

N° d'ordre..... الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Sciences de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

Melle : KECHAR Kheira

Spécialité : Biologie

Option : Biodiversité Végétale et Valorisation

Intitulée

Etude ethnobotanique et phytochimique de *Ballota hirsuta* Benth du mont de Tessala (Sidi Bel'Abbes).

Soutenue le/...../.....2016

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Dr MENADI Nouredine..... (M.C. A, UDL/SBA)

Examineurs : Dr OUABED Asmahane..... (M.C.A, Univ. Tiaret)

Dr OULBACHIR Karima..... (M.C.A, Univ. Tiaret)

Dr BACHIR-BOUIADJRA S.E..... (M.C.A, UDL/ SBA)

Directeur de thèse : Pr HELLAL Benchaben..... (Professeur, Univ. Tiaret)

Année universitaire 20 15 – 2016

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie Allah tout puissant, qui m'a Guidé et facilité le chemin de la réussite.

*Je tiens à remercier bien sincèrement mon encadreur, **Pr HELLAL Benchabende** toute la peine qu'elle s'est donnée pour l'accompagnement de mon travail.*

*Mes vifs remerciements vont à **DrBENAHMED-DJILALI Adib** pour son aide et son soutien*

*Je remercie **Dr MENADINoureddine** pour avoir voulu présider le jury.*

*Je remercie également **Dr OUABED Asmahane, Dr OULBACHIR Karima** et **Dr BACHIR-BOUIADJRA** pour avoir bien voulu examiner ce travail.*

*C'est avec une grande gratitude, que je remercie mes amis «**Youcef, Mostapha** » pour l'aide efficace qu'il m'a apportée, et tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, notamment mes collègues « **MELLAH Rabha, BENAOUUM Zineb** ».*

ملخص

الدراسة التي أجريت في 2012 حول الاستعمال التقليدي لـ *Ballota hirsuta* في مدينة سيدي بلعباس و بلدية تسالة أظهرت أن الخلاصات العلاجية لهذه النبتة تستعمل غالبا ضد أوجاع الروماتيزم .

كما أمكن إجراء تحاليل الكمية للفينولات بطريقة Folin-Ciocalteu و الفلافونويد ب طريقة $AlCl_3$ و التي أظهرت أن أوراق *Ballota hirsuta* غنية بهذه المكونات الفعالة في جميع الفصول , النتائج المتحصل عليها تؤكد الاستعمال المكثف لأوراق في الطب التقليدي.

التحليل النوعي للمركبات الايضية الثانوية بطرق كروما توغرافية (CCM, HPLC) حدد وجود الفلافونويد في مستخلصات أوراق *Ballota hirsuta* و المسؤولة عن النشاطات الحيوية.

قد لاحظت تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات الأوراق على السلالات البكتيرية ونشاطها المضاد للأكسدة ، إن مستخلص أسيتات الإيثيل أظهر نشاطا إيجابيا كعامل مضادات للأكسدة، قيمة التركيز المثبط يقدر ب 0,07 مغ/مل. لاكن مستخلص ألبو تانول و ألكلوروفورم أبرز فعالية قوية تجاه *Staphylococcus aureus* بمنطقة التثبيط حول الأقراس (12 ± 1 33,33±0,49م). أما دراسة النشاط الضد بكتيري لمستخلصات ألكلوروفيل فقد سمحت لنا من إبراز فعاليتها تجاه السلالات البكتيرية *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonasaeruginosa*.

الكلمات المفتاحية : *Ballota hirsuta* Benth، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، الفلافونويد

RÉSUMÉ

L'enquête réalisée en 2012 dans la ville de Sidi Bel Abbes et la commune de Tessala (Algérie occidentale) a permis d'identifier 11 pathologies traitées par les différentes parties de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth). Les maladies les plus fréquemment traitées par la plante étudiée sont la contusion, les blessures et les douleurs rhumatismales. L'espèce étudiée est employée, dans la majorité des cas, sous forme de cataplasme et en poudre.

Les dosages quantitatifs des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 et les tanins ont révélé la richesse des feuilles de *Ballota hirsuta* en métabolites dosés durant les quatre saisons. Ces résultats expliquent l'utilisation abondante de cet organe en médecine traditionnelle.

Les méthodes chromatographiques (CCM, HPLC) ont révélé l'existence de certaines classes flavonoïques, issues des feuilles de *Ballota hirsuta*, responsables de l'activité biologique.

L'expression des résultats de l'activité anti-oxydante et antibactérienne a montré que l'extrait acétate d'éthyle est plus actif comme agents antioxydants avec une concentration inhibitrice de 50% de radicale libre DPPH est de l'ordre de 0,07 mg/ml. Cependant la fraction n-butanolique et chloroformique se sont montrées plus active contre *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibitions de 12 ± 1 à $33,33 \pm 0,49$ mm. Les pigments chlorophylliens comme la xanthophylle, produit terpénique, s'est avéré la plus active sur les trois souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés : *Ballota hirsuta* Benth, Activité Anti-oxydante, Activité antimicrobienne, Flavonoïdes.

ABSTRACT

The investigation conducted in 2012 in the city of SidiBel Abbes and the common of Tessala (western Algeria) allowed identify 11 diseases processed by the various parties of the shaggy horehound (*Ballota hirsute* Benth). The diseases most frequently treated by the plant studied the contusion, the injuries and rheumatic pains. The species studied is employed, in most cases, as a poultice and powder.

The quantitative assays of the total polyphenols by the method of Folin-Ciocalteu, the flavonoids by AlCl₃ method and the tannins revealed the wealth of the leaves of the *Ballota hirsute* in metabolite measured during the four seasons. These results explain the abundant use of this organ in the traditional medicine.

The Chromatographic methods (CCM, HPLC) revealed the existence of some flavonoïquesclasses, the outcome of the leaves of the *Ballotahirsuta*, responsible for the biological activity

The expression of the results of the antioxidant and the antibacterial activity showed that the extract acétated'éthyle is more active like antioxidants agents with an inhibitory concentration of the 50% of free radical DPPH is of the order of 0.07 mg / ml. However the fraction n-butanol and chloroform have been more active with a view to *Staphylococcus aureus* with diameters of inhibition of 12 ± 1 à $33,33 \pm 0,49$ mm. The chlorophyll pigments as the xanthophyll, product the terpene, proved the more active of the three strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Ballotahirsuta* Benth, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Flavonoids.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CCM : Chromatographie sur couche mince

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité optique

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

MEB : Microscope électronique à balayage

AcOEt : Acétate d'éthyle

cm : Centimètre

MeOH : Méthanol

mg : Milligramme

min : Minutes

ml : Millilitre

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

nm : Nanomètre

R_f : Rapport frontal

UV : Ultra-violet

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Pluviométrie moyennes de la zone d'étude (mm).	17
Tableau n°2 : Répartition des précipitations annuelles (en mm) de la commune de Tessala (1985-2013).	18
Tableau n°3: Répartition saisonnière des précipitations dans la commune de Tessala(ONM,2014).....	21
Tableau n°4 : Moyenne mensuelle du taux d'humidité relative durant la période (1980/2009).	21
Tableau n°5: Fréquence moyenne mensuelle des gelées Période (1985/2005).....	22
Tableau n°6 : Répartition général des classes de pentes	23
Tableau n°7 : Division des flavonoïdes.....	35
Tableau n°8: Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice	55
Tableau n°9 :germes étudiés	58
Tableau n°10 : Les étapes de la déshydratation	64
Tableau n°11 : Résultats de l'enquête ethnobotanique menée sur l'utilisation de la ballote hirsute(<i>Ballota hirsuta</i> Benth.).....	74
Tableau n°12 : Caractères physico-chimiques de la matière végétale de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).	76
Tableau n°13: Composition minérale de la matière végétale de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).	77
Tableau n°14: Résultats de screening dans les différentes organes de <i>Ballota hirsuta</i> Benth du mont de Tessala (Algérie occidentale).	84
Tableau n°15: Concentration moyennes en métabolites des différents organes de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).....	85
Tableau n°16: Comportement chromatographique des flavonoïdes dans le système solvant 1	92
Tableau n° 17 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des témoins par le système solvant 2	92
Tableau n°18: Comportement chromatographique dans le système solvant 2.....	93
Tableau n°19 : Comportement chromatographique dans le système solvant 3.....	94
Tableau n°20: Temps de rétention des flavonoïdes standard	97
Tableau n°21 : Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits.....	97

Tableau n °22 : Spectre antibactérien de la fraction n-BuOH)	101
Tableau n°23 : Spectre antibactérien de la fraction chloroformique présence de différentes concentrations.....	102
Tableau n° 24 : Spectre antibactérien de la fraction AcOEt	103
Tableau n°25 : Mesure du diamètre d’halos d’inhibition en mm (<i>Chlorophylle A</i>)	105
Tableau n°26 : Mesure du diamètre d’halos d’inhibition en mm (<i>Chlorophylle B</i>).....	105
Tableau n°27 : Mesure du diamètre d’halos d’inhibition en mm(<i>Xanthophylle</i>).....	106
Tableau n°28 :Mesure du diamètre d’halos d’inhibition en mm (<i>β carotène</i>).....	106
Tableau n°29: Histométrie des trichomes en μm	116
Tableau n°30 : Distribution de différents types de trichomes dans de feuille et dans la tige	117

LISTE DES FIGURES

Figure n°1 : Les structures de diterpènes isolés du genre <i>Ballota</i>	5
Figure n°2 : La partie aérienne de <i>Ballota hirsuta</i> Benth	6
Figure n°3: <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	7
Figure n°4 : L'arbre phylogénétique 2003	9
Figure n°5 : Les structures de quelques aglycons	10
Figure n°6 : Hispanolone.....	11
Figure n°7 :La teneur du phénylpropanoïdes dans le <i>Ballota hirsuta</i> Benth	12
Figure n°8: Monts de Tessala.....	13
Figure n°9 : Position géographique des monts de Tessala.....	14
Figure n°10: Variation des températures moyennes mensuelles minimales et maximales.....	19
Figure n°11 : Diagramme ombrothermique (P=2T) de la station de Tessala,.....	20
Figure n°12 : Quelques composés terpéniques	29
Figure n°13: Formation d'isopentényl à partir de l'acétyl- CoA	30
Figure n°14 : Synthèse de différentes classes terpéniques chez la plantes	31
Figure n°15: Glande simple.....	32
Figure n°16 : Poils épidermiques	32
Figure n°17 : Structure de quelques composés phénoliques	33
Figure n°18 : Unité de base des flavonoïdes	34
Figure n°19 : Définition des différents types de flavonoïdes.....	36
Figure n°20: Localisation des deux communes.....	43
Figure n°21 :Localisation de la commune de Tessala.....	43
Figure n°22 : Station de prélèvement	44
Figure n°23 : La plante sèche	45
Figure n°24 : Protocole de dosage des phénols.....	49
Figure n°25 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	50
Figure n°26 : Protocole d'extraction des flavonoïdes	53
Figure n°27: Fractionnement de l'extrait brut.....	54
Figure n°28 : Forme libre et réduite du DPPH.....	57
Figure n°29 : Schéma simplifié du protocole d'extraction	61
Figure n°30 : Fixation des échantillons.....	62
Figure n°31 : Automate de déshydratation.....	63
Figure n°32 : Appareil d'enrobage (préparation des blocs	65
Figure n°33: Les blocs contenant les échantillons déshydratés	65
Figure n°34:Montage dans le Bain marie.....	66
Figure n°35 : Automate de coloration histologique à hématoxyline-éosine	67

Figure n°36 : Montage des coupes	68
Figure n°37 : Répartition de la population par classes d'âge.....	69
Figure n°38 : Répartition de la population selon le niveau intellectuel	70
Figure n°39 : Les vertus de la ballote hirsute (<i>Ballota hirsuta</i> Benth) selon la population.....	70
Figure n°40: Les parties utilisées de la ballote hirsute.....	71
Figure n°41 : Le mode de préparation des parties utilisées de la ballote hirsute	72
Figure n°42 : les maladies traitées par la ballote hirsute.....	73
Figure n°43 : La fréquence d'utilisation de la plante	75
Figure n°44 : Photos prise par microscope électronique à balayage (M.E.B)	78
Figure n°45 : Photos prise microscope électronique à balayage (M.E.B).....	79
Figure n°46 : Photos prise par microscope électronique à balayage (M.E.B)	80
Figure n°47 : Spectre d'absorption d'infrarouge de la feuille de la ballote hirsute	81
Figure n°48 : Spectre d'absorption d'infrarouge de la tige de la ballote hirsute	82
Figure n°49 : Spectre d'absorption d'infrarouge de la racine de la ballote hirsute.....	83
Figure n°50 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique en mg/l.....	86
Figure n°51 : Courbe d'étalonnage de la catéchine en mg/l.	87
Figure n°52 : Concentrations moyennes des composés phénoliques.....	88
Figure n°53: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F2).....	89
Figure n°54 : Dendrogramme de la C.H.A issue de l'analyse quantitative de métabolites	90
Figure n°55 : Rendement des extraits selon la polarité croissante des solvants	91
Figure n°56 : CCM analytique représentative des flavonoïdes de <i>Ballota hirsuta</i>	91
Figure n°57 : CCM analytique représentative des flavonoïdes de <i>Ballota hirsuta</i>	93
Figure n°58 : CCM analytique représentative des flavonoïdes de <i>Ballota hirsuta</i>	94
Figure n°59 : HPLC de l'extrait acétate des feuilles de <i>ballota</i>	95
Figure n° 60 :HPLC de l'extrait n-BuOH des feuilles de <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	96
Figure n°61: Pouvoir réducteur des trois extraits.....	98
Figure n°62 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.....	99
Figure n° 63: Valeurs des IC 50 des différents extraits.....	100
Figure n°64 : Photos représentatives des zones inhibitions (mm).....	104
Figure n °65 : Photos montrant les zones inhibitions (mm).....	107
Figure n° 66: Coupe transversale sériée réalisée au niveau de la nervure principale d'une feuille de <i>Ballota hirsuta</i> Benth	110
Figure n° 67 (A, B et C) : Coupe transversale montrant les compartiments cellulaire d'une feuille de <i>Ballota hirsuta</i> Benth	111
Figure n° 68 : Coupe transversale sériée au niveau de nervure principale d'une feuille de <i>Ballota hirsuta</i> Benth, colorée par combinaison vert de méthyle -rouge Congo	112
Figure n °69:Quelques types de trichomes glandulaires et non glandulaires observés chez <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	114

