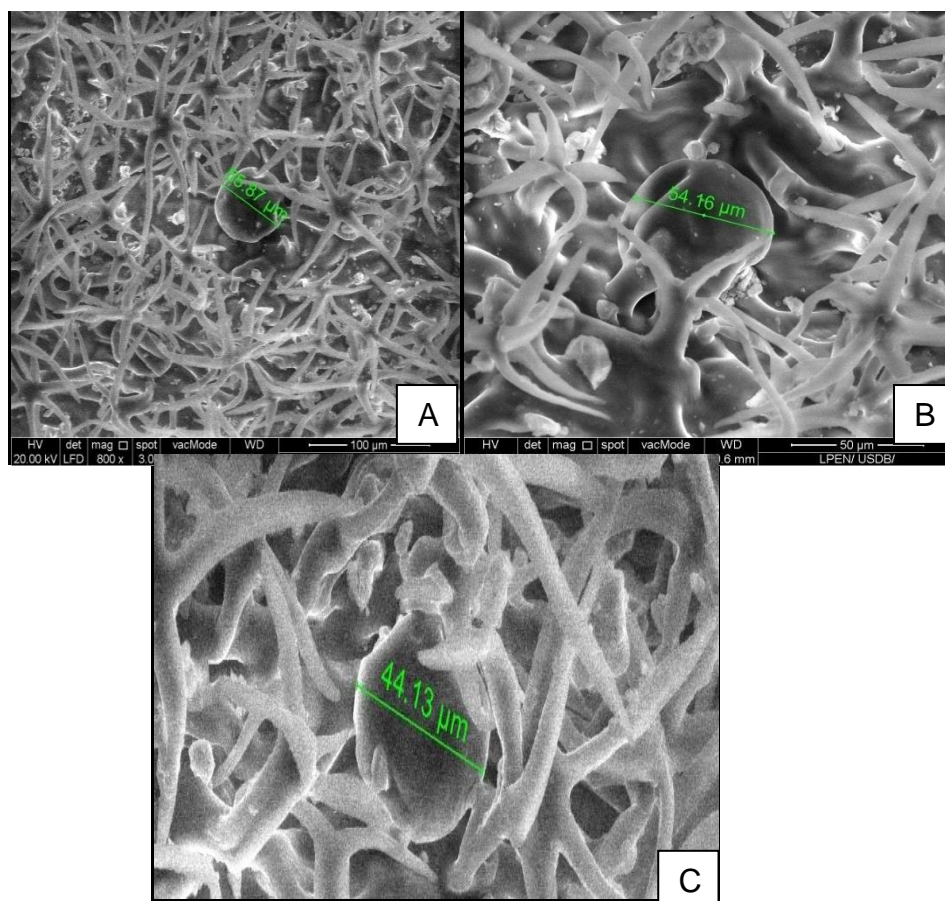


Figure 3.27 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la feuille de *L. stoechas* de Blida (50 et 100 µm).

B. Région de Tissemsilt

L'observation de la face ventrale de la feuille de *L. stoechas* de Tissemsilt, montre la présence de trichomes tecteurs non glandulaires (figure 3. 28)

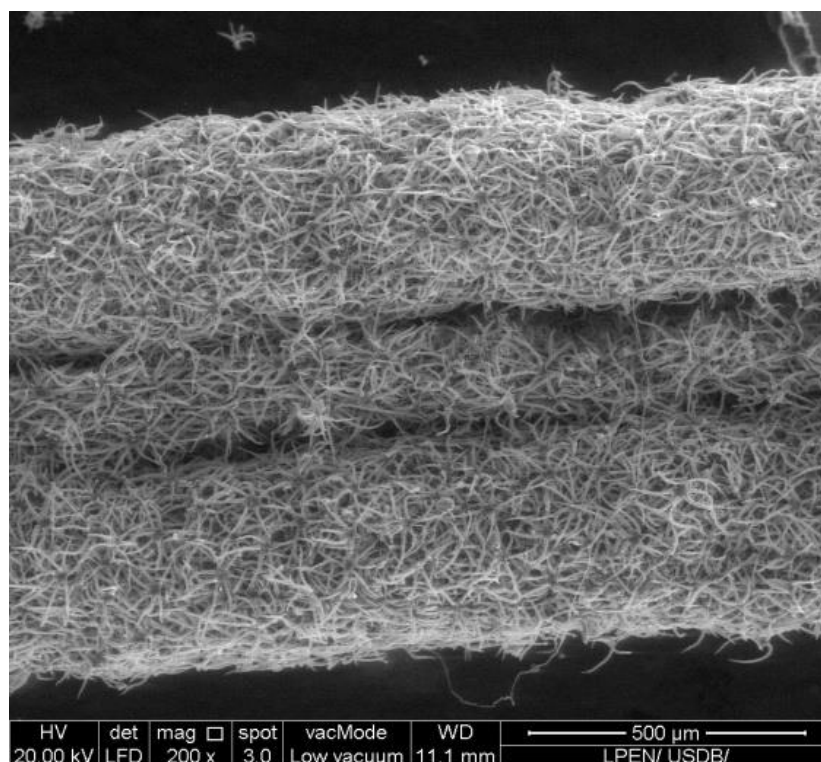


Figure 3.28 : Micrographies électroniques à balayage à la face ventrale de la feuille *L. stoechas* de Tissemsilt (500 µm).

En examinant la figure 3.29, nous pouvons voir en détail la structure du trichome glandulaire, dont la taille de la tête est de 22,44 µm. Elle montre aussi l'enchevêtrement complexe et dense des trichomes tecteurs non glandulaires, créant ainsi une couverture protectrice à la surface de la feuille.

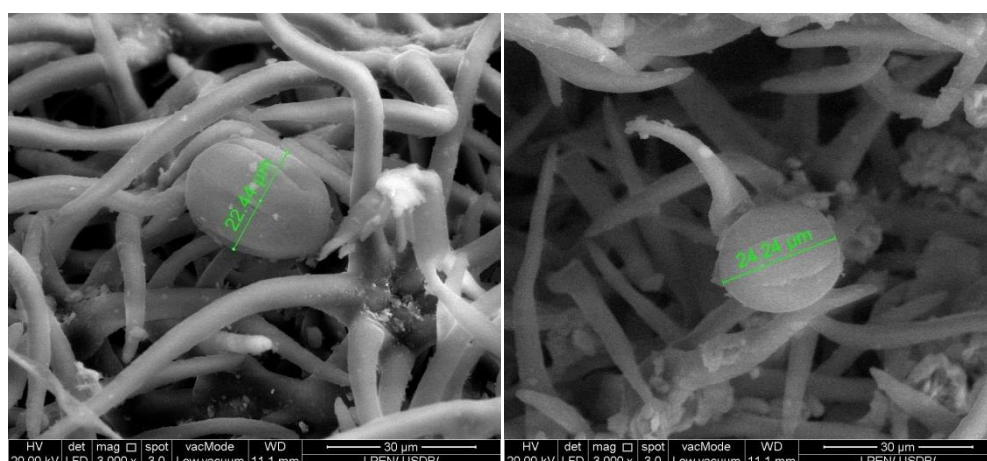


Figure 3.29 : Micrographies électroniques à balayage du trichome glandulaire et des trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la feuille de *L. stoechas* de Tissemsilt (30 µm).

Les observations des trichomes peltés et capités courts de la face ventrale de la feuille de *L. stoechas* récoltées à Tissemsilt ont des diamètres inférieurs à ceux observés à la face de face ventrale de la feuille de *L. stoechas* récoltées à Blida.

Les feuilles de *L. stoechas* provenant de Blida et Tissemsilt ont été étudiées pour mesurer la variation dans le diamètre des têtes des trichomes glandulaires. Le test ANOVA a révélé une valeur p de 1,613e-06. Étant <0,00001, cette valeur indique une différence extrêmement significative. Cela signifie qu'il existe une variation très significative entre les diamètres des têtes des trichomes des feuilles de *L. stoechas* des échantillons récoltés à Blida par rapport à ceux récoltés à Tissemsilt (Appendice D).

3.1.2.6 tiges de *L. stoechas*

A. Région de Blida

Dans la figure 3.30, la tige vue de face de *L. stoechas* récoltée dans la région de Blida montre la répartition des trichomes qui entourent l'ensemble de la tige. Ainsi, nous observons la présence des trichomes tecteurs non glandulaires et des trichomes glandulaires sécréteurs. Ces trichomes glandulaires ne semblent pas être protégés par les trichomes tecteurs non glandulaire.

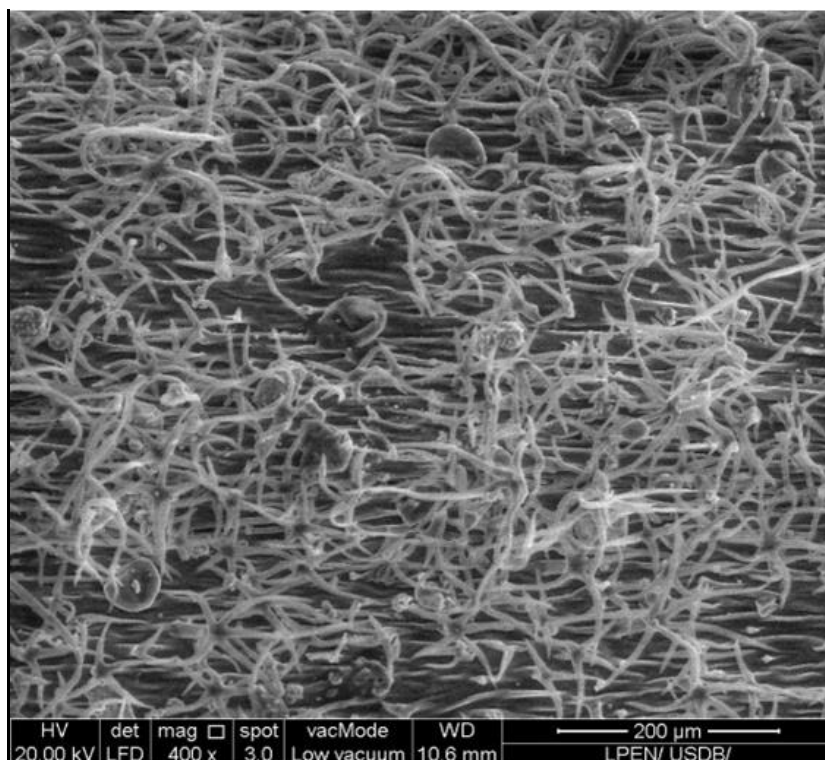


Figure 3.30 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes de la tige de *L. stoechas* de Blida (200 μm).

Dans la figure 3.31 la tige montre une diversité de trichomes, incluant des glandulaires capités courts et peltés unicellulaires ainsi que des trichomes non glandulaires ramifiés. Le diamètre des têtes trichomes glandulaires est de 49,55, 49,71 et 52,10.

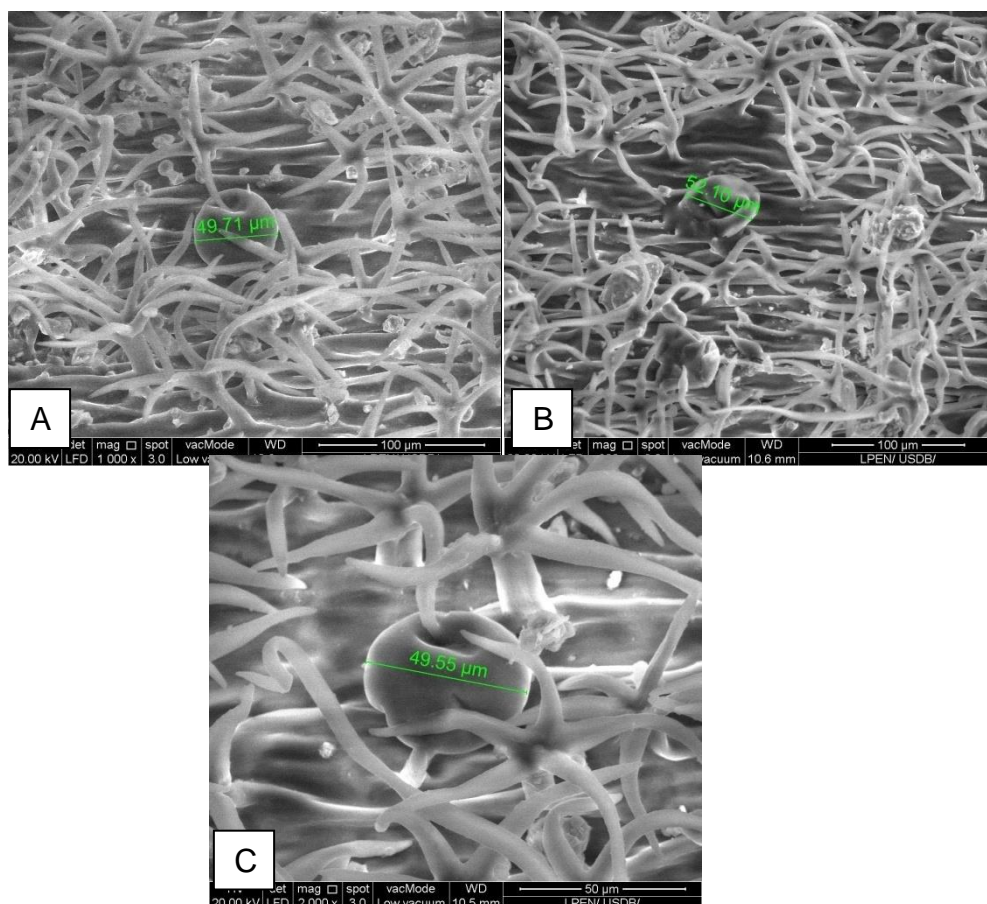


Figure 3.31 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la tige de *L. stoechas* de Blida (1 mm).

B. Région de Tissemsilt

L'observation des tiges de *L. stoechas* révèle une densité notablement élevée de trichomes tecteurs non glandulaires. Ces tiges, particulièrement velues, sont recouvertes d'une multitude des trichomes tecteurs non glandulaires, fins, ramifiés et filamenteux. Ils forment une épaisse couverture protectrice (figure 3.32).

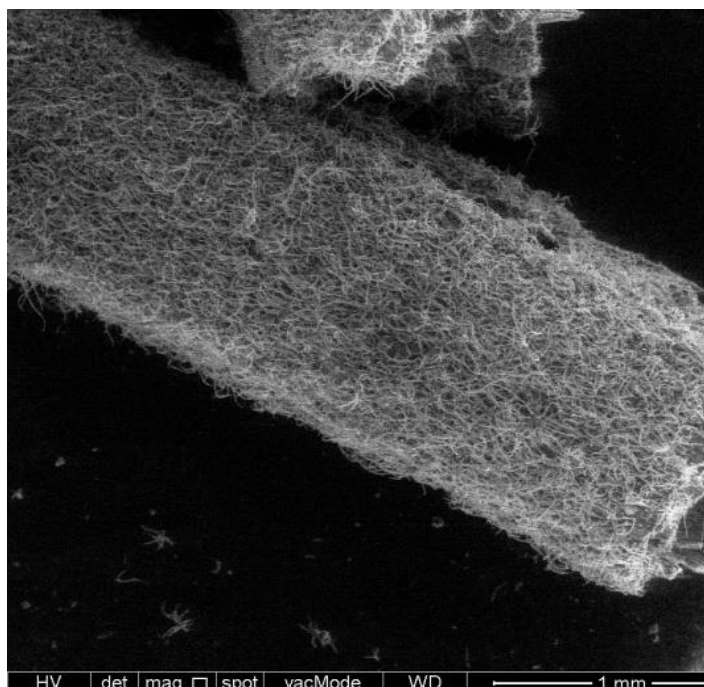


Figure 3.32 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes tecteurs non glandulaires la tige de *L. stoechas* de Tissemsilt (1 mm).

Les trichomes tecteurs non glandulaires s'enchevêtrent de façon désordonnée, formant une épaisse couverture protectrice. Nous observons que certains de ces trichomes passent directement au-dessus des trichomes peltés et capités courts (52 et 58 μm) les recouvrant partiellement (figure 3.33 A et B).

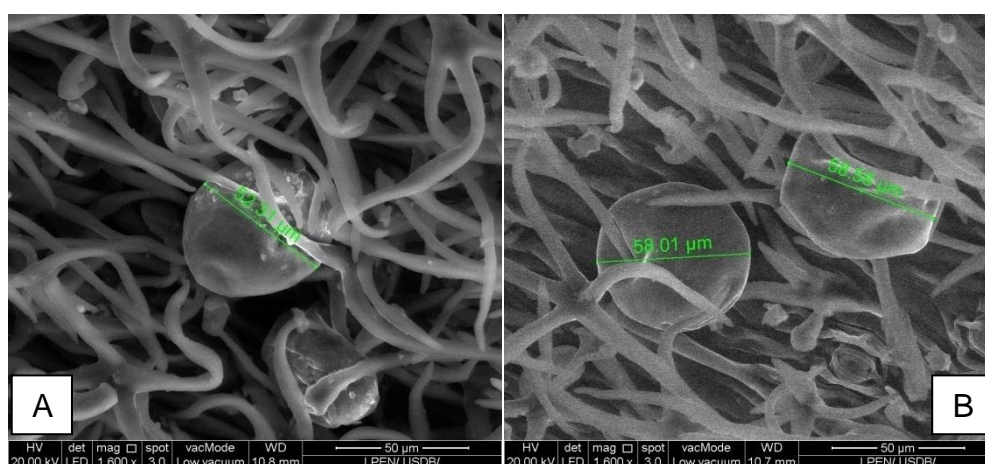


Figure 3.33 : Micrographies électroniques à balayage des trichomes glandulaires et trichomes tecteurs non glandulaires à la surface de la tige de *L. stoechas* de Tissemsilt (1 mm).

La tige montre une diversité de trichomes, incluant des trichomes glandulaires capités courts et des non glandulaires ramifiés, une caractéristique distinctive. Le diamètre des têtes des trichomes glandulaires de *L. stoechas* récoltée à Tissemsilt est plus important que celui des têtes des trichomes glandulaires des têtes des trichomes glandulaires de *L. stoechas* récoltée à Blida.

Les tiges des échantillons de *L. stoechas* récoltés à Blida et ceux récoltés à Tissemsilt ont été comparées à l'aide d'un test ANOVA pour évaluer la différence dans le diamètre des têtes des trichomes glandulaires. La valeur p obtenue est de 0,1218 ($p > 0,05$), la différence n'est pas statistiquement significative. Cela indique qu'il n'y a pas de différence notable dans le diamètre des têtes des trichomes glandulaires des tiges de *L. stoechas* entre les échantillons récoltés à Blida et ceux récoltés à Tissemsilt (Appendice D).

La comparaison du diamètre des trichomes glandulaires dans les organes aériens des échantillons de *L. stoechas* de Blida et ceux de Tissemsilt a été réalisée à l'aide du test de Tukey HSD après une analyse de variance (ANOVA). Cette analyse a révélé des différences significatives dans le diamètre des trichomes glandulaires entre les différents organes de la plante (fleurs, feuilles et tiges). Ceci suggère que le diamètre des têtes des trichomes glandulaires diffère d'un organe à un autre (Appendice D).

Les Lamiaceae se distinguent par une grande variété de trichomes glandulaires. Ces structures microscopiques diffèrent entre les espèces par leur type, leur répartition sur la plante, leur forme et leur densité. Ces structures représentent des critères de classification important [211].

Nos observations des trichomes sur le calice des fleurs de *L. angustifolia* ont révélé une structure similaire à celle des trichomes glandulaires décrits dans les observations sur le calice des fleurs de la même espèce de *L. angustifolia* récoltée en Italie. Les auteurs ont principalement observé des trichomes peltés, mesurant de 50 à 70 μm de diamètre avec une surface lisse, alignés le long des nervures du calice. Ces trichomes glandulaires étaient entremêlés avec des trichomes capités, moins visibles et souvent cachés par un réseau dense de trichomes non glandulaires ramifiés [113]. Les résultats d'une autre étude ont

montré que sur le calice les trichomes non glandulaires sont multicellulaires et ramifiés, tandis que les trichomes glandulaires sont peltés et capités à pédoncule court [212].

Dans une étude, le cultivar croate *Lavandula x intermedia* 'Budrovka' a été comparé à *L. angustifolia*, en examinant leur morphologie, les types et la répartition des trichomes. Les caractéristiques morphologiques différencient nettement *L. x intermedia* 'Budrovka' de *L. angustifolia*. Trois classes distinctes de trichomes (non glandulaires, peltés et quatre types de glandulaires capités Types I, II, III et IV) ont été observées sur les feuilles et les inflorescences des deux taxons. Bien que les trichomes montrent des différences spécifiques selon l'organe en termes d'occurrence et de densité, aucune différence spécifique aux taxons n'a été relevée [213].

D'autres observations concernant *L. stoechas* subsp. *luisieri* montrent une variété de trichomes sur ses différents organes. Les feuilles sont couvertes de trichomes non glandulaires courts à cellules unicellulaires et bicellulaires, ainsi que de trichomes pluricellulaires ramifiés de type étoilé. Des trichomes glandulaires peltés et capités de types I et II sont observés. Les bractées fertiles et les sépales portent des trichomes étoilés non glandulaires, ainsi que les mêmes types de trichomes glandulaires que les feuilles. En revanche, les pétales présentent une diversité plus restreinte avec des trichomes non glandulaires unicellulaires et pluricellulaires non ramifiés, et exclusivement des trichomes glandulaires peltés [214].

Dans une étude menée par LOUKHAOUKHA [92], les observations des fleurs de *L. stoechas* récoltée à Blida ont montré que les trichomes peltés étaient moins abondants que les trichomes capités courts. Ils présentaient une tête arrondie, leurs tailles variaient entre 19 µm et 23 µm de diamètre.

Les résultats d'une étude menée par Ştefan et al., [217] sur les feuilles des quatre variétés de *Lavandula angustifolia* Mill. (Codreanca, Provence Blue, Vera et Sevtopolis) ont montré que la densité et la distribution des trichomes glandulaires (peltés et capités) et non glandulaires varient selon les cultivars étudiés ainsi que selon les conditions de culture, notamment l'irrigation.

Les tests histochimiques ont révélé que les trichomes glandulaires sécrètent principalement des substances lipophiles et phénoliques. De plus, des profils comparatifs de chromatographie sur couche mince ont été établis pour les parties individuelles des plantes des deux taxons *Lavandula x intermedia* 'Budrovka' et *L. angustifolia*. Ils ont mis en évidence la présence de flavonoïdes et de composants d'HE [213].

La morphologie et la densité des trichomes influencent plusieurs aspects de la physiologie et de l'écologie des plantes en régulant les interactions entre la plante et son environnement Les trichomes glandulaires ont diverses fonctions protectrices en synthétisant, stockant et sécrétant de nombreuses substances importantes. Chez de nombreuses espèces, il existe une corrélation négative entre la densité des trichomes et l'alimentation, la ponte des insectes, ainsi que la nutrition des larves. Les trichomes pourraient exsuder des terpènes, des phénols, des alcaloïdes ou d'autres substances qui sont des répulsifs olfactifs ou gustatifs [215]. Outre leur rôle dans la protection des plantes contre les stress biotiques et abiotiques, ils suscitent l'intérêt en raison de l'importance des composés qu'ils produisent pour l'usage humain, en tant que produits pharmaceutiques, ingrédients de saveur et de parfum, ou pesticides. En effet, L'intérêt pour les trichomes glandulaires a augmenté régulièrement au fil des ans, surtout depuis que les technologies de séquençage permettent un accès rapide à des informations complètes sur le génome et le transcriptome d'espèces autrefois considérées comme non modèles. La diversité des métabolites synthétisés dans les trichomes glandulaires garantit que ces trichomes resteront une source constante de nouvelles enzymes impliquées dans les voies métaboliques spécialisées [216].

3.2 Résultats de l'étude phytochimique

3.2.1 Teneur en eau

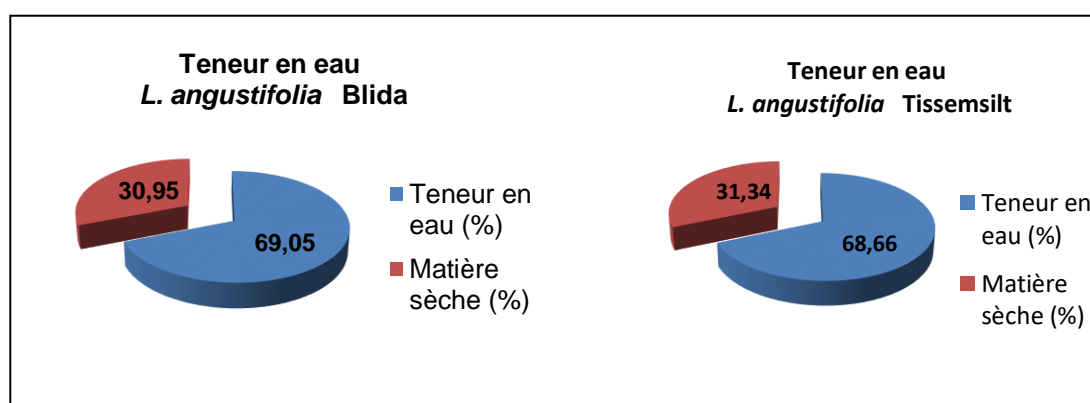
A. *L. angustifolia*

Les résultats de la teneur en eau contenue dans les fleurs *L. angustifolia* sont présentés dans le tableau 3.1 et les figures 3.34

Tableau 3.1 : Pourcentages de la teneur en eau chez *L. angustifolia*.

Espèce	Fleurs de <i>L. angustifolia</i>	
Région	Blida	Chlef
Teneur en eau (%)	69,05 ± 0,21	68,66 ± 1,37

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.

Figure 3.34 : Pourcentage de la teneur en eau chez *L. angustifolia*.

Les résultats obtenus dans le tableau 3.1 et la figure (3.34) que les fleurs de *L. angustifolia*, récoltées à Blida affichent un pourcentage de la teneur en eau moyen de 69,05 %, légèrement supérieur à celui des fleurs récoltées à Chlef, qui est de 68,66%.

La comparaison de la teneur en eau de *L. angustifolia* Blida et *L. angustifolia* Chlef par analyse de variance ANOVA a montré une différence de la non significative ($p > 0,05$) (appendice E.1).

L. angustifolia se démarque par des teneurs en eau élevées dans ses fleurs. Cette comparaison met en évidence une plus forte capacité de rétention en eau dans les fleurs chez *L. angustifolia*.

B. *L. stoechas*

Le tableau 3.2 et la figure 3.35 montrent que les parties aériennes fleuries de *L. stoechas* récoltées à Tissemsilt présentent une teneur en eau plus élevée que celles récoltées à Blida, avec des valeurs respectives de 63% et 60%.

Tableau 3.2 : Pourcentages de la teneur en eau chez *L. stoechas*.

Espèce	<i>L. stoechas</i>	
Région	Blida	Tissemsilt
Teneur en eau (%)	60,40 ± 0,53	63,04 ± 1,00

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD.

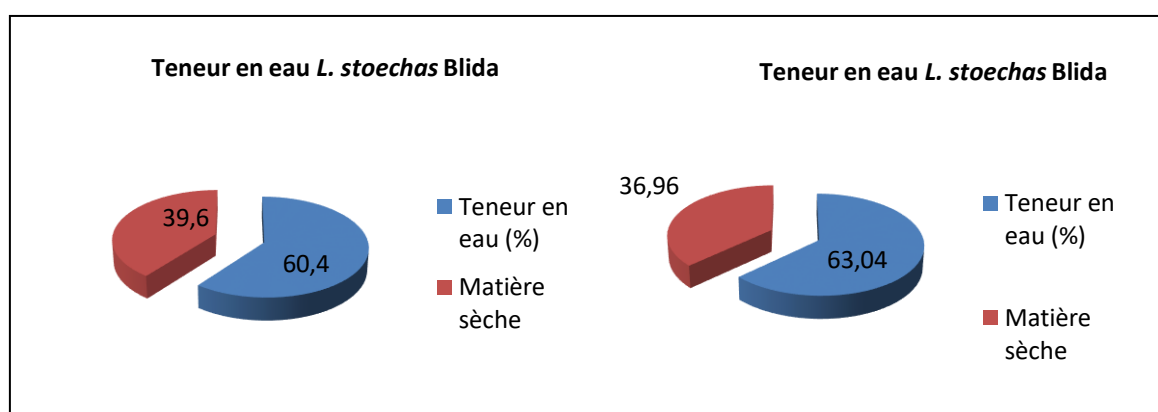


Figure 3.35 : Pourcentage de la teneur en eau et de la matière sèche de *L. stoechas*.

Les résultats de l'analyse statistique ANOVA des teneurs en eau de *L. stoechas* récoltée à Blida et *L. stoechas* à Chlef montrent une différence significative entre les moyennes des deux régions ($p = 0,028 < 0,05$) (Appendice E.1).

Les résultats montrent une variabilité inter-régionale (Blida et Tissemsilt) de la teneur en eau chez *L. stoechas*. Les valeurs obtenues sont cohérentes avec la littérature qui rapporte des teneurs entre 60% et 90%. Ce taux élevé est dû aux processus actifs nécessitant des apports suffisants en eau [218].

Une étude comparant ces deux espèces de lavande a abouti à des résultats similaires aux nôtres, comme le rapporte l'étude menée par BACHIRI et al., [173], qui ont trouvé une teneur en eau de 62,6 % pour *L. dentata* et de 64 % pour *L. stoechas*. Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte [173].

3.2.2 Teneur en cendres

A. *L. angustifolia*

Les résultats de la teneur des cendres et de la matière organique des fleurs *L. angustifolia* récoltées dans les deux régions différentes sont représentés dans le tableau 3.3 et la figure 3.36 Les cendres obtenues sont de couleur claire.

Tableau 3.3 : Teneurs des cendres et de la matière organique chez *L. angustifolia*.

Espèce végétale	<i>L. angustifolia</i>	
Région de récolte	Blida	Chlef
% Cendre totale	10,83 ± 0.23	10,91 ± 0.96
% Matière organique	89,17	89,09

Les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

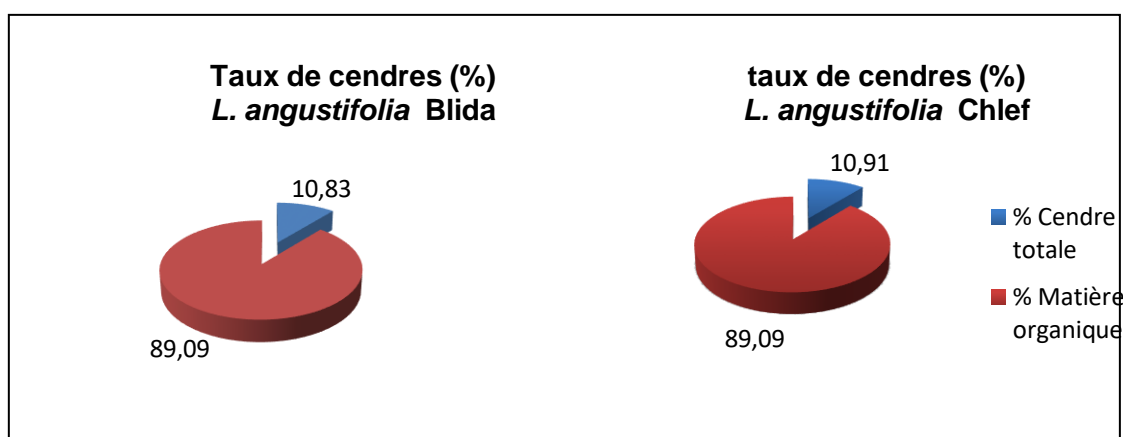


Figure 3.36 : Teneurs des cendres et de la matière organique de *L. angustifolia*.

La comparaison des moyennes par le test ANOVA montrent qu'il n'y a pas de différence significative dans la teneur en cendres des fleurs de *L. angustifolia* entre les régions de Blida et de Chlef ($p > 0.05$) (Appendice E.2).

B. *L. stoechas*

Les résultats concernant la teneur en cendres et en matière organique des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* récoltées dans deux régions distinctes

sont présentés dans le tableau 3.4 et la figure 3.37 Les cendres obtenues sont de teinte claire.

Tableau 3.4 : Teneurs des cendres et de la matière organique chez *L. stoechas*.