Figure n °70 : différente type des trichomes glandulaires.....	115
Figure n °71 : Différente type des trichomesnon-glandulaires	115

Table des matières

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

Chapitre I : Monographie de *Ballota hirsuta* Benth

I.1 Les lamiales	3
I.1.1 Place dans la classification systématique botanique.....	3
I.1.2 La famille de Lamiacées	4
I.2 Le genre <i>Ballota</i>	4
I.2.1 Propriétés thérapeutiques	4
I.2.2 Les travaux antérieurs sur <i>Ballota</i>	5
I.2.2.1 Les terpènes	5
I.2.2.2 d'autres travaux.....	6
I.3 <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	6
I.3.1 Caractère botanique	6
I.3.2 Conditions écologiques.....	8
I.4 Travaux antérieurs sur <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	10
I.4.1 Composés de flavonoïdes de <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	10
I.4.2 Les diterpènes	11
I.4.3 Déterminations de phénylpropanoïdes.....	12

Chapitre II : Présentation du site d'étude

II.1 Caractéristiques écologiques	13
II.1.1 La géologie	15
II.1.2 Stratigraphie et tectonique	15
II.1.3 Formations végétales	15
II.1.4 Pédologie et hydrologie	16
II.2 Caractéristiques climatiques	16
II.2.1 Les précipitations.....	17
II.2.2 La température.....	18
II.2.3 Synthèse bioclimatique.....	19
II.2.4 Les vents	21
II.2.5 Humidité.....	21
II.2.6 Gelée.....	22
II.3 Caractéristiques Géomorphologiques.....	22
II.3.1 Altitude	22

II.3.2 Expositions	22
II.3.3 Les pentes	23
II.4 Dégradation du patrimoine végétal dans les monts des Tessala.....	23
II.4.1 Factures de dégradation	23
II.4.1.a Action anthropique	23
II.4.1.b Incendies et surpâturage	24

Chapitre III : Métabolites secondaires

III.1 Les plantes, source naturelle d'antimicrobiens	25
III.2 Mécanisme de défense	25
III.3 Les métabolites secondaires	26
III.3.1 Définition	26
III.3.2 Rôle des métabolites secondaires	26
III.4 Les enzymes impliquées dans la biosynthèse de métabolites	27
III.5 Les Métabolites secondaires les plus courants	28
III.5.1 Les terpénoïdes.....	28
III.5.2 Les composés phénoliques	32
III.5.3 Les flavonoïdes	34
III.5.3.1 Définition	34
III.5.3.2 Distribution et localisation	34
III.5.3.3 La biosynthèse des flavonoïdes.....	34
III.5.3.4 Activité biologique	37
III.5.4 Les tanins.....	37
III.5.4.1 Tanins hydrolysables.....	38
III.5.4.2 Tanins condensés.....	38
III.5.4.3 La coumarines.....	38
III.5.5 Les alcaloïdes.....	39
III.6 Influence allélopathique ou facteurs chimiques.....	39
III.7 Aspects botaniques et chimiotaxonomiques	40

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1 Enquête ethnobotanique	41
IV.1.1 Introduction.....	41
IV.1.2 Localités de l'enquête	42
IV.2 Etude phytochimique	44
IV.2.1 Choix du matériel végétal	44

IV .2 .2 Station de prélèvement.....	44
IV.2 .3 Matériel végétal.....	45
IV .2 .4 Caractérisation physico-chimique de la matière végétale.....	45
IV .3Screening phytochimique.....	47
IV .4 Dosage saisonnier des phénols totaux et des flavonoïdes.....	48
IV .4.1 Dosage des phénols totaux.....	49
IV.4.2 Dosage des flavonoïdes.....	50
IV .4. 3 Dosage des tannins.....	51
IV.4. 3 .1 Tannins hydrolysables.....	51
IV .4. 3 .2 Tanins condensés :	51
IV .4. 4 Analyses statistiques	52
IV .5 Extraction des flavonoïdes :.....	52
IV .5 .1 Analyse des extraits par La chromatographie sur couche mince CCM	55
IV .5.2 Analyse chromatographique par HPLC	56
IV .6 Activités anti oxydantes des fractions obtenues	57
IV .6 .1 Test au DPPH :.....	57
IV .6.2 Calcul des pourcentages d'inhibitions	58
IV .6.3 Calcul des IC50.....	58
IV .7 Activité antibactérienne	58
IV .7.1 Extraits flavonoïques.....	58
IV .7.2 .1 Extraction des pigments	60
IV .7.2 .2 Purification des pigments et l'activité antibactérienne	60
IV .8 Etude histologique.....	62
IV .8.1 Prélèvement des échantillons	62
IV .8 .2 Fixation des échantillons.....	62
IV .8.3 Déshydratation des échantillons	63
IV.8.4 L'Enrobage.....	64
IV .8 .5 Confection des coupes	65
IV .8.6 Montage des coupes sur lames.....	66
IV .8.7 Déparaffinage et réhydratation des coupes	66
IV .8.8 Colorations.....	66
IV .8.9 Montage et observation au microscope optique.....	68

Chapitre V : Résultats

V.1 L'enquête ethnobotanique	69
V.1.1Caractérisation des enquêtées.....	69
V.1.2 Utilisation de la plante.....	70
V.1.2.1 Utilisation de la plante selon leur vertu.....	70

V.1.2.2	Partie utilisées par les individus	71
V.1.2.3	Mode de préparation de la plante	71
V.1.2.4	Maladies traitées par la plante	72
V.1.2.5	Fréquences d'utilisation de la plante par localité et par sexe	75
V.2	Résultats de la caractérisation de la poudre.....	76
V.2.1	pH et la teneur en eau	76
V.2.2	Matière grasse.....	76
V.2.3	Composition minérale	77
V.2.4	Morphologie des poudres	77
V.2.5	Infrarouge des poudres	81
V.3	Caractérisation phytochimique.....	84
V.4	Dosage des métabolites	85
V.4.1	Analyses statistiques :	87
V.4.2	Analyse en composantes principales (ACP)	89
V.4.3	Classification ascendante hiérarchique (C.A.H)	90
V.5	Rendement des flavonoïdes.....	91
V.5.1	Chromatographie analytique sur couche mince :	91
V.5.2	Analyse quantitative par HPLC.....	95
V.5.3	La lecture des profils chromatographiques	97
V.6	Activité anti oxydantes.....	98
V.6.1	Pouvoir réducteur	98
V.6.2	Pourcentage d'inhibition	99
V.6.3	Concentration inhibition de 50% (IC 50).....	100
V.7	Pouvoir antibactérien.....	101
V.7.1	Extraits flavonoïques.....	101
V.7.2	Pouvoir antibactérien des pigments.....	105
V.8	Histologie	108
V.8.1	Feuilles de <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	108
V.8.2	Tiges de <i>Ballota hirsuta</i> Benth.....	109
V.8.3	Les différents types des trichomes	113
V.8.4	Histométrie des trichomes	116
V.8.5	Distribution des trichomes.....	117

Chapitre VI : Discussion

VI.1	Etude ethnobotanique.....	118
VI.2	Caractérisation de la poudre.....	119
VI.3	Etude phytochimique	121

VI.3.1 Screening phytochimique.....	121
VI.3.2 Dosages saisonniers de polypénoles	122
VI.3.3 l'analyse chromatographique CCM et HPLC	124
VI.3.4 Activité biologique.....	125
VI.3.4 .1 Activité antioxydante	125
VI.3.4.2 Activité antibactérienne	126
VI.4 Histologie.....	128
Conclusion.....	132
Références bibliographiques.....	134

La flore algérienne contenant environ 3150 espèces est riche et diversifiée(Quézel, 1999).Parmi les caractères de cette flore liés à la biodiversité, un taux élevé d'espèces autochtones et endémiques qui élèvent notre pays à un rang de zone à grand intérêt géobotanique.Un nombre important de taxons de cette flore possède des potentialités médicinales à diverses utilisations et indications phytothérapeutiques.

Ce patrimoine végétal est connu par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une place importante et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie (Duraffourd et *al.*, 1997). Ces espèces végétales représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques.

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme les activités antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare, moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. En effet. Les métabolites secondaires restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles(Bahorun, 1997).

Les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent des millions de personnes dans le monde entier et causent de lourdes pertes au niveau économique. Aux Etats Unis seuls, ces pertes sont d'environ 20 billions de dollars par an. De nombreux programmes ont été conduits pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique. Ainsi 27 antibiotiques et 12 antifongiques étaient en développement en 1998 contre les infections bactériennes et fongiques (Persidis, 1999).

La thèse s'articule sur trois parties :

✚ La partie bibliographique qui englobe trois chapitres :

- le premier inclut la synthèse relative à la présentation de l'espèce étudiée *Ballota hirsuta* Benth du point de vue systématique, botanique,
- le deuxième comporte la présentation de la zone d'étude,
- le troisième englobe un aperçu sur la définition, la structure chimique et les effets bénéfiques de certains métabolites secondaires.

✚ La partie expérimentale englobe trois aspects, dont :

➤ le premier aspect est d'ordre ethnobotanique basé principalement sur une enquête réalisée dans la ville de Sidi Bel Abbes et la commune de Tessala. Cette étude s'est avérée indispensable pour déterminer les taux d'utilisation des différentes parties de la plante par la population de Sidi Bel'Abbes et celle d'un village de province.

➤ le deuxième aspect est consacré à l'extraction et la quantification des composés phénoliques notamment les flavonoïdes. L'objectif du travail entrepris vise à démontrer la richesse de l'espèce étudiée en flavonoïdes et à déterminer leurs propriétés biologiques. À cet effet l'évaluation de l'activité antioxydante des flavonoïdes vis-à-vis du radical libre DPPH est de mise. Un test antibactérien est réalisé afin de déterminer l'effet des produits flavonoïques sur la croissance de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Cet aspect est porté également sur le diagnostic et la séparation des principaux flavonoïdes par l'utilisation des différentes techniques chromatographiques.

➤ Le troisième aspect est basé sur une étude des feuilles de la ballote hirsute à savoir la morphologie, l'anatomie et la distribution des trichomes sur les deux faces (abaxial et adaxial). Autrement, ces sites de sécrétion sont considérés comme des caractères distinctifs au niveau des Lamiacées ce qui nous amène à faire des mesures micrométriques dont l'objectif est de montrer les différents types des trichomes.

✚ La troisième partie est structurée en :

- Discussion des résultats,
- Une conclusion avec des perspectives.

Chapitre I : Monographie de *Ballota hirsuta* Benth

I.1 Les lamiales

Sur le plan chimique l'ordre des lamiales est caractérisé par la présence d'oligosaccharides, tels que le plantéose, qui constituent les réserves de la plante à la place de l'amidon, ainsi que de flavones oxygénés en 6. L'ovaire supère contient une proportion d'arabinose dans sa paroi (Guignard, 2001 ; Judd, 2002).

I.1.1 Place dans la classification systématique botanique.

La place des lamiales dans la classification systématique botanique APG II 2003 :

- ◆ Embranchement des Spermaphytes (plantes à graines), encore appelés Phanérogames.
- ◆ Sous embranchement des Angiospermes (graines protégées) ou plantes à fleurs.
- ◆ Clade des Eu dicotylédones (Eudicot) ou dicotylédones vraies : plantes à grains de pollen tri-aperturés ou d'un type dérivé, toujours dicotylédonées, toujours sans cellule à essence dans les tissus parenchymateux.
- ◆ Clade des Eu-dicotélydones centrales : plantes ne combinent pas la production à la fois d'alcaloïdes et une placentation marginale (contrairement aux Eu-dicolélydones basales) à fleur ayant des caractères apomorphes (évolués), périanthe souvent hétérochlamydé (composé d'une corolle et d'un calice différenciés).
- ◆ Classe des Asteropsida ou grade des Asterideae : plantes à ovules ordinairement tenuinucellés et à fleurs gamopétales, moins fréquemment dialypétales, étamines généralement isomères, des lobes de la corolle ou moins nombreuses ; verticille d'étamines le plus externe toujours alterne des pétales.
- ◆ Super-ordre des Lamianeae, qui regroupe Gentiales, Lamiales, Solanales et des familles telles que les Borraginacées (Guignard, 2001 ; Judd, 2002).

I.1.2 La famille de Lamiacées.

Ce qui caractérise cette famille, ce sont les processus de chaleur qui la pénètrent profondément et y provoquent la genèse de « substance calorifiques » Les huiles étheriques ou essences, dans le plant ; les huiles grasses, dans les graines. Le processus floral et la genèse des arômes sont refoulés dans la région des tiges et des feuilles. Les labiées ont aussi en propre un processus hydrocarboné intense, générateur de sucre et d'amidon qui se révèle d'une part dans leurs abondants nectars (plantes mellifères) et d'autre part, dans leurs amidons très faciles à digérer : le galactane (notamment dans le genre *Stachys*) (Fournier, 1947).