Espèce végétale	<i>L. stoechas</i>	
Région de récolte	Blida	Tissemsilt
% Cendre totale	10,27 ± 0,31	11,07 ± 0,12
% Matière organique	89,73	88,93

Les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

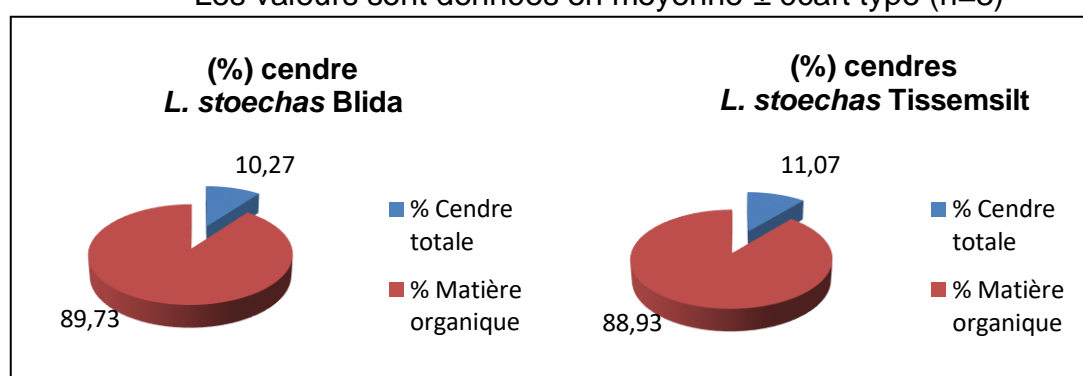


Figure 3.37 : Teneurs des cendres et de la matière organique de *L. stoechas*.

Les résultats exprimés dans le tableau 3.4 et la figure 3.37 mettent en évidence une variation de la teneur en cendres des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* allant de 10,27% à 11,07% pour les régions de Blida et de Tissemsilt respectivement.

La comparaison des moyennes par le test ANOVA indique qu'il n'y a pas de différence significative dans la teneur en cendres des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* entre les régions de Blida et de Tissemsilt ($p > 0,05$) (Appendice E.2).

Les résultats de la teneur en cendres et en matière organique chez *L. angustifolia* et *L. stoechas* dans les 4 sites de récolte se situent conformément aux directives de la pharmacopée, qui préconise un intervalle normatif de 10 à 12 % [219].

L'absorption des ions minéraux par les plantes est étroitement liée aux caractéristiques physicochimiques du sol qui les abrite. Des facteurs tels que la

température, l'intensité lumineuse et l'aération du milieu peuvent influencer les teneurs en minéraux. De plus, l'état physiologique interne de la plante, incluant son stade de développement, son âge et son état hormonal, joue un rôle crucial dans ce processus d'absorption [220]. Les minéraux jouent un rôle essentiel en activant les enzymes nécessaires à la croissance rapide des plantes. Cette importance peut être attribuée à la mobilisation des minéraux lors du processus photosynthétique, où ils interviennent dans la synthèse des macronutriments tels que les protéines, les sucres et les matières grasses végétales à partir de l'eau et du dioxyde de carbone. Les éléments minéraux clés impliqués dans ce processus sont le magnésium et le fer [221].

3.2.3 Screening phytochimique

3.2.3.1 Groupes chimiques caractérisés

Les tests du screening phytochimique représentent toujours la première étape de l'étude chimique de la plante. Ils permettent de mener des recherches plus approfondies afin de mieux comprendre les fonctions chimiques et l'activité biologique de la plante.

Les tests réalisés sont en relation avec l'intensité du précipité et de turbidité où la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

A. *L. angustifolia*

Les résultats du screening phytochimiques des fleurs de *L. angustifolia* sont présentés dans le tableau 3.5.

Tableau 3.5: Les résultats de screening phytochimique.

Constituants		Résultat	<i>L. angustifolia</i> BLIDA	<i>L. angustifolia</i> Chlef
Tanins	Tanins	Bleu noirâtre	+++	+++
	Tanins catéchiques	Précipité rouge	+++	+++
	Tanins galiques	Bleu noirâtre	++	++
Flavonoïde	Flavonones et flavanonols	Rouge	++	++
	Flavones	Rouge orangé	-	-
	Flavanones	Rose violacé	-	-
	Leuco-anthocyanes	Rouge cerise	-	-

	Catéchols	Brun-rouge	+	+
	Anthocyanes	bleu violacé	++	+
Dérivés anthracéniques	Libres	Rouge		
	Combinés	Rouge	+++	+++
	O			
	C			
	G			
Alcaloïdes		précipité	-	-
Saponosides		Indice de mousse	+ IM=111.11	+ IM=111.11
Mucilage		précipité floconneux	+++	+++

- O: pour les O-hétérosides. - G: pour les O- hétérosides à génines réduites.
- C: pour les C- hétérosides.

Selon les résultats présentés dans le tableau 3.5, les analyses effectuées ont révélé la présence de 5 familles de métabolites secondaires chez *L. angustifolia*, à savoir les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les dérivés anthracéniques, ainsi que le mucilage. Les alcaloïdes ne sont pas détectés. Ces composés chimiques sont reconnus pour leurs activités biologiques bénéfiques, telles que des propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes.

Les résultats obtenus ont mis en évidence l'abondance des tanins catéchiques et galliques ainsi que les mucilages. Les flavonoïdes, les flavonones et flavanols ont montré une présence moyennement positive. Les catéchols et les anthocyanes sont présents de manière faible, sauf pour *L. angustifolia* récoltée à Blida, où les anthocyanes sont moyennement positifs. Les saponosides affichent une présence faiblement positive dans les deux régions.

Les deux régions sont également riches en dérivés anthracéniques, notamment les dérivés anthracéniques combinés O-hétérosides et les C-hétérosides.

Les résultats obtenus pour l'espèce *L. angustifolia* sont cohérents avec les études menées par COSTEA et al., [222], qui ont confirmé la richesse en composés phénoliques dans le fleurs, en particulier les tanins et les flavonoïdes. Le screening phytochimique réalisé par BENYAGOUB et al., [9] a révélé la présence de tanins, d'alcaloïdes, de quinones et de saponosides, mais a signalé

l'absence de flavonoïdes et d'anthracénosides. RADI et *al.*, [223] ont identifié, la présence de tanins, de flavonoïdes et d'alcaloïdes dans les deux espèces de *L. angustifolia* et *L. pedunculata* (Mill.). Concernant les saponosides, ils sont spécifiquement présents dans *L. angustifolia*.

B. *L. stoechas*

Les résultats du screening phytochimiques des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* sont exposés dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6: Les résultats de screening phytochimique.

Constituants		Résultat	<i>L. stoechas</i> BLIDA	<i>L. stoechas</i> TISMT
Tanins	Tanins	Bleu noirâtre	+++	+++
	Tanins catéchiques	Précipité rouge	++	++
	Tanins galiques	Bleu noirâtre	++	++
Flavonoïde	Flavonones et flavanonols	Rouge	+	++
	Flavones	Rouge orangé	-	-
	flavanones	Rose violacé	-	-
	Leuco-anthocyanes	Rouge cerise	-	-
	Catéchols	Brun-rouge	+	+
	Anthocyanes	Bleu violacé	+	+
Dérivés anthra-céniques	Libres	Rouge		
	Combinés		+++	+++
	O	Rouge		
	C	Rouge	++	++
	G	Rouge	-	-
Alcaloïdes		précipité	-	-
Saponosides		Indice de mousse	+ IM=111.11	+ IM=111.11
Mucilage		Précipité floconneux	+++	+++

- O: pour les O-hétérosides.
- C: pour les C- hétérosides.
- G: pour les O- hétérosides à génines réduites.

Selon les données du tableau 3.6, l'analyse a révélé la présence de 5 familles de métabolites secondaires chez *L. stoechas* : les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les dérivés anthracéniques et le mucilage. Aucune détection d'alcaloïdes n'a été notée.

Les résultats indiquent une réaction franchement positive de tanins catéchiques et galliques dans les deux régions. Pour ce qui est des flavonoïdes, les flavonones et flavanonols, ils montrent une présence positive dans la région de Tissemsilt. Les catéchols et les anthocyanes sont présents à faible niveau, à l'exception de Blida, où les anthocyanes sont modérément positifs.

Les saponosides affichent une présence faiblement positive dans les deux régions, tandis que les mucilages montrent une réaction franchement positive.

Les deux régions se distinguent également par leur richesse en dérivés anthracéniques, notamment les dérivés anthracéniques combinés O-hétérosides et les C-hétérosides.

La présence des familles chimiques détectées pour *L. stoechas* dans notre étude est confirmée par d'autres travaux. Les travaux menés par HADDOUCHI et *al.*, [224] ont mis en évidence la présence de tanins et de flavonoïdes dans la partie aérienne de la plante. Par ailleurs, BOUFELLOUS et *al.*, [225] ont également corroboré la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins et de saponosides dans les feuilles et les fleurs de *L. stoechas* au Maroc.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de BACHIRI et *al.*, [173] au Maroc, qui ont signalé la présence de tanins (catéchiques et galliques), de dérivés anthracéniques ainsi que de flavonoïdes (anthocyanes, flavones et catéchols) dans les parties aériennes de *L. stoechas* et *L. dentata*, avec l'absence d'alcaloïdes chez les 2 espèces.

Le screening phytochimique des extraits d'une autre espèce de *Lavandula*, *L. pedunculata* réalisé par Bachiri et *al.*, [226] ont mis en évidence la présence de tanins catéchiques et galliques, de flavonoïdes (anthocyanines, flavones et catéchols) ainsi que d'anthracéniques combinés (C-hétérosides et O-hétérosides). Dans une étude sur *L. antineae*, KRIMAT et *al.*, [227] ont rapporté la présence de

flavonoïdes, de tanins et de saponines. BALAKRISHNAN et *al.* [228] ont détecté des flavonoïdes, des saponines et des tanins.

Le screening phytochimique réalisée pour ces 2 espèces *L. angustifolia* et *L. stoechas* montrent des résultats confirmés par d'autres travaux, à savoir la présence de certaines familles chimiques, tandis que l'absence d'autres familles peut s'expliquer par une différence au niveau de plusieurs paramètres géographiques, physico-chimiques ou biologiques tels que : la différence du site de récolte comprenant l'environnement de la plante (climat et sol) ou l'aspect génétique entre les espèces, ou des mutations au niveau des gènes pour une adaptation génétique [225].

3.2.4 Extraction des composés polaires

A. *L. angustifolia*

Le rendement des extraits méthanoliques obtenus de l'extraction par soxhlet des composés polaires à partir des fleurs de *L. angustifolia* sont regroupés dans le tableau 3.7.

Tableau 3.7 : Rendements en (%) des extraits bruts méthanolique de *L. angustifolia*.

Espèce	<i>L. angustifolia</i>	
Région	Blida	Chlef
Rendement en extrait brut	9,56 ± 0,13	11,13 ± 0,29

- Note: les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

D'après le tableau 3.7, les rendements en extraits méthanoliques bruts obtenus par soxhlet chez *L. angustifolia* sont faibles, avec des valeurs de 9,56% à Blida et de 11,13% à Chlef. Nous constatons une certaine variabilité entre les régions, avec un rendement en extrait méthanolique plus élevés dans la région de Chlef. Cependant, ces résultats diffèrent considérablement de ceux obtenus par COSTEA et *al.*, [222], qui ont rapporté un rendement bien plus élevé en extrait méthanolique qui est de 24,83 ± 0,32%. L'extrait est obtenu par macération des

fleurs de *L. angustifolia* dans un mélange méthanol-eau (70:30, v/v) pendant 24 heures à température ambiante.

B. *L. stoechas*

Les résultats de l'extraction par soxhlet des composés polaires à partir des fleurs de *L. stoechas* sont regroupés dans le tableau 3.8.

Tableau 3.8. : Rendements en (%) des extraits bruts méthanolique de *L. stoechas*.

Espèce	<i>L. stoechas</i>	
Région	Blida	Tissemsilt
Rendement en extrait brut	17,35 ± 0.06	13,55 ± 0.28

Note: les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

D'après les résultats du tableau 3.8, les rendements en extraits méthanoliques bruts sont de 17,35% à Blida et de 13,55% à Tissemsilt. En comparaison avec des travaux antérieurs, les travaux rapportés par MENACEUR [229] indiquent un rendement de 19,29 % pour l'extrait éthanolique des feuilles de *L. stoechas*.

Ces données mettent en évidence des différences de rendement entre les méthodes d'extraction et les espèces de lavande, soulignant ainsi la diversité des résultats obtenus dans différentes conditions expérimentales.

Cependant, la solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique au sein de la plante, présentant une variation allant des composés simples aux composés fortement polymérisés. On observe également des quantités variables d'acides phénoliques, de phénylpropanoïdes, d'anthocyanines et de tanins dans les matières végétales. Cette diversité structurale contribue à une grande variabilité physico-chimique, influençant ainsi le processus d'extraction des polyphénols [230].

3.2.5 Dosage des polyphénols totaux

- *L. angustifolia*

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des fleurs de *L. angustifolia* récoltée à Blida et Chlef sont détaillées dans le tableau 3.9.

Tableau 3.9: Teneurs en polyphénols totaux chez *L. angustifolia*.

Espèce	<i>L. angustifolia</i>	
Région	Blida	Chlef
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)	35,85 ± 0,35	37,36 ± 0,71

Note: les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

Les données du tableau 3.9 et indiquent que la teneur en composés phénoliques (exprimée en mg EAG/g de MS) dans les extraits méthanoliques varie selon les régions. Cette teneur a été déterminée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage ($y = 0.01x + 0.032$, $R^2 = 0,994$) et exprimée en équivalents d'acide gallique (GAE) (Appendice E.4). Elle est de 35,85 mg EAG/g de MS pour Blida et de 37,36 mg EAG/g de MS pour Chlef.

Les comparaisons par le test ANOVA montrent une différence statistiquement significative entre les moyennes ($p = 0,04 < 0,05$) (Appendice E.4).

Nos résultats démontrent des concentrations en polyphénols supérieures à celles rapportées dans l'extrait méthanolique de *L. angustifolia* de Lituanie [231] (5,40 mg EAG/g) et dans l'extrait aqueux de *L.angustifolia* d'Iran [232] (16,2 mg EAG/g MS), ainsi que dans l'extrait éthanolique de *L.angustifolia* en Roumanie [233] (1,4 mg GAEg-1 MS). En outre, une autre étude indique que les teneurs en polyphénols totaux de la même espèce *L. angustifolia* en Roumanie [234] (50,6 ± 3,16 mg EAG/g) sont supérieures à celles de notre étude de même que dans l'extrait aqueux du Maroc [235] (67,967 ± 0,139 mg EAG/g MS).

- *L. stoechas*

Les teneurs de polyphénols totaux dans les extraits des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* récoltées à Blida et à Chlef sont montrées dans le tableau 3.10.

Tableau 3.10: Teneurs en polyphénols totaux chez *L. stoechas*.

Espèce	<i>L. stoechas</i>	
Région	Blida	Tissemsilt
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)	22,91 ± 0,71	33,06 ± 1,41

Note: les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3).

D'après le tableau 3.10, la région de Tissemsilt a enregistré la teneur la plus élevée, avec une valeur de 33,06 ± 0,71 mg EAG/g MS tandis que la région de Blida a présenté une teneur inférieure de 22,91 ± 0,71 (mg EAG/g MS).

La comparaison des teneurs en polyphénols entre *L. stoechas* provenant de Tissemsilt et de Blida a révélé une différence hautement significative ($\leq 0,001$) (Appendice E.2).

En comparant nos résultats avec d'autres études menées dans différentes régions, nous observons des concentrations variables de polyphénols. Pour l'espèce *L. stoechas* évoluant à Tizi-Ouzou [229], une concentration élevée de 132,3 mg EAG/g a été rapportée. En revanche, les résultats de la même plante à Laghouat [236] ont montré une concentration beaucoup plus faible de 9,74 ± 0,48 EAG/g. *L. stoechas* qui évolue en turquie [237], la teneur totale en phénols était de 105,5 ± 2,7 mg GAE/g d'extrait sec, tandis celles évoluant au Maroc, cette teneur atteignait 130,15 ± 3,72 mg EAG/g [238].

De la même manière, les recherches menées par MESSAOUD et *al.*, en Tunisie [239], montrent que les teneurs en polyphénols pour *L. angustifolia* étaient de 31,3 ± 1,4 mg EAG/g et pour *L. stoechas* de 25,2 ± 0,4 mg EAG/g. Ces valeurs sont proches de celles observées dans notre propre étude pour les deux espèces. DIF et *al.* [240], lors d'une étude comparative des espèces de lavande en 2017 à Béni Saf, ont quantifié les polyphénols dans trois espèces de lavandes. Les

résultats de la quantification des composés phénoliques mettent en évidence que les feuilles de *L. dentata* contiennent $60,84 \pm 0,87$ mg/g de phénols totaux. De plus, la quantification des composés phénoliques des feuilles *L. stoechas* est estimée à $67,58 \pm 0,70$ mg/g d'extrait de phénols totaux, tandis que celle de *L. angustifolia* est estimée à $74,74 \pm 0,59$ mg/g d'extrait de phénols totaux. De manière similaire, HADDOUCHI et al., [224] ont entrepris une étude comparative des espèces qui évoluent à Tlemcen. L'étude portait sur trois espèces distinctes *L. multifida*, *L. dentata*, *L. stoechas*. Les résultats obtenus ont révélé des teneurs variables dans les nombreux extraits hydro-méthanoliques des plantes étudiées. La teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *L. multifida*, atteignant $23 \pm 1,1$ mg EAG/g MS. Des teneurs significatives ont également été observées dans les extraits de feuilles de *L. stoechas* ($18 \pm 1,4$ mg EAG/g MS), *L. dentata* ($15,8 \pm 0,9$ mg EAG/g MS), ainsi que dans les extraits de fleurs de *L. stoechas* ($17,8 \pm 1,6$ mg EAG/g MS) et *L. dentata* ($16,4 \pm 0,5$ mg EAG/g MS). L'extrait hydro-méthanolique des fleurs de *L. multifida* présente une teneur plus faible en polyphénols, mesurée à $7,9 \pm 0,2$ mg EAG/g MS.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques provenant des fleurs de *L. angustifolia* et des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* présentent une variabilité en fonction des 4 lieux de récolte.

Ces observations suggèrent que la variabilité des teneurs en polyphénols peut être liée aux caractéristiques spécifiques de chaque espèce et à l'influence de l'environnement. En effet, diverses recherches ont révélé que la quantité de composés phénoliques présente une variabilité significative d'une espèce à l'autre et même au sein d'une même espèce. Cette diversité est influencée par divers facteurs extrinsèques tels que la température, le climat et d'autres conditions environnementales [241], ainsi que des facteurs génétiques liés à la variété et à l'origine de l'espèce [242]. Des aspects physiologiques, tels que le degré de maturité de la plante et la nature des organes, jouent également un rôle significatif [243]. La durée de stockage est un autre paramètre à prendre en compte dans la variabilité de la teneur en composés phénoliques [243]. L'utilisation de différentes techniques d'extraction, de différents solvants d'extraction et de courbes

d'étalonnage (quercétine, rutine, catéchine) réduit la fiabilité de la comparaison entre les études [224].

3.2.6 Extraction des huiles essentielles et caractérisation physico-chimique

3.2.6.1 Caractéristiques organoleptiques

A. *L. angustifolia*

L'extraction par hydrodistillation des fleurs sèches de *L. angustifolia* a été réalisée avec un dispositif de type Clevenger. Les caractéristiques organoleptiques des HEs jouent un rôle essentiel dans leur utilisation et évaluation. Le tableau 3.11 représente les résultats des caractéristiques organoleptiques de l'HE.

Tableau 3.11 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *L. angustifolia*.

Espèce	<i>L. angustifolia</i>		Norme AFNOR
Région	Blida	Chlef	
Aspect	Liquide, mobile et limpide	Liquide, mobile et limpide	Liquide limpide
Couleur	Jaune pâle	Jaune foncée	Jaune pâle
Odeur	forte, agréable et propre à la plante	forte, agréable et propre à la plante	Caractéristique florale

Les résultats du contrôle des caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. angustifolia* sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes.

B. *L. stoechas*

Le tableau 3.12 représente les résultats des caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. stoechas*.

Tableau 3.12 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *L. stoechas*.

Espèce	<i>L. stoechas</i>		Norme AFNOR
Région	Blida	Chlef	
Aspect	Liquide, mobile	Liquide, mobile	Liquide, mobile et limpide
Couleur	Jaune clair	Jaune clair	Jaune clair
Odeur	Forte agréable, rappelant l'odeur des sommités fleuries, légèrement camphrée	Forte agréable, rappelant l'odeur des sommités fleuries, légèrement camphrée	Odeur caractéristique de la lavande, très légèrement camphrée

Les caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. stoechas* sont similaires aux normes établies par AFNOR 2000.

3.2.6.2 Rendement d'extraction des huiles essentielles

A. *L. angustifolia*

Les résultats du rendement moyen en HE de *L. angustifolia* sont répertoriés dans le tableau 3.13, exprimés en pourcentage (g d'HE pour 100 grammes de matière végétale).

Tableau 3.13 : Rendements en (%) des huiles essentielles de *L. angustifolia*

Espèce	<i>L. angustifolia</i>	
Région	Blida	Chlef
Rendement %	4,08 ± 0,12	3,99 ± 0,09

Les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

Les résultats présentés dans le tableau 3.13 montrent que les teneurs en HE des fleurs de *L. angustifolia* provenant des deux régions sont presque similaires 4,08% Blida et 3,99% Chlef.

En effet le test ANOVA ne montre pas de différence significative au niveau rendement moyen des HEs testées entre les deux sites de récolte (Blida et Chlef) ($p > 0.05$) (Appendice E.5).

Nos résultats ont été comparés avec d'autres travaux sur la même espèce *L. stoechas* récoltée dans diverses régions. Les rendements obtenus lors de notre étude sont très proches de ceux énoncés par BENYAGOUR et *al.*, (2014) pour *L. stoechas* récoltée à Tlemcen, avec un rendement de 4,12% [9]. Un rendement comparable de 4,20% a été observé par TURGUT et *al.*, (2017) pour des plantes qui évoluent en Turquie [244].

Des taux plus élevés ont été enregistrés ailleurs. DANH et *al.*, (2013) ont rapporté un taux de 4,57% pour *L. stoechas* cultivée en Australie [245], tandis que COSTEA et *al.*, (2019) ont observé des variations saisonnières chez *L. stoechas* en Roumanie, avec 3% en juin et 4,40% en septembre [222].

En revanche, des rendements plus faibles ont été rapportés pour *L. stoechas* dans d'autres études. VERMA et *al.*, (2009) [246] ont rapporté un rendement de 2,8 % pour les plantes évoluant en Inde. REZAZADEH et *al.*, (2008) [247] ont trouvé un rendement de 2,5 % pour celles poussant en Iran. BELHADJ MOSTEFA et *al.*, (2014) ont observé un rendement de 2 % pour celles récoltées à Batna [17]. Nos résultats restent néanmoins supérieurs à ceux obtenus par ZAHED et *al.*, (2020) [18] pour les plantes récoltées à Ain Defla et par JIANU et *al.*, (2013) avec un rendement de 1,13 % pour cette même espèce en Roumanie [50].

L. stoechas

Les résultats du rendement moyen en HE de *L. stoechas* sont consignés dans le tableau 3.14, exprimés en pourcentage (g d'HE pour 100 grammes de matière végétale).

Tableau 3.14 : Rendement moyen en (%) des huiles essentielles de *L. stoechas*

Espèce	<i>L. stoechas</i>	
Région	Blida	Tissemsilt
Rendement %	1,19 ± 0,01	1,52 ± 0,08

- Les valeurs sont données en moyenne ± écart type (n=3)

La comparaison par le test ANOVA a montré une différence significative entre les deux sites de récolte (Blida et Tissemsilt) ($0,01 < p \leq 0,05$) (Appendice E.5).

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par DOB et *al.*, [11] sur des plantes qui évoluent à Cherchel avec un rendement de 1,1%, ainsi qu'avec ceux de BAALI et *al.*, [248], sur la même espèce cultivée à Bouira, qui ont rapporté un rendement de 1,46%. Toutefois, SEBTI [249] a démontré un rendement légèrement supérieur de 1,8% pour *L. stoechas* poussant à Jijel. Une étude menée par BENABDELKADER [12] sur 11 espèces spontanées de *L. stoechas* provenant de diverses régions d'Algérie a révélé des rendements variables en HE, s'étendant de 0,52% à 1,63%. Parmi ces espèces, celle récoltée dans la région de Blida a présenté un rendement proche de 1,36 %.

D'autre part nos résultats se rapprochent de ceux de MSAADA et *al.*, [250] pour les plantes qui évoluent en Tunisie (1,04%) et de HASSIOTIS [251] pour celle qui évoluent en Grèce (1,46%). En revanche, ils demeurent faible par rapport à ceux rapportés par BACHIRI et *al.*, [173] (2,05%). RAINA et NEGI [252] ont également signalé des rendements plus modestes de 0,86% pour *L. stoechas* cultivée en Inde, tandis que CARRASCO et *al.*, [253], qui travaillent sur des échantillons de différentes régions en Espagne, ont obtenu des rendements variant de 0,3% à 1%.

Les espèces spontanées de *L. stoechas* présentent une grande variabilité de leurs teneurs en HE en fonction de leur origine géographique. Cette particularité a été mise en évidence par plusieurs travaux pour différents pays.

Des conclusions similaires de variabilité ont été tirées concernant les *L. stoechas* spontanées de Crète [254] et de Corse [255].

Nos résultats mettent en évidence les variations de rendement observées entre les différentes régions. Ces variations peuvent être dues à plusieurs facteurs ; les facteurs intrinsèques, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (climat ou type de sol) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée ; facteurs extrinsèques, en lien avec ou la méthode d'extraction [17].

3.2.6.3 Caractéristiques physico-chimique

A. *L. angustifolia*

Les caractéristiques physico-chimiques des HEs de *L. angustifolia* sont répertoriées dans le tableau 3.15.

Tableau 3.15 : Caractéristiques physico-chimique de l'huile essentielle de *L. angustifolia*.

Paramètre	HE <i>L. angustifolia</i> Blida	HE <i>L. angustifolia</i> Chlef	Norme AFNOR
Indice de réfraction	1,462	1,462	1,458 – 1,464
Indice acide (mg KOH/g)	0,595	0,912	Max 1,0
Densité relative	0.887	0,901	0,880 – 0,9
pH	5, 05	4,89	-

Bien que des variations aient été observées, les caractéristiques physico-chimiques de nos huiles essentielles demeurent en adéquation avec les critères établis par les normes de l'AFNOR 2000 [112] (tableau 3.15).

L'indice de réfraction renseigne sur la qualité de l'huile, il varie avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnerait un indice élevé [256]. Les indices de réfraction des HEs de fleurs de *L. angustifolia* dans les deux régions étaient de 1,462. Les HEs des fleurs de la même espèce présentaient un indice de réfraction de 1,486 [257]. De

plus, d'autres travaux sur les parties aériennes fleuries ont révélé des indices de réfraction de 1,459 en septembre et de 1,464 en juillet [258].

Les valeurs de pH des HEs de *L. angustifolia* varient entre 4,89 et 5,05. En résumé, les HEs provenant de ces deux régions présentent un pH légèrement acide, ce qui contribue à leur bonne conservation.

L'indice d'acide mesure la quantité d'acides gras libres présents dans l'HE. Un indice élevé indique une dégradation de l'huile, probablement due à un vieillissement, une oxydation ou des conditions de stockage inadéquates. Un indice d'acide trop élevé peut affecter les propriétés organoleptiques et la stabilité de l'huile. L'HE de *L. angustifolia* de Blida affiche une valeur de 0,595 mg KOH/g, tandis que celle de *L. stoechas* de Chlef présente 0,91 mg KOH/g. les HEs sont conformes aux exigences de la norme AFNOR sur ce critère spécifique.

B. *L. stoechas*

Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de *L. stoechas* sont représentées dans le tableau 3.16.

Tableau 3.16 : Caractéristiques physico-chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas*.

Paramètre	HE <i>L. stoechas</i> Blida	HE <i>L. stoechas</i> Tissemsilt	Norme AFNOR
Indice de réfraction	1,456	1,456	1,458 – 1,464
Indice d'acide	0,891	0,861	Max 1,0
Densité relative	0,889	0,887	0,880 – 0,9
pH	5,15	5,55	-

Nous avons constaté l'absence de normes AFNOR ou ISO spécifiques à *L. stoechas*. Par conséquent, nous avons adopté une approche comparative en utilisant les standards établis pour *L. angustifolia* comme référence. Bien que ces deux espèces présentent des différences botaniques et biochimiques, les normes de *L. angustifolia* constituent une base de comparaison pertinente, offrant un cadre d'évaluation reconnu pour les HEs de lavande et permettant d'évaluer la qualité et les caractéristiques de l'huile de *L. stoechas*.

L'indice de réfraction pour les HEs de *L. stoechas*, provenant des parties aériennes fleuries dans les deux régions, est de 1,456. MENACER [229] a observé un indice de réfraction de 1,471 pour les parties aériennes fleuries de la même espèce. LOUKHAOUKHA [92] a également trouvé un indice de réfraction de 1,471 pour les fleurs de *L. stoechas* récoltées à Blida.

L'HE de *L. stoechas* présente un pH légèrement acide (5,15 et 5,55).

Malgré certaines fluctuations constatées, les propriétés physico-chimiques de nos HEs restent conformes aux standards définis par les normes AFNOR 2000 [112]. Ces variations, bien que présentes, n'altèrent pas la conformité globale de nos HEs aux critères de qualité établis (tableau 3.16).

D'après les variations observées dans le tableau 3.15 et 3.16, il semble que tous ces paramètres soient influencés par les conditions édaphiques, climatiques et les pratiques culturales. Cela illustre la complexité de la notion de chémotype [259].

3.2.7 Composition chimique des huiles essentielles

3.2.7.1 Composition chimique de L'huile essentielle de *L. angustifolia* récoltée dans la région de Blida

La composition chimique et le pourcentage des composés de l'HE de *L. angustifolia* récoltée à Blida identifiée par GC/MS sont présentés dans le tableau 3.17.

Tableau 3.17 : Composition chimique de l'huile essentielle de *L. angustifolia*.

N°	Composé	IR	<i>L. angustifolia</i> Blida
1	α -Pinene	937	0,25%
2	Camphene	943	0,97%
3	Thuja-2,4 (10)-diene	958	0,84%
4	Sabinene	977	0,17%

5	β -Pinene	981	0,47%
6	Myrcene	992	0,60%
7	α - Phellandrene	1009	0,43%
8	α -Terpinene	1018	0,30%
9	<i>p</i> -Cymen	1028	0,42%
10	1,8-Cineol	1035	9,94%
11	(Z)- β -Ocimene	1040	2,13%
12	(E)- β -Ocimene	1049	0,35%
13	γ -Terpinene	1060	0,37%
14	α -Terpinolene	1086	0,54%
15	Linalool	1118	41,25%
16	Camphor	1158	14,47%
17	Borneol	1164	3,53%
18	Terpinen-4-ol	1191	9,90%
19	Hexylbutanoate	1200	1,64%
20	α -Terpineol	1206	1,44%
21	Hexyl 2-methylbutanoate	1239	0,41%
22	Isobornyl formate	1245	0,16%
23	Cumin aldehyde	1252	0,31%
24	Linalylacetate	1256	2,26%
25	Lavandulylacetate	1289	1,27%
26	Hexyltiglate	1328	0,28%
27	Nerylacetate	1360	0,25%
28	GeranylAcetate	1379	0,24%
29	Hexylehexanoate	1385	0,17%

30	(E)-Caryophyllene	1412	0,71%
31	(E)- β -Farnesene	1452	2,19%
32	β -Santalene	1460	0,19%
33	Germacrene-D	1479	0,35%
34	(Z)- α -Bisabolene	1504	0,75%
35	Caryophylleneoxide	1582	0,46%

IR : Indice de retention

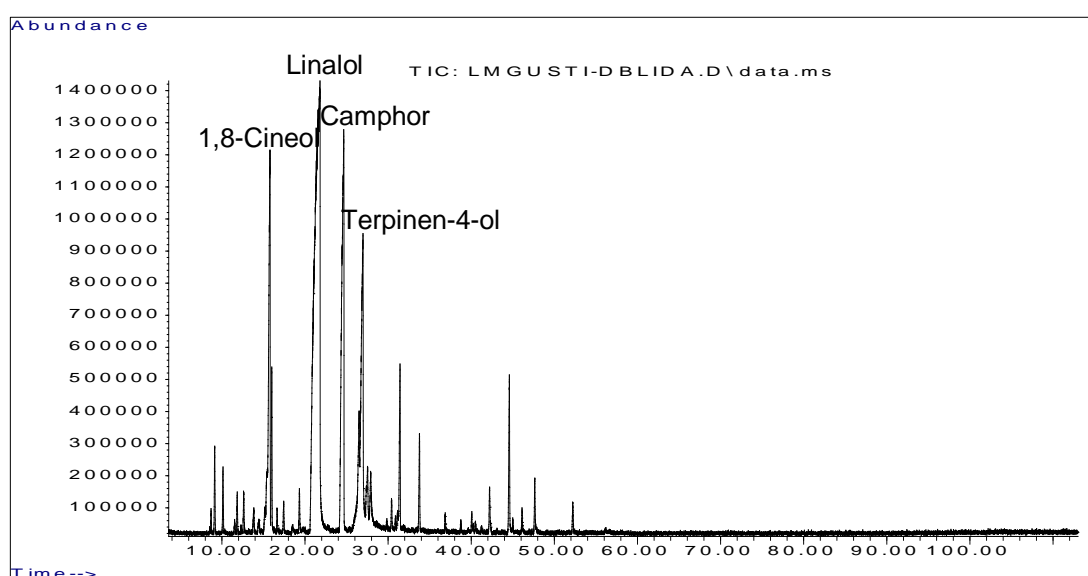


Figure 3.38 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *L. angustifolia* récoltée dans la région de Blida analysée par CG/SM.