I.2 Le genre *Ballota*

Le genre *Ballota* est caractérisé par un calice tubuleux en entonnoir à dix nervures à cinq dents presque égales (parfois dix dont cinq plus petites), élargies à la base, pliées en long, mucorinées. La corolle est bilabée à tube ne dépassant pas le calice, muni en dedans vers la base d'un anneau de poils ; la lèvre supérieure est dressée, un peu concave, émarginée, velue en dehors, la lèvre inférieure à trois lobes obtus, le lobe inférieur étant le plus grand, émarginée. Les quatre étamines (les deux extérieurs étant les plus longues) sont rapprochées et parallèles. Les espèces du genre *Ballota* sont des plantes vivaces, poilues, à tiges rameuses et feuillées (Thierry, 2006).

I.2.1 Propriétés thérapeutiques

La *ballota* se montre tonique, stomachique, antispasmodique, calmante, dépurative, diurétique, vermifuge, résolutive et détersive. C'est un médicament très nervin efficace. On a constaté ses bons effets dans les états hystériques et les troubles connexes dans les troubles nerveux de la ménopause. On conseille la *ballota* dans l'hydropisie et la goutte rhumatismale. Dans ce dernier cas aux infusions, on adjoint utilement les applications externes, comme vermifuge (Fournier, 1947).

I.2.2 Les travaux antérieurs sur *Ballota*

La recherche approfondie du genre a commencée à partir des années 1970. Une publication polonaise apparue à propos des enquêtes et des examens anatomiques photochimiques préliminaires. Les extraits et huiles essentielles on été testés par papier et la chromatographie sur couches minces. Les auteurs ont révélé la présence de base, des flavonoïdes et de composés phénoliques (Toth et *al.*, 2009).

I.2.2.1 Les terpènes

Les diterpènes de genre *ballota* ont été isolés par un groupe de recherche italien, depuis 1976 (figure 1). Plusieurs publications ont été publiées. Ils ont décrit l'isolement et l'identification de Ballonigrin, Ballotinone, 7a- cettoxymarrubiin, de *Ballota nigra* et *Ballota rupestris*, et de Ballotenol (Savona et *al.*, 1976).

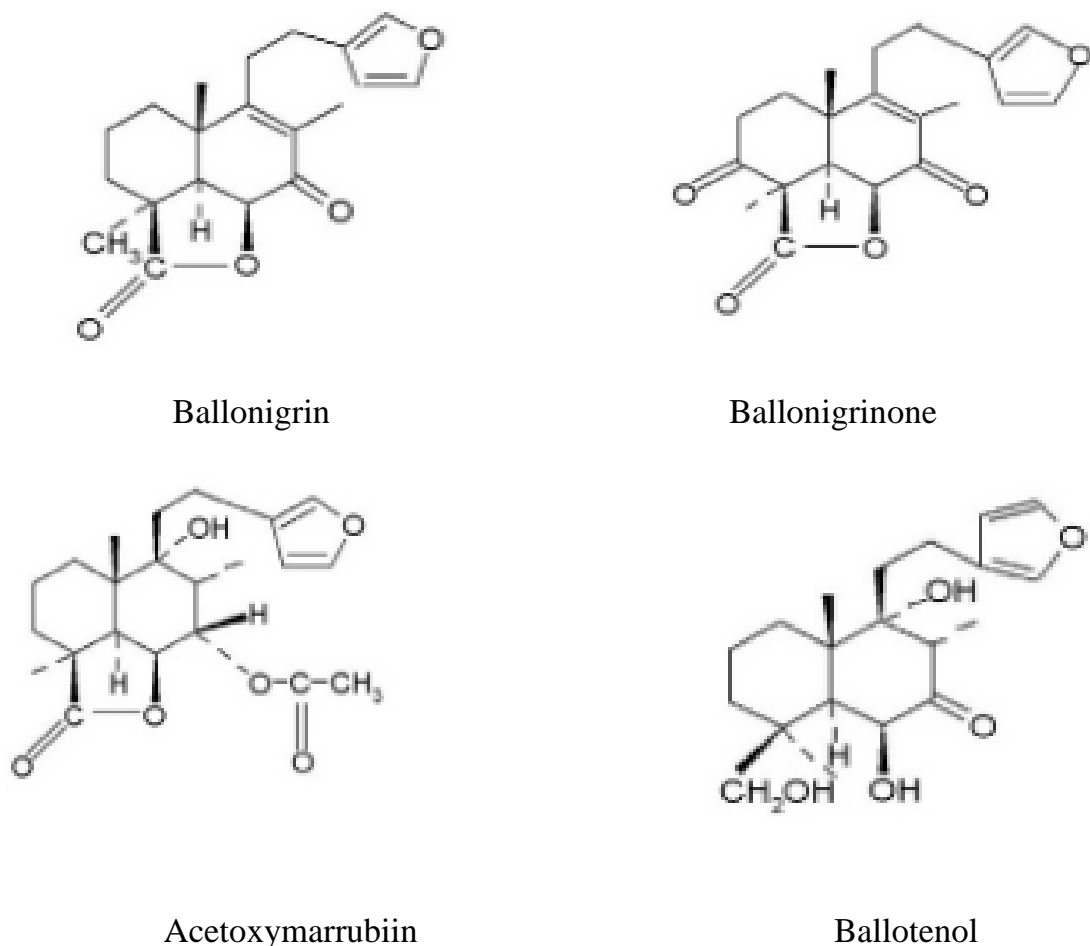


Figure n°1 : Les structures de diterpènes isolés du genre *Ballota*

I.2.2.2 d'autres travaux

L'activité antifongique de *Ballota inaequidens* a été montrée par Citoglu (2004), les flavonoïdes ont montré l'activité de lutte contre les espèces de *Candida*, et l'activité anti-inflammatoire chez les rats (Ozbak et al., 2004). Les résultats de Vrchovska et al., (2007) ont montré l'activité antioxydante des phénylpropanoïdes de *Ballota nigra*.

I.3 *Ballota hirsuta* Benth

I.3.1 Caractère botanique

Calice à limbe foliacé largement rotacé réticulé multifide à 5 dents principales. Tiges ligneuses et velues à 24-60 centimètre. Feuilles supérieures sessiles à dents très obtuses, les feuilles inférieures, cordaté ou tronqué à la base (figures 14 et 15). Corolle rosée à lèvre supérieure bifide (Patzak, 1962 ; Quezel et Santa, 1963).

◆ **Non scientifique** : *Ballota hirsuta* Benth

◆ **Non Français** : Ballote hirsute

◆ **Non Vernaculaire** Merheroui (Quezel et Santa, 1963).



Figure n° 2 : La partie aérienne de *Ballota hirsuta* Benth (Cléchi kechar, 2014)

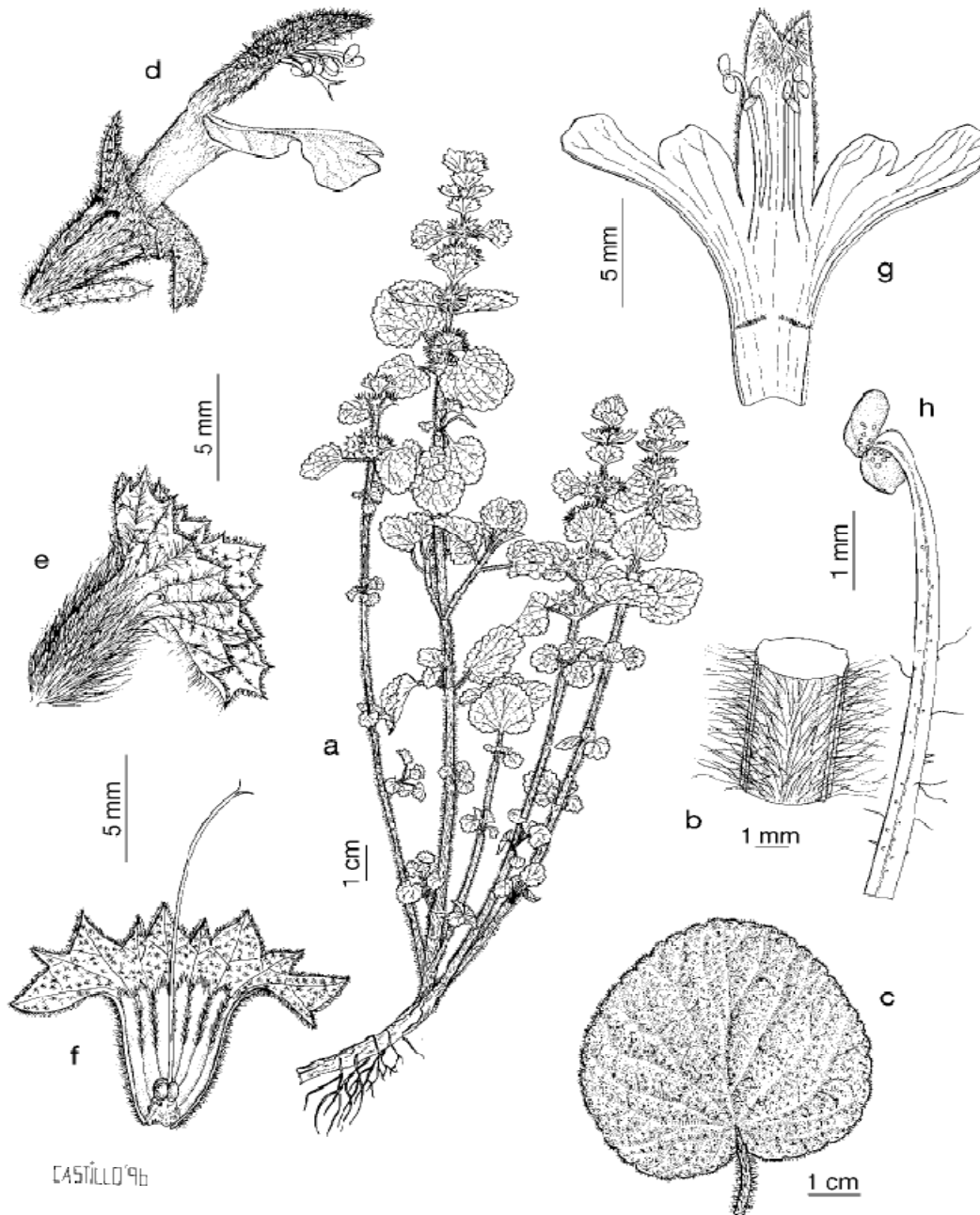


Figure n°3: *Ballota hirsuta* Benth

a : La plante entière b : Partie de tige, c : Feuille, d : Fleur, e : Calice,
f : Calice ouvert ventral, g : Corolle ouvert ventral, h : Etamine. (Patzak, 1962)

I.3.2 Conditions écologiques

Ballota hirsuta Benth s'installe dans des habitats dont les caractéristiques écologiques conviennent aux données qui suivent :

Sol à : pH : basique (calcaire) (pH>7,5)

Exposition : ensoleillé

Feuillage : persistant

Taille : 0,60 x 0,60 m

Densité : 2 plant(s) par m²

Floraison : juin, juillet

Couleurs : rose pourpre (Web master 1)

I.3.3 Répartition géographique

Originaire des régions tempérées de l'Europe, l'Afrique du Nord et en Asie occidentale, avec la plus grande diversité dans la région méditerranéenne

- ◆ Distribution Province : Alicante. Îles Baléares. Castellón. Gérone. Valence.
- ◆ La distribution dans les îles : Formentera. Ibiza. Mallorca.
- ◆ Distribution générale : Méditerranée occidentale.
- ◆ Sahara central, commune dans le Hoggar (Web master 1)

I.3.4 Classification botanique Selon APGII 2003

Règne : *plantae*

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Clade : Eu dicotylédones (triaperturée)

Clade: *Asterideae*

Clade : Astéridées 2 hypogynes

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Ballota*

Espèce : *Ballota hirsuta*

La place de la Ballote hirsute dans le règne « plantae » est illustrée dans la figure 4 (Spichiger et al., 2004).

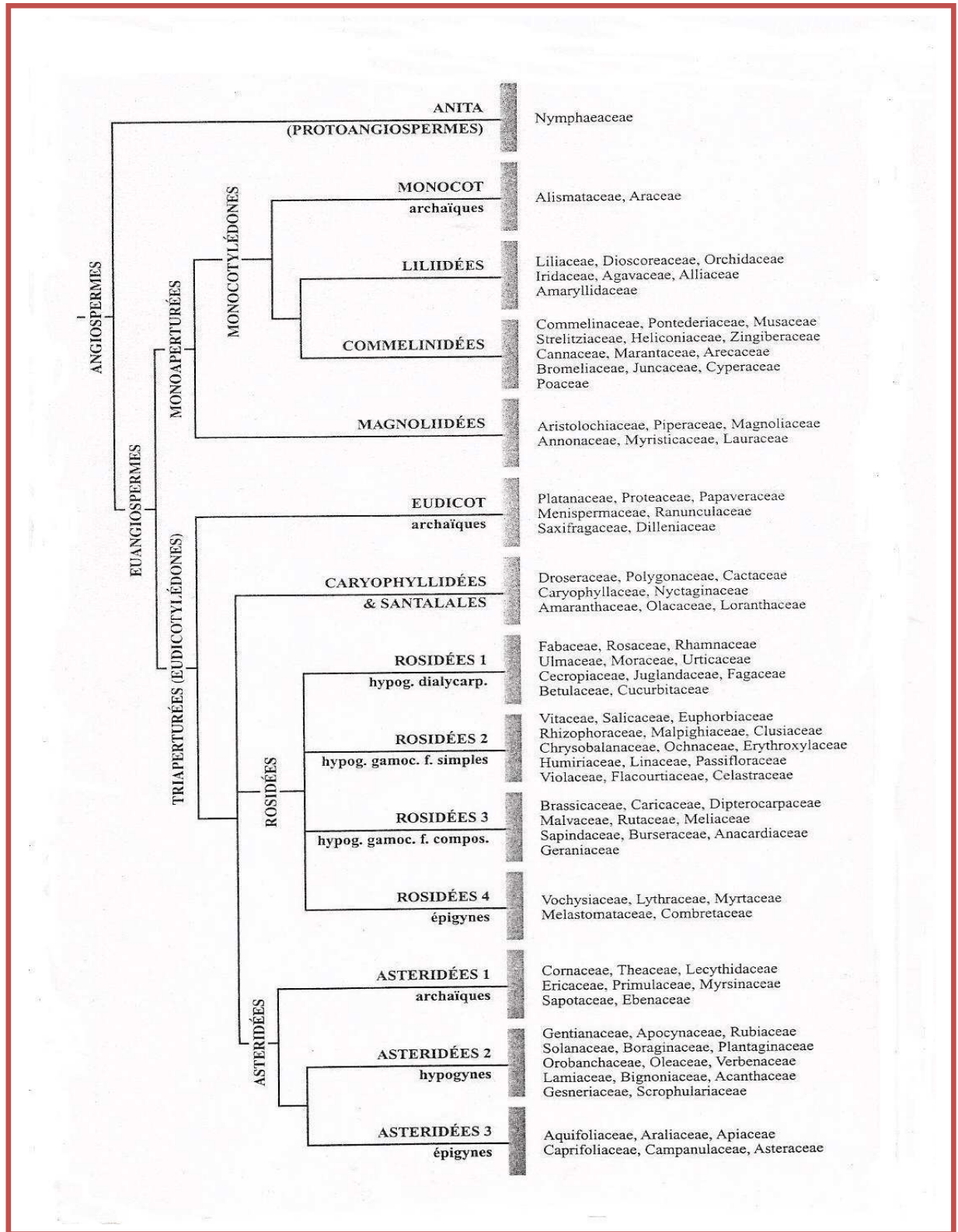


Figure n°4 : L'arbre phylogénétique 2003 (Spichiger et al., 2004)

I.4 Travaux antérieurs sur *Ballota hirsuta* Benth

Les principes chimiques de la ballote sont encore peu connus, on y a trouvé une huile volatile un principe amer de l'acide gallique. La racine contiendrait du stachyose. La ballote contient aussi des tanins et de la pectine (Beloued, 2001).

I.4.1 Composés de flavonoïdes de *Ballota hirsuta* Benth

Quatorze flavonoïdes ont été obtenus à partir des parties aériennes :

- ◆ 8 Aglycones (savigenin, kumatokenin, genkwanin, ladanein, nuchensin, isokaempferide, agigenin et luteolin) (figure 5).
- ◆ 6 glucosides apigenin-7-(p-coumaroyl)-glucoside, apigenin-7-gluside, luteolin-7-glucoside, quercetin-3-glucodide, luteolin-7-rutinoside et vicenin (Ferrerres et *al.*, 1986).

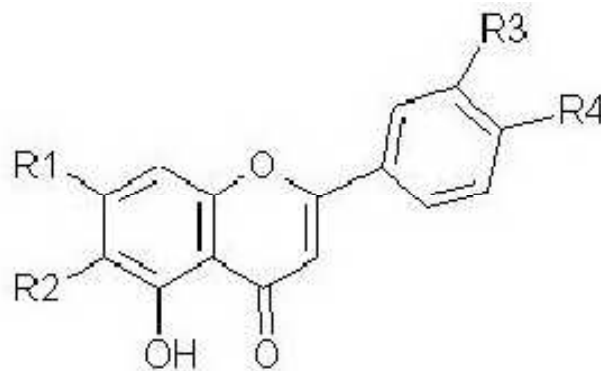


Figure n° 5 :

structures de quelques aglycons
flavonoïdes du *Ballota hirsuta* Benth

Les

- ◆ Apigenin R1 = R4 = OH; R2 = R3 = H
- ◆ Genkwanin R1 = OCH₃; R2 = R3 = H; R4 = H
- ◆ 7-4'- dimethylapigenin R1 = R4 = OCH₃; R2=R3 = H
- ◆ Ladanein R1 = R4 = OCH₃; R2 = OH; R3 = H
- ◆ Salvigenin R1 = R2 = R4 = OCH₃; R3 = H
- ◆ Luteolin R1 = R3 = R4 = OH; R2 = H
- ◆ Nuchensin R1 = R4 = OCH₃; R2 = R3 = OH.

I.4.2 Les diterpènes

Les plantes sont des sources importantes de produits naturels avec le potentiel d'être développés comme commerciaux activés et ingrédients pour la lutte antiparasitaire, et comme antiappétentes contre les larves. Ces Composés d'origine végétale sont considérés dans le développement de nouveaux produits agrochimiques.

Selon Savone et *al.*, (1976) l'hispanolone est un diterpène qui à été isolé de *Ballota hirsuta* comme agent de dosage antiappétentes contre le vers d'armée *Spodoptera littoralis*, qui est un ravageur important du coton, du tabac et des cultures maraîchères. Ces larves causent des dommages importants car ils se nourrissent des feuilles et des bourgeons (Ballesta et *al.*, 2007).

Ce composé exposé dans l'activité contre les grisea de souffle, qui est un champignon pathogène cause (la maladie de la rouille) affectant le riz (Albert, 2005).

Certains travaux prouvent l'activité antibactérienne d'extraits *Ballota* et montrent les effets de l'hispanolone (figure 6), du dehydrohispanolone et de la ballonigrine contre certains Gram positive et les micro-organismes Gram négatif et d'un champignon (Citoglu et *al.*, 1998).

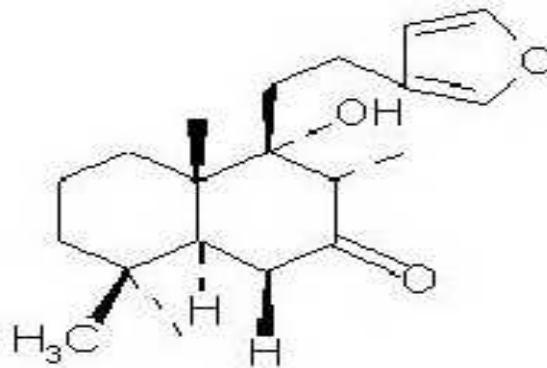


Figure n°6 : Hispanolone

I.4.3 Déterminations de phénylpropanoïdes

Les glucides phénylpropanoïdes ont été rapportés être responsable de l'activité neurosédative. En ce qui concerne l'importance biologique et taxonomique des phénylpropanoïdes, trois espèces de genre *Ballota* (*B.nigra*, *B.hirsuta* et *B.rupestris*), ont été comparées pour leurs composés phénylpropanoïdes.

Les composés étudiés ont été le Verbascoside (VE), Forsythoside B (FB), et l'acide malique caffeoyl (CM). Les feuilles de *Ballota hirsuta* produisent les composés dans les quantités suivantes FB=0.91%, VE= 1.64%. Les fleurs ont montré des productions supérieures de FB et VE, que les feuilles. Dans les racines on trouve 2.44% de la production de FB (figure 07).

Les observations soucieuses de CM, qui remarquent ne se présentent pas en quantités détectables dans tout les organes (Toth et al., 2007).

Les glucides phénylpropanoïdes ont également été testés contre les bactéries. Ils ont trouvé un effet modéré pour l'activité antimicrobienne de Verbascoside, Forsythoside B (Toth et al., 2009).

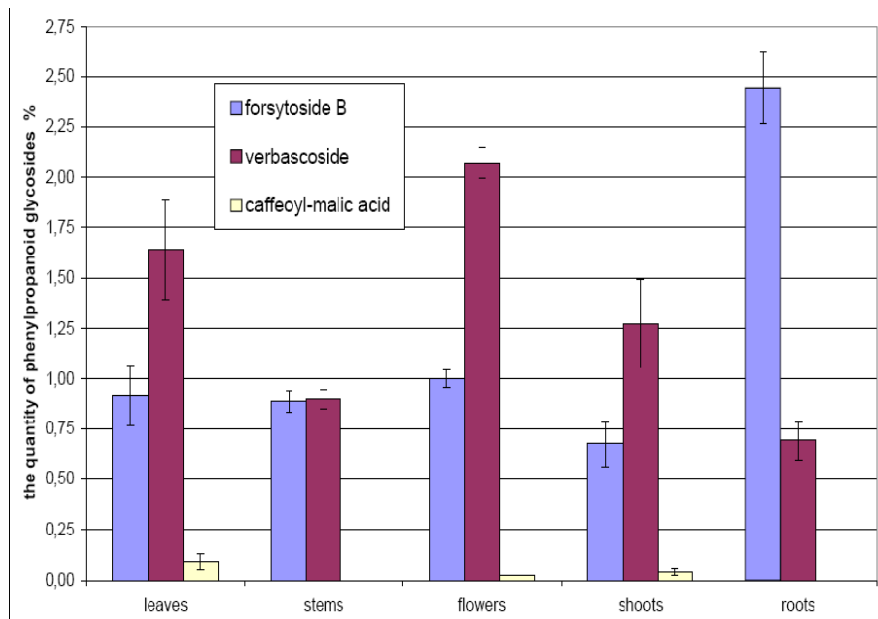


Figure n°07 : La teneur du phénylpropanoïdes dans le *Ballota hirsuta* Benth (Toth et al., 2009).

Chapitre II : Présentation du site d'étude

II.1 Caractéristiques écologiques

Les monts de Tessala sont situés au nord du chef lieu de la wilaya de Sidi Bel Abbès, limités au nord par la plaine de la Mleta et la sebkha d'Oran, à l'est par les monts des Béni Chougrane, à l'ouest par les monts des Sebaa Chioukh et au sud par la plaine de Sidi Bel Abbès. Ils constituent un prolongement entre 3 communes «Tessala, Aïn trid et Sehala» (Cherifi et *al.*, 2011).

La région de Tessala, zone montagneuse de l'Ouest algérien, possède des caractéristiques particulières en matière d'isolement géographique, de conditions climatiques et de fragilité des écosystèmes. Elle est connue pour sa richesse floristique. Celle-ci est particulièrement développée dans les forêts de la partie sommitale du massif.



Figure n° 8: Monts de Tessala (Cliché Kéchar, 2014)

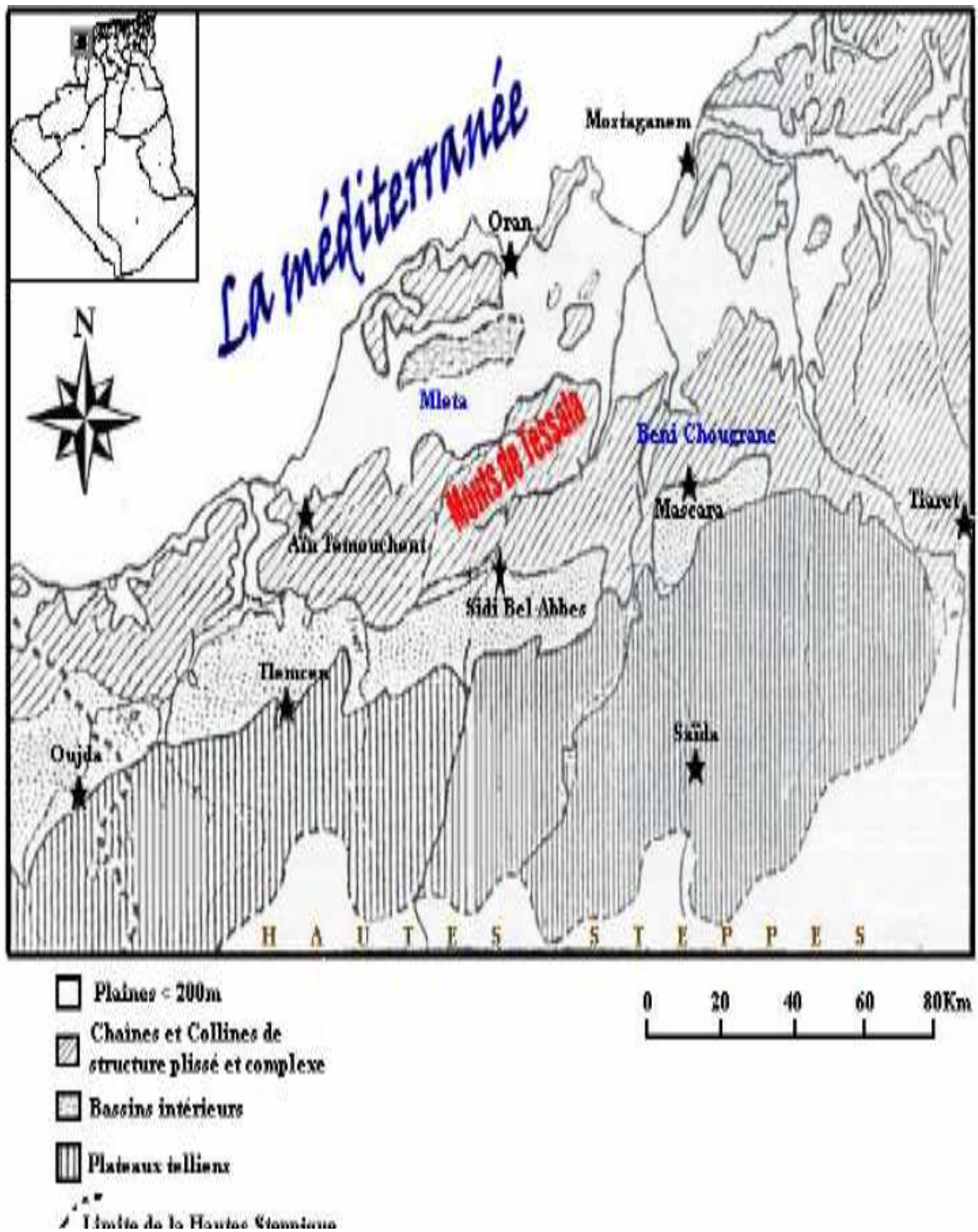


Figure n°9 : Position géographique des monts de Tessala
(Kiekken, 1962) (Carte modifiée).