L'analyse chromatographique par CG/SM de l'HE des fleurs de *L. angustifolia* récoltée dans la région de Blida a permis d'identifier 35 composés chimiques, représentant plus de 99% de la composition totale de l'huile (Tableau 3.17 ; figure 3.38). Les résultats montrent que les monoterpènes oxygénés sont les constituants majoritaires. L'HE est riche en linalol, composé dominant à plus de 40%. Le chémotype de l'HE *L. angustifolia* de la région de Blida est le linalol. Le profil chromatographique de l'huile est caractérisé aussi par la prédominance d'un autre monoterpène oxygéné, le camphor (14,47%). L'eucalyptol et le terpinen-4-ol sont présents mais à des teneurs moins importantes et représentent respectivement 9,94 % et 9,90 % de la composition

globale de l'huile, suivie du bornéol (3,53%), linalyl acetate (2,26%), l' α terpineol (1,44 %) et le lavandulyl acetate (1,27%). Parmi les six sesquiterpènes identifiés le β -Farnescene (2,19 %) est le plus abondant. L'huile est caractérisée aussi par la présence des esters terpéniques.

3.2.7.2 Composition chimique de l'HE *L. angustifolia* récoltée dans la région de chlef

La composition et les pourcentages des composés de l'HE de *L. angustifolia*, collectée dans la région de Chlef et identifiée par GC/MS, sont répertoriés dans le tableau 3.18.

Tableau 3.18 : Composition chimique de l'huile essentielle de *L. angustifolia* (Chlef)

N°	Composé	IR	<i>L.angustifolia</i> Chlef %
1	α -Pinene	937	0,24%
2	Camphene	943	0,69%
3	Thuja-2,4 (10)-diene	958	0,60%
4	Sabinene	977	0,20%
5	β -Pinene	981	0,38%
6	Myrcene	992	0,62%
7	α - Phellandrene	1009	0,55%
8	α -Terpinene	1018	0,25%
9	<i>p</i> -Cymen	1028	0,27%
10	Limonene	1031	1,45%
11	1,8-Cineol	1035	7,13%
12	(Z)- β -Ocimene	1040	5,47%
13	(E)- β -Ocimene	1049	0,67%
14	γ -Terpinene	1060	0,36%
15	α -Terpinolene	1086	0,55%
16	α -Fenchone	1093	0,47%
17	Linalool	1118	41,71%
18	Allo-Ocymene	1134	0,20%

19	Trans pinocarveol	1135	0,20%
20	Camphor	1158	12,54%
21	Pinocarvone	1170	0,32%
22	Terpinen-4-ol	1191	7,25%
23	Cymen-8-ol	1198	0,53%
24	Hexylbutanoate	1200	0,55%
25	α -Terpineol	1206	1,58%
26	Hexenylbutanoate	1231	0,21%
27	Hexyl 2-methylbutanoate	1239	0,23%
28	Isobornyl formate	1245	0,14%
29	Cumin aldehyde	1252	0,63%
30	Linalylacetate	1256	3,12%
31	Isobornylacetate	1284	0,12%
32	Lavandulylacetate	1289	1,60%
33	Hexyltiglate	1328	0,19%
34	Nerylacetate	1360	0,23%
35	GeranylAcetate	1379	0,34%
36	(E)-Caryophyllene	1412	0,56%
37	(E)- β -Farnesene	1452	1,31%
38	β -Santalene	1460	0,13%
39	Germacrene-D	1479	0,35%
40	Selinene	1487	0,28%
41	(Z)- α -Bisabolene	1504	0,53%
42	Lavandylisovalerate	1509	0,18%
43	γ -Cadinene	1512	0,18%
44	δ -Cadinene	1520	0,40%
45	Cis-Calamenene	1536	0,15%
46	α -Cadinene	1542	0,18%
47	Germacrene B	1552	0,40%
48	Spathulenol	1568	0,12%
49	Caryophylleneoxide	1582	1,10%

50	Humuleneepoxide II	1615	0,19%
51	Bisaboloxide B	1667	0,34%
52	Cadalene	1672	0,51%
53	α -Bisabolol	1685	1,34%
54	α -Sinensal	1755	0,08%
55	Manool	2032	0,14%

IR : Indice de retention

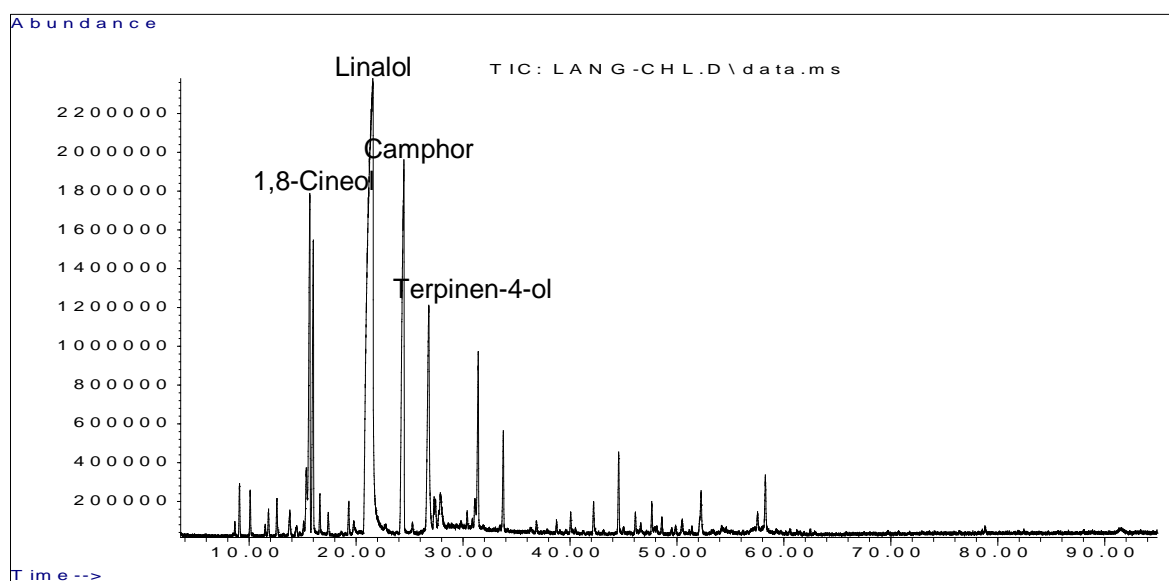


Figure 3.39 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *L. angustifolia* récoltée dans la région de Chlef analysée par CG/SM.

L'analyse chromatographique de l'HE des fleurs de *L. angustifolia* récoltées dans la région de Chlef a permis d'identifier 55 composés représentant plus de 99% de la composition totale de l'huile (Tableau 3.18 ; figure 3.39).

Les résultats montrent que les monoterpènes oxygénés sont les constituants majoritaires. L'HE est riche en linalol, composé dominant à 41,71 %. Le chémotype de l'HE *L. angustifolia* pour la région de Chlef est le linalol. L'HE est marquée par la présence du camphor (12,54%), suivi par le terpinen-4-ol (7,25%), l'eucalyptol (7,13%), linalyl acetate (3,12%), l' α terpineol (1,58 %) et le lavandulyl acetate (1,60%). On note la présence d'autres monoterpènes dans la composition de cette l'huile tels que le limonene (1,45%), α fenchone (0,47%), allo ocymene (0,20%), pinocarvone (0,32%) et le cymen-8-ol (0,53%). L'huile est plus riche en sesquiterpènes; un seul diterpène oxygéné, le Manool, a été identifié.

La composition chimique de l'HE de *L. angustifolia* (Chlef) présente une chimiodiversité très importante par rapport à l'HE de *L. angustifolia* (Blida).

La composition chimique de l'HE de *L. angustifolia* serait la plus variable à l'intérieur du genre [260]. Cependant, les composés caractéristiques trouvés sont généralement le linalol, l'acétate de linalyle, le 1,8-cinéole, le β -ocimène, le 4-terpinéol et le camphre [261]. Dans la présente étude, le linalol est le plus abondant dans les deux HEs analysées. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par d'autres travaux sur la même espèce. Le linalol a été identifié comme composé majoritaire dans les HEs de *L. angustifolia* [262], [263], [264]. D'autres recherches ont montré que les composés majeurs sont le linalol et l'acétate de linalyl [14], [49], [18].

Par ailleurs, nos résultats diffèrent considérablement de ceux obtenus par Belhadj Mostefai (2014) et *al.*, pour *L. angustifolia* cultivée où l'huile essentielle est dominée par le 1,8-cinéole (29,4 %) et le camphre (24,6 %) [17], ainsi que de ceux obtenus par Djenane et *al.*, (2011) pour *L. angustifolia* récoltés, où le 1,8-cinéole est également prédominant à 37,80 % [48].

3.2.7.3 Composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* récoltée dans la région de Blida

La composition chimique et le pourcentage des composés de l'HE de *L. stoechas* récoltée à Blida identifiée par GC/MS sont présentés dans le tableau 3.19.

Tableau 3.19 : Composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* (Blida).

N°	Composé	IR	<i>L. stoechas</i> (Blida)
1	Tricyclène	909	0.109%
2	α -Pinène	944	0.639%
3	Camphène	958	1.014%
4	Sabinène	962	0.112%
5	β -Pinène	982	0.188%
6	1,8-Cinéol	1040	14.016%

7	Sabinene hydrate	1061	0.146%
8	Fenchone	1109	36.362%
9	Linalool	1112	0.227%
10	Trans pinocarveol	1136	0.228%
11	Camphor	1161	8.208%
12	Borneol	1165	0.123%
13	Pinocarvone	1171	0,240 %
14	Lavanduol	1182	0.460%
15	Terpinen-4-ol	1189	0.475%
16	Cymen-8-ol	1197	0.154%
17	α -Terpineol	1204	0.800%
18	Myrtenol	1208	0.416%
19	Verbenone	1213	0.241%
20	Chrysanthenone	1218	0.276%
21	Fenchyne acetate	1221	0.686%
22	Carvone	1254	0.772%
23	Bornyle Acetate	1288	0.991%
24	Lavandyle acétate	1327	2.440%
25	Hexyl tiglate	1334	0.123%
26	Neryl acetate	1357	0.212%
27	Cyclosativene	1361	0.575%
28	α -copaene	1365	0.223%
29	Geranyl acetate	1368	0.161%
30	β -Elemene	1373	0.127%
31	Hexyl hexanoate	1376	0.072%
32	β -Bourbonene	1379	0.095%
33	Socaryophyllene	1399	0.163%
34	β -Caryophyllene	1413	0.334%
35	delta cadinene	1444	0.172%
36	α -Humulene	1452	0.110%
37	α – amorphene	1455	0.141%
38	D- germacrene	1469	0.180%
39	<i>trans</i> - β - Bergamotene	1473	0.108%
40	Béta selinene	1490	1.353%
41	alpha muurolene	1494	0.123%

42	alpha selinene	1498	0.260%
43	Alpha bisabolene	1505	0.203%
44	Lavandyl isovalerate	1513	0.460%
45	γ -Cadinene	1519	1.310%
46	<i>trans</i> -Calamenene	1523	0.717%
47	δ -Cadinene	1532	0.339%
48	Alpha cadinene	1543	0.443%
49	B Germacrene	1550	1.188%
50	<i>cis</i> - α -Copaene-8-ol	1556	0.459%
51	Spathulenol	1563	0.707%
52	Alpha amorphene	1572	0.443%
53	Germacrene D-4-ol	1578	0.327%
54	Viridiflorol/ Caryophyllene oxide	1584	1.669%
55	Ledol humulene epoxide II	1601	6.644%
56	<i>a</i> -Cadinol	1620	0.355%
57	2-Phenethyl hexanoate	1631	1.074%
58	<i>Daucol</i>	1643	0.455%
59	<i>E</i> -Sesquilavandulol	1646	0.266%
60	β -Eudesmol	1650	0.388%
61	<i>Epi</i> - α -muurolol	1653	0.309%
62	Cadinol	1657	0.529%
63	(3Z)-Caryophylla-3,8(13)-dien-5 β -ol	1661	0.658%
64	Cadalène	1676	1.197%
65	α -Bisabolol	1685	0.902%
66	Juniper camphor	1697	0.494%
67	α Lpha ionene	1717	0.154%
68	Farnesol	1704	0.106%
69	Alpha phellandrene	1715	0.092%
70	Farnesyl acetone	1921	0.165%
71	Valencene	1945	0.141%
72	Geranyl linalool	1949	0.081%
73	Bifromene	1974	0.194%
74	Manool	2491	3.676%

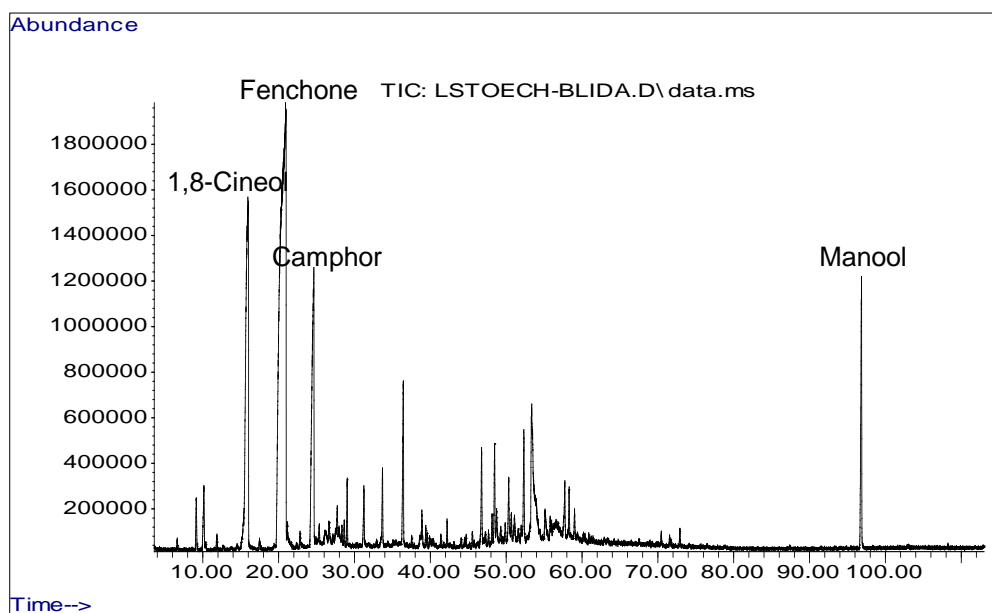


Figure 3.40: Profil chromatographique de l'huile essentielle de *L. stoechas* récoltée dans la région de Blida analysée par CG/SM

L'analyse chromatographique de l'HE des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* récoltée dans la région de Blida a permis d'identifier 74 composés chimiques représentant plus de 99% de la composition totale de l'huile. Selon les données du tableau 3.19 et la figure 3.40, les composés prédominants sont les monoterpènes, avec la fenchone (36,36%), le camphre (8,21%) et le 1,8-cinéole (14,01%), se démarquant comme les composés les plus abondants. Les sesquiterpènes oxygénés forment le deuxième groupe de composés le plus abondant, avec le Ledol (6,64%) comme représentant le plus prédominant. De plus, l'HE comprend également un diterpène oxygéné, le Manool, avec un taux de 3,68%. Le chémotype de l'HE *L. stoechas* pour la région de Blida est la fenchone.

3.2.7.4 Composition chimique de l'huile essentielle *L. stoechas* récoltée dans la région de Tissemsilt

La composition chimique et le pourcentage des composés de l'HE de *L. stoechas* récoltée dans la région de Tissemsilt identifiée par GC/MS sont présentés dans le tableau 3.20.

Tableau 3.20 : Composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* (Tissemsilt).

N°	IR	Composé	<i>L. stoechas</i> Tissemsilt
1	909	tricyclene	0.197%
2	935	α -Pinene	0.149%
3	944	camphene	0.301%
4	958	Thuja-2,4 (10)-diene	1.460%
5	1028	Para-Cymen	0.555%
6	1031	Limonene	0.700%
7	1036	1,8-Cinéole	7.488%
8	1077	Sabinene hydrate	0.372%
9	1101	Fenchone	44.298%
10	1107	linalol	0.607%
11	1134	trans pinocarveol	0.282%
12	1159	camphor	21.525%
13	1179	pinovarvone	0.426%
14	1187	terpinen-4-ol	0.494%
15	1198	Cymen-8-ol	0.507%
16	1203	α -Terpineol	0.905%
17	1216	Chrysanthenone	0.285%
18	1221	fenchyne acetate	1.038%
19	1252	carvone	0.634%
20	1288	Bornyle Acetate	4.166%
21	1325	Lavandyle acétate	4.004%
22	1360	Cyclosativene	0.305%
23	1363	geranyl acetate	0.184%

24	1489	epi-Cubebol	0.712%
25	1518	γ -Cadinene	0.690%
26	1522	<i>trans</i> -Calamenene	0.284%
27	1532	δ -Cadinene	0.196%
28	1542	Myrtenyl valerate	0.190%
29	1549	B Germacrene	0.42%
30	1555	<i>cis</i> - α -Copaene-8-ol	0.17%
31	1562	Spathulenol	0.30%
32	1582	Viridiflorol	0.52%
33	1597	Ledol	1.98%
34	1606	epi-Cubenol	0.71%
35	1629	<i>a</i> -Cadinol	0.63%
36	1642	α -muurolol	0.36%
37	1651	β -Eudesmol	0.55%
38	1674	Cadalène	0.45%
39	1696	α -Bisabolol	0.24%
40	2488	manool	0.71%

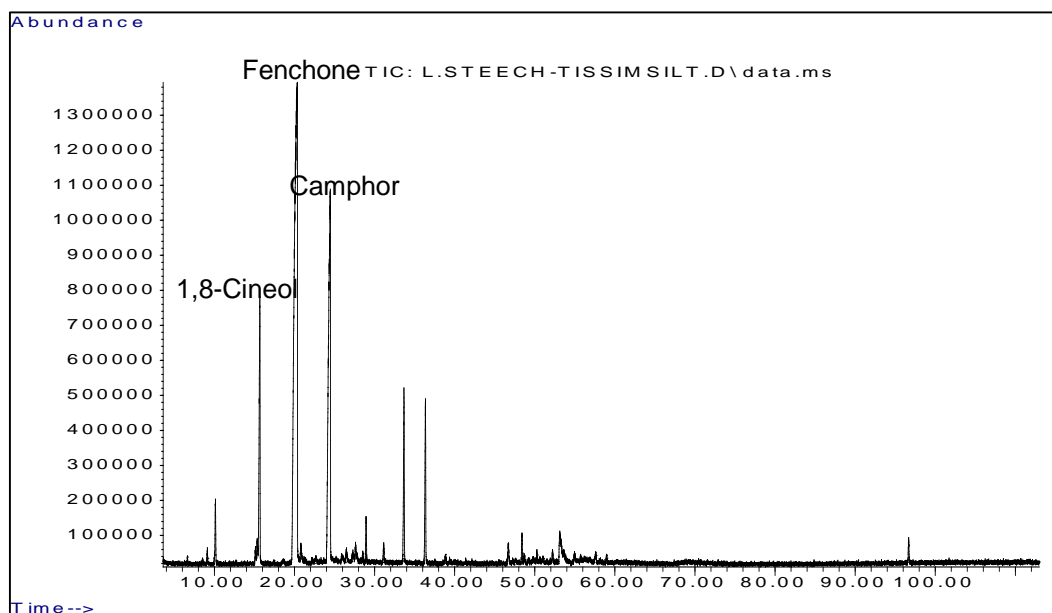


Figure 3.41 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *L. stoechas* récoltée dans la région de Tissemsilt analysée par CG/SM.

D'après le tableau 3.20 et la figure 3.41, l'analyse de l'HE de *L. stoechas* récoltées dans la région de Tissemsilt par CG/SM a révélé une diversité de constituants chimiques. En effet, 40 composés ont été identifiés, chacun contribuant à la complexité et à la richesse de la composition. Les principaux monoterpènes identifiés sont la fenchone à 44,30%, le camphre à 21,53% et le 1,8-cinéol à 7,49%. On note la présence du camphène à 1,46%, le bornyl acétate à 4,16% et le fenchyne acétate à 1,04%. La fenchone et le camphre sont les 2 constituants majoritaires de l'HE analysée. Ces monoterpènes oxygénés sont caractéristiques du profil chimique de cette HE. Le chémotype de l'HE *L. stoechas* pour la région de Tissemsilt est la fenchone.

Parmi les sesquiterpènes détectés, on note la présence de ledol avec un taux de 1,98%. Bien que minoritaire, le ledol apporte une note sesquiterpénique à l'odeur de cette HE. Les autres sesquiterpènes sont présents à l'état de traces.

En ce qui concerne l'espèce *L. stoechas*, la fenchone et le camphre dominent dans les deux régions de récolte, mais leurs proportions varient. Nos résultats pour l'HE de *L. stoechas* de la région de Blida (fenchone 37%, camphre 9%) et la Région de Tissemsilt (fenchone 45%, camphre 22%) s'inscrivent dans la gamme des valeurs rapportées dans la littérature. Ils sont comparables aux

résultats de LOUKHAOUKHA [265] (40,78% de fenchone, 9,76% de camphre) [265] et de DOB et *al.*, [11] (45,63% de fenchone, 11,27% de camphre). NOUREDDINE et *al.*, [236] ont observé des teneurs similaires avec 39,0% de α -fenchone et 18,5% de camphre. Cependant, BAALI et *al.*, [248] ont rapporté des valeurs différentes, avec une teneur de 24,3% en fenchone et 26,5% en camphre. L'étude de BENABDELKADER et *al.*, [12] souligne la grande variabilité entre les populations algériennes, avec des teneurs en fenchone allant de 0,1% à 37,0% et en camphre de 3,5% à 48,4%. La région influence les proportions relatives.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus dans d'autres pays méditerranéens, confirmant ainsi la prédominance de la fenchone dans la composition ou le chémotype [251], [254], [266], [239], [253], [91], [267]. Une autre étude a révélé que la pulegone (40,4 %), le menthol (18,1 %) et la menthone (12,6 %) étaient les principaux composés de l'HE obtenue à partir des parties aériennes de la même sous-espèce collectée dans l'ouest de la Turquie [268].

Selon SENATORE [269], la présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs, qui sont le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante. Elle dépend aussi des conditions climatiques et géographiques [270] qui changent d'une région à une autre et à la période de la cueillette [271] ainsi que la méthode d'extraction [272].

En effet, la qualité de l'HE et en particulier la teneur en linalol chez *L. angustifolia* varie considérablement du développement des fleurs [260], [261]. KALOUSTIAN et *al.*, (2000) ont rapporté que la teneur en linalol a augmenté pendant la fin de la floraison [273]. De plus une concentration plus élevée en linalol et en terpinène-4-ol a été observé à un stade avancé de floraison chez *L. angustifolia* et \times *intermedia* [210]. Ce résultat suggère que la biosynthèse du linalol est régulée pendant la période de floraison par des signaux environnementaux et de développement [261]. Ces différences peuvent aussi être causées par des processus tels que l'hydrolyse, la dégradation thermique et les réarrangements moléculaires qui sont favorisés au cours de la méthode d'hydrodistillation [274]. En effet l'acétate de linalyle présent en grande quantité dans l'HE de *L. angustifolia* s'hydrolyse pendant la distillation pour donner du linalol. Une diminution de la proportion d'acétate de linalyle au profit du linalol

entraîne une modification du parfum mais également une modification des propriétés thérapeutiques de l'HE qui sera par exemple moins antispasmodique mais plus antiseptique [275]. Cependant, il a été déterminé qu'une plante *L. angustifolia* Miller poussant à haute altitude produisait jusqu'à 10% d'esters (acétate de linalyle) en comparaison avec une plante qui se développe à une altitude moyenne. La différence est la même pour une plante soumise à la sécheresse [276]. CHOGRANI et *al.*, (2010) ont également observé une variation phytochimique de l'HE foliaire d'une autre espèce du genre *L. multifida* appartenant à la même zone bioclimatique, cette variation peut être expliquée par des facteurs génétiques [277].

Une étude menée par ZRIRA et BENJILALI [278] a mis en évidence l'impact de la sous-espèce sur le chimiotype de l'HE. L'HE de *L. stoechas* subsp. *atlantica* : le camphre est majoritaire à 39% alors que la fenchone ne représente que 9%. A l'inverse, pour *L. stoechas* subsp. *stoechas* : c'est la fenchone qui domine à 30%, le camphre n'étant présent qu'à 18%. Les 2 présentent des chemotypes différents, camphré pour subsp. *atlantica* et fenchonné pour subsp. *stoechas*. Cette variation pourrait être expliquée par des adaptations métaboliques propres à chaque sous-espèce, influencée par des facteurs environnementaux tels que le climat, l'altitude et le sol.

Une étude a clairement démontré la variation de la composition chimique de l'HE de *L. stoechas* selon les organes de la plante. L'étude menée par BARHOUCHE et *al.*, [279] révèle une concentration plus élevée en fenchone dans l'huile extraite des fleurs (52,7%) par rapport à celle des feuilles (25,9%). En revanche, le camphre domine dans l'huile extraite des feuilles (25,94%) par rapport à celle des fleurs (8,6%). Cette variation dans les proportions relatives des composés majoritaires selon l'organe distillé peut s'expliquer par une biosynthèse et une accumulation différentielle des métabolites secondaires au niveau des tissus floraux versus foliaires.

3.3 Contrôle microbiologique des parties séchées

Les plantes médicinales sont exposées à de nombreuses attaques par les microorganismes tels que les bactéries et les moisissures [186].

Les interprétations du contrôle microbiologiques des plantes sèches sont basées sur les critères établis par l'arrêté ministériel paru dans le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire numéro 39 de l'année 2017. Cet arrêté définit les normes de qualité et d'hygiène à respecter pour les épices, le mélange d'épices et les herbes aromatiques séchées.

A. *L. angustifolia*

Les résultats du contrôle microbiologiques des fleurs séchées de *L. angustifolia* récoltées à Blida et Chlef sont présentés dans les tableaux 3.21 et 3.22.

Tableau 3.21 : Résultat du contrôle microbiologique des fleurs séchées de *L. angustifolia* de la région de Blida.

Microorganisme recherché	Résultats			Dénombrement	Limites UFC/g	Interprétation
	Inoculum (1ml)	24h	48h			
Germes aérobies à 30°C	10 ⁻¹	10	10	N = 90.9	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻³	00	00			
	10 ⁻⁴	00	00			
<i>E coli</i>	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ²	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00	00			
Clostridiiums Sulfito-réducteurs	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
Staphylo-coques à coagulase positive	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
<i>B. cereus</i>	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
	10 ⁻³	00				
Salmonelle	10 ⁻¹	Abs		Abs	Absence de germe dans 25g	Résultat conforme aux normes
Moisissures	72 h	96h	120h	Abs	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻³	00	00			

Tableau 3.22 : Résultats du contrôle microbiologique des fleurs sèches de *L. angustifolia* de la région de Chlef.

Micoorganisme recherchés	Résultats			Dénombrement	Limite UFC/g	Interprétation
	Inoculum (1ml)	24h	48h			
Germes aérobies à 30°C	10 ⁻¹	11	13	181,81	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	4	7			
	10 ⁻³	00	00			
	10 ⁻⁴	00	00			
<i>E coli</i>	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ²	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00	00			
Clostridiu.ms Sulfito- réducteurs	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
Staphylo-coques à coagulase positive	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
<i>B. cereus</i>	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
	10 ⁻³	00				
Salmonelle	10 ⁻¹	Abs		Abs	Absence de germe dans 25g	Absence de germe dans 25g
Moisissures	72 h	96h	120h	Abs	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻³	00	00			

Les résultats de cette analyse microbiologique sont conformes aux normes pour tous les paramètres évalués, indiquant une bonne qualité microbiologique des fleurs de *L. angustifolia* récoltées dans deux régions différentes (Blida et Chlef).

C. *L. stoechas*

Les résultats du contrôle microbiologiques des parties aériennes fleuries et séchées de *L. stoechas* récoltées à Blida et Tissemsilt sont rapportés dans le tableau 3.23, 3.24.

Tableau 3.23 : Résultats du contrôle microbiologique des parties aériennes fleuries *L. stoechas* récoltées de Blida.

Micoorganisme recherchés	Résultats			Dénombrement	Limite UFC/g	Interprétation
	Inoculum (1ml)	24h	48h			
Germes aérobies à 30°C	10 ⁻¹	15	15	190,90	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	6	6			
	10 ⁻³	00	00			
	10 ⁻⁴	00	00			
<i>E coli</i>	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ²	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00	00			
Clostridiiums Sulfito-réducteurs	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
Staphylo-coques à coagulase positive	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
<i>B. cereus</i>	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
	10 ⁻³	00				
Salmonelle	10 ⁻¹		Abs	Abs	Absence de germe dans 25g	Absence de germe dans 25g
Moisissures	72 h	96h	120h	Abs	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻³	00	00			

Tableau 3.24 : Résultats du contrôle microbiologique des parties aériennes fleuries *L. stoechas* récoltées à Tissemsilt.

Micoorganisme recherchés	Résultats			Dénombrement	Limite UFC/g	Interprétation
	Inoculum (1ml)	24h	48h			
Germes aérobies à 30°C	10 ⁻¹	16	16	145,45	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻³	00	00			
	10 ⁻⁴	00	00			
<i>E coli</i>	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ²	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00	00			
Clostridiums Sulfito- réducteurs	10 ⁻¹	00	00	Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
Staphylo-coques à coagulase positive	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
<i>B. cereus</i>	10 ⁻¹	00		Abs	10 ³	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻²	00				
	10 ⁻³	00				
Salmonelle	10 ⁻¹	Abs		Abs	Absence de germe dans 25g	Absence de germe dans 25g
Moisissures	72 h	96h	120h	Abs	10 ⁴	Résultat conforme aux normes
	10 ⁻¹	00	00			
	10 ⁻²	00	00			
	10 ⁻³	00	00			

A partir des résultats résumés dans les tableaux 3.21, 3.22, 3.23 et 3.24, nous constatons que le contrôle microbiologique s'est révélé négatif, démontrant l'absence de microorganismes contaminants et de germes pathogènes recherchés. Cependant, il est important de noter que la présence de germes aérobies à 30°C n'est pas nécessairement un signe de contamination dangereuse ou de mauvaise qualité, tant que leur niveau reste dans les limites acceptables définies par les normes en vigueur pour les plantes médicinales. Ces normes tiennent compte du fait qu'une certaine charge microbienne est inévitable et acceptable pour ce type de produit.

Un nombre restreint de travaux mentionne la détection de micro-organismes spécifiques dans les produits à base de plantes. Diverses études ont conclu à l'absence de *S. aureus* et de *Salmonella spp.* dans les échantillons analysés [186]. Cependant, KABELITZ et SIEVERS ont montré qu'un pourcentage de 3,3% des échantillons ont présenté des tests positifs de présence de salmonelles, probablement en raison de la contamination par des animaux nuisibles et des engrais organiques pendant la culture [280]. Plusieurs auteurs ont rapporté la présence fréquente de *B. cereus* et *Clostridium perfringens*, dans les plantes médicinales et leurs dérivés [281], [282], [283]. Cependant, selon CZECH et *al.*, [281], *B. cereus* et *Clostridium perfringens* ne sont pas détectés à des concentrations pouvant poser un réel risque toxique. Selon ALEXANDER et *al.*, [282], l'absence de bactéries pathogènes devrait être considérée comme le critère de qualité le plus approprié [186].

L'utilisation d'une solution hydro-alcoolique pour l'extraction des matières premières pourrait être une méthode efficace pour réduire la présence de germes, car des études ont démontré des corrélations entre la concentration en éthanol et le nombre total de germes aérobies mésophiles [284]. Toutefois, seules les concentrations les plus élevées en éthanol (60 à 80%) entraînent des effets décontaminants significatifs [284]. Les souches à gram négatif, sont très sensibles à la chaleur et aux solutions éthanoliques. En conséquence, la microflore résiduelle est principalement composée de bactéries endospores. Les extractions hydro-alcooliques avec chauffage produisent généralement des produits présentant un nombre relativement faible de germes viables ($< 10^4/\text{ml}$) [186].

Les conditions insalubres lors de la plantation, de la récolte, du traitement, du stockage et du transport des plantes médicinales favorisent la croissance de moisissures et la production de mycotoxines. Parmi les nombreux facteurs influençant l'apparition de ces toxines, on peut citer le génotype de la plante, la souche de champignon et les conditions environnementales sont parmi les facteurs les plus importantes [283].

3.4 Résultats des activités biologiques

3.4.1 Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles

L'activité antioxydante des HEs de *L. angustifolia* et *L. stoechas*, ainsi que les standards (Acide ascorbique et l' α -tocophérol) est évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition IC50 sont inversement liées à la capacité antioxydante d'un composé.