II.1.1 La géologie

Dans la commune de Tessala les formations géologiques prédominantes sont les marnes, les argiles et les grès tendres du Néogène sur les marnes et les calcaires marneux du Paléogène et du crétacé. Ces formations sont diversifiées et chaque unité topographique est caractérisée par des formations d'âge et de structure différente. La zone montagneuse des Tessala fait partie du Tell oranais central caractérisée du point de vue géologique par des formations de nappes de charriages du complexe crète-oligocène décrit par Dallaoui (1952), et des formations à dominance calcaire. Quelques affleurements durs de grès de calcaires pointent de temps en temps avec des semelles de gypse du Trias.

II.1.2 Stratigraphie et tectonique

Les monts de Tessala sont considérés comme une grande structure anticlinale d'une direction SW-NE. Certains auteurs du levé géologique considèrent les monts de Tessala comme le domaine plissé de l'orogénèse alpine accidentée par une flexure sur la bordure de Nord. Kiekken (1962), la considère simplement comme une structure de couverture. A ce sujet Benyahia et al., (2001) évoquent l'importance hydrogéologique de la description stratigraphique des différentes formations, et distinguent très schématiquement : Le Quaternaire, Le Plio-Quaternaire, Le Pliocène, Le Miocène, L'Eocène, Le Crétacé, L'Aptien, Le Trias.

II.1.3 Formations végétales

Les formations végétales dans les monts de Tessala sont représentées en trois strates :

- ◆ Une strate arborescente (*Quercus coccifera*, *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea angustifolia*, *Arbutus unedo*).
- ◆ Une strate arbustive (*Pinus halepensis*, *Pistacia terebinthus*, *Quercus ilex*, *Celstis australis*, *Tetraclinis articulata*, *Olea europea*, *Ceratonia siliqua*).
- ◆ Une strate buissonnante (*Crateagus oxyacantha* , *Rubus caestus* , *Daphne gnidium* , *Calycotome villosa*, *Ampelodesma mauritanica*, *Asparagus acutifolius*, *Asphodelus microcarpus* , *Chaemerops humili*, *Cistus salvifolius*, *Artemisia sp* , *Stipa tenacissima*, *Smilax aspesa*, *Laurus mobilis*) (Cherifi et al., 2008).

II.1.4 Pédologie et hydrologie

La plupart des sols appartiennent à la classe des sols minéraux bruts : lithosols et régosols de la classification française. On trouve également quelques rendzines. Les sols bruns calciques sont rares, Les différents types de sols de la zone d'étude selon Pouquet (1952), sont :

- ◆ Les sols à sesquioxydes de fer
- ◆ Les sols bruns calcaires
- ◆ Les vertisols
- ◆ Les lithosols et les régosols

La commune de Tessala demeure pauvre en nappes souterraines. Sa topographie souterraine de cuvette remblavée d'alluvions continentales pliocène et quaternaire favorise le piégeage des ressources aquifères qui permettent l'irrigation d'une grande partie du maraîchage de la plaine. Le relief et les formations géologiques de la commune de Tessala ne révèlent pas de ressources importantes en dehors de quelques nappes artificielles très localisées.

Les principaux réservoirs d'eau sont des formations messiniennes, calcaires grésocalcaires, qui sont à l'origine de différentes sources qui alimentent de nombreux puits. La région est constituée par quatre portions de bassins versants :

- ◆ Le bassin versant côtier oranais qui s'ouvre sur la mer, traverse la chaîne du Tessala suivant la pente générale du plateau avec Oued Berkeche et Oued El Kelakh.
- ◆ Les autres Oueds s'écoulent de Tessala constituant le sous bassin versant de la sebkha d'Oran.
- ◆ Au sud, la chaîne de Tessala forme une barrière continue sur toute la longueur délimitant ainsi le sous bassin versant de la Mekerra avec le sous bassin versant d'Oued Sarno.
- ◆ Un autre sous bassin versant apparaît du côté de Sidi Daho. Parmi ces quatre bassins versants il n'y a qu'un seul qui traverse par un cours d'eau permanent de plus grande importance que celui d'Oued Sarno et tous les autres Oueds sont relativement peu persistants sans cours d'eaux, à cause d'un manque d'alimentation adéquat ou d'une filtration intense (Ferka-Zazou, 2006).

II.2 Caractéristiques climatiques

Le climat en région méditerranéenne est un facteur déterminant en raison de son importance dans l'établissement, l'organisation et le maintien des écosystèmes (Aïdoud, 1997).

En 1939, Emberger a montré que les données écologiques, et en particulier bioclimatiques, influent considérablement sur l'individualisation de la végétation.

D'autres auteurs comme Douguédroit (1997), Xoplaki (2002) et Zeineddine et *al.*(2013) ont constaté que la région méditerranéenne est caractérisée par une sécheresse d'Eté bien marquée et, selon les sous-régions, d'un maximum pluviométrique d'Automne ou d'Hiver violente et de courte durée.

II.2.1 Les précipitations

En comparant les données pluviométriques récentes (1985/2013) de la zone d'étude avec celles (1913/1938) de Seltzer (1946), on constate une nette différence entre les deux périodes.

Tableau n°1 : Pluviométrie moyennes de la zone d'étude (mm).

<i>Mois</i>	<i>Jan</i>	<i>Fév</i>	<i>Mar</i>	<i>Avr</i>	<i>Mai</i>	<i>Juin</i>	<i>Juil</i>	<i>Août</i>	<i>Sept</i>	<i>Oct</i>	<i>Nov</i>	<i>Déc</i>
1946	83	82	63	51	42	12	1	3	16	46	88	94
1985/2013	52,8	40,6	41,1	39,6	27,3	4,9	3,0	4,57	18,8	39,5	57,6	48,6

(O.N.M 2014)

La comparaison montre une nette différence ; selon Seltzer sur 25 ans un total de précipitations moyennes mensuelles est de 581mm, en revanche, entre 1985-2013 la pluviométrie a clairement baissée en enregistrant seulement 378,52mm.

La courbe des moyennes sur les 29 ans prend une allure semblable à celle de Seltzer (1946), mais les quantités enregistrées sont beaucoup plus réduites dans la période 1985-2013. Elles révèlent en effet un maximum en Février et Novembre (42,97mm – 46,96mm). Le minimum correspond aux mois de Juillet et Août avec des moyennes mensuelles respectives de 2,98 et 4,49 mm. C'est une caractéristique de l'étage bioclimatique semi-aride auquel Tessala est soumise.

Dans la région de Tessala, la pluviométrie annuelle est relativement assez faible La moyenne des précipitations annuelles enregistrées depuis 2000 à 2013 est de 355,5 mm. On enregistre le minimum de 247 ,6 mm en 2005 et le maximum de 485,8 mm en 2013.

Tableau n°2 : Répartition des précipitations annuelles (en mm) de la commune de Tessala (1985-2013).

Années	P (mm)	Années	P (mm)	Années	P (mm)
1985	232	1995	390	2005	287
1986	380	1996	387	2006	313
1987	320	1997	310	2007	390
1988	223	1998	174	2008	444
1989	259	1999	479	2009	368
1990	399	2000	307	2010	465
1991	252	2001	511	2011	449
1992	220	2002	323	2012	315
1993	318	2003	562	2013	511
1994	265	2004	442		

(O.N.M 2014)

II.2.2 La température

La température est un facteur écologique fondamental et un élément vital pour les formations végétales. Elle intervient dans le déroulement de tous les processus, la croissance, la reproduction, la survie et par conséquent la répartition géographique générant les paysages les plus divers (Soltner, 1987).

Les températures moyennes enregistrent durant la période 1985 - 2013, un maximum de 26,5°C au mois d’Août, qui reste le mois le plus chaud de l’année. Le minimum des températures moyennes 8.67°C est enregistré au mois de Janvier.

Quant aux températures extrêmes, le minimum des moyennes mensuelles des températures minimales est enregistré en Janvier, il représente l’unique moyenne avec une valeur de 2.74°C. Le maximum des moyennes mensuelles des températures maximales est enregistré en Août (35.2°C) (Figure n° 10).

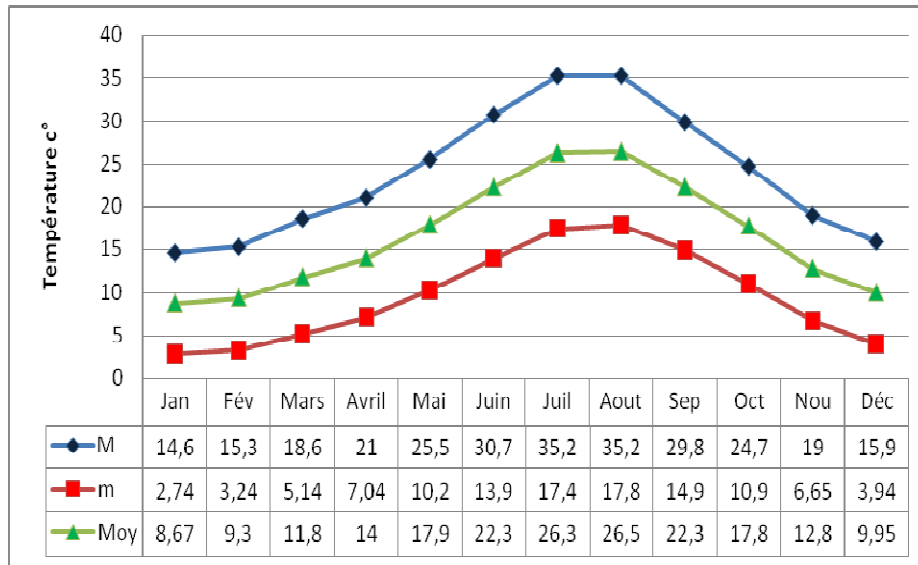


Figure n° 10: Variation des températures moyennes mensuelles minimales et maximales (1985 - 2013). (ONM, 2014)

II.2.3 Synthèse bioclimatique

Une combinaison des données pluviométriques et des températures est très intéressante pour caractériser l'influence du climat sur la région.

➤ **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen :**

Bagnouls et Gaussen (1953) ont établi une méthode simple et efficace de discrimination entre la saison sèche et la saison pluvieuse. En admettant que le mois est sec lorsque « **P** est inférieur ou égal à **2T** », le principe de cette méthode consiste à porter sur un même graphe la température et la pluviométrie de sorte que l'échelle des températures soit le double des précipitations ($1^{\circ}\text{C}=2\text{mm}$) ; en considérant la période de sécheresse lorsque la courbe des précipitations passe en dessous de la courbe de la température

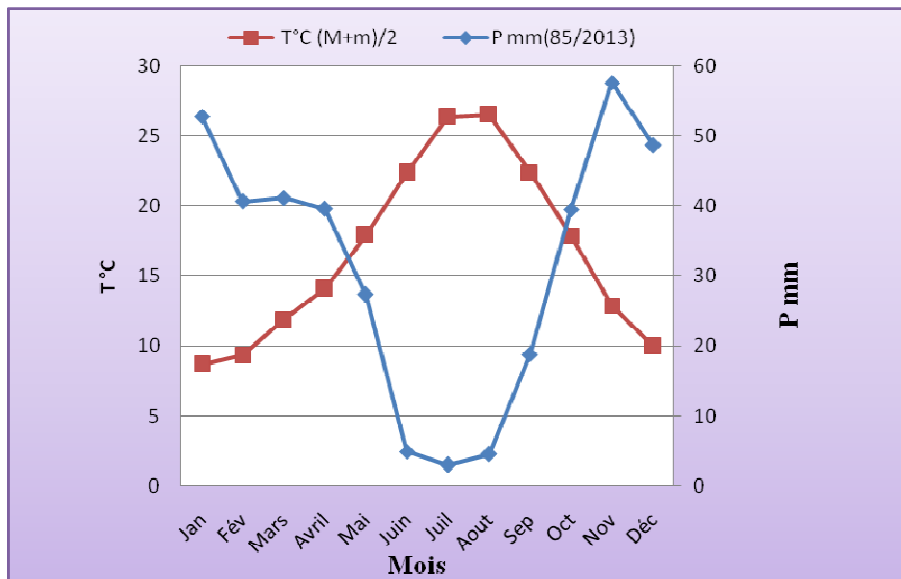


Figure n°11 : Diagramme ombrothermique (P=2T) de la station de Tessala, période (1985-2013). (ONM, 2014)

➤ **L'indice d'aridité de DEMARTONNE**

L'indice de **Martonne (1926)** est utile pour évaluer l'intensité de la sécheresse. Cet indice est exprimé en mm/°C.

Sa formule est la suivante :

$$I = P/(T+10)$$

Avec :

P : pluviométrie moyenne annuelle en (mm).

T : Température moyenne annuelle en (°C).

Donc : $I = 335 / 10 + 16.7 = 12.55$

Pour :

$20 < I < 30$: Climat tempéré

$10 < I < 20$: Climat semi - aride

$7.5 < I < 10$: Climat steppique

$5 < I < 7.5$: Climat désertique

$I < 5$: Climat hyper - aride.

La valeur trouvée de l'indice d'aridité pour la région de Tessala traduit un climat semi-aride.

➤ **La répartition saisonnière des pluies**

Dans la commune de Tessala, cette répartition met en relief un rapport très marqué entre le régime thermique et le volume des pluies.

Tableau n°3: Répartition saisonnière des précipitations
dans la commune de Tessala(ONM,2014)

Saisons	Automne			Hiver			Printemps			Eté		
Mois	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.	Jan.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil.	Aout
Pluviométrie	18,8	39,5	57,6	48,6	52,8	40,6	41,1	39,6	27,3	4,9	3,0	4,5
	116,0			142,0			108,0			12,3		
%	30,66			37,54			28,54			3,26		

La répartition saisonnière s'établit de la manière suivante:

- L'Automne : 30.66 % des apports annuels
- L'Hiver : 37.54% du volume annuel
- Le Printemps : 28.54 % de la pluviométrie annuelle
- L'Eté : 3.26 % du total annuel.

Cette répartition détermine pour la région un indicatif saisonnier (indicatif de Musset) de type HAPE.

II.2.4 Les vents

Les vents soufflent fréquemment dans des directions instables et à différentes intensités en fonction des saisons. Les vents les plus fréquents de novembre à avril sont les vents du Nord Ouest secs et froids. Les vents du Sud Ouest sont secs et chauds. (Ferka-Zazou, 2006).

II.2.5 Humidité

Le tableau 4 montre un maximum de 77% d'humidité au mois de décembre, saison hivernale, et un minimum de 51% est observé au mois de Juillet, saison estivale (O.N.M, 2009).

Tableau n°4 : Moyenne mensuelle du taux d'humidité relative durant la période (1980/2009).

Mois	Jan	Févr	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc
Mm	75	76	70	69	64	56	51	52	64	70	74	77

Mm : Moyenne mensuelle

O.N.M (2009)

II.2.6 Gelée

La période critique se situe du mois de Décembre au mois de Février, elle se distingue par une fréquence inquiétante en période printanière au moment où la végétation est en période de floraison. La fréquence mensuelle moyenne des gelées est reportée dans le tableau 5.

Tableau n°5: Fréquence moyenne mensuelle des gelées Période (1985/2005)

<i>Mois</i>	<i>Jan</i>	<i>Févr</i>	<i>Mars</i>	<i>Avril</i>	<i>Mai</i>	<i>Juin</i>	<i>Juil</i>	<i>Août</i>	<i>Sept</i>	<i>Oct</i>	<i>Nov</i>	<i>Déc</i>
<i>Mm%</i>	11	8.85	4.09	1.66	0	0	0	0	0	0.09	2.19	7.9

(Farka-Zazou, 2006).

II.3 Caractéristiques Géomorphologiques

C'est la science qui a pour objet la description et l'explication du relief terrestre, continental et sous marin (Coque, 1977). Trois facteurs régissent et façonnent le relief : la tectonique, l'érosion et la lithologie. Il explique aussi que ces formes évoluent souvent de manière imperceptible (surrection, subsidence, certaines formes d'érosions), mais parfois aussi brutalement (séismes générant des escarpements de faille, certains processus d'érosion comme les glissements de terrains) (Cornet, 2002).

II.3.1 Altitude

La commune de Tessala est constituée d'unités topographiques hétérogènes. Les côtes varient plus ou moins selon que l'on est en plaine (400 à 500 m d'altitude), aux piémonts (500 m d'altitude en moyenne), ou en montagne. Elles présentent des valeurs maximales au niveau des sommets de djebel Tessala (1061 m) (Ferka-Zazou, 2006).

II.3.2 Expositions

Conjuguée à une altitude importante, l'exposition a un effet sur les conditions écologiques des monts de Tessala. Le versant sud souffre d'une sécheresse prolongée dépassant les 6 mois et de sols relativement dégradés où dominent les argiles (Attaoui, 2008).

Le versant nord bénéficie de conditions climatiques et édaphiques plus clémentes, une brise marine avec ses effets adoucissants en été, une faible évaporation, des sols relativement équilibrés et une pluviométrie plus importante (Charif, 2001).

II.3.3 Les pentes

- ◆ La classe de pente supérieure à 25% occupe 2920 ha et reste localisée dans une série de petits massifs dont les pentes sont très accentuées, c'est le cas du djebel Tessala.
- ◆ La classe 12 à 25% occupe la plus forte superficie soit 48%
- ◆ Les classes des pentes 3 à 12% occupent 19% de la superficie totale, composées essentiellement d'une série de collines.
- ◆ La classe de pente 0-3% n'est présente que sur 394 ha qui constituent la zone de contact entre la plaine de Sidi bel abbés.

Tableau n°6 : Répartition général des classes de pentes

<i>Classe de pente</i>	<i>0-3%</i>	<i>3-12%</i>	<i>12-25%</i>	<i>plus 25%</i>	<i>Total</i>
<i>Superficies (ha)</i>	394	1869	4728	2920	9910
<i>Pourcentage%</i>	4	19	48	29.5	100%

(Farka-Zazou, 2006)

II.4 Dégradation du patrimoine végétal dans les monts des Tessala

Le rythme de dégradation et la multiplication des facteurs font que toutes les formes de végétations quelques soit leur stades de régression continue d'être détruite et rien n'est épargné, les derniers remparts de lutte naturelle contre les phénomènes de steppisation et de désertification sont menacés sérieusement (Benabdelli, 1998).

II.4.1 Factures de dégradation

II.4.1.a Action anthropique

La dégradation des écosystèmes forestiers est la conséquence de la pression anthropique dont l'incidence particulièrement spectaculaire, l'ampleur de cette dégradation durant la dernière décennie a engendré une situation nouvelle caractérisée par la réduction du couvert végétale et la chute de la phytomasse (Attaoui, 2008).

II.4.1.b Incendies et surpâturage

Les incendies ne sont pas rares au cours de la période estivale lorsque la strate herbacée est desséchée, 88 hectares ont ainsi été parcourus par le feu entre 1996 et 2005 (Ferka-Zazou, 2006). Mais le pâturage ovin et les coupes participent également à la dégradation des formations forestières.

Chapitre III : Métabolites secondaires

III.1 Les plantes, source naturelle d'antimicrobiens

La rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle, qui leur permet de lutter efficacement contre les pathogènes. Pour se protéger contre les bactéries, les champignons et les virus, les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, une multitude de molécules antimicrobiennes (Jones et Dangl, 2006 ; Gibbons, 2008). L'originalité de ce système de défense réside dans l'exceptionnelle variabilité chimique des molécules produites (Cowan, 1999 ; Gibbons, 2008). Ces molécules actives, impliquées dans les mécanismes de défense des plantes, sont issues du métabolisme secondaire. Elles ne participent pas directement dans la croissance des plantes, mais ont évolué pour leur fournir une protection naturelle contre les attaques de microbes ou d'insectes. Une partie de ces métabolites secondaires se concentre dans les sacs oléifères, qui sont des poches sécrétrices ou bien des canaux sécréteurs. L'exploration de ces molécules pour la recherche de molécules à activité antibiotique semble donc être une voie intéressante (Elodie, 2010).

III.2 Mécanisme de défense

La plante réagit très tôt à la tentative d'invasion des agents pathogènes. Les mécanismes de défense induits chez le végétal se caractérisent par un bouleversement du métabolisme. On note ainsi la synthèse ou l'augmentation de la synthèse de molécules constitutives ou non de la plante, pouvant entraîner des modifications morphologiques visant essentiellement à empêcher ou à stopper la colonisation du pathogène. Plusieurs mécanismes de défense sont mis en place au moment de l'infection ou de l'élicitation. On note ainsi :

- ✚ Une réaction d'hypersensibilité qui se traduit par l'apparition de nécrose des tissus végétaux autour du site d'infection. Cette nécrose, due à la mort de quelques cellules végétales entourant les cellules infectées, induit une résistance locale ;
- ✚ Un renforcement de la paroi qui constitue une des premières étapes de lutte contre les agressions. Une modification de cette paroi limite la progression de l'agresseur et favorise la résistance d'une plante à un agent pathogène ;

- ✚ La synthèse de certains peptides antimicrobiens tels que les thionines et les défensines
- ✚ l'induction des voies de synthèse des métabolites secondaires (Bouara, 2000)

III.3 Les métabolites secondaires

III.3.1 Définition

Les métabolites secondaires sont des composés non structuraux localisés dans certaines parties des végétaux. Généralement de faibles poids moléculaires, leurs structures très variables dérivent des métabolites primaires (Stead et *al.*, 1998). Parmi ces métabolites : les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les stilbènes, les anthocyanines, les coumarines. Différentes voies de biosynthèse de ces métabolites sont impliquées dans la mise en place des processus de défense contre les agents pathogènes chez les plantes supérieures (Keith et *al.*, 1991 ; Görlach et *al.*, 1995)

III.3.2 Rôle des métabolites secondaires

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant leur rôle (Whittaker, 1971 ; Muller, 1980) Ils ne semblent pas essentiels à la croissance végétale, mais peuvent jouer un rôle important dans les mécanismes de défense contre les agressions extérieures (Fahselt, 1994). Notamment, certains métabolites tels que les anthraquinones, pourraient agir comme pigments accessoires, permettant en condition de faible luminosité de capter l'énergie solaire ou à l'opposé, de protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires (Fahselt, 1994). Outre leur rôle comme agents protecteurs contre les stress physiques, les métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes de défense dirigés contre divers organismes. Par exemple, les terpènes et les dibenzofuranes possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques (Ouzilleau et Payette, 1975).

En général, l'induction d'une résistance locale engendre l'établissement d'une résistance générale dans les tissus non infectés de la plante. Cette réponse peut durer plusieurs jours ou plusieurs semaines. Cette résistance systémique acquise permet à la plante de lutter contre toute infection ultérieure.

III.3.2.a) l'éthylène

L'éthylène est une hormone végétale dérivée de la méthionine. Cette hormone est impliquée entre autre dans les mécanismes de défense chez les plantes (Ecker, 1995). La biosynthèse de cette molécule augmente rapidement en réponse à des éliciteurs ou lors de l'infection par des agents pathogènes.

L'éthylène induit également l'expression de certains gènes de défense l'éthylène pourrait également intervenir dans le renforcement de la paroi végétale en induisant la liaison

oxydative des glycoprotéines riches en hydroxyprolines (HRGP) (Enyedi et *al.*, 1992). Il a été suggéré que l'éthylène pourrait être le signal mobile impliqué dans l'établissement de la résistance systémique acquise).

III.3.2.b) l'acide salicylique

L'acide salicylique est un composé phénolique issu de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes. Il est formé par hydroxylation de l'acide benzoïque par l'acide benzoïque 2-hydroxylase. L'acide salicylique joue un rôle clé dans les mécanismes de défense des plantes contre les agents pathogènes. En effet, ce composé est impliqué à la fois dans la mise en place d'une résistance locale et d'une résistance générale (résistance systémique acquise) chez les plantes (Malamy et Klessig, 1992). Il a été montré également que des mutants d'*Arabidopsis*, incapables de produire de l'acide salicylique, sont susceptibles aux pathogènes *Pseudomonas syringae* et *Peronospora parasitica*. En effet, certains groupes de recherche ont suggéré que l'acide salicylique est transporté par le phloème vers les parties non infectées de la plante (Hunt et *al.*, 1997). Ces observations montrent que l'acide salicylique est indispensable pour mettre en place à la fois une résistance locale et une résistance systémique acquise chez les plantes terrestres.

III.4 Les enzymes impliquées dans la biosynthèse de métabolites

Les enzymes qui participent à ces synthèses sont induites lors de l'interaction avec l'agent pathogène ou en réponse à l'application d'éliciteurs. En effet, toutes les enzymes de la voie de biosynthèse de l'acide shikimique sont fortement induites en réponse à une attaque par un pathogène ou à une élicitation chez plusieurs plantes supérieures. Cet acide shikimique constitue le précurseur principal de la synthèse des acides aminés aromatiques tels que la phénylalanine. L'inhibition de cette voie shikimique induit une inhibition de la synthèse de certains métabolites secondaires et augmente ainsi la susceptibilité de la plante à son pathogène. La phénylalanine ammonia-lyase, une enzyme permettant la dégradation de la phénylalanine en acide cinnamique, est également induite en réponse à la présence de désagresseurs ou des éliciteurs chez les plantes (Keith et *al.*, 1991 ; Görlach et *al.*, 1995)

III.5 Les Métabolites secondaires les plus courants

III.5.1 Les terpénoïdes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représentés et d'un intérêt chimique considérable, très diversifiés (figure 12). Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Ces produits sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone. On peut classer tous les terpènes en fonction du nombre de leurs unités isoprène : Les terpènes simples formés de deux isoprènes, $C_{10}H_{16}$, Les sesquiterpènes formés de trois isoprènes, $C_{15}H_{24}$ Les diterpènes formés de quatre isoprènes, $C_{20}H_{32}$ (Raven, 2003).

➤ *Les monoterpènes*

Ils comportent 10 atomes de carbone, et sont issus des couplages de deux *unités isopréniques* «tête à queue ». Ils sont pourvus d'une grande diversité structurale, on peut citer quelques composés à titre d'exemples:

acyclique (myrte ,sécoïdane ...)

monocyclique (p-menthane ,iridaneetc)

bi et tricyclique (carane, pinane ,bornane ...)

➤ *Les sesquiterpènes*

Ils constituent un groupe de structures très diversifiées, plus de 200 squelettes carbonés ont été identifiés. Les structures carbonées de ces composés sont constituées de farnésyl di-P (assemblage de trois unités isoprènes). Par exemple :

l' α -cadinène, l' alcoolcarotol, guaiazulène , l' humulène , cédrol.