A. *L. angustifolia* récoltée à Blida

L'estimation de l'activité antioxydante IC 50 de L'HE des échantillons de *L. angustifolia* récoltés à Blida et Chlef, ainsi que les 2 standards à savoir, l'acide ascorbique et l' α tocophérol est mentionnée dans le tableau 3.25 et la figure 3.42.

Tableau 3.25 : Activité antioxydante des huiles essentielles de *L. angustifolia*.

Echantillons	Activité du piégeage du DPPH [*] (IC ₅₀ µg/ml)
<i>L. angustifolia</i> (Blida)	246,29 ± 0,71
<i>L. angustifolia</i> (Chlef)	372,83 ± 0,97
Acide ascorbique	3,779± 0,62
α -tocophérol	10,66 ± 0,34

*valeur en moyenne ± écart type (n=3)

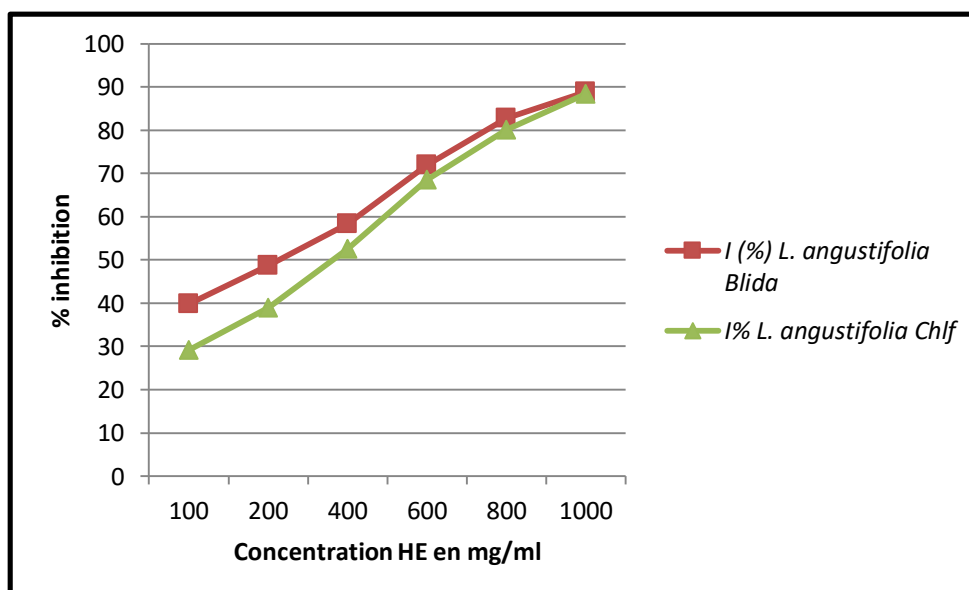


Figure 3.42 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *L. angustifolia* dans les deux régions de récolte.

Les résultats de l'activité antioxydante DPPH, exprimés en pourcentage de l'activité antiradicalaire, des HEs de *L. angustifolia* montrent que pour le même intervalle de concentration (0,1-1 mg/ml), à la concentration la plus élevée de 1 mg/ml, l'HE de *L. angustifolia* de la région de Blida a une activité de piégeage envers le DPPH de 89,89% (Blida) et 88,45% (Chlef) (figure 3.42).

Les IC50 obtenues sont représentées dans le tableau 3.25. D'après les résultats obtenus, l'HE de *L. angustifolia* de la région de Blida a montré une activité plus élevée ($246,29 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$) comparée à celle de l'HE de *L. angustifolia* Chlef ($372,83 \pm 0,97 \mu\text{g/ml}$). Cependant, cette activité antioxydante de l'HE pour les deux régions reste faible par rapport à l'acide ascorbique et l' α tocophérol avec respectivement $3,779 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$ et $10,66 \pm 0,34 \mu\text{g/ml}$.

L'analyse de variance (ANOVA) effectuée sur les valeurs des concentrations IC50 n'a pas révélé de différence statistiquement significative entre les IC50 des HEs pour les deux régions comparées ($p < 0.05$) (Appendice G).

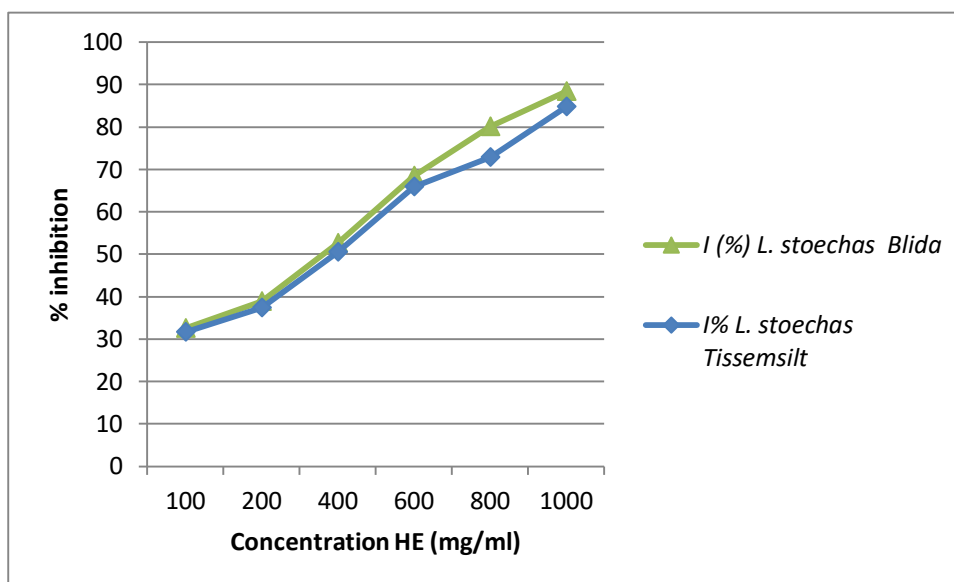
Les résultats de l'étude sur l'activité antioxydante de *L. angustifolia* correspondent aux travaux antérieurs menés sur la même espèce de lavande. Les résultats obtenus par HAMAD et al., [285] pour *L. angustifolia* cultivée en Irak ($216 \mu\text{g/ml}$) ainsi que par HUSSAIN et al., [286] pour *L. angustifolia* cultivée au Pakistan ($289 \pm 8,5 \mu\text{g/ml}$) corroborent avec nos résultats. En revanche, une étude menée par NIKSIK et al., sur *L. angustifolia* qui évolue en Bosnie-Herzégovine a révélé une valeur plus élevée, soit $421 \mu\text{g/ml}$ [287]. D'autres recherches sur la même espèce ont abouti à des résultats divergents, avec des valeurs allant de $22110 \pm 1,18 \mu\text{g/ml}$ à $28000 \mu\text{g/ml}$ et $27670 \pm 0,56 \mu\text{g/ml}$ [49], [288], [289]. En comparaison, les activités antioxydantes de tous les échantillons récoltés à Blida et Chlef sont nettement inférieures à celle obtenue pour *L. angustifolia* récoltée en Italie par GARGOLI et al., [290] qui ont rapporté des valeurs de $7,75 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$.

A. *L. stoechas*

L'évaluation de l'activité antioxydante de L'HE de *L. stoechas* dans les deux régions de récolte sont représenté par le tableau 3.26.

Tableau 3.26 : Activité antioxydante des huiles essentielles de *L. stoechas*.

Echantillons	Activité du piégeage du DPPH [*] (IC ₅₀ µg/ml)
<i>L. stoechas</i> (Blida)	204,08 ± 3,10
<i>L. stoechas</i> (Tissemsilt)	399.47 ± 0,98

Figure 3.43 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *L. stoechas* dans les deux régions de récolte.

À une concentration de 1 mg/ml, l'HE de *L. stoechas* provenant de la région de Blida montre une activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH, avec des taux de piégeage de 84,45% (Blida) et 84,58% (Tissemsilt), respectivement (figure 3.43).

Les résultats assemblés dans le tableau 3.26 indiquent que l'HE de *L. stoechas* provenant de Blida a présenté une activité antioxydante plus prononcée, mesurée à 204,08 ± 3.10 µg/ml, en comparaison à celle provenant de Tissemsilt, évaluée à 399, 48 ± 0,98 µg/ml.

L'analyse de variance (ANOVA) effectuée sur les valeurs des concentrations IC₅₀ n'a pas révélé de différence statistiquement significative entre les IC₅₀ des HE entre les deux régions comparées ($p < 0.05$) (Appendice G).

La comparaison de l'activité antioxydante de *L. stoechas* entre les 2 régions démontre une meilleure activité par rapport aux résultats obtenus par MOHAMMEDI et ATIK (2019) pour la même espèce cultivée à Tlemcen [15]. Ces auteurs ont rapporté une IC50 de $1852,76 \pm 55,74 \mu\text{g/ml}$. De même, les résultats obtenus dans cette étude sont supérieurs à ceux obtenus par BARKAT et LAIB (2020) pour *L. stoechas* récoltée à Constantine, avec une IC50 de $584 \pm 0,58 \mu\text{g/ml}$ [291], ainsi qu'à ceux obtenus par BAALI et al., (2018) avec $4,04 \pm 0,047 \text{ mg/ml}$ pour *L. stoechas* qui évolue à Bouira [248]. En outre, les activités antioxydantes obtenues sont également supérieures à celle rapportée dans une étude de la même espèce cultivée au Maroc, avec une IC50 de $785,38 \pm 9,04 \mu\text{g/ml}$ [292]. Les mêmes résultats ont été obtenus par MESSAOUD et al., (2012) pour *L. stoechas* évoluant en Tunisie, dont la valeur est de $2321,7 \mu\text{g/ml}$ [239]. Toutefois, l'étude menée sur 5 cultivars de *L. stoechas* évoluant en Thaïlande [293], montre des IC50 qui varient de $67,65$ à $363,38 \mu\text{g/ml}$, on note que cette activité reste tout de même inférieure. Notre activité antioxydante est faible comparée aux IC50 rapportées par BEN ALBDELKADER et al., (2011) [12], qui varient de $5,10$ à $32,42 \mu\text{g/ml}$, ainsi qu'aux résultats de $0,17 \mu\text{g/ml}$ rapportés par LEE et al., (2016) pour *L. stoechas* récoltée à Taiwan [294].

Les composés phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont reconnus pour leur puissant effet antioxydant [295]. Dans notre étude, les activités antioxydantes modérées des HEs de *L. angustifolia* et *L. stoechas* sont peut être dûes à l'absence de ces composés phénoliques dans les HEs. Cependant, Il est difficile d'attribuer l'effet antioxydant d'une HE totale à un ou plusieurs composés actifs. Les composés mineurs et majeurs réagissent dans leur totalité en synergie pour une action significative de l'HE [296]. Certains composés terpéniques tels que le 1,8-cinéole, la fenchone et le terpinolène ont été identifiés comme ayant des propriétés antioxydantes, bien que leurs mécanismes antioxydants ne soient pas complètement élucidés [293]. Par ailleurs, selon EL HAMDAOUI, le 1,8-cinéole a été identifié comme étant le composé le plus efficace pour réduire de la production de composés réagissant avec l'oxygène par rapport aux autres monoterpènes [297]. De plus, l' α -pinène et l' α -phellandrène ont été identifiés pour leur capacité à réagir rapidement avec les radicaux, entraînant une rapide

interruption des réactions en chaîne d'oxydation, réduisant ainsi le nombre de radicaux réactifs [298].

En effet, dans les deux études menées séparément par LIS-BALCHIN et DEANS (1997) et LIS-BALCHIN (2002), il a été rapporté qu'il n'y a pas de corrélation entre le pourcentage des composants majoritaires tel que le linalol et l'acétate de linalyle avec l'activité antioxydante des HEs extraites de lavande [299]; [22]. Néanmoins, il a été observé que l'aptitude d'un composé antioxydant est capable de piéger le DPPH qui se fait principalement grâce à sa capacité à libérer des molécules d'hydrogène. Ceci est dû à l'abondance des groupes fonctionnels tels que les monoterpènes hydrocarbures [300] et les monoterpènes oxygénés [301].

Les variations des propriétés antioxydantes des HEs peuvent être dues aux différentes méthodes d'évaluation utilisées [302]. D'autres facteurs, y compris l'espèce végétale et la partie utilisée, la saison de récolte, l'origine géographique et la méthode d'extraction, peuvent également influencer leur activité antioxydante.

3.4.2 Évaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles

Nous avons évalué l'impact des HEs extraites de *L. angustifolia* et *L. stoechas* sur la mortalité des adultes de *T. castaneum*. L'expérience comprenait des boîtes traitées avec ces HEs ainsi que des boîtes témoins sans traitement. Les observations du groupe témoin n'ont révélé aucune mortalité ni changement comportemental, confirmant l'absence de mortalité naturelle durant la période d'étude.

Les doses létales DL50 et DL90 sont déterminées à partir des courbes de régression. Ces courbes représentent la mortalité, convertie en unités probit, en fonction du logarithme décimal des doses administrées.

3.4.2.1 Évaluation de la mortalité des adultes de *T. castaneum* traités par l'huile essentielle de *L. angustifolia* par effet de fumigation.

Les résultats obtenus pour les deux régions de récolte sont regroupés dans le Tableau 3.27 et figure 3.44 ci- dessous.

Tableau 3.27 : Activité insecticide des huiles essentielles de *L. angustifolia* vis-à-vis de *T. castaneum* après 24h de traitement.

Dose (µl/ml air)	Mortalité ± SD	
	<i>L. angustifolia</i> (Blida)	<i>L. angustifolia</i> (Chlef)
8	55,55 ± 3,85	57,66 ± 6,29
10	68,89 ± 3,85	68,89 ± 3,85
15	84,45 ± 3,85	82,22 ± 3,85
25	97,77 ± 3,85	95,55 ± 3,85
45	100 ± 0,0	100 ± 0,0
65	100 ± 0,0	100 ± 0,0
DL 50 (µl/l air)	7	7,77
DI 90 (µl/l air)	16,22	17,69

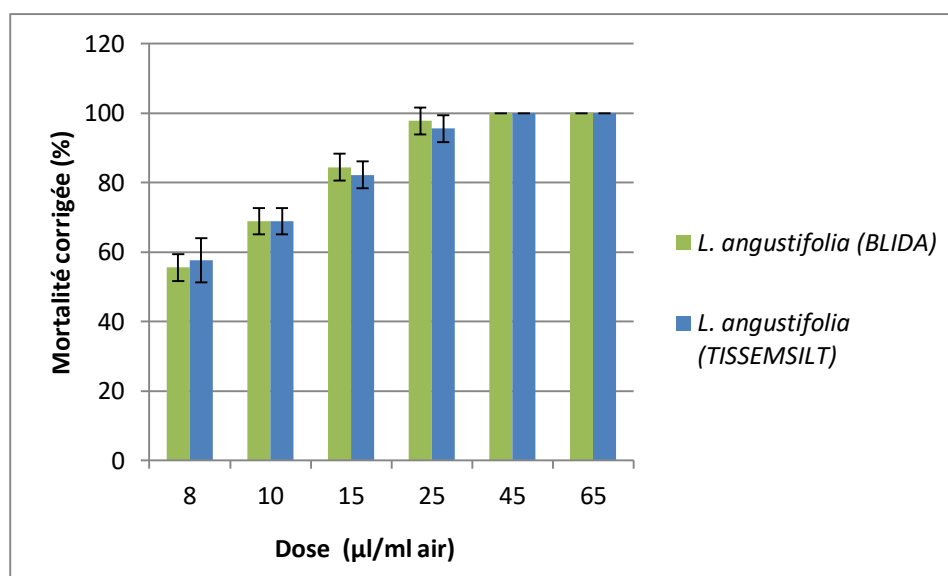


Figure 3.44 : Pourcentage de Mortalité par effet de fumigation des huiles essentielles de *L. angustifolia* vis-à-vis de *T. castaneum* dans les deux régions de récolte.

Selon les données du tableau 3.27 et de la figure 3.44, il est observé que le taux de mortalité chez *T. castaneum* augmente de manière proportionnelle à la concentration des HEs testées. À la plus faible dose de l'HE de *L. angustifolia* (8 µl/ml air), une mortalité moyenne de 55,56% et 57,78% a été enregistrée respectivement pour les régions de Blida et Chlef après une exposition de 24 heures. À la dose 45 µl/ml air, une mortalité totale (100%) a été observée dans les deux régions. Aux concentrations intermédiaires de 10 à 25 µl/ml air, l'huile *L. angustifolia* de Blida semble légèrement plus efficace que *L. angustifolia* de Chlef pour induire la mortalité.

L'analyse des Probits a montré qu'après 24 heures d'exposition, *L. angustifolia* provenant de la région de Blida présentait une DL50 de 7 µl/l et une DL90 de 16,22 µl/l, démontrant une plus grande susceptibilité par rapport à *L. angustifolia* de la région de Chlef, qui affichait une DL50 de 7,77 µl/l et une DL90 de 17,69 µl/l.

L'analyse de variance (ANOVA) a montré des différences significatives entre les DL50 et les DL90 des deux HEs de *L. angustifolia* récoltée à Blida et Chlef. Plus précisément, on observe une différence très significative ($0,001 < p \leq 0,01$) pour les DL50, tandis que la différence est très hautement significative ($p \leq 0,001$) pour les DL90 de ces deux HEs (APPENDICE H.2).

En résumé, bien que les deux HEs aient un effet insecticide similaire sur le *Tribolium*, la concentration utilisée a un impact très prononcé sur les taux de mortalité observés.

L'effet insecticide de certaines HEs de la famille des Lamiaceae a déjà été évalué contre plusieurs insectes ravageurs de produits stockés [303], [304], [305], [306]. Nos résultats indiquent que les HEs de *L. angustifolia* récoltée dans les deux régions (Blida et Chlef), évaluées dans les essais contre *T. castaneum*, présentent une toxicité supérieure par rapport à l'étude menée par GHARSAN et al., [307] où l'HE de *L. angustifolia* a montré une DL50 de 2,4 µl/ml. OVIEDO-SARMIENTO et al., (2021) [308] ont montré un effet appréciable suite à une fumigation de *L. angustifolia* contre *T. castaneum* avec une DL50 de 34,144 µl/l d'air. NCIBI et al., (2019) [309], ont démontré que l'HE de *L. angustifolia* présentait

une activité insecticide par fumigation contre les adultes de *T. castaneum* avec une DL50 > 150 µl/l d'air.

D'autres études démontrent l'effet fumigant de l'HE de *L. angustifolia* contre différents ravageurs de grains stockés. Selon GERMINARA et *al.*, en 2017 [310], l'HE de *L. angustifolia* a démontré une toxicité accrue envers *S. granarius*, avec une DL50 de 1,8 µl/l d'air. LAZNIK et *al.* en 2012 [311], ont également étudié cette HE contre *S. granarius* et ont trouvé une DL50 de 16,0 µl/l d'air en présence de nourriture.

3.4.2.2 Évaluation de la mortalité des adultes de *T. castaneum* traités par l'huile essentielle de *L. stoechas* par effet de fumigation.

Les résultats de l'effet insecticide par fumigation de l'HE de *L. stoechas* récoltée à Blida et Tissemsilt, sur *Tribolium castaneum* sont présentés dans le tableau 3.28 et la figure 3.45. Les taux de mortalité ont été déterminés pour différentes doses des HE, allant de 8 à 65 µl/ml d'air.

Tableau 3.28 : Activité insecticide des huiles essentielles de *L. stoechas* vis-à-vis de *T. castaneum* après 24h de traitement.

Dose (µl/ml air)	Mortalité ± SD	
	<i>L. stoechas Blida</i>	<i>L. stoechas Tissemsilt</i>
8	42,16 ± 3,15	22,22 ± 3,85
10	55,55 ± 3,85	66,67 ± 0,0
15	64,44 ± 3,85	88,89 ± 3,84
25	80 ± 0,0	100 ± 0,0
45	97,67 ± 4,04	100 ± 0,0
65	100 ± 0,0	100 ± 0,0
DL 50	10,23	9,55
DL 90	24,55	19,95

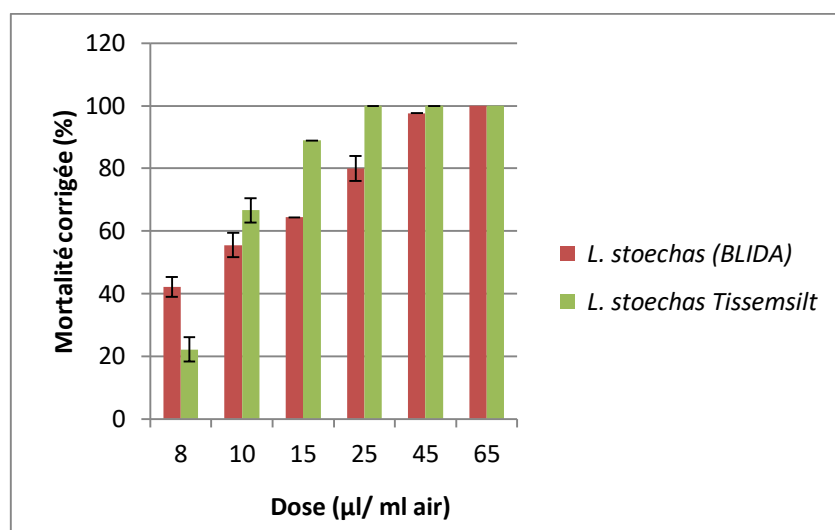


Figure 3.45 : Pourcentage de Mortalité par effet de fumigation des huiles essentielles de *L. stoechas* vis-à-vis de *T. castaneum* dans les deux régions de récolte.

Les résultats (tableau 3.28 et figure 3.45) ont révélé un effet insecticide dose-dépendant pour les deux HEs, avec une augmentation marquée de la mortalité à mesure que la concentration augmentait. L'analyse a révélé une différence marquée entre les compositions des HEs de *L. stoechas* obtenues dans la région de Blida et Tissemsilt.

À faible concentration (8 µl/ml d'air), *L. stoechas* récoltée à Blida s'est avérée plus efficace, entraînant 42,16% de mortalité contre 22,22% pour *L. stoechas* récoltée à Tissemsilt. En revanche, au-delà de 15 µl/ml d'air, l'HE de *L. stoechas* récoltée à Tissemsilt est devenue plus performante, atteignant 100% de mortalité à 25 µl/ml d'air, contre 80% pour *L. stoechas* provenant de Blida à cette même concentration.

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) ont révélé des différences hautement significatives entre les DL50 et les DL90 des HEs testées dans les deux régions, avec une valeur $p < 0,001$ (APPENDICE H.2).

L. stoechas récoltée à Tissemsilt présente des valeurs de DL50 et DL90 plus faibles (9,55 et 19,95 µl/l respectivement) que *L. stoechas* récoltée à Blida (10,23 et 24,55 µl/l), indiquant une plus grande efficacité insecticide de *L. stoechas* provenant de Tissemsilt à ces doses spécifiques.

Ces résultats sont cohérents avec les études antérieures démontrant l'efficacité insecticide des HEs de *L. stoechas*. Les travaux d'EBADOLLAHI et *al.*, [312] ont montré que l'HE de *L. stoechas*, utilisée contre *T. castaneum*, présentait une DL50 de 39,7 µl/l d'air après 24 heures de traitement. BACHIRI et *al.*, [313] ont évalué l'effet insecticide des HEs de *L. stoechas* et *L. pedunculata*. Ils ont montré une forte activité contre *T. castaneum*, causant la mortalité de tous les individus après 2 jours de traitement (À la dose de 100 µl). L'HE de *L. stoechas* a montré une activité insecticide contre *Anopheles labranchiae* (un vecteur de la transmission du paludisme) avec une DL50 de 112,5 mg/l [314]. De plus, une bonne activité insecticide contre *Sitophilus granarius* et *S. oryzae* a été révélée pour l'HE de *L. stoechas* [315].

Les recherches menées par WAGNER et *al.*, [316] ont mis en évidence une forte activité insecticide de l'HE de l'espèce *L. dentata* contre *T. castaneum*, avec des valeurs de DL50 de 11,3 µl/l d'air (essai sans nourriture) et 29,3 µl/l d'air (essai avec nourriture).

Les monoterpènes sont généralement des composés volatils et plutôt lipophiles, capables de pénétrer rapidement dans les insectes et d'interférer avec leurs fonctions physiologiques [317]. La relation entre la toxicité fumigène et la structure des monoterpènes contre *T. castaneum* a été précédemment rapportée [318]. Dans notre étude, l'effet toxique de l'HE de *L. angustifolia* sur *T. castaneum* pourrait être attribué à ses composants monoterpéniques tels que le linalol (41,25%- 41,71%), le camphre (14,47%- 12,54%), le 1,8-cinéole (9,94%-7,13%), le terpen-4-ol (9,90%-7,25%). Pour *L. stoechas*, il pourrait être due à la prédominance de la fenchone (36,36 %- 44,30%), du camphre (8,21% - 21,53%), du 1,8-cinéole (14,01% - 7,49%) suivis de l'acétate de bornyle (0,99% - 4,16%) et de l'acétate de lavandulyle (2,44% - 4,00%). De nombreuses études font état des activités insecticides du 1,8-cinéol contre les insectes ravageurs des produits stockés [319], [320], [321]. Les études de LEE et *al.*, (2003) [322] ont montré que le 1,8-cinéole, le 1-fénone et la pulégone ont un effet fumigant sur *T. castaneum* à des doses élevées. Une remarquable toxicité fumigène a été signalée pour le 1,8-cinéole, le linalol, le bornéol, le camphre et l'acétate de linalyle des HEs de *L. angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis* contre

Sitophilus oryzae et *Rhyzopertha dominica* [323]. QIANTAI et YONGCHENG (1998) [324] ont évalué l'efficacité du camphre, principal composant des HEs de *Cinnamomum cassia* Blume, *Illicium verum* Hook.f. et *Cinnamomum camphora* (L.), contre *Rhyzopertha dominica*, *S. zeamais* et *T. castaneum*. Les résultats ont montré que le camphre est efficace contre *S. zeamais* et *Rhyzopertha dominica*, tandis qu'il a une action répulsive mais pas insecticide contre *T. castaneum*. De plus, la toxicité de linalool a été également confirmée contre *T. castaneum* et *Oryzaephilus surinamensis* [325] et contre *S. zeamais* [326], [327] avec une relation dose-réponse.

Le 1,8-cinéole, la fenchone et le camphre sont connus pour agir au niveau du système nerveux en inhibant l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) chez les insectes nuisibles des grains stockés ainsi que chez les insectes phytophages en général [328], [329], [330], [331].

L'activité insecticide varie en fonction de l'espèce d'insecte, des concentrations d'huile et du temps d'exposition. On peut conclure que les produits à base d'HE sont généralement à large spectre, en raison de la présence de plusieurs composés actifs agissant via plusieurs modes d'action [332]. Dans l'ensemble, les effets des différentes HEs sur une même espèce et d'une même huile sur des espèces d'insectes différentes sont très variables. Les variations importantes des effets des HEs sur différents insectes, voire sur différents stades de développement du même insecte, peuvent s'expliquer par des différences marquées dans l'activité métabolique et l'importance des cibles des composés actifs. Certains constituants des HEs aromatiques sont reconnus pour leurs effets neurotoxiques, tandis que d'autres sont supposés agir sur les régulateurs de croissance des insectes, tels que les hormones [165], [333], [334].

L'HE extraites à partir des fleurs de *L. angustifolia* et des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* récoltées ont montré une bonne toxicité fumigène contre les adultes du *T. castaneum*, confirmant son potentiel en tant qu'alternative naturelle aux insecticides synthétiques pour le contrôle des insectes ravageurs des produits stockés.

3.4.3 Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

3.4.3.1 Évaluation qualitative de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs de *L. angustifolia* et *L. stoechas* a été réalisée par la technique de diffusion sur disque d'agar vis-à-vis de 4 souches bactériennes, une levure et un champignon.

A. *L. angustifolia*

Dans le tableau 3.29 sont reportés les diamètres d'inhibition des HEs et des antibiotiques et antifongique de référence utilisés.

Tableau 3.29 : Les zones d'inhibition de l'huile essentielle de *L. angustifolia* et des antibiotiques contre les microorganismes étudiés.

Micro-organisme	Zone d'inhibition en mm						
	<i>L. angustifolia</i> (Blida)	<i>L. angustifolia</i> (Chlef)	DMSO	C 30	CIP 5	CN 10	AMB
<i>E. coli</i>	13,5 ± 0,5	12 ± 0,00	< 6	22	34	20	-
<i>B. subtilis</i>	30 ± 0	46,5 ± 0,78	< 6	21	36	16	-
<i>S. aureus</i>	41,33 ± 1,15	51,33 ± 1,15	< 6	26	30	23	-
<i>P. aeruginosa</i>	10 ± 0,00	8 ± 0,00	< 6	< 6	35	17	-
<i>C. albicans</i>	20,33 ± 0,58	23,6 ± 1,15	-	-	-	-	22,0
<i>A. brasiliensis</i>	< 6	< 6	-	-	-	-	-

On constate (tableau 3. 29) que les HEs *L. angustifolia* provenant de la région de Blida et Chlef présentent des profils d'activité variés selon les souches microbiennes. La souche *E. coli*, est légèrement sensible avec des zones de 13,5 mm pour *L. angustifolia* (Blida) et 12 mm pour *L. angustifolia* (Chlef), nettement inférieures à la CIP (34 mm) très fortement sensible. De même sur la souche *P. aeruginosa*, avec des zones inférieures à 10 mm, elles sont considérées résistantes comparées à la forte activité de la CIP (35 mm).

Sur *B. subtilis*, L'HE de *L. angustifolia* provenant de la région de Chlef se démarque avec une zone de 46,5 mm, supérieure à celle de la CIP (36 mm), tandis que *L. angustifolia* récoltée à Blida (30 mm) est au niveau de l'antibiotique. Son activité est encore plus remarquable contre *S. aureus*, avec des zones

d'inhibition de 41,33 mm pour *L. angustifolia* (Blida) et 51,33 mm pour *L. angustifolia* (Chlef), dépassant largement la CIP (30 mm) et la C 30 (26 mm).

Pour *C. albicans*, les zones de 20,33 mm pour *L. angustifolia* (Blida) et 23,6 mm pour *L. angustifolia* (Chlef) témoignent d'une forte sensibilité de la levure à ces huiles. *L. angustifolia* (Chlef) se distingue par son efficacité, surpassant même l'AMB, un antifongique de référence (22 mm). Bien que légèrement moins puissante que l'amphotéricine, *L. angustifolia* (Blida) présente également une activité antifongique notable. En revanche, aucune zone d'inhibition n'a été observée sur *A. brasiliensis*, signifiant une résistance totale à ces HEs.

Le témoin négatif qui est DMSO n'a présenté aucune inhibition pour les deux bactéries testées séparément.

La comparaison des moyennes (test HSD de Tukey) entre l'HE de *L. stoechas* et tous les antibiotiques testés a révélé une différence très hautement significative ($P < 0,01$) pour toutes les souches bactériennes étudiées (Appendice I2).

La comparaison des moyennes (test ANOVA) de l'effet de l'HE de *L. angustifolia* sur les différentes souches bactériennes montre que les bactéries Gram négatif sont moins sensibles que les bactéries Gram positif (Appendice I.2). En effet, *S. aureus* et *B. subtilis* ont montré une sensibilité très forte à l'action des HEs de *L. angustifolia* (provenant de Blida et Chlef) par rapport aux antibiotiques, à l'exception de la CIP 5, qui a montré une forte activité sur *B. subtilis* (Appendice I.2).

P. aeruginosa s'est montrée résistante à la gentamicine C2 (30 µg), tandis que la gentamicine CN (10 µg) et la CIP 5 ont produit un effet significatif avec une vaste zone.

La comparaison des moyennes par le test ANOVA a confirmé les différences significatives des l'HE de *L. angustifolia* entre les deux régions de récolte (Blida et Chlef) sur les différentes souches bactériennes.

Ces HEs, en particulier *L. angustifolia* (Chlef), semblent très prometteuses pour leur activité antimicrobienne ciblée selon les microorganismes. Nos résultats

sont en accord avec les travaux de MOON et *al.*, [335], qui ont démontré qu'à l'exception de *P. aeruginosa*, toutes les bactéries testées ainsi que *C. albicans* sont sensibles aux HEs de *L. angustifolia*. Une similarité de variabilité dans l'activité antibactérienne de l'HE issue d'une même espèce de lavande est également signalée par LIS-BALCHIN et DEANS [299]. Nos résultats sont corroborés avec les études de DANH et *al.*, [245], sur *L. angustifolia* qui ont démontré la plus grande activité antimicrobienne contre tous les micro-organismes testés.

B. L. stoechas

Dans le tableau 3.30 sont colligés les diamètres d'inhibition et les antibiotiques et antifongiques de référence utilisés.

Tableau 3.30 : Les zones d'inhibition de l'huile essentielle de *L. angustifolia* et des antibiotiques contre les microorganismes étudiés.

Microorganisme	Zone d'inhibition en mm						
	<i>L. stoechas</i> Blida	<i>L. stoechas</i> Tissemsilt	DMSO	C2 30	CIP 5	CN 10	AMB
<i>E. coli</i>	15,16 ± 1,04	12,83 ± 0,29	< 6	22	34	20	-
<i>B. subtilis</i>	23 ± 0,5	27,5 ± 0,5	< 6	21	36	16	-
<i>S. aureus</i>	22,3 ± 0,58	24,5 ± 0,5	< 6	26	30	23	-
<i>P. aeruginosa</i>	8 ± 0,00	9,6 ± 0,28	< 6	< 6	35	17	-
<i>C. albicans</i>	16,16 ± 0,29	21,3 ± 1,15	-	-	-	-	22
<i>A. brasiliensis</i>	< 6	< 6	-	-	-	-	-

D'après les données du tableau 3.51, on constate que les deux HEs présentent une activité antimicrobienne modérée à forte contre la plupart des souches bactériennes testées. *E. coli*, est modérément sensible avec des zones d'inhibition de 15,16 mm pour l'HE de Blida et 12,83 mm pour l'HE de Tissemsilt. Elle est nettement inférieure à celle de l'antibiotique CIP (34 mm) qui est très fortement sensible.

Pour *B. subtilis* et *S. aureus*, les HEs affichent une forte sensibilité avec des zones d'inhibition comprises entre 22,3 et 27,5 mm, comparables voire supérieures à l'antibiotique CN mais légèrement inférieures à CIP qui reste très

fortement sensible. Concernant *P. aeruginosa*, les HEs sont résistantes avec de faibles zones d'inhibition (8 à 9,6 mm), contrairement aux antibiotiques très efficaces, notamment CIP (35 mm).

L'HE de *L. stoechas* (Blida) est modérément sensible sur *C. albicans* (16,16 mm) tandis que *L. stoechas* (Tissemsilt) est fortement sensible (21,3 mm). En comparaison, AMB, affiche une zone d'inhibition de 22 mm, ce qui suggère que l'HE de *L. stoechas* de Tissemsilt a une efficacité comparable à cet antifongique standard contre *C. albicans*, alors que L'HE de Blida est légèrement moins efficace. Les deux HEs ne sont pas efficaces contre *A. brasiliensis* avec des zones inférieures à 6 mm. Néanmoins, les deux huiles sont nettement moins efficaces contre *A. brasiliensis*.

Globalement, même si les antibiotiques restent efficaces, notamment sur les bactéries à Gram négatif, ces HEs présentent un potentiel antimicrobien intéressant, en particulier contre les bactéries à Gram positif.

Une analyse statistique par ANOVA a permis de déterminer les différences très hautement significatives ($p < 0.01$) entre ces HEs sur l'ensemble des souches testées. Comparées aux antibiotiques, *L. stoechas* (Blida) et *L. stoechas* (Tissemsilt) la différence est très hautement significative ($p < 0.01$), à l'exception de C2 30 et de l'HE de *L. stoechas* de Blida sur la souche *S. aureus*, pour lesquelles les différences ne sont pas significatives ($p > 0,05$) (Appendice I.2).

Dans notre étude, les différences dans l'activité antimicrobienne des HEs de lavande extraites dans différentes régions de l'Algérie pourraient s'expliquer par la quantité de composés actifs et leur diffusion dans les milieux de croissance. De nombreuses études ont montré que les HEs possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes, liées à la présence de composés oxygénés tels que les alcools, phénols, cétones, aldéhydes et esters [336]. Le caractère lipophile du squelette hydrocarboné des molécules d'HE leur permet de traverser les membranes cellulaires hydrophobes des bactéries et d'accéder à leur contenu intracellulaire [337]. D'autre part, la présence de groupements fonctionnels polaires (alcool, cétone) leur confère un caractère hydrophile qui augmente leur solubilité dans le milieu aqueux cytoplasmique et perturbe les fonctions cellulaires

[336]. Ainsi, cette double nature lipophile et hydrophile des composés oxygénés des HEs potentialise leur effet antimicrobien par différents mécanismes d'action sur les bactéries [338]. Parmi ces molécules on observe le camphre, le linalol, le 1,8-cinéol [339], le carvacrol, l'eugénol, le perillaldehyde [340], le terpinène-4-ol [341], l'oxyde de caryophyllène, le spathulénol [342], le bornéol [343], le viridiflorol, le *trans*-pinocarvéol, le lédol [344] et le myrténal [91].

Les propriétés antimicrobiennes de *L. angustifolia* et *L. stoechas* semblent être principalement liées à leurs profils chimiques, en particulier à leurs concentrations élevées en composés oxygénés. Le linalol a été identifié comme l'ingrédient actif le plus puissant contre un large éventail de microorganismes [4]. Par conséquent, il est plausible de suggérer que la forte activité antimicrobienne des deux HEs des échantillons de *L. angustifolia* récoltés dans deux régions différentes est probablement dûe à leur abondance en linalol.

En revanche, la fenchone est reconnue pour avoir une activité faible, voire nulle [5]. L'efficacité antimicrobienne de *L. stoechas* dans les deux régions semble être associée à des concentrations élevées en d'autres composés oxygénés, ou bien à des effets synergiques entre les divers métabolites présents dans les HEs. Les études menées par BENABDELKADER (2012) [6], qui ont porté sur des populations de *L. stoechas* spontanées récoltées sur 11 sites différents dans le nord de l'Algérie, qui ont également mis en évidence que l'HE prédominante en fenchone, issue de la population de Boumerdes, exhibait une bonne activité antimicrobienne. Plusieurs études ont indiqué que des composés présents à des concentrations faibles dans les HEs pouvaient exercer un effet antimicrobien notable, parfois même surpassant celui des composés majoritaires.

D'autre part, les HEs ont démontré une activité très efficace contre les bactéries Gram positif et une activité plus ou moins modérée contre les Gram négatif. Ces résultats concordent avec ceux mentionnés par d'autres chercheurs, en particulier MILADINOVIC et *al.*, (2012) [345], qui ont rapporté que les HEs de certaines variétés de lavande présentent une activité supérieure à celle des antibiotiques conventionnels contre *S. aureus*.

La différence de la sensibilité des souches aux HEs testées pourraient être dues à la variation du taux de pénétration des HEs à travers la paroi et la membrane cellulaire des structures [346], [347]. Les mécanismes probables du pouvoir antimicrobien des HEs de la lavande contre les bactéries à Gram positif sont basés sur le contact direct de leurs composés hydrophobes avec la membrane cellulaire et leur pouvoir de répartir les phospholipides en les rendant plus perméables ce qui pourrait causer des dommages structuraux ou une rupture complète des membranes cellulaires et des pertes de nutriments [348].

La souche bactérienne à gram négatif *P. aeruginosa* s'est révélée être la plus résistante parmi toutes les souches bactériennes testées. Ce résultat est cohérent avec des études antérieures [335], [349], [350], [245] et peut s'expliquer par le fait que la membrane externe de *P. aeruginosa* est connue pour présenter un niveau élevé de résistance intrinsèque contre de nombreux antimicrobiens et antibiotiques en raison de sa capacité à bloquer l'accumulation de composés actifs sur la membrane [351], [352].

Dans nos travaux, les moisissures *A. brasiliensis* se sont montrées résistantes aux HEs de *L. angustifolia* et *L. stoechas*. Ces résultats concordent avec ceux observés par ANGIONI et al., (2006) [91]. Ils ont observé une faible efficacité des HEs de *L. angustifolia* testées contre *Aspergillus flavus*, comparativement à un effet appréciable sur *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum*. Cependant, dans l'étude de CÍSAROVÁ et al., (2016) [353], l'HE de *L. angustifolia* a présenté une activité antifongique modérée sur les 2 souches d'*A. niger* et *A. tubingensis*. Par ailleurs, BENABDELKADER et al., (2011) [12] ont montré que 11 HEs de *L. stoechas* récoltées en Algérie sont actives sur divers champignons filamenteux tels qu' *A. niger* et *Fusarium oxysporum* ainsi que sur la levure *C. albicans*. DAFERERA et al., [354] ont également démontré que les HEs de lavande, de romarin, de sauge et de menthe pouliot ont une activité inhibitrice moindre contre les espèces fongiques testées.

3.4.3.2 Évaluation quantitative de l'activité antibactérienne par la méthode des microdilutions en milieu liquide

3.4.3.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF)

L'activité antimicrobienne des HEs de *L. angustifolia* et *L. stoechas* a été évaluée quantitativement par la méthode des microplaques afin de déterminer leurs effets bactériostatiques, bactéricides, fongistatiques et fongicides sur les microorganismes. Les CMI, CMB et CMF ont été mesurées pour caractériser précisément le potentiel antimicrobien de ces HEs. Notre étude a porté sur les souches microbiennes qui ont présenté une sensibilité appréciable vis-à-vis de l'HE de *L. angustifolia* et *L. stoechas*.

Les tableaux 3.31 et 3.32 présentent les CMI, CMB et CMF ainsi que les rapports CMB/CMI et CMF/ CMI pour les germes testés.

A. *L. angustifolia*

Les résultats obtenus sont présentées dans le tableau 3.31.

Tableau 3.31 : CMI et CMB des huiles essentielles de *L. angustifolia* sur les 4 souches microbiennes.

Huiles essentielles	Les valeurs (mg/ml)	<i>B. subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>L. angustifolia</i> Blida	CMI	0,39	0,78	3,12	6,25
	CMB / CMF	1,56	1,56	12,5	12,5
	Rapport CMB / CMI	4	2	4	2
<i>L. angustifolia</i> Chlef	CMI	0,78	0,78	0,78	3,12
	CMB / CMF	3,12	1,56	1,56	12,5
	Rapport CMB / CMI	4	2	2	4

En accord avec la grande variabilité de leurs compositions chimiques, les 4 HEs étaient plus ou moins efficaces contre les micro-organismes testés. Les CMI variaient entre 0,39 et 3,12 mg/ml contre les bactéries et 3,12 et 6,25 mg/ml contre *C. albicans* (Tableau 3.31).

D'après l'échelle d'interprétation fournie, nous constatons que l'HE de *L. angustifolia* (Chlef) présente le profil d'activité antimicrobien le plus intéressant. Les valeurs de CMI sont de 0,78 mg/ml pour les 3 souches testées à savoir, *B. subtilis*, *S. aureus* et *E. coli*. L'activité inhibitrice de l'HE est considérée comme modérée. C'est surtout son activité bactéricide qui se démarque, avec des rapports CMB/CMI très favorables de 2 sur *S. aureus* et *E. coli* et un ratio un peu plus élevé à 4 mais restant acceptable sur *B. subtilis*. Ces faibles valeurs de CMB par rapport aux CMI témoignent d'une bonne capacité à tuer les bactéries.

L'HE de *L. angustifolia* (Blida) affiche quant à elle une forte activité inhibitrice sur les bactéries à Gram positif (CMI 0,39 mg/ml sur *B. subtilis* et 0,78 mg/ml sur *S. aureus*), mais une activité plus faible sur *E. coli* à Gram négatif avec une CMI de 3,12 mg/ml. Ses rapports CMB/CMI sont ≤ 4 .

Les résultats obtenus dans cette étude pour l'espèce *L. angustifolia* concordent avec les travaux de SLIMANI et al., [235] et CHEBAIBI et al., [195], qui ont mis en évidence une efficacité antibactérienne notable de l'HE de *L. angustifolia*. Ces études ont noté une activité significative contre *E. coli* et *S. aureus*, avec des valeurs réduites de CMI et CMB. Les résultats d'ELHARAS et al., [355] ont également mentionné une CMI de 0,5 mg/ml envers *S. aureus*. KALOUSTIAN et al., [356] ont identifié des CMI de 2 mg/ml et 3 mg/ml pour différentes souches d'*E. coli*, respectivement. Cependant, ces résultats diffèrent de ceux de WALASEK-JANUSZ [357], qui a rapporté des CMI et CMB plus élevées pour l'HE de *L. angustifolia*, notamment 2,5 mg/mL à 5 mg/mL pour *S. aureus*, 5 mg/mL pour *B. subtilis* et 10 mg/mL pour *E. coli*. Selon SOKOVIĆ et al., [66], l'HE de *L. angustifolia* a montré des CMI et CMB nettement plus faibles pour les souches testées, CMI = 0,0045 mg/mL et CMB = 0,0055 mg/mL pour *S. aureus*, CMI = 0,004 mg/mL et CMB = 0,0045 mg/mL pour *B. subtilis* et CMI = 0,006 mg/mL et CMB = 0,007 mg/mL pour *E. coli*. Ces constatations concordent avec les résultats présentés par Slimani et al., [235], qui ont également observé un rapport égal à 1 pour *S. aureus* et *E. coli* pour l'HE de *L. angustifolia*.

Nos résultats montrent que les HEs de *L. angustifolia* (Blida et Chlef) exercent un effet fongicide sur *C. albicans* (CMF/CMI sont ≤ 4). Ces résultats sont

proches de ceux rapportés par LAHLOU et *al.*, [358] pour *L. angustifolia*. L'HE a montré un rapport CMF/CMI de contre *C. albicans*.

L. stoechas

Les CMI, CMB et CMF ainsi que les rapports CMB/CMI et CMF/ CMI pour les germes testés sont résumées dans le tableau 3.32.

Tableau 3.32 : CMI et CMB des huiles essentielles de *L. angustifolia* sur les 4 souches microbiennes.

Huiles essentielles	Les valeurs (mg/ml)	<i>B. subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>L. stoechas</i> Blida	CMI	3,12	3,12	3,12	6,25
	CMB / CMF	6,25	12,5	6,25	12,5
	Rapport CMB / CMI	2	4	2	2
<i>L. stoechas</i> Tissemsilt	CMI	3,12	3,12	3,12	6,25
	CMB / CMF	6,25	6,25	6,25	12,5
	Rapport CMB / CMI	2	2	2	2

Les HEs de *L. stoechas* des régions de Blida et Tissemsilt présentent des profils d'activité faible, avec des CMI élevées de 3,12 et 6,25 mg/ml les classant comme faibles sur toutes les souches testées.

Nos résultats obtenus pour l'espèce *L. stoechas* diffèrent l'étude menée par KIRMIZIBEKMEZ et *al.*, [267] qui ont rapporté une activité antibactérienne plus importante des HEs de *L. stoechas*. Ils ont montré une forte inhibition de *S. aureus* et *E. coli* avec des CMI de 0,03 mg/ml et 0,25 mg/ml respectivement. De même, des travaux de BAALI [248] ont présenté une activité sur *S. aureus*, *B. subtilis* et *E. coli* avec des CMI de 0,78, 0,1 et 1,56 mg/ml. D'autres résultats sur des populations spontanées concordent et rapportent des CMI entre 0,23 et 11,36 mg/ml sur *E. coli* et *B. subtilis* [12]. Une bonne activité contre *E. coli* et *S. aureus* a également été observée au Maroc [195] et en Tunisie [359].

En se basant sur les rapports CMB/CMI, il est possible d'affirmer que l'HE de *L. stoechas* manifeste un effet bactéricide contre toutes les souches (CMB/CMI ≤ 4) et fongicide contre *C. albicans*.

Les rapports CMB/CMI des HEs extraites de *L. angustifolia* et *L. stoechas*, provenant de différentes régions, se situent dans la plage de 1 à 4. Par conséquent, il semble que les 4 HEs étudiées exercent une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes testées et une action fongicide contre *C. albicans*. Par ailleurs, nous pouvons noter l'existence d'une cohérence entre les valeurs de la CMI et ceux des diamètres d'inhibition obtenus avec la méthode de l'aromatogramme. Ainsi, l'HE de *L. angustifolia* (Chlef) semble la plus prometteuse, combinant une bonne activité inhibitrice modérée et un fort pouvoir bactéricide sur les 3 souches. L'HE de *L. angustifolia* pourrait aussi présenter un potentiel certain, en particulier vis-à-vis des bactéries à Gram positif.

L'étude suggère que l'HE extraite de *L. angustifolia* de Chlef et *L. angustifolia* de Blida présente la plus forte activité antimicrobienne, probablement en raison de leurs concentrations élevées en linalol et en terpinène-4-ol. Cette affirmation trouve un appui dans la littérature, comme démontré dans une étude menée par FISHER and PHILLIPS [360] où le linalol a affiché une activité antimicrobienne particulièrement efficace, y compris contre *B. cereus*.

Les CMI et CMB varient considérablement selon les espèces et souches microbiennes testées. Certaines souches d'une même espèce peuvent être plus sensibles ou résistantes à un antimicrobien donné [361]. La méthode de détermination (gélose ou microplaque) peut influencer les résultats de CMI et CMB. En général, les CMI sont plus basses en microplaque qu'en gélose [362]. La limitation de l'activité des HEs peut s'expliquer par la faible solubilité dans l'eau de l'HE et de ses composants, limitant leur diffusion à travers le milieu de gélose dans la méthode de diffusion sur disque. Seuls les composants plus solubles dans l'eau, tels que le 1,8-cinéole, diffusent dans la gélose. Les composants hydrocarbonés restent à la surface du milieu ou s'évaporent [363]. La variabilité du pouvoir bactéricide est due certainement à la sensibilité des microorganismes aux différents composés chimiques qui dépendent de la nature de l'espèce végétale, des chémotypes et des conditions climatiques [364].

CONCLUSION

Le travail réalisé dans cette thèse s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche menés au sein du laboratoire de Biotechnologies, Environnement et Santé. L'objectif a été d'approfondir les connaissances sur la composition chimique et les propriétés biologiques des HEs de deux espèces de lavande, *L. angustifolia* Mill et *L. stoechas* L.

L'originalité de cette étude a été d'analyser la variabilité de la composition des HEs en fonction de l'origine géographique des plantes. Pour ce faire, La récolte de *L. angustifolia* a été effectuée dans deux régions distinctes en Algérie (Blida et Chlef), où cette plante est cultivée. De même, *L. stoechas*, a également été récoltée dans deux régions (Blida et Tissemsilt), où elle croît de manière spontanée.

L'examen microscopique des tiges et feuilles de *L. angustifolia* et *L. stoechas* a localisé précisément les sites de biosynthèse des HEs dans des trichomes glandulaires peltés et capités courts.

Le screening phytochimique réalisé sur les lavandes a permis de mettre en évidence la richesse de leur composition en métabolites secondaires bioactifs. Outre les HEs, ces plantes renferment diverses familles de composés comme les tanins, flavonoïdes, saponosides, dérivés anthracéniques et le mucilge. La présence de ces substances naturelles connues pour leurs propriétés thérapeutiques ou cosmétiques souligne le potentiel d'applications pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques des lavandes algériennes. La valorisation de l'ensemble de ces molécules d'intérêt présentes dans les différents organes aériens des plantes, ouvre des perspectives de développement prometteuses basées sur l'exploitation rationnelle et durable de la biodiversité chimique exceptionnelle de ces ressources locales.

Nos résultats mettent en évidence une grande diversité chimique au sein d'une même espèce, avec des chémotypes distincts selon les régions de récolte.

L'analyse par l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) des HEs extraites de *L. angustifolia* et *L. stoechas* a permis d'identifier plus d'une centaine de composés volatils. Ces profils chimiques complexes sont dominés par des monoterpènes oxygénés. Nos résultats mettent en évidence une variation des teneurs en principaux constituants entre les deux espèces étudiées. Cette composition variable est en accord avec les chémotypes caractéristiques décrits dans la littérature pour chaque lavande. Ainsi, *L. angustifolia* correspond à un chémotype linalol, tandis que *L. stoechas* présente un chémotype fenchone.

Les résultats de la CG/SM ont révélé que l'HE de *L. angustifolia* obtenue se compose principalement de linalol (41,25%- 41,71%), de camphre (14,47%- 12,54%), de 1,8-cinéole (9,94% - 7,13%), de terpène-4-ol (9,90% - 7,25%), de linalyl acétate (2,26% - 3,12%), de (Z)- E- β -ocimène (2,13% - 5,47%), d' α -terpinéol (1,44% - 1,58%), de lavandulyle acétate (1,27% - 1,60%), de β -farnescène (2,19% - 1,31%) et de l'oxyde de caryophyllène (0,46% - 1,10%).

Pour *L. stoechas*, nous observons une prédominance de la fenchone (36,36 %- 44,30%), du camphre (8,21% - 21,53%), du 1,8-cinéole (14,01% - 7,49%) suivis de l'acétate de bornyle (0,99% - 4,16%) et de l'acétate de lavandulyle (2,44% - 4,00%). De plus, cette HE est caractérisée par la présence significative de ledol (6,64 %- 1,98%) et de manool (3,68 %- 0,71%). Avec cette riche diversité chimique, *L. angustifolia* et *L. stoechas* constitue une excellente source de matériel végétal pour une large gamme de molécules bioactives.

Nos travaux révèlent le potentiel antioxydant modéré des HEs des lavandes Algériennes. L'évaluation du potentiel antioxydant par DPPH révèle que l'HE de *L. angustifolia* originaire de Blida présente une meilleure activité anti-radicalaire ($246,29 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$) que celle provenant de Chlef ($372,83 \pm 0,97 \mu\text{g/ml}$). Pour *L. stoechas*, l'HE de Blida montre également une activité antioxydante supérieure ($360,31 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$) comparée à celle de Tissemsilt ($400,34 \pm 0,40 \mu\text{g/ml}$). Ces deux espèces pourraient être de bons produits naturels pour des investigations supplémentaires dans le développement de nouveaux antioxydants et elles peuvent être utilisées comme additifs naturels dans les industries alimentaires,

cosmétiques et pharmaceutiques au lieu d'utiliser des composés synthétiques plus toxiques.

Concernant l'activité insecticide vis-à-vis du ravageur *Tribolium castaneum*, *L. angustifolia* récoltée à Blida s'est révélée plus efficace, avec une DL50 de 6,68 µl/l et une DL90 de 15,09 µl/l, contre une DL50 de 7,24 µl/l et DL90 de 17,78 µl/l pour celle récoltée à Chlef. *L. stoechas* récoltée à Tissemsilt présente des valeurs de DL50 et DL90 plus faibles (9,55 µl/l et 19,95 µl/l respectivement) que *L. stoechas* récoltée à Blida (10,23 µl/l et 24,55 µl/l). Les HEs ont montré une activité insecticide prometteuse, qui semble être en relation avec les différentes régions de récolte, ainsi qu'entre les espèces. Cette variabilité de l'activité insecticide semble être associée à des différences dans la composition chimique.

L'étude de l'activité antimicrobienne met clairement en évidence un large spectre d'inhibition des HEs. Les meilleurs résultats sont obtenus sur les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec des diamètres d'inhibition jusqu'à 50 mm selon les échantillons. Une activité appréciable antifongique est également constatée sur la levure *Candida albicans*. En revanche, l'effet reste modéré sur les bactéries à Gram négatif et nul sur *Pseudomonas aeruginosa* le champignon *Aspergillus niger*. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) varient de 0,39 et 3,12 mg/ml selon les micro-organismes ciblés. Ce travail met en exergue un effet bactéricide des HEs.

Ces propriétés antimicrobiennes semblent être liées aux composés oxygénés majoritaires. Les HEs offrent des perspectives d'application prometteuses dans les domaines de la santé, de l'agroalimentaire et des biotechnologies.

Cette variabilité chimique pourrait être expliquée par des différences génétiques entre les espèces associées à des facteurs environnementaux.

Ces travaux ouvrent la voie à de nombreuses perspectives de recherche pour approfondir les connaissances et valoriser le potentiel des lavandes algériennes :

- Investiguer l'impact du sol, du climat et de l'altitude sur la composition des huiles essentielles de *L. angustifolia* et *L. stoechas* et leurs propriétés thérapeutiques associées. Cela inclurait des analyses approfondies du microbiome du sol pour comprendre son influence sur la biosynthèse des composés actifs dans la plante.
- Exploration des techniques d'extraction comme l'extraction au CO₂ supercritique pour optimiser à la fois le rendement et la qualité des huiles essentielles extraites de *L. angustifolia* et *L. stoechas*.
- Envisager la formulation de produits spécifiques adaptés aux propriétés identifiées des huiles essentielles de *L. angustifolia* et *L. stoechas*, en vue d'applications thérapeutiques ou cosmétiques ciblées.
- Appliquer le séquençage de régions spécifiques comme ITS (Internal Transcribed Spacer) ou les gènes chloroplastiques (*matK*, *rbcl*) pour identifier avec précision les espèces et variétés de lavande étudiées, facilitant ainsi leur caractérisation taxonomique.
- Explorer le séquençage du génome entier pour découvrir les gènes impliqués dans la biosynthèse des composés aromatiques de la lavande, ouvrant ainsi de nouvelles possibilités pour la manipulation génétique et l'amélioration des traits désirables.
- Effectuer des analyses approfondies pour identifier les composés actifs responsables des effets insecticides des huiles essentielles de lavande. Optimiser les formulations pour des applications pratiques efficaces contre les nuisibles.
 - Évaluer l'activité antimicrobienne de *L. angustifolia* et *L. stoechas* en tant que complément aux traitements antibiotiques traditionnels. Cette approche pourrait potentiellement réduire les doses nécessaires d'antibiotiques ou aider à combattre certaines souches résistantes, contribuant ainsi à la lutte contre la résistance aux antibiotiques.

APPENDICES

APPENDICE A

Liste des abréviations

COVID 19 : Coronavirus Disease 2019

AFNOR : Association française de normalisation

ITS : Internal Transcribed Spacer –séquence interne traduite

APG : Angiosperms Phylogeny Group

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse

HE : Huile essentielle

g : gramme

°C : Degrés Celsius

DO : Densité optique

Mm : millimètre

mn : minute

ml : millilitre

µl : microlitre

% : pourcentage

ATCC : l'American type culture collection

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

IC50 : Concentration Effective de l'antioxydant qui correspond à une réduction de 50% de l'activité du DPPH dans le milieu réactionnel

EM : Extrait Méthanolique

IR : Indice de Rétention

H : heures

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

Hcl : Acide Chlorhydrique

NaOH : Ammoniaque

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium

DL : Dose létale

MH : Mueller Hinton

ZI : Zone d'Inhibition
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CMB : Concentration Minimale Bactéricide
MO: Microscope optique
Tr T: Trichome Tecteur
Tr G: Trichome Glandulaire
Tr Tr: Trichome Tecteur ramifié
TrTp: Trichome Tecteur pédicellé
Tr Gp: Trichome Glandulaire pelté
Tr Gc: Trichome Glandulaire capité
Ep: Epiderme
Co: Collenchyme
PP: Perenchyme pallissadique
Cu: Cuticule
Sc: Sclérenchyme
Li: Liber
Bs: Bois
Pc: Parenchyme cortical
Pm: Parenchyme médullaire
AMB: amphotéricine B
CN : Gentamicine (10 µg)
C 30 : Chloramphénicol (30 µg)
CIP: Ciprofloxacine (5 µg)

APPENDICE B

Appareillage, verrerie et consommables

B1. Liste des appareillages

- Balance de précision
- Chauffe ballon
- Bain marie
- Etuve bactériologique
- Microscope optique
- Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse
- Évaporateur rotatif
- Hydro distillateur type Clevenger
- Spectrophotomètre
- Autoclave
- Appareil soxhlet
- Agitateur
- Spectrophotomètre
- Réfractomètre
- Microscope électronique à balayage
- pH mètre

B2. Liste de la verrerie et consommables

- Béchers
- Erlenmeyer
- - Ampoules à décanter
- Poire d'aspiration
- entonnoirs
- Ballon à fond plat à col rodé
- Tubes à essai
- Portoirs pour les tubes
- Pipettes graduées stériles
- Pincés
- Écouvillon en coton Stériles

- Disques à imprégnés
- Lames en verre et lamelles
- Pipettes pasteur
- Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Lames de rasoir
- Papier filtre WHATMAN
- Seringues
- Bec bunsen
- Micropipette

B3 Liste des solutions et réactifs utilisés

- Acide chlorhydrique HCl
- Acide acétique
- Carbonate de sodium
- DPPH
- Eau de Javel à 12°
- Méthanol
- Folin ciocalteu
- Chloroforme
- Eau distillée
- Eau physiologique stérile
- Rouge Congo
- Vert de méthyle
- DMSO
- Ether di-éthylique

APPENDICE C

Cartes géographiques des sites de récolte

Carte géographique du site de récolte de *L. angustifolia* à Blida et Chlef.



Carte géographique du site de récolte de *L. stoechas* à Blida et Tissemsilt.



APPENDICE D

Résultats statistiques des sites sécréteurs

Résultats de l'analyse statistique comparative des trichomes glandulaire des fleurs de *L. angustifolia* récoltées à Blida et Chlef.

	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	sample estimates mean of x	sample estimates mean of y
Blida- Chlef	2.4868	3.1686	0.08424	-4.734256	43.847589	82.37333	62.81667

Résultats de l'analyse statistique comparative des trichomes glandulaire des fleurs de *L. stoechas* récoltées à Blida et Tissemsilt.

	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	sample estimates mean of x	sample estimates mean of y
Blida- Tissemsilt	-26.66	2.5133	0.00037	-21.09553	-16.12447	28.12	46.73

Résultats de l'analyse statistique comparative des trichomes glandulaire des feuilles de *L. stoechas* récoltées à Blida et Tissemsilt.

	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	sample estimates mean of x	sample estimates mean of y
Blida- Tissemsilt	44.195	3.99	1.613e-06	29.68303	33.66697	55.015	23.340

Résultats de l'analyse statistique comparative des trichomes glandulaire des tiges de *L. stoechas* récoltées à Blida et Tissemsilt.

	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	sample estimates mean of x	sample estimates mean of y
Blida- Tissemsilt	-2.468	2.18	0.1218	-13.1894	3.0827	51.2467	56.300

Résultats de l'analyse statistique comparative des trichomes glandulaire entre les organes aériens de *L. stoechas* récoltées à Blida

Organe`	diff	lwr	upr	p adj
Fleurs-Feuilles	-26.895000	-28.638050	-25.151950	0.0000000
Tige-Feuilles	-3.768333	-5.511383	-2.025283	0.0013782
Tige-Fleurs	23.126667	21.38361	24.869717	0.0000000

Résultats de l'analyse statistique comparative des trichomes glandulaire entre les organes aériens de *L. stoechas* récoltées à Tissemsilt

organe	diff	lwr	upr	p adj
Fleurs-Feuilles	23.39	17.954158	28.82584	0.0000287
Tige-Feuilles	32.96	27.524158	38.39584	0.0000035
Tige-Fleurs	9.57	4.134158	15.00584	0.0040010

APPENDICE E

Résultats des tests phytochimiques

Les résultats de chaque test sont présentés sous forme de moyenne calculée à partir de trois répétitions (n=3).

Chaque moyenne est indiquée sous la forme (Moyenne \pm écart type).

E 1 : Résultats du taux d'humidité

Taux d'humidité des fleurs de *L. angustifolia*.

Espèce		Fleurs <i>L. angustifolia</i>	
Région		<i>L. angustifolia</i> Blida (F)	<i>L. angustifolia</i> Chlef (F)
Taux d'humidité (%)	Essai 1	68,88	68,9
	Essai 2	69,28	69,9
	Essai 3	69	67,19
Moyenne du taux d'humidité (%)		69,05	68,66
Écart type		0,21	1,37

Taux d'humidité des parties fleuries de *L. stoechas*.

Espèce		Parties aériennes fleuries <i>L. stoechas</i>	
Région		<i>L. stoechas</i> Blida	<i>L. stoechas</i> Tissemsilt
Taux d'humidité (%)	Essai 1	60	63,13
	Essai 2	61	64
	Essai 3	60,2	62
Moyenne du taux d'humidité (%)		60,4	63,04
Écart type		0,53	1,00

Résultats de l'analyse statistique comparative du taux d'humidité entre les régions de récolte de *L. angustifolia* et de *L. stoechas*.

e	diff	lwr	upr	p adj
Tissemsilt-Blida1	2.643333	0.3025476	4.984119	0.0280727
chlef-Blida2	-0.390000	-2.7307857	1.950786	0.9483996

E 2 : Résultats taux des cendres

Taux des cendres des fleurs de *L. angustifolia*.

	<i>L. angustifolia</i>			<i>L. angustifolia</i>		
	Blida			Chlef		
	M	M1	T (%)	M	M1	T (%)
Essai 1	1,0279	0,114	11,091	1,030	0,1158	11,243
Essai 2	1,008	0,1082	10,734	1,004	0,1235	12,301
Essai 3	1,0871	0,1159	10,661	1,091	0,1002	9,184
moyenne	1,0410	0,1127	10,829	1,042	0,113	10,909
écart-type	0,0411	0,0040	0,2297	0,0447	0,0119	1,294

Teneur des cendres des parties fleuries de *L. stoechas*.