➤ *Les diterpènes*

Ce sont des dérivés des hydrocarbures en $C_{20}H_{32}$, issus du couplage de quatre unités isopréniques ($n = 4$). Ils sont particulièrement abondants chez les Lamiaceae et les Asteraceae. Ils peuvent être acycliques ou bi- ou tri-cycliques. Les plus intéressants sur le plan pharmacologique sont les diterpènes tricycliques à noyau taxane tel que le taxol et le taxotère qui sont utilisés dans le traitement des tumeurs de l'ovaire, du poumon et du sein. Ils sont surtout répandus chez les végétaux supérieurs et classés en fonction de leur diversité structurale.

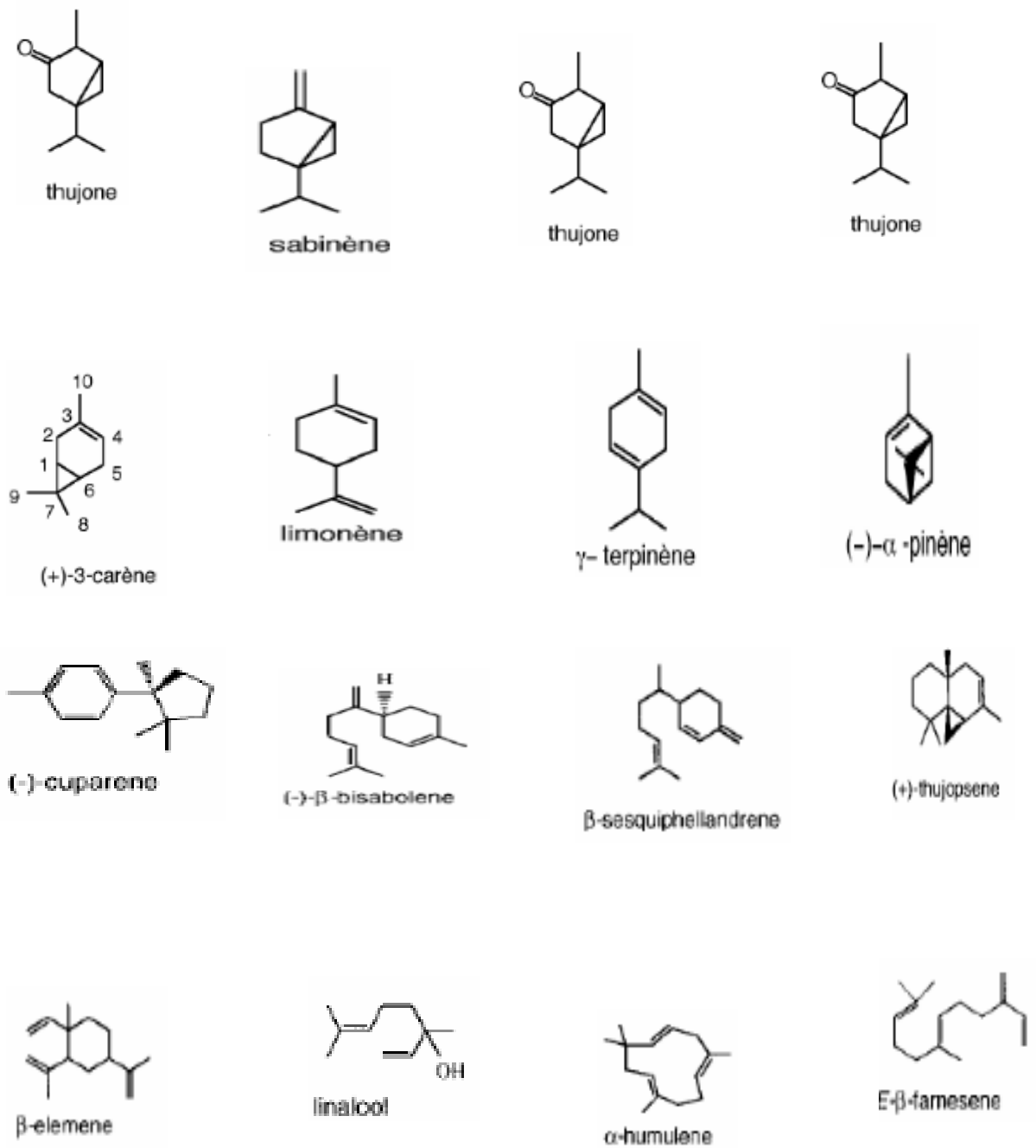


Figure n°12 : Quelques composés terpéniques (Lamarti et *al.*, 1994)

III.5.1.a Biosynthèses des composés terpéniques

diphosphate isopentényl (IPP) est l'intermédiaire clé dans la formation des composés terpéniques (figure 13). La première étape de la formation des diphosphates des prényles est l'isomérisation de l'IPP en diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). Cette réaction est catalysée par une enzyme hydrosoluble, l'isopentényldiphosphate isomérase (Lamarti et *al.*, 1994; Dudareva et *al.*, 2005).

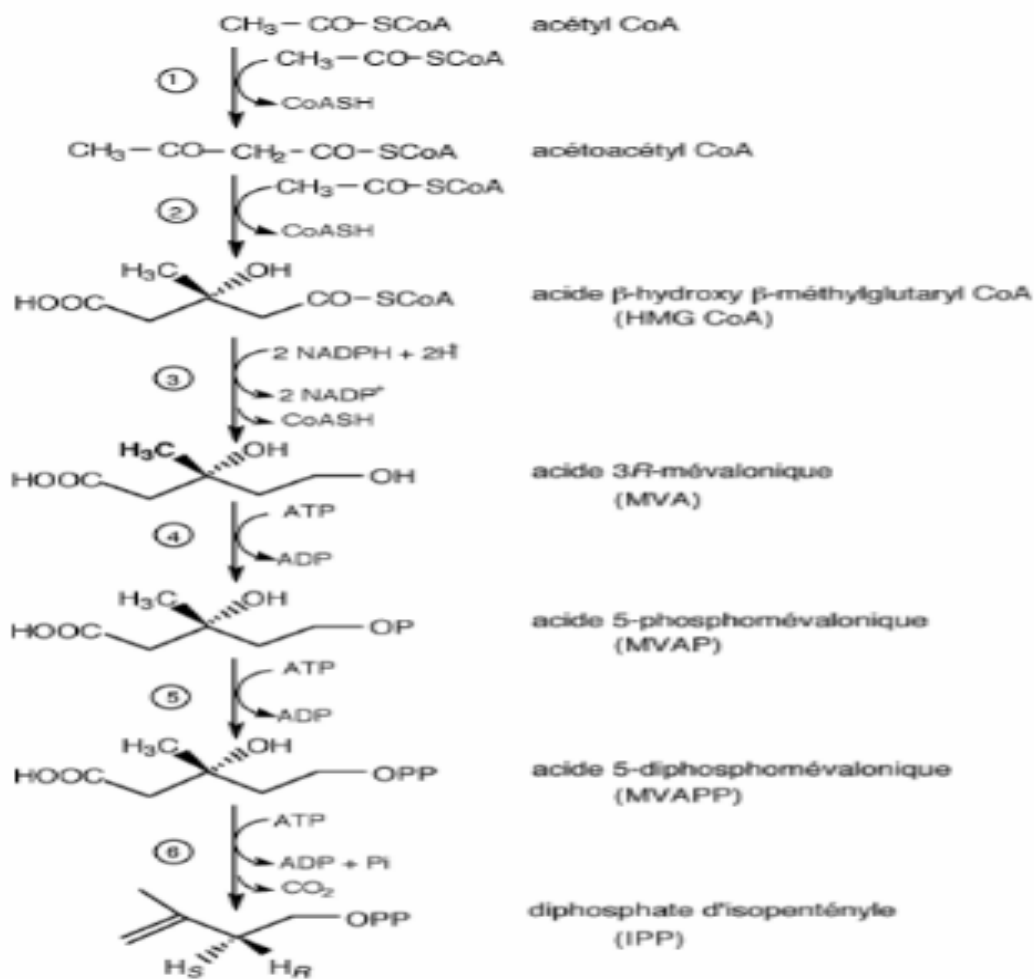


Figure n°13: Formation d'isopentényl à partir de l'acétyl-CoA (Hopkins, 2003)

La biosynthèse des terpénoïdes implique l'addition de l'unité isoprène avec son isomère pour former le geranyldiphosphate (GPP, C₁₀), condensé avec une autre unité IPP forment le diphosphate de farnesyl (FPP, C₁₅) à l'origine des sesquiterpènes (figure 14). Les précurseurs parentaux compte tenu de la modification structurale par l'oxydation, la réduction, l'isomérisation, l'hydratation, la conjugaison et/ou d'autres transformations donnent une variété de terpénoïdes (Dubey et al., 2003).

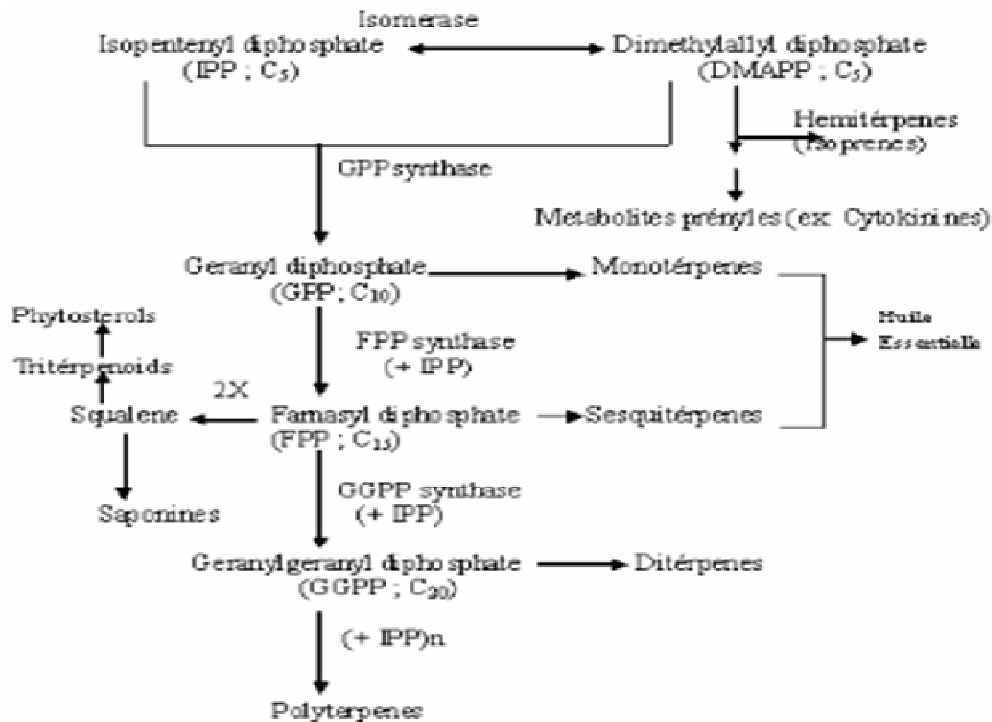


Figure 14 : synthèse de différentes classes terpéniques chez la plante

III.5.1.b Localisation et lieu de synthèse des composés terpéniques

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface des plantes, cellules à l'huiles essentielles des Lauracées ou Zingibéracées, poils sécréteurs de Lamiacées, des poches des Myrtacées ou du Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astéracées (Bruneton, 1993). Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe.

Les trichomes glandulaires sont les sites primaires de la biosynthèse d'huiles essentielles, et les plantes qui manquent de telles structures spécialisées synthétisent et amassent seulement des traces de mono terpènes. En conséquence, la dynamique du développement de ces structures ainsi que les processus sécréteurs d'huile ont une incidence directe avec la production d'huiles et sur le potentiel du système producteur(Sharma et *al.*, 2003).



Figure n° 15: Glande simple entièrement chargée d'huile (800x) (Sharma et *al.*, 2003)



Figure n°16 : Poils épidermiques sur le calice d'une fleur de origan (Porter,2001)

III.5.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (figure 17). Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (Lugasi et *al.*, 2003). Ces substances possédant un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle. Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances: les noyaux simples en C₆-C₁, les phénylpropanoïdes (C₆-C₃), les noyaux dérivant de l'extension du phényle propane, en C₆-C₃-C₆, comme les chalcones, les flavones, les flavonols ou les dérivés du flavane ou du flavane-3-ol.