	<i>L. stoechas</i>			<i>L. stoechas</i>		
	Blida			Tissemsilt		
	M	M1	T (%)	M	M1	T (%)
Essai 1	1,0022	0,1015	10,128	1,0081	0,1198	11,884
Essai 2	1,0004	0,098	9,796	1,0253	0,11692	11,403
Essai 3	1,0003	0,109	10,897	1,0092	0,1002	9,929
moyenne	1,0010	0,102	10,274	1,014	0,112	11,072
écart-type	0,0011	0,0056	0,5646	0,0096	0,0106	0,832

Résultats de l'analyse statistique comparative du taux des cendres entre les régions de récolte de *L. angustifolia* et de *L. stoechas*.

	diff	lwr	upr	p adj
Tissemsilt-Blida1	0.80000000	-0.5599632	2.159963	0.3061988
chlef-Blida2	0.07666667	-1.2832965	1.436630	0.9977338

E3. Screening phytochimique



Réactif de Mayer



Réactif de Wagner

Composition des réactifs de caractérisation des alcaloïdes

Réactif de MAYER :

Chlorure de mercure.....1,36 g

Iodure de potassium.....5 g

Eau distillée.....100 ml

Réactif de WAGNER :

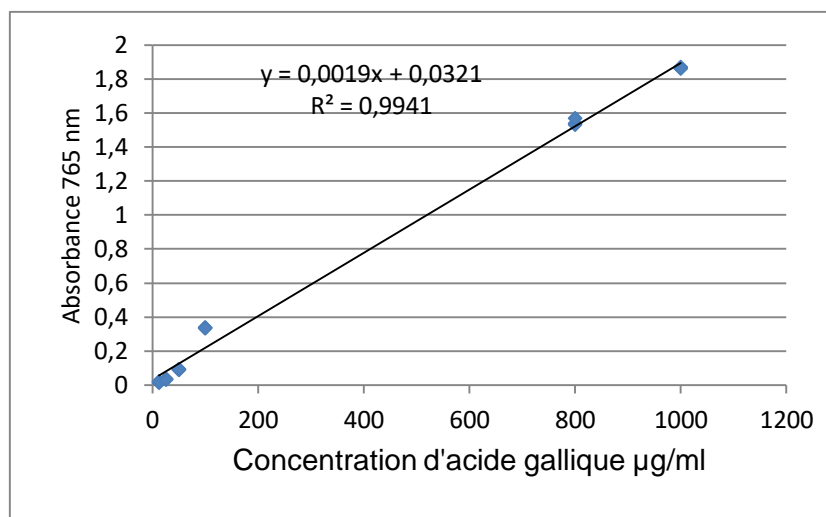
Iodure de potassium.....2 g

Iode.....1,27 g

Eau distillée..... 100 ml

E4. Résultats du dosage des polyphénols

Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Résultats de l'analyse comparative entre les régions du dosage des polyphénols

Teneurs en polyphénols totaux de *L. angustifolia*

Espèce		<i>L. angustifolia</i>	
Région de récolte		<i>L. angustifolia</i> Blida	<i>L. angustifolia</i> Chlef
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)	Essai 1	35,877	39,454
	Essai 2	36,200	38
	Essai 3	35,500	37,636
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)		35,859	38,363
Écart type		0,35	0,96

Teneurs en polyphénols totaux de *L. stoechas*

Espèce		<i>L. stoechas</i>	
Région de récolte		<i>L. stoechas</i> Blida	<i>L. stoechas</i> Tissemsilt
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)	Essai 1	23,454	32,436
	Essai 2	23,364	34,091
	Essai 3	21,909	35,27
Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)		22,909	33,93233333
Écart type		0,87	1,42

Résultats de l'analyse statistique comparative de la teneur des cendres entre les régions de récolte de *L. angustifolia* et de *L. stoechas*.

	diff	lwr	upr	p adj
chlef-Blida1	2.333333	0.06892851	4.59773815	0.0436017
Tissemsilt-Blida2	11.000000	8.73559518	13.26440482	0.0000014

E.5 Extraction des huiles essentielles

Résultats de l'analyse statistique comparative du rendement de l'extraction des huiles essentielles entre les régions de récolte de *L. angustifolia* et de *L. stoechas*.

	diff	lwr	upr	p adj
Tissemsilt-Blida1	0.32333333	0.1064017	0.5402649	0.0061183
chlef-Blida2	-0.08333333	-0.3002649	0.1335983	0.6267236

APPENDICE F

Contrôle microbiologique

26

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39

8Chaoual 1438
2 juillet 2017

12- Légumes, fruits, végétaux et produits à base de végétaux

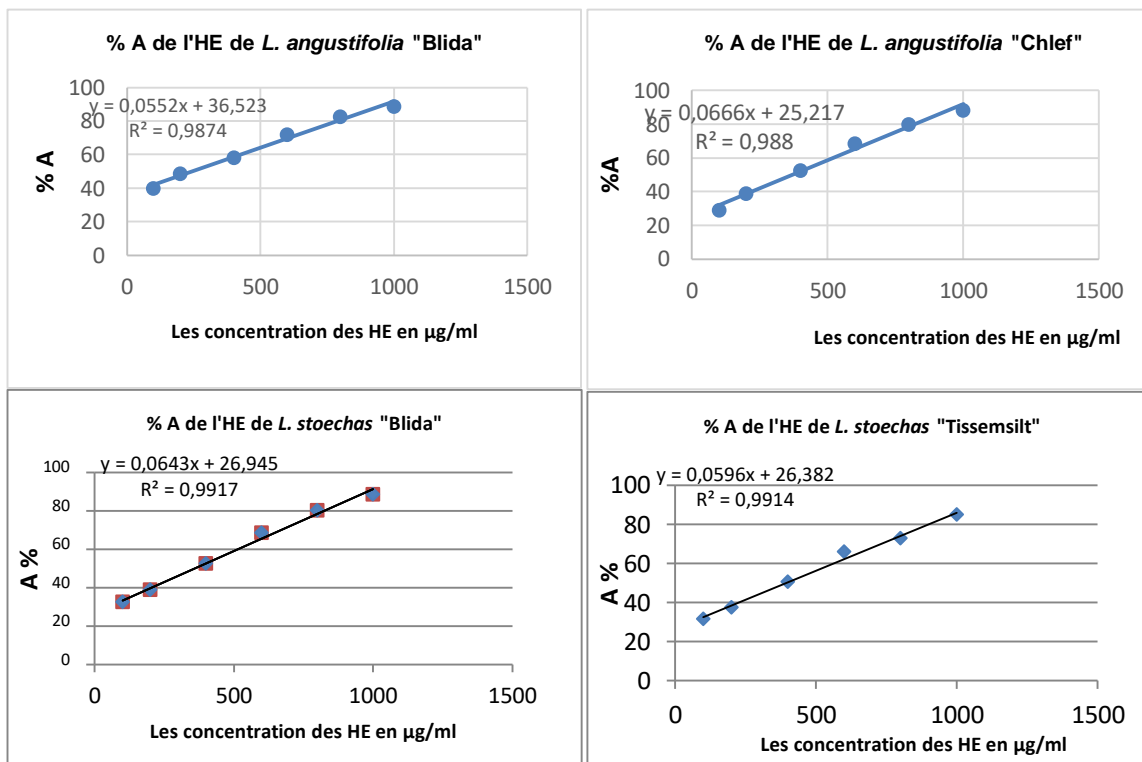
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)	
		n	c	m	M
Fruits et légumes frais	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
Fruits et légumes prêts à l'emploi ⁽¹⁾	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ⁶	5.10 ⁷
	Flore lactique	5	2	5.10 ⁵	5.10 ⁶
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Epices, mélange d'épices et herbes aromatiques séchées	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10 ³	10 ⁴
	Levures et moisissures	5	2	10 ⁴	10 ⁵
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Bacillus cereus</i>	5	2	10 ³	10 ⁴
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Herbes séchées (thés, camomilles...)	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁴	10 ⁵
	Coliformes thermotolérants	5	2	10	10 ²
	Moisissures	5	2	10 ³	10 ⁴
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Herbes aromatiques fraîches	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ⁶	5.10 ⁷
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	10 ²	10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

Appendice G

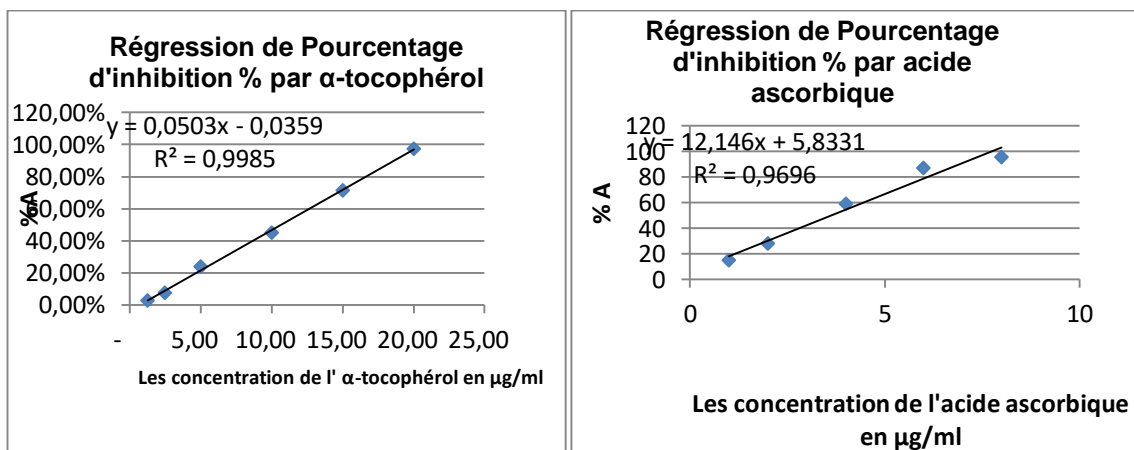
Résultats de l'activité antioxydante

Les courbes d'étalonnage

Courbe de régression de % Inhibition par concentration des huiles essentielles (µg)



Courbe de régression de % Inhibition par concentration de l'acide ascorbique et de l'α tocophérol (µg)



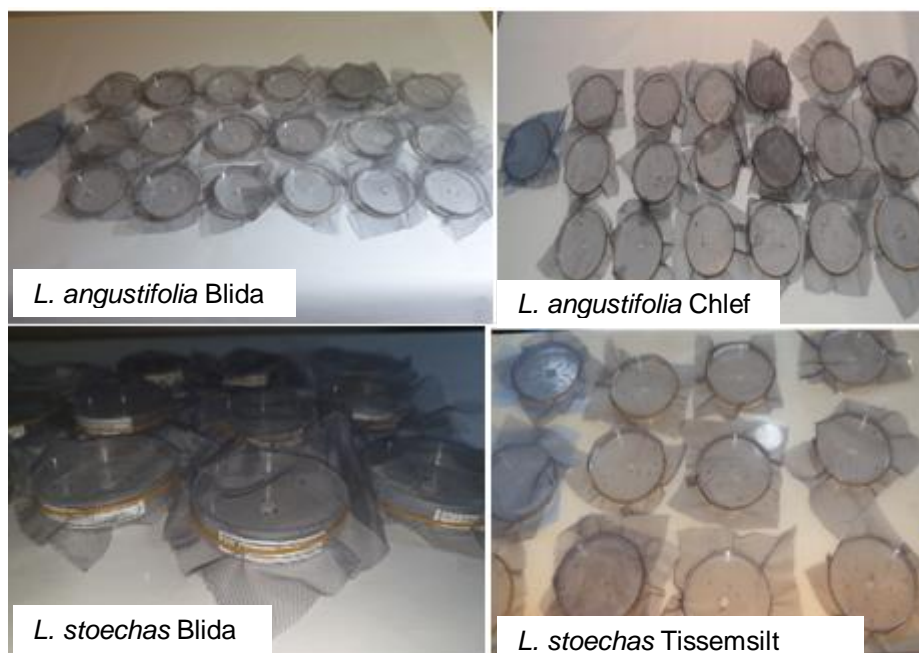
Résultat de l'analyse comparative des IC 50 de *L. angustifolia* et *L. stoechas* selon les régions de récolte

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	P(>F)
Especie	1	182	182	0.022	0.884
Residuals	10	81307	8131		

Appendice H

Résultats de l'activité insecticide

H.1 Application des huiles essentielles de *L. angustifolia* et *L. stoechas* sur les adultes *T. castaneum*.



H2. Analyse statistique

Résultat de l'analyse comparative des DL50 et DL 90 de *L. angustifolia* et *L. stoechas* selon les régions de récolte

Résultat de l'analyse comparative des DL50 de *L. angustifolia* (Blida-Chlef)

	DL50 Blida et A DL50 Chlef						
	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	mean of x	mean of y
DL50 Blida – Tissemsilt	-19.67	2.108	0.002	-0.84585	-0.554147	7.07	7.77

Résultat de l'analyse comparative des DL90 de *L. angustifolia* (Blida-Chlef).

	DL90 Blida et DL90 Chlef						
	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	mean of x	mean of y
DL50 Blida – Tissemssilt	53.75	2.196	0.00018	-1.538785	-1.327882	16.2100	17.6433

Résultat de l'analyse comparative des DL50 de *L. stoechas* (Blida-Tissemssilt).

	DL50 Blida et DL50 Tissemssilt						
	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	sample estimates mean of x	sample estimates mean of y
DL50 Blida – Tissemssilt	45.625	2.6162	7.202e- 05		0.7674852	10.240000	9.526667

Résultat de l'analyse comparative des DL90 de *L. stoechas* (Blida-Tissemssilt).

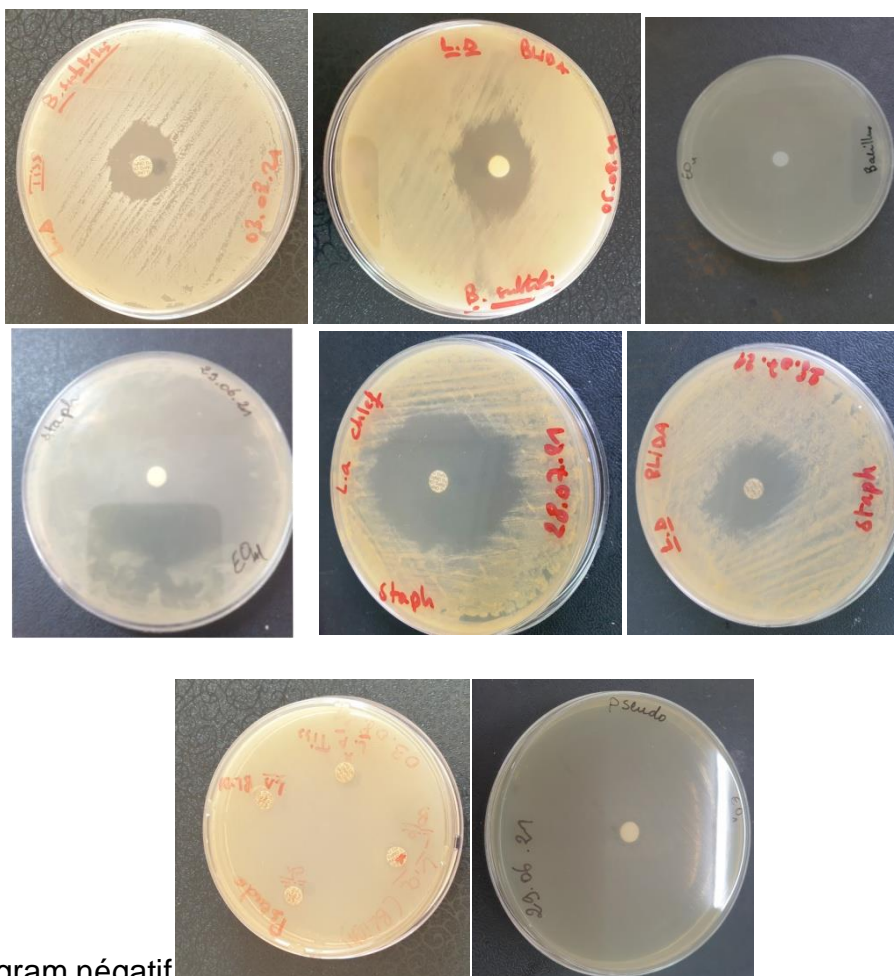
	DL50 Blida et DL50 Tissemssilt						
	t	df	p-value	Confidence 95,000%	Confidence 95,000%	mean of x	mean of y
DL50 Blida – Tissemssilt	223.7	4	2.396e-09	4.5396	4.6537	24.523	19.92667

APPENDICE I

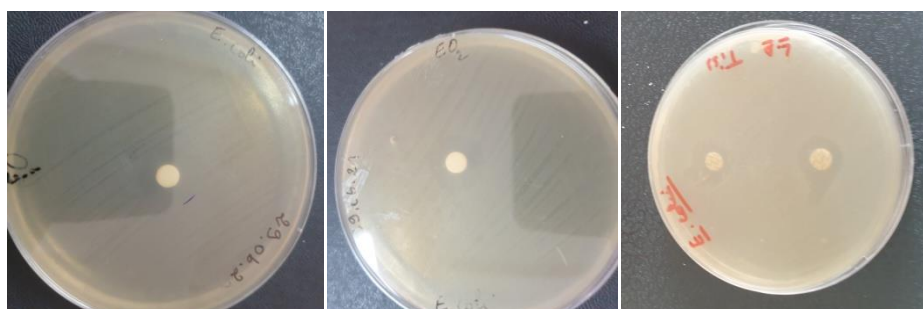
Résultats de l'activité antimicrobienne

I.1 : Aromatogrammes de *L. angustifolia* et *L. stoechas* sur quelques souches microbiennes testées

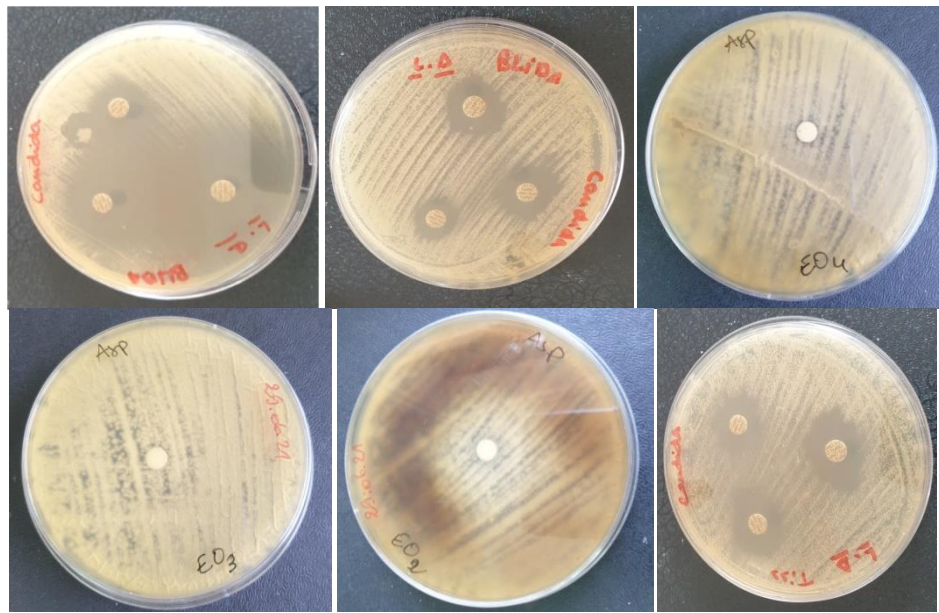
Bactérie Gram positif



Bactérie gram négatif

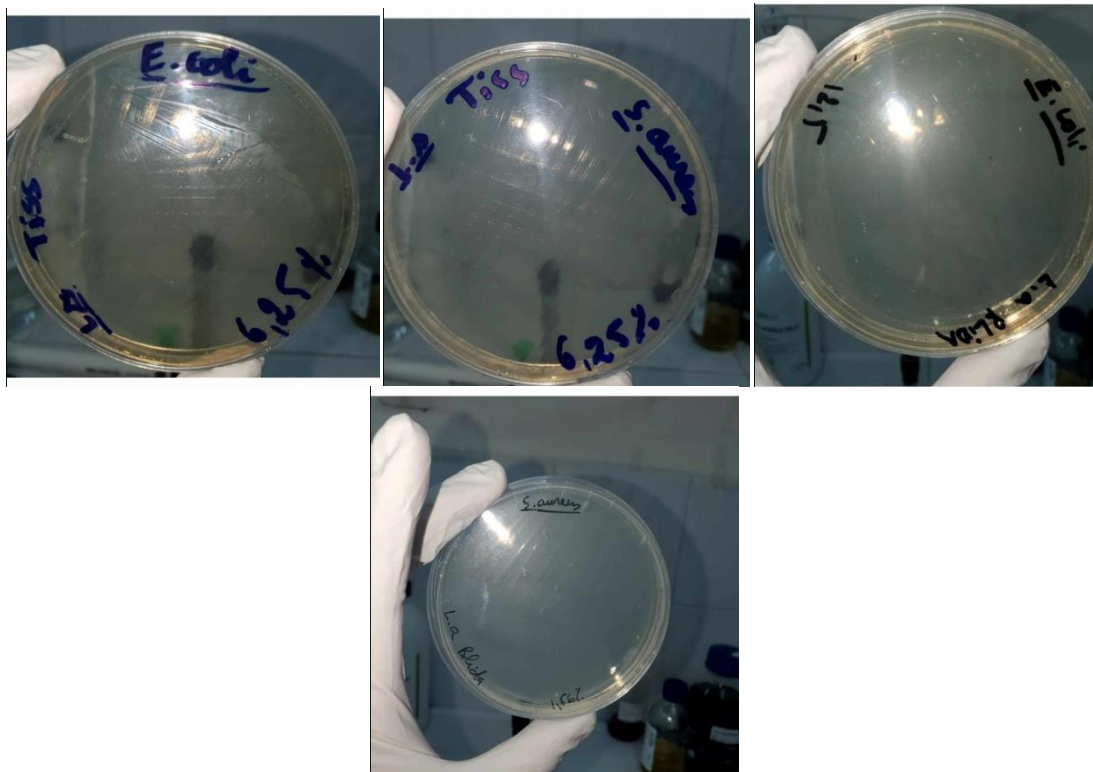


Levure et Champignon



Résultats de la détermination des CMB des huiles essentielles *L. angustifolia* et *L. stoechas* sur quelques souches microbiennes testées.





Microplaque de 96 puits pour la détermination des CMI des huiles essentielles *L. angustifolia* et *L. stoechas* sur les souches microbiennes testées.



I.2 analyse statistique

Résultats de l'analyse comparative de l'activité antibactérienne des souches bactériennes selon les régions de récolte

Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de *L. angustifolia* dans les deux régions

Souche Bactérienne	diamètre zone d'inhibition <i>L. angustifolia</i> Blida	diamètre zone d'inhibition <i>L. angustifolia</i> Chlef	DMSO	C 30	CIP	CN	AMB
<i>S. aureus</i>	42	50	0	22	34	20	-
<i>S. aureus</i>	40	52					-
<i>S. aureus</i>	42	52					-
Moyenne <i>S.aureus</i>	41,3 b	51,3 a	0	22 d	34 c	20 e	-
<i>E coli</i>	13,5	12	0	26	30	23	-
<i>E coli</i>	13	12					-
<i>E coli</i>	14	12					-
Moyenne <i>E.coli</i>	13,5 d	12 e	0	26 b	30 a	23 c	-
<i>P. aeruginosa</i>	10	8	0	0	35	17	-
<i>P. aeruginosa</i>	10	8					-
<i>P. aeruginosa</i>	10	8					-
Moyenne <i>P.aeruginosa</i>	10 c	8 d	0	0	35 a	17 b	-

Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de *L. stoechas* dans les deux régions

Souche Bactérienne	diamètre zone d'inhibition <i>L. stoechas</i> Blida	diamètre zone d'inhibition <i>L. stoechas</i> Tissemsilt	DMSO	C 30	CIP	CN	AMB
<i>S. aureus</i>	22	25	0	22	34	20	-
<i>S. aureus</i>	23	24					-
<i>S. aureus</i>	22	24,5					-
Moyenne <i>S.aureus</i>	22,3 c	24,5 b	0	22d	34 a	20 e	-
<i>E coli</i>	14	13	0	26	30	23	-
<i>E coli</i>	15,5	12,5					-
<i>E coli</i>	16	13					-
Moyenne <i>E.coli</i>	15,16 d	12,83 e	0	26 b	30 a	23 c	-
<i>P. aeruginosa</i>	8	9,5	0	0	35	17	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9028	8	10					-
<i>P. aeruginosa</i>	8	9,5					-

Moyenne <i>P.aeruginosa</i>	8 d	9,6 c	0	0	35 a	17 b	-
--------------------------------	-----	-------	---	---	------	------	---

Résultat de l'analyse comparative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielle de *L. stoechas* sur *E. Coli*

Region	diff	lwr	upr	p adj
C2 30-Blida1	10.8333333	9.579103	12.0875637	0.0000000
Chlef-Blida1	-2.3333333	-3.587564	-1.0791030	0.0002810
CIP 5-Blida1	14.8333333	13.579103	16.0875637	0.0000000
CN 10-Blida1	7.8333333	6.579103	9.0875637	0.0000000
C2 30-Blida2	12.5000000	11.245770	13.7542303	0.0000000
CIP 5-Blida2	16.5000000	15.245770	17.7542303	0.0000000
CN 10-Blida2	9.5000000	8.245770	10.7542303	0.0000000
Tissemsilt-Blida2	-1.5000000	-2.754230	-0.2457697	0.0149020
Chlef-C2 30	-13.1666667	-14.420897	-11.9124363	0.0000000
CIP 5-C2 30	4.0000000	2.745770	5.2542303	0.0000005
CN 10-C2 30	-3.0000000	-4.254230	-1.7457697	0.0000177
Tissemsilt-C2 30	-14.0000000	-15.254230	-12.7457697	0.0000000
CIP 5-Chlef	17.1666667	15.912436	18.4208970	0.0000000
CN 10-Chlef	10.1666667	8.912436	11.4208970	0.0000000
CN 10-CIP 5	-7.0000000	-8.254230	-5.7457697	0.0000000
Tissemsilt-CIP 5	-18.0000000	-19.254230	-16.7457697	0.0000000
Tissemsilt-CN 10	-11.0000000	-12.254230	-9.7457697	0.0000000

Résultat de l'analyse comparative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielle de *L. stoechas* sur *S. aureus*

Region	diff	lwr	upr	p adj
C2 30-Blida1	-0.3333333	-2.2330338	1.5663672	0.9957820
Chlef-Blida1	2.1666667	0.2669662	4.0663672	0.0210377
CIP 5-Blida1	11.6666667	9.7669662	13.5663672	0.0000000
CN 10-Blida1	-2.3333333	-4.2330338	-0.4336328	0.0121866
C2 30-Blida2	-19.3333333	-21.2330338	-17.4336328	0.0000000
CIP 5-Blida2	-7.3333333	-9.2330338	-5.4336328	0.0000000
CN 10-Blida2	-21.3333333	-23.2330338	-19.4336328	0.0000000
Tissemsilt-Blida2	10.0000000	8.1002995	11.8997005	0.0000000
Chlef-C2 30	2.5000000	0.6002995	4.3997005	0.0070661
CIP 5-C2 30	12.0000000	10.1002995	13.8997005	0.0000000
CN 10-C2 30	-2.0000000	-3.8997005	-0.1002995	0.0362019
Tissemsilt-C2 30	29.3333333	27.4336328	31.2330338	0.0000000
CIP 5-Chlef	9.5000000	7.6002995	11.3997005	0.0000000
CN 10-Chlef	-4.5000000	-6.3997005	-2.6002995	0.0000198
CN 10-CIP 5	-14.0000000	-15.8997005	-12.1002995	0.0000000

Tissemsilt-CIP 5	17.3333333	15.4336328	19.2330338	0.0000000
Tissemsilt-CN 10	31.3333333	29.4336328	33.2330338	0.0000000

Résultat de l'analyse comparative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielle de *L. stoechas* sur *P. aeruginosa*

Region	diff	lwr	upr	p adj
Chlef-Blida1	1.666667e+00	1.3434544	1.9898790	0
CIP 5-Blida1	2.700000e+01	26.6767877	27.3232123	0
CN 10-Blida1	9.000000e+00	8.6767877	9.3232123	0
Chlef-Blida2	-2.333333e+00	-2.6565456	-2.0101210	0
CIP 5-Blida2	2.300000e+01	22.6767877	23.3232123	0
CN 10-Blida2	5.000000e+00	4.6767877	5.3232123	0
CIP 5-Chlef	2.533333e+01	25.0101210	25.6565456	0
CN 10-Chlef	7.333333e+00	7.0101210	7.6565456	0
CN 10-CIP 5	-1.800000e+01	-18.3232123	-17.6767877	0
Tissemsilt-CIP 5	-2.700000e+01	-27.3232123	-26.6767877	0
Tissemsilt-CN 10	-9.000000e+00	-9.3232123	-8.6767877	0

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Burt, S., "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods", *International Journal of Food Microbiology*, V. 94, n° 3, (2004), 223-253.
2. Fourmentin, S. et Kfoury, M., "Les huiles essentielles: renaissance d'ingrédients naturels et durables Essential oils: the renaissance of natural and sustainable ingredients", *Technologie et Innovation*, V. 24, n° 9, (2024), 1-21.
3. Türkmenoğlu, A. and Özmen, D., "Allergenic components, biocides, and analysis techniques of some essential oils used in food products", *Journal of Food Science*, V. 86, n° 6, (2021), 2225-2241.
4. Rodriguez, E., Healy, PL., Mehta, I., Biology and chemistry of plant trichomes. Biology and chemistry of plant trichomes. Plenum Press, New York (1984), 255p.
5. Garzoli, S., Turchetti, G., Giacomello, P., Tiezzi, A., Laghezza Masci, V. and Ovidi, E., "Liquid and vapour phase of lavandin (*Lavandula intermedia*) essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity", *Molecules*, V. 24, n° 15, (2019), 2701.
6. Quezel, P., and Santa, S., New flora of Algeria and southern desert regions. 1962.
7. Upson, T., and Andrews, S., "The Genus *Lavandula*; Royal Botanic Gardens, Kew", Timber Press: Portland, OR, USA, (2004).
8. Mahmoudi, Y., "La thérapeutique par les plantes communes en Algérie", Palais du Livre, Blida, (1990).
9. Benyagoub, E., Nabbou, N., Sirat, M., et Dahlis, Z., "Propriétés antibactériennes et constituants phytochimiques des extraits de la lavande de la région de Tlemcen et leur effet sur quelques espèces bactériennes responsables d'infection alimentaire", *Revue des Bioressources*, V. 257, n° 3242, (2014), 1-11.
10. Benabdelkader, T., "Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique", Université Jean Monnet-Saint-Etienne; École normale supérieure de Kouba (Alger), (2012), 2-47-58.

11. Dob, T., Dahmane, D., Agli, M. and Chelghoum, C., "Essential oil composition of *Lavandula stoechas* from Algeria", *Pharmaceutical Biology*, V. 44, n° 1, (2006), 60-64.
12. Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., et Kameli, A., "Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties", *Chemistry and Biodiversity*, V. 8, n° 5, (2011), 937-953.
13. Chekoual, L., Aissat, A., Benabdelkader, T., Aourahoun, K. A. K., Boumeridja, S. and Lamari, L., "The Effect of Ultrasound Pre-treatment on the Yield, Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from Wild *Lavandula stoechas* L.", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, V. 21, n° 1, (2018), 253-263.
14. Djenane, D., Aïder, M., Yangüela, J., Idir, L., Gómez, D. and Roncalés, P., "Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157: H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature", *Meat Science*, V. 92, n° 4, (2012), 667-674.
15. Mohammedi, Z. et Atik, F., "Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.", *Revue «Nature and Technologie»*, n° 6, (2012), 34-39.
16. Menaceur, F., "Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of ethanolic extracts from Algerian *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus tournefortii* de Noé", (2014), 139-146.
17. Belhadj Mostefa, M. B., Kabouche, A., Abaza, I., Aburjai, T., Touzani, R. and Kabouche, Z. ., "Chemotypes investigation of *Lavandula* essential oils growing at different North African soils", *J. Mater. Environ. Sci*, V. 5, (2014), 1896-1901.
18. Zahed, K., Souttou, K., Hamza, F. and Zamoum, M., "Chemical composition and larvicidal activities in vitro and in vivo of essential oils of *Thymus vulgaris* (L) and *Lavandula angustifolia* (Mill) against pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* Den. and Schiff. in Ain Defla (Algeria)", *Journal of Plant Diseases and Protection*, V. 128, (2021), 121-137.
19. Aissi, O., Boussaid, M. and Messaoud, C., "Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities", *Industrial Crops and Products*, V. 91, (2016), 56-65.
20. Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., et Seberg, O., "Flowering plant families of the world", *Firefly Books Ontario*, V. 88, (2007).

21. Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R. and Upson, T., "Labiatae", in *Flowering Plants: Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)*, Springer, (2004), 167-275.
22. Lis-Balchin, M., "Lavender: the genus *Lavandula*", CRC press, (2002), 14-22-51-68.
23. Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A. and Stevens, P., "Botanique systématique: une perspective phylogénétique", De Boeck Supérieur, (2002).
24. Grünwald, J. et Jänicke, C., "Guide de la phytothérapie", Marabout, (2006).
25. Belmont, M., "*Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula x intermedia* E.: études botaniques, chimiques et thérapeutiques", Thèse d'état en Pharmacie, Faculté de Pharmacie de Grenoble, Université de Grenoble, (2013), 15-19-20.
26. Paton, A. J., Springate, D., Suddee, S., Otieno, D., Grayer, R. J., Harley, M. M. and Savolainen, V., "Phylogeny and evolution of basil and allies (Ocimeae, Labiatae) based on three plastid DNA regions", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, V. 31, n° 1, (2004), 277-299.
27. Guitton, Y., "Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques", Université Jean Monnet-Saint-Etienne, (2010), 18-19-21-36-56.
28. Suárez-Cervera, M. et Seoane-Camba, J.A., "Taxonomía numérica de algunas especies de '*Lavandula*' L., basada en caracteres morfológicos, cariológicos y palinológicos", *Anales Del Jardin Botanico De Madrid*, V. 42, (1985), 395-409.
29. Baillere, J., "Arbres et arbustes d'ornementation", Diffusion Lavoisier, Tec et Doc, (1984), 68-125.
30. Grand, P., "*Lavandula angustifolia* Mill et son huile essentielle", (2009).
31. Guitton, Y., Nicolè, F., Moja, S., Valot, N., Legrand, S., Jullien, F. and Legendre, L., "Differential accumulation of volatile terpene and terpene synthase mRNAs during lavender (*Lavandula angustifolia* and *L. x intermedia*) inflorescence development. *Physiologia plantarum*, 138(2), (2010), 150-163.
32. Upson, T.M., "Systematics of the genus *Lavandula* L. (Lamiaceae)", University of Reading, (1997).
33. Herrera, J., "The role of colored accessory bracts in the reproductive biology of *Lavandula stoechas*", *Ecology*, V. 78, n° 2, (1997), 494-504.

34. Gainard, A., "Lavandes et lavandin, utilisation en aromathérapie. Enquête auprès des pharmaciens d'officine", Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Bordeaux, (2016), p 17.
35. Couderc-Le Vaillant, M., Segur-Fantino, N. and Couderc, H., "Étude phytodermologique de *Lavandula angustifolia* Mill", Revue de cytologie et de biologie végétales, Le Botaniste, V. 13, n° 1, (1990), 75-88.
36. Platt, E.S., "How to Grow and Use the Fragrant Herb « Lavender »". 2nd Edition", Stackpole Books, (2009), 144 p.
37. Aït Youssef, M., "Plantes médicinales de Kabylie", Éditions Ibispress, Paris, France, (2006).
38. Russo, E. and Tyler, V.M., "Handbook of Psychotropic Herbs: A Scientific Analysis of Herbal Remedies for Psychiatric Conditions", Haworth Herbal Press, (2001).
39. Dupérat, M. et Polese, J.M., "Encyclopédie visuelle des arbres and arbustes", Artémis Éd., (2008), 129.
40. Rameau, J., Mansion, D., Dumé, G., Gauberville, C., "Flore forestière française tome 3, région méditerranéenne: Guide écologique illustré", CNPF-IDF, V. 3, (2008), 735.
41. Guignard, F. et Dupont, F., "Botanique: systématique moléculaire", Elsevier Health Sciences, (2011).
42. Wichtl, M. et Anton, R., "Plantes thérapeutiques, 4ème édition allemande--2ème édition française, (2003).
43. Poletti, A., Landi, L.F. et Quinche, R., "Fleurs et plantes médicinales: santé et beauté de l'homme", Delachaux et Niestlé, (1982).
44. Jorek, N., "Épices et plantes aromatiques: description, culture, soins, propriétés et emploi de 50 aromates culinaires", Hatier, (1983).
45. Thurzova, L. et Sabrier, D., "Les Plantes-santé qui poussent autour de nous", Bordas, (1983).
46. Besombes, C., "Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées", Université de La Rochelle, (2008).
47. Al-Younis, F., Al--Naser, Z., et Al-Hakim, W., "Chemical composition of *Lavandula angustifolia* Miller and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils and fumigant toxicity against larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller", Int. J. Chem. Technol. Res, V. 8, (2015), 1382-1390.

48. Djenane, D., Lefsih, K., Yangüela, J. and Roncalés, P., "Composition chimique et activité anti-*Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7±1 C", *Phytothérapie*, V. 9, n° 6, (2011), 343-353.
49. Majchrzak, W., Motyl, I. and Śmigielski, K., "Biological properties and chemical composition of essential oils from flowers and aerial parts of lavender (*Lavandula angustifolia*)", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, V. 21, n° 5, (2018), 1303-1314.
50. Jianu, C., Pop, G., Gruia, A. T. and Horhat, F. G., "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania", *Int. J. Agric. Biol.*, V. 15, n° 4, (2013), 772-776.
51. Bruneton, J., "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. English", Lavoisier Paris : Technique et Documentation et Éditions médicales internationales, 1999; p : 1120.
52. Refaat, A. et Wahba, H., "Some factors affecting lavender plant productivity", *Annals of Agricultural Science (Egypt)*, (1998).
53. Gamez, M. J., Jimenez, J., Navarro, C. and Zarzuelo, A., "Study of the essential oil of *Lavandula dentata* L.", *Pharmazie*, V. 45, n° 1, (1990), 69-70.
54. Bardeau, F., "Les Huiles Essentielles", Éditions Lanore, (2009).
55. Lis-Balchin, M. and Hart, S., "Studies on the mode of action of the essential oil of Lavende *Lavandula angustifolia* Miller", *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, V. 13, n° 6, (1999), 540-542.
56. Çetinkaya, B. and Başbakkal, Z., "The effectiveness of aromatherapy massage using lavender oil as a treatment for infantile colic", *International Journal of Nursing Practice*, V. 18, n° 2, (2012), 164-169.
57. Sayyidah, S., Aulia, G. et Kusumawaty, N., "Literature review pengaruh aromaterapi bunga lavender (*Lavandula angustifolia*) terhadap penurunan insomnia pada lanjut usia", *Edu Masda Journal*, V. 6, n° 1, (2022), 17-25.
58. Siagian, H.S., "Pengaruh Aromaterapi Lavender Terhadap Penurunan Insomnia Pada Lanjut Usia Di Panti Werdha Guna Budi Bhakti Medan", *Jurnal Ilmiah Keperawatan Imelda*, V. 4, n° 1, (2018), 19-24.
59. Yuliana, N., Fauzi, M., et Hastuti, S., "Pengaruh Masase Aromaterapi Lavender Terhadap Penurunan Tingkat Insomnia Pada Lansia Di Balai Sosial

Lanjut Usia Mandalika Mataram", Jurnal Riset Kajian Teknologi dan Lingkungan, V. 2, n° 2, (2019), 84-88.

60. Diego, M.A., Jones, N.A., Field, T., Hernandez-Reif, M., Schanberg, S., Kuhn, C., Galamaga, M., McAdam, V. and Galamaga, R., "Aromatherapy positively affects mood, EEG patterns of alertness and math computations", International Journal of Neuroscience, V. 96, n° 3-4, (1998), 217-224.

61. Ziaee, M., Khorrami, A., Ebrahimi, M., Nourafcan, H., Amiraslanzadeh, M., Rameshrad, M., Garjani, M. and Garjani, A., "Cardioprotective effects of essential oil of *Lavandula angustifolia* on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rat", Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, V. 14, n° 1, (2015), 279.

62. Hohmann, J., Zupkó, I., Rédei, D., Csányi, M., Falkay, G., Máthé, I. and Janicsák, G., "Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation", Planta Medica, V. 65, n° 06, (1999), 576-578.

63. Yang, S.A., Jeon, S.K., Lee, E.J., Shim, C.H. and Lee, I.S., "Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components", Natural Product Research, V. 24, n° 2, (2010), 140-151.

64. Chu, C.J. et Kemper, K.J., "Lavender (*Lavandula* spp.)", Longwood Herbal Task Force, V. 32, n° 3-4, (2001), 1-32.

65. Panahi, Y., Akhavan, A., Sahebkar, A., Hosseini, S.M., Taghizadeh, M., Akbari, H., Sharif, M.R. and Imani, S., "Investigation of the effectiveness of *Syzygium aromaticum*, *Lavandula angustifolia* and *Geranium robertianum* essential oils in the treatment of acute external otitis: A comparative trial with ciprofloxacin", Journal of Microbiology, Immunology and Infection, V. 47, n° 3, (2014), 211-216.

66. Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D. and Van Griensven, L.J., "Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model", Molecules, V. 15, n° 11, (2010), 7532-7546.

67. Hui, L., He, L., Huan, L., XiaoLan, L. and AiGuo, Z., "Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against *rhinitis-related bacteria*", African Journal of Microbiology Research, V. 4, n° 4, (2010), 309-313.

68. Lahkimi, A., Nechad, I., Chaouch, M. and Eloutassi, N., "Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* of the middle atlas central (Morocco)", Moroccan Journal of Chemistry, V. 8, n° 4, (2020), 905-918.

69. Barker, S.C. et Altman, P.M., "An ex vivo, assessor blind, randomised, parallel group, comparative efficacy trial of the ovicidal activity of three pediculicides after a single application-melaleuca oil and lavender oil, eucalyptus oil and lemon tea tree oil, and a", BMC Dermatology, V. 11, n° 1, (2011), 1-7.

70. Mohammed, Z.Q. et Al-Qazwini, Y.M., "Study of the efficiency of the volatile oils of *Lavandula angustifolia* and *Salvia officinalis* plants in controlling the human head lice parasite *Pediculus humanus capitis*", V.6, (2022), 203-210.
71. Faraone, N., Hillier, N.K., et Cutler, G.C., "Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)", PloS One, V. 10, n° 5, (2015), e0127774.
72. Martynov, V.O., Titov, O.G., Kolombar, T.M. and Brygadyrenko, V.V., "Influence of essential oils of plants on the migration activity of *Tribolium confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae)", Biosystems Diversity, V. 27, n° 2, (2019), 177-185.
73. Schwartz, S.A., "Psychoactive Herbs in Veterinary Behavior Medicine", (2005).
74. Goetz, P. et Busser, C., "La phytocosmétologie thérapeutique", Springer, (2007).
75. Chemouny, B., "Soigner le stress par l'homéopathie et la phytothérapie", Odile Jacob, (2012).
76. Cartier, O. et Roux, D., "Botanique. Pharmacognosie, Phytoterapie. 3e édition", Porphyre, (2007).
77. Lim, T.K., "*Lavandula stoechas*. Edible medicinal and non-medicinal plants", Springer, V. 8, (2012).
78. Barbier, E., "Les lavandes et l'apiculture dans le sud-est de la france", Annales de l'Abeille, EDP Sciences, (1963).
79. Upson, T.M., Grayer, R.J., Greenham, J.R., Williams, C.A., Al-Ghamdi, F. and Chen, F.H., "Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*", Biochemical Systematics and Ecology, V. 28, n° 10, (2000), 991-1007.
80. Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Garrido-Mesa, J., Garrido-Mesa, N., Utrilla, M.P., González-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Molero-Mesa, J., del Mar Contreras, M. and Segura-Carretero, A., "Anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L.", Journal of Ethnopharmacology, V. 190, (2016), 142-158.
81. Celep, E., Akyüz, S., İnan, Y. and Yesilada, E., "Assessment of potential bioavailability of major phenolic compounds in *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*", Industrial Crops and Products, V. 118, (2018), 111-117.
82. Baali, F., Boumerfeg, S., Boudjelal, A., Denaro, M., Ginestra, G., Baghiani, A., Righi, N., Deghima, A., Benbacha, F., Smeriglio, A. and Trombetta, D., "Wound-healing activity of Algerian *Lavandula stoechas* and *Mentha pulegium*

extracts: From traditional use to scientific validation", *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, V. 156, n° 2, (2022), 427-439.

83. Ulubelen, A., Gören, N. et Olcay, Y., "Longipinene derivatives from *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas*", *Phytochemistry*, V. 27, n° 12, (1988), 3966-3967.

84. Topcu, G., Ayral, M.N., Aydin, A., Goren, A.C., Chai, H.B. and Pezzuto, J.M., "Triterpenoids of the roots of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*", *Pharmazie*, V. 56, n° 11, (2001), 892-895.

85. Baptista, R., Madureira, A.M., Jorge, R., Adão, R., Duarte, A., Duarte, N., Lopes, M.M. and Teixeira, G., "Antioxidant and antimycotic activities of two native *Lavandula* species from Portugal", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (2015), 570521.

86. Selmi, S., Jallouli, M., Gharbi, N. and Marzouki, L., "Hepatoprotective and renoprotective effects of lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils against malathion-induced oxidative stress in young male mice", *Journal of Medicinal Food*, V. 18, n° 10, (2015), 1103-1111.

87. Sebai, H., Selmi, S., Rtibi, K., Gharbi, N. and Sakly, M., "Protective effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats", *Journal of Medicinal Food*, V. 18, n° 2, (2015), 241-249.

88. Najafi, Z., Taghadosi, M., Sharifi, K., Farrokhian, A. and Tagharrobi, Z., "The effects of inhalation aromatherapy on anxiety in patients with myocardial infarction: a randomized clinical trial", *Iranian Red Crescent Medical Journal*, V. 16, n° 8, (2014).

89. Sarac, N. et Ugur, A., "The in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some Lamiaceae species from Turkey", *Journal of Medicinal Food*, V. 12, n° 4, (2009), 902-907.

90. Dadaloğlu, I. and Evrendilek, G.A., "Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 52, n° 26, (2004), 8255-8260.

91. Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S. and Cabras, P., "Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 54, n° 12, (2006), 4364-4370.

92. Loukhaoukha, R., "Extraction, identification et caractérisation de quelques métabolites secondaires de *Lavandula stoechas* et effets biologiques", *Université Blida1*, (2019), 78, 92, 125.

93. Amira, S., Dade, M., Schinella, G. and Ríos, J.L., "Anti-inflammatory, anti-oxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin", *Pak. J. Pharm. Sci*, V. 25, n° 1, (2012), 65-72.
94. El Ouali Lalami, A., EL-Akhal, F., Maniar, S., Ez zoubi, Y. and Taghzouti K., "Chemical constituents and larvicidal activity of essential oil of *Lavandula stoechas* (Lamiaceae) from Morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae)", *Int. J. Pharmacognosy and Phytochem. Res*, V. 8, (2016), 505-511.
95. Badreddine, B. S., Olfa, E., Samir, D., Hnia, C. and Lahbib, B. J. M., "Chemical composition of *Rosmarinus* and *Lavandula* essential oils and their insecticidal effects on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera, Lymantriidae)", *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, V. 8, n° 2, (2015), 98-103.
96. Barkaoui, M., Katiri, A., Boubaker, H. and Msanda, F., "Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 198, (2017), 338-350.
97. Bouayyadi, L., El Hafian, M., et Zidane, L., "Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la région du Gharb, Maroc", *Journal of Applied Biosciences*, V. 93, (2015), 8770-8788.
98. Jamila, F. et Mostafa, E., "Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 154, n° 1, (2014), 76-87.
99. Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H. and Lyoussi, B., "Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (*Errachidia province*)", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 110, n° 1, (2007), 105-117.
100. Gamez, M. J., Jimenez, J., Risco, S. and Zarzuelo, A., "Hypoglycemic activity in various species of the genus *Lavandula*. Part 1: *Lavandula stoechas* L. and *Lavandula multifida* L.", *Die Pharmazie*, V. 42, n° 10, (1987), 706-707.
101. Sebai, H., Selmi, S., Rtibi, K., Souli, A., Gharbi, N. and Sakly, M., "Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats", *Lipids in Health and Disease*, V. 12, n° 1, (2013), 1-9.
102. Franchomme, P., "La science des huiles essentielles médicinales", Guy Trédaniel Editions, (2015).
103. Usmanghani, K., Saeed, A., et Alam, M.T., "Indusynic Medicine: Traditional medicine of herbal animal and mineral origin in Pakistan", *Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Karachi*, (1997), 363-364.

104. Nadkarni, K. et Nadkarni, A., "Indian materia medica", Popular Prakashan, Bombay, V. 1, (1982), 278-279.
105. Rabiei, Z., Rafieian-Kopaei, M., Mokhtari, S., Alibabaei, Z. and Shahrani, M., "The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception", Biomedicine and Aging Pathology, V. 4, n° 1, (2014), 71-76.
106. Baytop, T., "Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present)", Publication of the Istanbul University, V. 312, (1999), 2-3.
107. Mahmoudi, Y., "La thérapeutique par les plantes communes en Algérie", Palais du livre, Blida, (1982).
108. Aissa BABA, F., "Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb", (1999).
109. Odoul, M., "Les huiles essentielles", La lettre de l'Institut Français de Shiatsu, V. 2, (2003), 1-12.
110. Valnet, J., "The practice of aromatherapy", CW Daniel Co. Ltd., Saffron Walden, (1980), 542 p.
111. Teuscher, E., Anton, R., et Lobstein, A., "Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles", Tec and Doc, (2005).
112. Afnor, "Huiles essentielles, Échantillonnage et méthodes d'analyse (tome 1)–Monographies relatives aux huiles essentielles", (tome 2. V 1 et 2), (2000), 195-471.
113. Iriti, M., Colnaghi, G., Chemat, F., Smadja, J., Faoro, F. and Visinoni, F.A., "Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: a comparative study", Flavour and Fragrance Journal, V. 21, n° 4, (2006), 704-712.
114. Werker, E., "Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of Lamiaceae—a review", Flavour and Fragrance Journal, V. 8, n° 5, (1993), 249-255.
115. Brown, J., Hegarty, P., et Charlwood, B., "The toxicity of monoterpenes to plant cell cultures", Plant Science, V. 48, n° 3, (1987), 195-201.
116. Wagner, G.J., "Secreting glandular trichomes: more than just hairs", Plant Physiology, V. 96, n° 3, (1991), 675-679.
117. Ghestem, A., "Le préparateur en pharmacie: Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie-Homéopathie", Lavoisier Tec et Doc, Paris, (2001), 273 p.

118. Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et CARDE, J-P., "Biogénèse des monoterpènes. I: Localisation et sécrétion", Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux, V. 133, n° 1-2, (1994), 69-78.
119. Figueredo, G., "Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne", Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, (2007).
120. Thormar, H. and Hilmarsson, H., "Antimicrobial lipids as disinfectants, antiseptics and sanitizers", Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents, (2011), 179-201.
121. Flores, G., Blanch, G.P., Ruiz del Castillo, M.L. and Herraiz, M., "Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids", Journal of Separation Science, V. 28, n° 17, (2005), 2333-2338.
122. Grayer, R.J., Kite, G.C., Goldstone, F.J., Bryan, S.E., Paton, A. and Putievsky, E., "Infraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*", Phytochemistry, V. 43, n° 5, (1996), 1033-1039.
123. Stierlin, E., "Développements analytiques et approche métabolomique pour l'étude des composés volatils d'origine végétale: Application à l'étude du déperissement de la lavande", Université Côte d'Azur, (2020).
124. Keefover-Ring, K., Thompson, J.D. et Linhart, Y.B., "Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction", Flavour and Fragrance Journal, V. 24, n° 3, (2009), 117-122.
125. Deschepper, R., "Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie", (2017), 11 p.
126. Chang YoonJee, C.Y., Lee SooHyun, L.S., Na JaHyun, N.J., Chang PahnShick, C.P. and Han JaeJoon, H.J., "Protection of grain products from *Sitophilus oryzae* (L.) contamination by anti-insect pest repellent sachet containing allyl mercaptan microcapsule", Journal of Food Science, V. 82, n° 11, (2017), 2634-2642.
127. Rai, M., Acharya, D., et Wadegaonkar, P., "Plant derived-antimycotics; potential of Asteraceous plants", Plant-derived antimycotics; Current Trends and Future Prospects, Haworth Press, New York, London, Oxford, (2003), 165-185.
128. Despinasse, Y., "Diversité chimique et caractérisation de l'impact du stress hydrique chez les lavandes", Université Jean Monnet-Saint-Etienne, (2015).
129. Pichersky, E., and Gershenzon, J., "The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense", *Current opinion in plant biology*, 5(3), (2002), 237-243.
130. Telphon, T. et de Paillette, I., "ABC des huiles essentielles", Le Grand Livre du Mois, (2003).

131. Yala, D., Merad, A S., Mohamdi, D. et Ouar Korich, M.N., "Classification et mode d'action des antibiotiques", Médecine du Maghreb, V. 91, n° 1, (2001), 5-12.
132. Elghozi, J. et Duval, D., "Pharmacologie 2ème Ed: Médecine Flammarion", Paris, (1992), 289 p.
133. Cohen, Y. et Jacquot, C., "Pharmacologie", Elsevier Health Sciences France, (2011).
134. Bergogne-Bérézin, E. et Dellamonica, P., "Antibiothérapie en pratique clinique", Masson, Paris, (1999), 486 p.
135. Sallé, J.-L., "Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie", Editions Frison-Roche, (2004).
136. López-Malo, A., Alzamora, S., et Argáiz, A., "Vanillin and pH synergistic effects on mold growth", Journal of Food Science, V. 63, n° 1, (1998), 143-146.
137. Kalembe, D. et Kunicka, A., "Antibacterial and antifungal properties of essential oils", Current Medicinal Chemistry, V. 10, n° 10, (2003), 813-829.
138. Bousbia, N., "Extraction et Identification de Quelques Huiles Essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Tym, Romarin): Etude de leurs activités antimicrobiennes", Th. magister, INA, Alger, (2004).
139. Jacques, B. et André, R., "Biochimie métabolique", Ed ellipses, Paris, (2004), 217-219.
140. Koechlin-Ramonatxo, C., "Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires", Nutrition Clinique et Métabolisme, V. 20, n° 4, (2006), 165-177.
141. Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P. and Prost, M., "Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives", La Presse Médicale, V. 30, n° 21, (2001), 1076-1081.
142. DellaGreca, M., Previtera, L., Temussi, F. and Zarrelli, A., "Low-molecular-weight components of olive oil mill waste-waters", Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, V. 15, n° 3, (2004), 184-188.
143. Boyd, B., Boyd, B., Ford, C., Koepke, M. C., Gary, K., Hom, E., Mc Analley, S. and Mc Analley, B., "Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé", GlycoScience et Nutrition, V. 4, n° 6, (2003), 7.
144. Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H. and Raneva, V. G., "Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems", Food Chemistry, V. 64, n° 1, (1999), 59-66.

145. Alzouma, I., Huignard, J., et Lenga, A., "Les coléoptères Bruchidae et les autres insectes ravageurs des légumineuses alimentaires en zone tropicale, Post-récolte, principes et application en zone tropicale", ESTEM/AUPELF Verstraeten et al. Eds, (1994), 79-103.
146. Fleurat-Lessard, F., "Ecophysiologie des Arthropodes nuisibles aux stocks des céréales en Afrique tropicale", (1997).
147. Camara, A., "Lutte contre *Sitophilus oryzae* L.(Coleoptera: Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales", Université du Québec à Montréal, (2009).
148. Aziez, M., Hammadouche, O., Mallem, S., and Tacherifet, S., "Le guide pratique pour l'agréeur céréales et légumineuses alimentaires", CNM Z, Algérie, (2003), 55.
149. Lepesme, P., "Les Coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés", (1944).
150. Myers, P., Espinosa, R., Parr, C.S., Hammond, G.S. and Dewey, A., "*Tribolium castaneum* red flour beetle", The Animal Diversity Web, University of Michigan, V. 12, (2014), 1-2.
151. Perrier, R., "La faune de la France–Coléoptères, 1ère partie", Ed. Librairie Delagrave, Paris, Fasc. 5, (1961), 192.
152. Perrier, R., "La faune de la France-Tome VI: Les Coléoptères 1ère partie", Lib. Delagrave, Paris, (1964).
153. Weidner, H. and Rack, G., "Tables de détermination des principaux ravageurs des denrées entreposées dans les pays chauds:(titre de dos: Principaux ravageurs des denrées entreposées)", Deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit, (1984).
154. Gwinner, J., Hamisch, R. and Muck, O., "Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte", Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), Eschborn, Germany, (1996), 368 p.
155. Gueye, A. C., Diome, T., Thiaw, C., and Sembene, M."Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* H.(Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé dans le mil (*Pennisetum glaucum* Leek) et le maïs (*Zea mays* L.)", Journal of Applied Biosciences, V. 90, (2015), 8361 - 8376.
156. Sreeramoju, P., Prasad, M. and Lakshmipathi, V., "Complete study of life cycle of *Tribolium castaneum* and its weight variations in the developing stages", International Journal of Plant and Animal Environmental Sciences, V. 6, n° 1,

(2016), 95 - 100.

157. Gwinner, J., Hämisch, R. and Mück, O., "Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte. Projet de protection des stocks et des récoltes", GTZ, Eschborn, Germany, (1996), 388.

158. Campbell, J. and Runnion, C., "Patch exploitation by female red flour beetles, *Tribolium castaneum*", Journal of Insect Science, V. 3, n° 1, (2003), 20.

159. Bekon, K. and Fleurat Lessard, F., "Evolution des pertes en matière sèche des grains dues à un ravageur secondaire: *Tribolium castaneum* (Herbst), coléoptère Tenebrionidae, lors de la conservation des céréales", Céréales en régions chaudes: conservation et transformation, (1989).

160. Nesci, A., Barra, P. and Etcheverry, M., "Integrated management of insect vectors of *Aspergillus flavus* in stored maize, using synthetic antioxidants and natural phytochemicals", Journal of stored products research, V. 47, n° 3, (2011), 231 - 237.

161. Guenha, R., das Virtudes Salvador, B., Rickman, J., Goulao, L. F., Muocha, I. M. and Carvalho, M. O., "Hermetic storage with plastic sealing to reduce insect infestation and secure paddy seed quality: A powerful strategy for rice farmers in Mozambique", Journal of stored products research, V. 59, (2014), 275 - 281.

162. Jerraya, A., "Principaux nuisibles des plantes cultivées et des denrées stockées en Afrique du Nord: leur biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leur contrôle", Edition Climat Pub, (2003).

163. Klyś, M., "Nutritional preferences of the lesser grain borer *Rhizopertha dominica* F.(Coleoptera, Bostrichidae) under conditions of free choice of food", Journal of Plant Protection Research, (2006), 359-367.

164. Bekele, J. et Hassanali, A., "Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests", Phytochemistry, V. 57, n° 3, (2001), 385-391.

165. Isman, M.B., "Plant essential oils for pest and disease management", Crop protection, V. 19, n° 8-10, (2000), 603-608.

166. Keane, S. et Ryan, M., "Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* (L.)", Insect biochemistry and molecular biology, V. 29, n° 12, (1999), 1097-1104.

167. Houghton, P.J., Ren, Y. et Howes, M.-J., "Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi", Natural product reports, V. 23, n° 2, (2006), 181-199.

168. Roeder, T., "Octopamine in invertebrates", Progress in neurobiology, V. 59, n° 5, (1999), 533-561.

169. Enan, E., "Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, V. 130, n° 3, (2000), 325-337.
170. Koul, O., Walia, S. et Dhaliwal, G., "Essential oils as green pesticides: potential and constraints", *Biopestic. Int*, V. 4, n° 1, (2008), 63-84.
171. Huignard, J., "Les plantes et les insectes: une lutte permanente. Les défenses des plantes", *Insects*, V. 168, (2013), 3-8.
172. Moharramipour, S., Taghizadeh, A., Meshkatsadat, M. H., Talebi, A. A. and Fathipour, Y., "Repellent and fumigant toxicity of essential oil from *Thymus persicus* against *Tribolium castaneum* and *Callosobruchus maculatus*", *Communications in agricultural and applied biological sciences*, V. 73, n° 3, (2008), 639-642.
173. Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibijbjen, J. and Nassiri, L., "Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones Au Maroc: «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.»", *European Scientific Journal*, V. 12, n° 30, (2016), 313-333.
174. Twidwell, L.G. et Williams-Beam, C., "Potential technologies for removing thallium from mine and process wastewater: an annotation of the literature", *Eur. J. Miner. Process. Environ. Prot.*, V. 2, (2002), 1-10.
175. Martin-Prevel, P., Gagnard, J. et Dautier, P., "Dans le Contrôle de L'alimentation des Plantes Temperees et Tropicales", *Technique et Documentation*, Paris. *Journal of Cell Biology*, V. 133, (1984), 683-693.
176. NGANGUEM, M., "Approche physico-chimique du pouvoir conservateur du sel: Cas du salage de *Pseudotolithus senegalensis*", *Éditions universitaires européennes*, (2010).
177. Diallo, D., Paulsen, B. S., Liljebäck, T. H. and Michaelsen, T. E., "Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 74, n° 2, (2001), 159-171.
178. N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D. and Aké-Assi, L., "Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)", *Sciences and Nature*, V. 6, n° 1, (2009), 1-15.
179. Luque De Castro, M. et Garcia-Ayuso, L., "Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future", *Analytica chimica acta*, V. 369, n° 1-2, (1998), 1-10.
180. 19. Calvet, R., "Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales", *France agricole éditions*, (2005).

181. Kaloustian, J. et Hadji-Minaglou, F., "La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée", Springer, (2012), 210.
182. Singleton V. L., O.R. et Lamuela-Raventos R. M., "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent", *Methods in enzymology*, V. 299, (1999), 152.
183. Ribéreau-Gayon, P. et Gautheret, R.-J., "Les composés phénoliques des végétaux", (1968).
184. Afnor, N., "Recueil des Normes Françaises: Huiles Essentielles", AFNOR, Paris, France, (1986), 57.
185. Adams, R. P., Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. *Gruver, TX USA: Texensis Publishing* (2017).
186. Bizot, S., Bourny, E., Compagnon, P. A., Kergosien, H., Quintelas, L. G. and Respaud, J., "Impuretés des drogues végétales, préparations à base de drogues végétales et médicaments à base de plantes I. Contamination microbienne", *S.T.P. Pharma Pratiques*, (2007), 183-208.
187. Atlas, R.M., "Handbook of microbiological media", CRC press, (2004).
188. Mandali, R., Stored grain pests and their identification. National Institute of Plant Health Management, (2020).
189. Mejdoub, K., Benomari, F. Z., Djabou, N., Dib, M. E. A., Benyelles, N. G., Costa, J. and Muselli, A., "Antifungal and insecticidal activities of essential oils of four *Mentha* species", *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, V. 14, n° 1, (2019), 64165.
190. Abbott, W.S., "A method of computing the effectiveness of an insecticide", *J. econ. Entomol*, V. 18, n° 2, (1925), 265-267.
191. Finney, D., "Probit analysis", Cambridge University Press, Cambridge, UK, (1971).
192. Dulger, B. et Gonuz, A., "Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants", *Pakistan Journal of Biological Sciences*, V. 7, n° 9, (2004), 1559-1562.
193. Parekh, J. et Chanda, S., "In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants", *Turkish journal of biology*, V. 31, n° 1, (2007), 53-58.
194. Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D. and Roussis, V., "Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 123, n° 1, (2009), 143-148.

195. Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M. and Ed-Dra, A., "Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc", *Phytothérapie*, V. 14, n° 6, (2016), 355-362.
196. Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S. and Chinou, I. B., "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species", *Journal of agricultural and food chemistry*, V. 49, n° 9, (2001), 4168-4170.
197. Eloff, J.N., "A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria", *Planta medica*, V. 64, n° 08, (1998), 711-713.
198. Skandamis, P., Koutsoumanis, K., Fasseas, K., & Nychas, G. J. E., Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157: H7, 2001, Vol. 13, No. 1, 65-75.
199. Marmonier, A., *Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques*. Bactériologie Médicale, technique usuelles, (1990), 227-236.
200. Iijima, Y., Gang, D. R., Fridman, E., Lewinsohn, E., and Pichersky, E., "Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet basil", *Plant physiology*, V. 134, n° 1, (2004), 370-379.
201. Covello, P. S., Teoh, K. H., Polichuk, D. R., Reed, D. W., and Nowak, G., "Functional genomics and the biosynthesis of *artemisinin*", *Phytochemistry*, V. 68, n° 14, (2007), 1864-1871.
202. Biswas, K. K., Foster, A. J., Aung, T., and Mahmoud, S. S., "Essential oil production: relationship with abundance of glandular trichomes in aerial surface of plants", *Acta physiologiae plantarum*, V. 31, (2009), 13-19.
203. Agustin, Y.T., Ermayanti, E. et Susanti, R., "Leaf trichomes identification in lamiaceae family plants and contribution to high school biology learning", *JPBIO (Jurnal Pendidikan Biologi)*, V. 7, n° 1, (2022), 20-35.
204. Zhang, Y., Wang, D., Li, H., Bai, H., Sun, M., and Shi, L., "Formation mechanism of glandular trichomes involved in the synthesis and storage of terpenoids in lavender", *BMC Plant Biology*, V. 23, n° 1, (2023), 1-16.
205. Gianfagna, T.J., Carter, C.D. et Sacalis, J.N., "Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*", *Plant physiology*, V. 100, n° 3, (1992), 1403-1405.
206. Pérez-Estrada, L.B., Cano-Santana, Z. et Oyama, K., "Variation in leaf trichomes of *Wigandia urens*: environmental factors and physiological consequences", *Tree Physiology*, V. 20, n° 9, (2000), 629-632.

207. Casteel, C. L., Ranger, C. M., Backus, E. A., Ellersieck, M. R., and Johnson, D. W., "Influence of plant ontogeny and abiotic factors on resistance of glandular-haired alfalfa to potato leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae)", *Journal of economic entomology*, V. 99, n° 2, (2006), 537-543.
208. Pokajewicz, K., Czarniecka-Wiera, M., Krajewska, A., Maciejczyk, E., and Wieczorek, P. P., "*Lavandula x intermedia*—A Bastard Lavender or a Plant of Many Values? Part I. Biology and Chemical Composition of Lavandin", *Molecules*, V. 28, n° 7, (2023), 2943.
209. Stefan, G.-A., Zamfirache, M.M. et IVANESCU, L.C., "Histo-anatomical and micromorphological investigations on six *Lavandula* l. taxa", *Analele Stiintifice ale Universitatii Alexandru Ioan Cuza din Iasi. Sectiunea II A, Biologie Vegetala*, V. 67, (2021).
210. Guitton, Y., Nicolè, F., Moja, S., Valot, N., Legrand, S., Jullien, F. and Legendre, L., "Differential accumulation of volatile terpene and terpene synthase mRNAs during lavender (*Lavandula angustifolia* and *L. x intermedia*) inflorescence development", *Physiologia plantarum*, V. 138, n° 2, (2010), 150-163.
211. Huang ShanShan, H.S., Kirchoff, B. and Liao JingPing, L.J., "The capitate and peltate glandular trichomes of *Lavandula pinnata* L.(Lamiaceae): histochemistry, ultrastructure, and secretion". (2008).
212. Giuliani, C., Bottoni, M., Ascrizzi, R., Milani, F., Spada, A., Papini, A. and Fico, G., "Insight into micromorphology and phytochemistry of *Lavandula angustifolia* Mill. from Italy". *South African Journal of Botany*, V. 153 (2023), 83-93.
213. Blažeković, B., Stabentheiner, E., Brantner, A. and Vladimir-Knežević, S., "A comparative study on glandular trichomes of *Lavandula x intermedia* Budrovka and *L. angustifolia*", V.135, N. 2, (2012), 155-167.
214. Teixeira, G., Correia, A. I., Vasconcelos, T., Feijão, D. and Madureira, A. M., "*Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* and *L. pedunculata*-phytochemical study, micromorphology and histochemistry. *Revista de Ciências Agrárias*", V. 36, N. 2, (2013), 220-228.
215. Levin, D.A., "The role of trichomes in plant defense", *The quarterly review of biology*, V. 48, (1973), 3-15.
216. Schuurink, R. and A. Tissier, "Glandular trichomes: micro-organs with model status?", *New Phytologist*, V. 225, n°6, (2020), 2251-2266.
217. Ștefan, G.-A., M.M. Zamfirache. and L.C. Ivănescu, "Histo-anatomical and micromorphological modifications of the stem and leaves in four cultivars of *Lavandula angustifolia* Mill. supplemented with Hoagland nutrient solution", *Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, V. 31. N°4, (2021), 150 - 163.
218. Nultsch, W., 'Botanique générale', De Boeck Supérieur, (1998).

219. *Pharmacopée Européenne*. Vème édition, Strasbourg, France, (2005).
220. Richter, G. et Reymond, G., "Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie", Presses polytechniques et universitaires romandes Lausanne, (1993).
221. Adepo, Y. P., Seka, A., Biego, H. G., Chatigre, K. O., and Kati, C. S., "étude de l'évolution des paramètres physico-chimiques de deux plantes *euphorbia hirta* et *secamone afzelii* en fonction des quatre saisons de l'année, de l'extraction aqueuse et évaluation du pouvoir lactogène", Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, (2010), 12-24.
222. Costea, T., Străinu, A.-M. et Gîrd, C.E., "botanical characterization, chemical composition and antioxidant activity of romanian lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) flowers", Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series), V. 29, n° 4, (2019), 159-167.
223. Radi, F. Z., Zekri, N., Drioiche, A., Zerkani, H., Boutakiout, A., Bouzoubaa, A. and Zair, T. , "Volatile and Non-Volatile Chemical Compounds and Biological Power of the genus *Lavandula*: Case of two Moroccan Lavenders *Lavandula angustifolia* Mill.(Cultivated Lavander) and *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav.(Spontaneous Lavander)", Egyptian Journal of Chemistry, V. 65, n° 3, (2022), 273-294.
224. Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Saker, M., Ghellai, I. and Boudjemai, O., "Phytochemical screening, phenolic content and antioxidant activity of *Lavandula* species extracts from Algeria", İstanbul Journal of Pharmacy, V. 51, n° 1, (2021), 111-117.
225. Boufellous, M., Lrhorfi, L. A., Berrani, A., Haoud, H. E., Zaher, A., Bouhaddioui, B. and Bengueddour, R., "Phytochemical screening of a medicinal plant: *Lavandula stoechas* (Lamiaceae)", Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, V. 6, n° 2, (2017), 56-62.
226. Bachiri, L., Bammou, M., Echchegadda, G., Ibjibijen, J., El Rhaffari, L., Haloui, Z. and Nassiri, L., "Composition Chimique Et Activité Antimicrobienne Des Huiles Essentielles De Deux Espèces De Lavande: *Lavandula Dentata* Spp. Dentata Et *Lavandula Pedunculata* Spp. Pedunculata", Eur. Sci. J. ESJ, V. 13, (2017), 293.
227. Krmat, S., Toumi, M., Metidji, H., Kesouri, A. and Chelghoum, C., "Evaluation of phytochemicals, antioxidant and cytotoxic activities of *Lavandula antineae* Maire endemic medicinal plant from Algeria", Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care, (2014), 24-31.
228. Balakrishnan, A., Priya, V. et Gayathri, R., "Preliminary phytochemical analysis and antioxidant activities of lemongrass and lavender", Journal of pharmaceutical sciences and research, V. 7, n° 7, (2015), 448.

229. Menaceur, F., "Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles et extraits du romarin (*Rosmarinus eriocalyx*) et de la lavande (*Lavandula stoechas*)", INA, (2011), p 129.
230. Mahmoudi, S., Khali, M. et Mahmoudi, N., "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)", Nature and Technology, V. 9, (2013), 35.
231. Miliauskas, G., Venskutonis, P. et Van Beek, T., "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts", Food Chemistry, V. 85, n° 2, (2004), 231-237.
232. Bouayed, J., Piri, K., Rammal, H., Dicko, A., Desor, F., Younos, C. and Soulimani, R., "Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medicinal plants", Food Chemistry, V. 104, n° 1, (2007), 364-368.
233. Dumitru, M.G., "Phytochemical screening, total hydroxycinnamic acids, total phenolic and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill", GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, V. 10, n° 2, (2020), 01-08.
234. Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C. A., Bodirlau, R. and Armatu, A., "Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania", Natural product research, V. 25, n° 17, (2011), 1657-1661.
235. Slimani, C., Sqalli, H., Chaimae, R. A. I. S., Farah, A., Lazraq, A., El Ghadraoui, L. and Echchgadda, G., "Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of *Lavandula angustifolia* L.", Notulae Scientia Biologicae, V. 14, n° 1, (2022), 11172-11172.
236. Noureddine, A., Gherib, A., Bakchiche, B., Carbonell-Barrachina, A., Cano-Lamadrid, M. and Noguera-Artiaga, L., "Chemical composition, mineral content and antioxidant capacity of phenolic extracts and essential oils of *Lavandula stoechas* L.", Scientific Study and Research. Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry, V. 20, n° 3, (2019), 423-437.
237. Ceylan, Y., Usta, K., Usta, A., Maltas, E. and Yildiz, S., "Evaluation of antioxidant activity, phytochemicals and ESR analysis of *Lavandula stoechas*", Acta Physica Polonica A, V. 128, n° 2B, (2015), 483-487.
238. Ez zoubi, Y., Farah, A., Zaroual, H. and El Ouali Lalami, A. ., "Antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* phenolic extracts against pathogenic bacteria isolated from a hospital in Morocco", Vegetos, V. 33, n° 4, (2020), 703-711.
239. Messaoud, C., Chograni, H. et Boussaid, M., "Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species", Natural product research, V. 26, n° 21, (2012), 1976-1984.

240. Dif, M. M., Benyahia, M., Toumi Benali, F., Rahmani, M. and Bouazza, S., "Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders", *Phytothérapie*, V. 15, n° 6, (2017), 367-372.
241. Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C. and Abdelly, C., "Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents", *Food and chemical toxicology*, V. 47, n° 8, (2009), 2083-2091.
242. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. et Bekhradnia, A.R., "Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran", *African journal of Biotechnology*, V. 7, n° 18, (2008), 3188-3192.
243. Maisuthisakul, P., Suttajit, M. et Pongsawatmanit, R., "Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants", *Food Chemistry*, V. 100, n° 4, (2007), 1409-1418.
244. Turgut, A. C., Emen, F. M., Canbay, H. S., Demirdöğen, R. E., Cam, N., Kılıç, D. and Yeşilkaynak, T., "Chemical characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. which is a phytocosmetic species and investigation of its antimicrobial effect in cosmetic products", *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, V. 4, n° 1, (2017), 283-298.
245. Danh, L. T., Han, L. N., Triet, N. D. A., Zhao, J., Mammucari, R. and Foster, N., "Comparison of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) essential oils extracted by supercritical CO₂, hexane and hydrodistillation", *Food and bioprocess technology*, V. 6, (2013), 3481-3489.
246. Verma, R. S., Rahman, L. U., Chanotiya, C. S., Verma, R. K., Chauhan, A., Yadav, A. and Yadav, A. K., "Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India", *Journal of the serbian chemical society*, V. 75, n° 3, (2010), 343-348.
247. Rezazadeh, S. H., Baha-Aldini, B. Z. B. F., Vatanara, A., Behbahani, B., Rouholamini Najafabadi, A., Maleky-Doozadeh, M. and Pirali Hamedani, M., "Comparison of super critical fluid extraction and hydrodistillation methods on lavender's essential oil composition and yield", *Journal of Medicinal Plants*, V. 7, n° 25, (2008), 63-68.
248. Baali, F., Boumerfeg, S., Napoli, E., Boudjelal, A., Righi, N., Deghima, A. and Ruberto, G. , "Chemical composition and biological activities of essential oils from two wild Algerian medicinal plants: *Mentha pulegium* L. and *Lavandula stoechas* L.", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, V. 22, n° 3, (2019), 821-837.
249. Sebti, M., "Contribution à l'étude économique et écologique de la production d'huiles essentielles à partir de trois espèces forestières", ENSA, (2003).
250. Msaada, K., Salem, N., Tammar, S., Hammami, M., Jamal Saharkhiz, M., Debiche, N. and Marzouk, B., "Essential oil composition of *Lavandula dentata*, L.

stoechas and *L. multifida* cultivated in Tunisia", Journal of Essential Oil Bearing Plants, V. 15, n° 6, (2012), 1030-1039.

251. Hassiotis, C.N., "Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region", Biochemical Systematics and Ecology, V. 38, n° 4, (2010), 493-501.

252. Raina, A.P. et Negi, K., "Comparative essential oil composition of *Lavandula* species from India", Journal of herbs, spices and medicinal plants, V. 18, n° 3, (2012), 268-273.

253. Carrasco, A., Ortiz-Ruiz, V., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V. and Tudela, J., "*Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities", Industrial crops and products, V. 73, (2015), 16-27.

254. Skoula, M., Abidi, C. et Kokkalou, E., "Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece)", Biochemical Systematics and Ecology, V. 24, (1999), 255-260.

255. Baldovini, N., et al., "Variabilite chimique de *Lavandula stoechas* L. SSP. *Stoechas* De Corse", RIVISTA ITALIANA EPPOS, V. 9, (1998), 773-780.

256. Koba, K., Sanda, K., Raynaud, C., Mandin, D., Millet, J. and Chaumont, J. P., "Antimicrobial activity of essential oils of *Cymbopogon citratus* L.(DC) Stapf., *C. nardus* L. Rendle and *C. schoenanthus* L. Spreng", (2003), 175-180.

257. Sahraoui, N., "Mise au point d'un nouveau procédé d'extraction d'huiles essentielles assisté par micro-ondes", Thèse de doctorat, Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, (2012).

258. Koleilat, M., Raafat, K., El-Lakany, A., and Aboul-Ela, M., "Designing monographs for *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* L.: Two Lebanese species with significant medicinal potentials", Pharmacognosy Journal, V. 9, n° 4, (2017), 452-474.

259. Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F. and Hakim, Y., "Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie)", Nature and Technology, V. 3, (2010), 37.

260. Prusinowska, R. and Śmigielski, K.B., "Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia*) L. A review." Herba polonica, 60(2)5, (2014), 6-66.

261. Hassiotis, C. N., Ntana, F., Lazari, D. M., Poullos, S., and Vlachonasios, K. E., "Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period." Industrial crops and products, V. 62, (2014), 359-366.

262. Tomescu, A., Rus, C., Pop, G., Alexa, E., Șumălan, R., Copolovici, D. and Negrea, M., "Chemical composition of *Lavandula angustifolia* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils cultivated in West Romania." Research Journal of Agricultural Science, V. 47, (2015), 3.
263. Najafian, S., Rowshan, V. and. Tarakemeh A., "Comparing essential oil composition and essential oil yield of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* before and full flowering stages." International Journal of Applied Biology and Technology, V.3, (2012), 212-218.
264. AL- Younis, F., Al --Naser, Z , Al-Hakim, W, "Chemical composition of *Lavandula angustifolia* Miller and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils and fumigant toxicity against larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller." Int. J. Chem. Technol. Res, V.8, (2015), 1382-1390.
265. Loukhaoukha, R., Saidi, F., Jullien, F., and Benabdelkader, T., "Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lavandula stoechas* Essential Oil and its Main Components against *Erwinia amylovora* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*." Phytothérapie, V.16, (2018), 149-157.
266. Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M., Chaabouni, M. M., Aissa, R. B., Zgoulli, S., and Lognay, G. C., "Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia." Journal of essential oil research, V.17, (2005), 584-586.
267. Kırmızıbekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Başer, K. H. C. and Demirci, F., "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey." Natural Product Communications, V.4, N)7 (2009), 1001-1006.
268. Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmuş, Z. and Pezzuto, J. M., "The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*." Zeitschrift für Naturforschung C, V.17 n°5, (2002), 797-800.
269. Senatore, F., "Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy)." Journal of agricultural and food chemistry, V. 44, 1996, 1327-1332.
270. Ristic, D.B. and N.T. Zalfija, "(*Salvia officinalis* L) Bric D (ed) Institute for medicinal plants Josif Panacic." Belgrade and Art Grafik Belgrade, 1999: p. 151-167.
271. Desjobert, J. M., Bianchini, A., Tomi, P., Costa, J., and Bernardini, A. F., "Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrometrie de masse. Application a la valorisation des plantes de la flore corse." Analusis, 1997. 6(25): p. 13-16.
272. Bruneton, J., "Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales", 1993.

273. Kaloustian, J., A.-M. Pauli. and J. Pastor, "Evolution of camphor and others components in the essential oils of two labiate species during the biological cycle." *Analisis*, V.28, n°4, (2000), 308-315.
274. Da Porto, C., D. Decorti, and I. Kikic, "Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods." *Food Chemistry*, V.112 n°4, (2009), 1072-1078.
275. Lair, P.-Y., "A propos des 26 allergènes de la directive 2003/15/CE", 2006.
276. Faucon, M., "Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: fondements and aide à la prescription: monographies, huiles essentielles (HE), huiles végétales (HV), hydrolats aromatiques (HA)", (2012).
277. Chograni, H., Zaouali, Y., Rajeb, C. and Boussaid, M., "Essential oil variation among natural populations of *Lavandula multifida* L. (Lamiaceae)." *Chemistry and biodiversity*, V.7 n°4, (2010), 933-942.
278. Zrira, S. and Benjilali, B., "The constituents of the oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *atlantica* Br.-Bl. and *L. stoechas* ssp. *stoechas* from Morocco", *Journal of essential oil research*, V. 15, n° 2, (2003), 68-69.
279. Barhouchi, B., Aouadi, S. and Abdi, A., "Comparative chemical profile of *Lavandula stoechas* L. essential oils isolated from flowers and leaves native to algeria", *Phytothérapie*, V. 17, n° 5, (2019), 240-248.
280. Kabelitz, L. and Sievers, H., "Contaminants of medicinal and food herbs with a view to EU regulations", *Innovations Food Technol*, V. 1, (2004), 25-27.
281. Czech, E., Kneifel, W. and Kopp, B., "Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs-A screening study", *Planta medica*, V. 67, n° 03, (2001), 263-269.
282. Alexander, R., Wilson, D. and Davidson, A., "Medicines Control Agency investigation of the microbial quality of herbal products", (1998), 259-261
283. Martins, H.M., Martins, M.L., Dias, M.I. and Bernardo, F., "Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions", *International journal of food microbiology*, V. 68, n° 1-2, (2001), 149-153.
284. Kneifel, W., Czech, E. and Kopp, B., "Microbial contamination of medicinal plants-a review", *Planta medica*, V. 68, n° 01, (2002), 5-15.
285. Hamad, K.J., Al-Shaheen, S.J.A., Kaskoos, R.A., Ahamad, J., Jameel, M. and Mir, S.R., "Essential oil composition and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* from Iraq", *Int. Res. J. Pharm*, V. 4, n° 4, (2013), 117-120.

286. Hussain, A.I., Anwar, F., Iqbal, T. and Bhatti, I.A., "Antioxidant attributes of four Lamiaceae essential oils", *Pak. J. Bot.*, V. 43, n° 2, (2011), 1315-1321.
287. Nikšić, H., Kovač-Bešović, E., Makarević, E., Durić, K., Kusturica, J. and Muratovic, S., "Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil", *Journal of Health Sciences*, V. 7, n° 1, (2017), 35.
288. Pistelli, L., Najar, B., Giovanelli, S., Lorenzini, L., Tavarini, S. and Angelini, L.G., "Agronomic and phytochemical evaluation of lavandin and lavender cultivars cultivated in the Tyrrhenian area of Tuscany (Italy)", *Industrial crops and products*, V. 109, (2017), 37-44.
289. Blažeković, B., Yang, W., Wang, Y., Li, C., Kindl, M., Pepeljnjak, S. and Vladimir-Knežević, S., "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Lavandula x intermedia* 'Budrovka' and *L. angustifolia* cultivated in Croatia", *Industrial crops and products*, V. 123, (2018), 173-182.
290. Garzoli, S., Laghezza Masci, V., Franceschi, S., Tiezzi, A., Giacomello, P. and Ovidi, E., "Headspace/GC-MS analysis and investigation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of essential oils and hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller.", *Foods*, V. 10, n° 8, (2021), 1768.
291. Barkat, M. and Laib, I., "Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*", *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, V. 4, n° 7, (2012), 96-101.
292. Bouyahya, A., Et-Touys, A., Abrini, J., Talbaoui, A., Fellah, H., Bakri, Y. and Dakka, N., "*Lavandula stoechas* essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, V. 12, (2017), 179-184.
293. Insawang, S., Pripdeevech, P., Tanapichatsakul, C., Khruengsai, S., Monggoot, S., Nakham, T. and Panuwet, P., "Essential oil compositions and antibacterial and antioxidant activities of five *Lavandula stoechas* cultivars grown in Thailand", *Chemistry and biodiversity*, V. 16, n° 10, (2019), e1900371.
294. Lee, C.J., Chen, L.G., Chang, T.L., Ke, W.M., Lo, Y.F. and Wang, C.C., "The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants", *Food Chemistry*, V. 124, n° 3, (2011), 833-841.
295. Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A. and Chaouch, A., "Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc", *Phytothérapie*, V. 9, n° 3, (2011), 149-157.
296. Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G. and Fu, Y.J., "Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components", *Food Chemistry*, V. 108, n° 3, (2008), 1019-1022.

297. El Hamdaoui, A., Msanda, F., Boubaker, H., Leach, D., Bombarda, I., Vanloot, P. and El Mousadik, A., "Essential oil composition, antioxidant and antibacterial activities of wild and cultivated *Lavandula mairei* Humbert", *Biochemical Systematics and Ecology*, V. 76, (2018), 1-7.
298. Amorati, R., Foti, M.C. and Valgimigli, L., "Antioxidant activity of essential oils", *Journal of agricultural and food chemistry*, V. 61, n° 46, (2013), 10835-10847.
299. Lis-Balchin, M. and Deans, S., "Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*", *Journal of applied microbiology*, V. 82, n° 6, (1997), 759-762.
300. Imelouane, B., Tahri, M., Ankit, M., Khdid, K., Amhamdi, H., Dubois, J. and Elbachiri, A., "The essential oil of Eastern Moroccan *Rosmarinus officinalis*: chemical composition, in vitro antimicrobial and antioxydant activities", *Rev Microbiol Ind San et Environn*, V. 4, (2010), 120-41.
301. Tepe, B., Daferera, D., Sökmen, M., Polissiou, M. and Sökmen, A., "The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L var *bevanii*", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 84, n° 11, (2004), 1389-1396.
302. Miguel, M.G., "Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review", *Molecules*, V. 15, n° 12, (2010), 9252-9287.
303. Clemente, S., Mareggiani, G., Broussalis, A., Martino, V. and Ferraro, G., "Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects", *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, V. 29, (2003), 1-8.
304. Isman, M., "Problems and opportunities for the commercialization of botanical insecticides", *Biopesticides of plant origin*, (2005), 283-291.
305. Regnault-Roger, C., "New insecticides of plant origin for the third millennium?", *Biopesticides of plant origin*, (2005), 17-35.
306. Isman, M.B., "Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world", *Annu. Rev. Entomol.*, V. 51, (2006), 45-66.
307. Gharsan, F., Jubara, N., Alghamdi, L., Almakady, Z. and Basndwh, E., "Toxicity of five plant oils to adult *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae)", *Florida Entomologist*, (2018), 592-596.
308. Oviedo-Sarmiento, J.S., Cortes, J.J.B., Ávila, W.A.D., Suárez, L.E.C., Daza, E.H., Patiño-Ladino, O.J. and Prieto-Rodríguez, J.A., "Fumigant toxicity and biochemical effects of selected essential oils toward the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)", *Pesticide biochemistry and physiology*, V. 179, (2021), 104941.

309. Ncibi, S., Barbouche, N., Haouel-Hamdi, S. and Ammar, M., "Insecticidal activity of several Tunisian essential oils against two major pests of stored grain *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) and *Tribolium castaneum* (Herbst 1797)", J. New Sci. Agric. Biotech, V. 66, (2019), 4182-4194.
310. Germinara, G.S., Di Stefano, M.G., De Acutis, L., Pati, S., Delfine, S., De Cristofaro, A. and Rotundo, G., "Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*", Bulletin of Insectology, V. 70, n° 1, (2017), 129-138.
311. Laznik, Z., Vidrih, M. et Trdan, S., "Efficacy of four essential oils against *Sitophilus granarius* (L.) adults after short-term exposure", African Journal of Agricultural Research, V. 7, n° 21, (2012), 3175-3181.
312. Ebadollahi, A., Safaralizadeh, M. et Pourmirza, A., "Fumigant toxicity of *Lavandula stoechas* L. oil against three insect pests attacking stored products", Journal of Plant Protection Research, V. 50, n° 1, (2010).
313. Bachiri, L., Bouchelta, Y., Bouiamrine, E. H., Echchegadda, G., Ibijbjen, J. and Nassiri, L., "Valorization as bioinsecticide of the essential oils of two indigenous lavender species in Morocco: *Lavandula stoechas* and *Lavandula pedunculata*", International Journal of Herbal Medicine, V. 6, (2018), 86-90.
314. Ouali Lalami, E.A. et Z.E.Y., "Chemical Constituents and Larvicidal Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* (Lamiaceae) From Morocco Against the Malaria Vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae)", International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, V. 8, (2016), 505-511.
315. Karan, T., "Metabolic profile and biological activities of *Lavandula stoechas* L.", Cellular and Molecular Biology, V. 64, n° 14, (2018), 1-7.
316. Wagner, L. S., Sequin, C. J., Foti, N. and Campos-Soldini, M. P., "Insecticidal, fungicidal, phytotoxic activity and chemical composition of *Lavandula dentata* essential oil", Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, V. 35, (2021), 102092.
317. Lee ByungHo, L. B., Lee SungEun, L. S., Annis, P. C., Pratt, S. J., Park ByeoungSoo, P. B. and Tumaalii, F., "Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst", Journal of Asia-Pacific Entomology, V. 5, n° 2, (2002), 237-240.
318. Rice, P.J. et Coats, J.R., "Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae)", Journal of Economic Entomology, V. 87, n° 5, (1994), 1172-1179.
319. Lee, B.-H., Annis, P.C. et Choi, W.-S., "Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects", Journal of Stored Products Research, V. 40, n° 5, (2004), 553-564.

320. Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K. and Kumar, S., "Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)", *Journal of Economic Entomology*, V. 94, n° 4, (2001), 979-983.
321. Yang, Y. C., Choi, H. Y., Choi, W. S., Clark, J. M. and Ahn, Y. J., "Ovicidal and adulticidal activity of Eucalyptus globulus leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 52, n° 9, (2004), 2507-2511.
322. Lee, S., Peterson, C. et Coats, J., "Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects", *Journal of Stored Products Research*, V. 39, n° 1, (2003), 77-85.
323. Rozman, V., Kalinovic, I. et Korunic, Z., "Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects", *Journal of Stored Products Research*, V. 43, n° 4, (2007), 349-355.
324. Qiantai, L. et Yongcheng, S., "Studies on effect of several plant materials against stored grain insects", *Proceedings of the Seventh International Conference on Stored-Product Protection*, Sichuan Publishing House of Science and Technology Chengdu, China, (1998), 835-844.
325. Phillips, T.W., Parajulee, M.N. et Weaver, D.K., "Toxicity of terpenes secreted by the predator *Xylocoris flavipes* (Reuter) to *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.)", *Journal of Stored Products Research*, V. 31, n° 2, (1995), 131-138.
326. Liu XinChao, L. X., Li YinPing, L. Y., Li HeQin, L. H., Deng ZhiWei, D. Z., Zhou LiGang, Z. L., Liu ZhiLong, L. Z. and Du ShuShan, D. S., "Identification of repellent and insecticidal constituents of the essential oil of *Artemisia rupestris* L. aerial parts against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel", *Molecules*, V. 18, n° 9, (2013), 10733-10746.
327. Yıldırım, E., Emsen, B. et Kordalı, S., "Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)", (2013), 198,204.
328. Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Badawy, M. E. and El-arami, S.A., "Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity", *Journal of Chemical Ecology*, V. 35, (2009), 518-525.
329. López, M. et Pascual-Villalobos, M., "Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control", *Industrial Crops and Products*, V. 31, n° 2, (2010), 284-288.
330. Rizvi, S. A. H., Ling, S., Tian, F., Xie, F. and Zeng, X., "Toxicity and enzyme inhibition activities of the essential oil and dominant constituents derived from *Artemisia absinthium* L. against adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*

Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae)", *Industrial Crops and Products*, V. 121, (2018), 468-475.

331. Shahriari, M., Zibaei, A., Sahebzadeh, N. and Shamakhi, L., "Effects of α -pinene, trans-anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, V. 150, (2018), 40-47.

332. Chiasson, H., Vincent, C. et Bostanian, N., "Insecticidal properties of a *Chenopodium*-based botanical", *Journal of Economic Entomology*, V. 97, n° 4, (2004), 1378-1383.

333. Tandon, S., Mittal, A.K. et Pant, A., "Insect growth regulatory activity of *Vitex trifolia* and *Vitex agnus-castus* essential oils against *Spilosoma obliqua*", *Fitoterapia*, V. 79, n° 4, (2008), 283-286.

334. Regnault-Roger, C., Vincent, C. et Arnason, J.T., "Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world", *Annual Review of Entomology*, V. 57, (2012), 405-424.

335. Moon, T., H. Cavanagh, and J. Wilkinson. *Lavender as an antibacterial essential oil—are all lavenders equal*. in *AICA national conference*. (2004), 46.

336. Hyldgaard, M., Mygind, T. et Meyer, R.L., "Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components", *Frontiers in Microbiology*, V. 3, (2012), 12.

337. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., "Biological effects of essential oils—a review", *Food and Chemical Toxicology*, V. 46, n° 2, (2008), 446-475.

338. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. and De Feo, V., "Effect of essential oils on pathogenic bacteria", *Pharmaceuticals*, V. 6, n° 12, (2013), 1451-1474.

339. Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., Bapaji, M. and Kole, C. R., "Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils", *Microbios*, V. 89, n° 358, (1997), 39-46.

340. Burt, S., "Huiles essentielles: leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments-un bilan", *Journal International de Microbiologie Alimentaire*, V. 94, n° 3, (2004), 223-253.

341. Carson, C.F., Mee, B.J. et Riley, T.V., "Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, V. 46, n° 6, (2002), 1914-1920.

342. Ulubelen, A., Topcu, I., Eri, C., Sönmez, U., Kartal, T., Kurucu, S. and Bozok-Johansson, C., "Terpenoids from *Salvia sclarea*", *Phytochemistry*, V. 36, n° 4, (1994), 971-974.
343. Tabanca, N., Kırimer, N., Demirci, B., Demirci, F. and Başer, K. H. C., "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. phrygia and the enantiomeric distribution of borneol", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n° 9, (2001), 4300-4303.
344. Guinoiseau, E., Lorenzi, V., Luciani, A., Tomi, F., Casanova, J. and Berti, L., "Susceptibility of the multi-drug resistant strain of *Enterobacter aerogenes* EA289 to the terpene alcohols from *Cistus ladaniferus* essential oil", *Natural Product Communications*, V. 6, n° 8, (2011), 1934578X1100600830.
345. Miladinović, D. L., Ilić, B. S., Mihajilov-Krstev, T. M., Nikolić, N. D., Miladinović, L. C. and Cvetković, O. G., "Investigation of the chemical composition–antibacterial activity relationship of essential oils by chemometric methods", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, V. 403, (2012), 1007-1018.
346. Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R. and Wyllie, S. G., "The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)", *Journal of Applied Microbiology*, V. 88, n° 1, (2000), 170-175.
347. Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R. and Wyllie, S. G., "Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*", *Journal of Applied Microbiology*, V. 91, n° 3, (2001), 492-497.
348. Pierozan, M. K., Pauletti, G. F., Rota, L., Santos, A. C. A. D., Lerin, L. A., Di Luccio, M. and Oliveira, J. V., "Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species", *Food Science and Technology*, V. 29, (2009), 764-770.
349. Kunicka-Styczyńska, A., Sikora, M. et Kalembe, D., "Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems", *Journal of Applied Microbiology*, V. 107, n° 6, (2009), 1903-1911.
350. Hanamanthagouda, M. S., Kakkalameli, S. B., Naik, P. M., Nagella, P., Seetharamareddy, H. R. and Murthy, H. N., "Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities", *Food Chemistry*, V. 118, n° 3, (2010), 836-839.
351. Bezić, N., Skočibušić, M., Dunkić, V. and Radonić, A., "Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. essential oil", *Phytotherapy Research*, V. 17, n° 9, (2003), 1037-1040.
352. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. et Bourke, P., "The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients", *International Journal of Food Microbiology*, V. 124, n° 1, (2008), 91-97.

353. Císarová, M., Tančinová, D. et Medo, J., "Antifungal activity of lemon, eucalyptus, thyme, oregano, sage and lavender essential oils against *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis* isolated from grapes", *Potravinárstvo*, V. 10, n° 1, (2016), 83-88
354. Daferera, D.J., Ziogas, B.N. et Polissiou, M.G., "The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*", *Crop Protection*, V. 22, n° 1, (2003), 39-44.
355. Elharas, K., Daagare, A., Mesifioui, A. and Ouhssine, M., "Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus nobilis* et *Lavandula angustifolia*", *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, V. 9, n° 2, (2013), 134-141.
356. Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L. and Vergnes, M. F., "Étude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne", *Phytothérapie*, V. 6, n° 3, (2008), 160-164.
357. Walasek-Janusz, M., Grzegorzczak, A., Zalewski, D., Malm, A., Gajcy, S. and Gruszecki, R., "Variation in the Antimicrobial Activity of Essential Oils from Cultivars of *Lavandula angustifolia* and *L.x intermedia*", *Agronomy*, V. 12, n° 12, (2022), 2955.
358. Lahlou, Y., El Amraoui, B., El Wahidi, M., Moujabbir, S., Aboukhalaf, A. and Bamhaoud, T., "Evaluation of the anti-*Candida albicans* and anti-*Cryptococcus neoformans* activity of the essential oils of three Moroccan medicinal plants", *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing, (2022), 012026.
359. Jaouadi, R., Boussaid, M. et Zaouali, Y., "Antibacterial and α -amylase inhibitory activities of selected Lamiaceae species essential oils", V. 3, (2022), 244-247.
360. Fisher, K. et Phillips, C.A., "The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems", *Journal of Applied Microbiology*, V. 101, n° 6, (2006), 1232-1240.
361. Turnidge, J.D., "Susceptibility test methods: general considerations", *Manual of Clinical Microbiology*, (2015), 1246-1252.
362. Wiegand, I., Hilpert, K. et Hancock, R.E., "Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances", *Nature Protocols*, V. 3, n° 2, (2008), 163-175.
363. Griffin, S.G., Markham, J.L. et Leach, D.N., "An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils", *Journal of Essential Oil Research*, V. 12, n° 2, (2000), 249-255.

364. Rasooli, I., "Antibacterial and chemical properties of *Thymus persicus* essential oils at pre and flowering stages", III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 4: Targeted Screening of Medicinal and Aromatic Plants, Economics 678, (2003), 139-147.