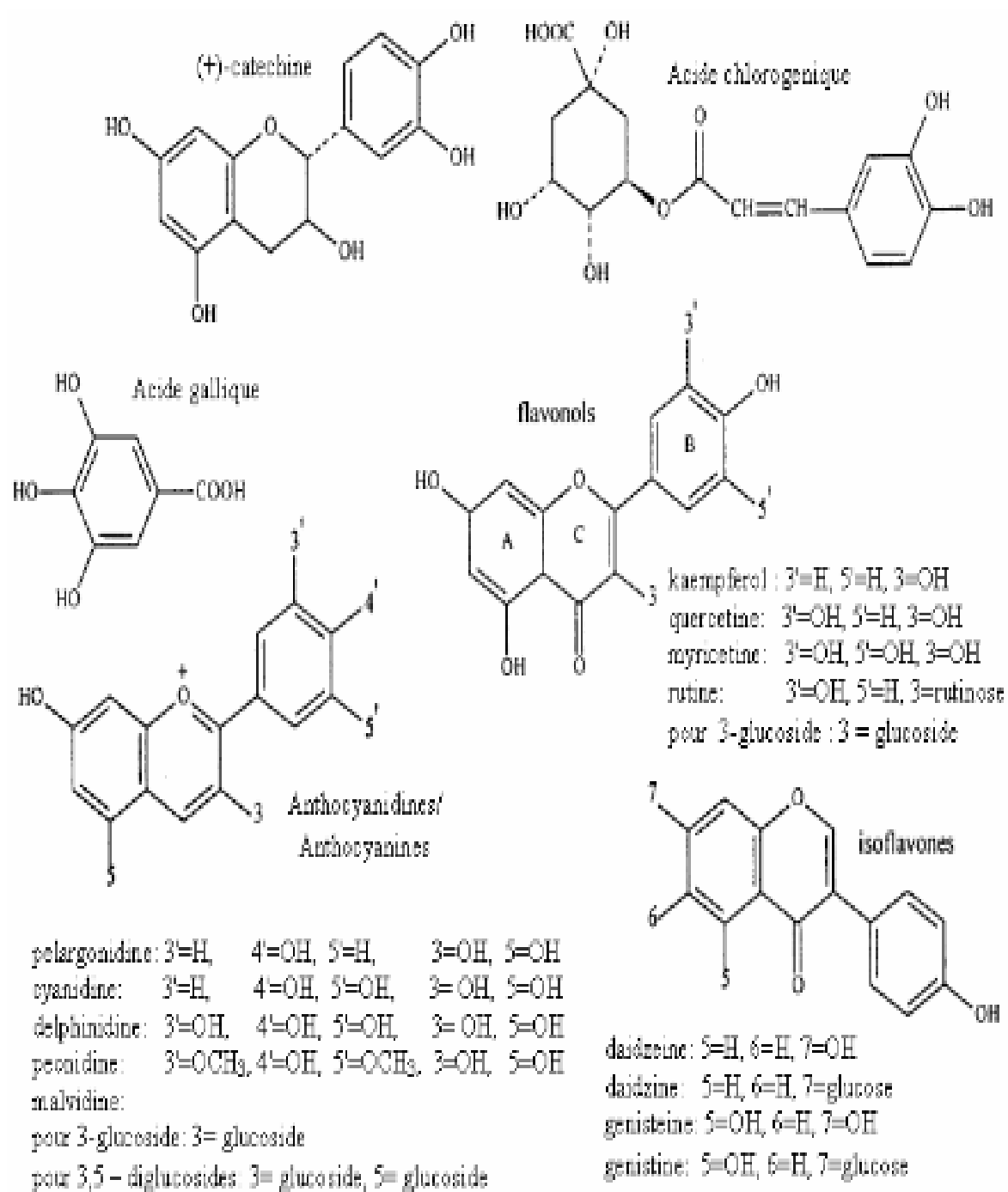


Figure n°17 : Structure de quelques composés phénoliques

III.5.3 Les flavonoïdes

III.5.3.1 Définition

Le terme flavonoïde provenant du latin "flavus", signifiant "jaune", désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ce groupe comprend comme son nom l'indique des composés jaunes mais aussi d'autres couleurs ou incolores (Seguiri, 2006).

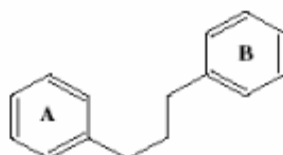


Figure n°18 : Unité de base des flavonoïdes

III.5.3.2 Distribution et localisation

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes-feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits (Verhoeyen *et al.*, 2002). On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, oranges, pamplemousses, et dans une moindre mesure : abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, brocolis, tomates et sarrasin. On en trouve également en quantité dans nombreuses plantes médicinales. Les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (Lahouel, 2005).

III.5.3.3 La biosynthèse des flavonoïdes

Les composés de départ sont la malonyl-CoA et les dérivés-CoA de l'acide cinnamique (cinnamoyl-CoA) : ces derniers se forment avec l'intervention de cinnamoyl-CoA ligase. C'est l'acétyl-CoA carboxylase qui prépare le malonyl-CoA où trois molécules de cette dernière et la cinnamoyl-CoA produisent à l'aide de la chalcone synthase, la structure de base en C-15 sous forme d'une chalcone. Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la biosynthèse des divers flavonoïdes (Tableau n°17 et Figure n°19).

- ❖ Les aurones dérivent directement des chalcones
- ❖ L'oxydation des flavanones suivie de réarrangement, c'est-à-dire le déplacement d'un groupement aryle de C-2 à C-3 en présence d'enzyme Isoflavonesynthase conduit entre autre à la formation d'isoflavone.

Tableau n°17 : Division des flavonoïdes

Flavones	Flavonol	Flavonone	Isoflavones	Chalcones	Aurones
Apigénine Lutéoline	Kaempférol	quercétine	Génistéine	Butéine Phlorétine	Sulfurétine

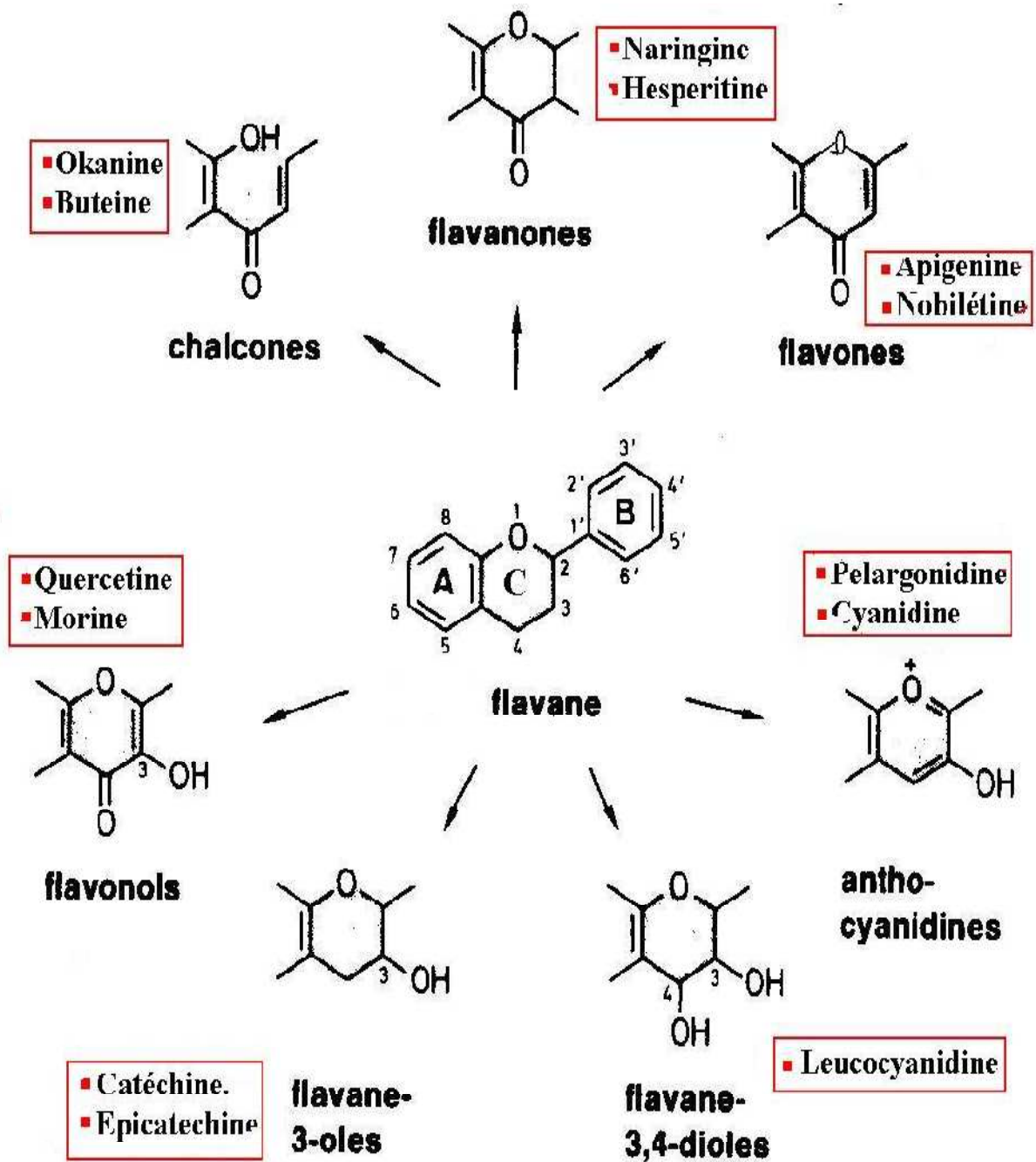


Figure n °19 : Définition des différents types de flavonoïdes à partir du squelette Flavane (Gamet-Payrastreet *al.*, 1999)

III.5.3.4 Activité biologique

- **Activité anti-oxydante :**

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle, La propriété antiradicalaire des flavonoïdes est étroitement liée à leur structure, en particulier au phénomène de résonance électronique stabilisant exercé par les noyaux aromatiques (Middleton et *al.*, 2000).

- **Effets cardiovasculaires :**

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du coeur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes (Xu *et al.*, 2007). Parmi les 17 flavonoïdes examinés par Xu et ses collaborateurs (2007), les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, kaempferol et la génisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire.

- **Propriétés anticancéreuses :**

Le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire qui est l'aboutissement d'une série de transformation pouvant se dérouler pendant plusieurs années, donc la cancérogénèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et finalement à un stade précoce de cancer (Pincemaital, 1999). Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains (Decloitre, 1993 ; Hertog, 1996)

III.5.4 Les tanins

Les tanins sont une famille complexe de principes actifs qu'on trouve dans l'ensemble des végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines ...) et des liaisons entre les fibres de collagènes, d'où leur viennent la plupart de leurs propriétés (Paolini et *al.*, 2003).

III.5.4.1 Tanins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose, c'est à dire un noyau central de glucose sur lequel se fixent, au moyen d'une liaison ester, des acides : l'acide gallique pour le groupe des gallotanins, l'acide ellagique pour le groupe des ellagitanins. Leur hydrolyse, par des acides, des bases ou certaines enzymes, libère le glucose ainsi que les acides gallique ou phénolique liés (Bruneton, 1999).

III.5.4.2 Tanins condensés (proanthocyanidines)

De structure plus complexe, ils sont de loin les tanins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes.

Ce sont des polymères de flavan-3-oles (Catéchine) et de flavan-3,4-dioles (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux. Les chaînes de polymères comptent de 2 à 20 unités environ, et il existe de nombreuses hydroxylations possibles en différents endroits de chaque monomère. Cette diversité structurale explique les variations d'activité biologique (Peronny, 2005).

III.5.4.3 La coumarine

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993). Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone. Isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820, aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes. Dans les plantes, on les rencontre dans les Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rutaceae et Solanaceae. Concernant les dérivés coumariniques, certains d'entre eux possèdent des activités pharmacologiques, principalement anticoagulantes. Les plus connus sont le dicoumarol et l'esculoside, tous deux veinotoniques et vasculoprotecteurs (Hostettmann, 1997; Bruneton, 1999). Pour ce qui est du mélilotoside (6), il est contenu dans le mélilot (*Melilotus officinalis* (L.) Pallas, Fabaceae), et a démontré *in vitro* des activités antimicrobiennes contre *Entamoeba histolytica* et *Giardia lamblia* (Calzada *et al.*, 2003).

III.5.5 Les alcaloïdes

En général, ces composés possèdent au moins un atome d'azote hétérocyclique. Actuellement, la structure chimique d'environ 16 000 alcaloïdes est connue. Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes. Ils sont de nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. La médecine les emploie le plus souvent à l'état pur et leur véritable valeur ne s'affirme qu'entre les mains du médecin car ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Les plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques. Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- ❖ des phénylalanines : capsaïcine du piment, colchicine du colchique;
- ❖ des alcaloïdes isoquinoléiques : morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenues dans l'opium du pavot ; et des alcaloïdes indoliques : ergométrine, ergotamine, ergotoxine de l'ergot des céréales;
- ❖ des alcaloïdes quinoléiques : tige feuillée de la rue commune ;
- ❖ des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques : ricinine du ricin, trigonelline du fenugrec, conine (poison violent) de la ciguë ;
- ❖ des alcaloïdes dérivés du tropane : scopolamine et atropine de la belladone (Seghiri, 2006)

III.6 Influence allélopathique ou facteurs chimiques

De nombreux composés allélopathiques ont été identifiés pour leurs effets inhibiteurs sur des plantes agricoles de même que sur des plantes indigènes. Ces produits sont généralement des phénols, comme les acides féruliques, les acides cafféiques, des coumarines et des terpènes, pouvant être lessivés ou sécrétés. Ils sont possiblement accumulés dans des structures spécialisées, assurant ainsi la protection de l'organisme. Une fois relâchés à l'extérieur de la plante, les agents allélopathiques seraient absorbés par les tissus végétaux des plantes voisines (Wivecke, 2003).

III.7 Aspects botaniques et chimiotaxonomiques

Le métabolisme secondaire évoqué au point précédent fait également partie des critères de classification des végétaux. On parle alors de classification chimique ou chimiotaxonomie. Il est d'ailleurs intéressant de constater que les systèmes de classification morphologiques sont souvent confirmés par l'étude chimiotaxonomique. Cependant, lorsque la classification par des critères macroscopiques fait défaut, il arrive qu'une étude du métabolisme secondaire participe au regroupement, au sein de taxons cohérents, d'espèces difficiles à classer.

Au phytochimiste, la chimiotaxonomie dit donc que si une espèce possède un potentiel thérapeutique intéressant grâce aux substances qu'elle synthétise, une espèce appartenant au même genre ou à la même famille aura plus de chances de se révéler également prometteuse dans ce domaine. Pour le systématicien, l'étude du métabolisme secondaire sera un critère complémentaire à l'étude morphologique des végétaux.

L'étude d'une même plante poussant dans des milieux (sols, climats, saisons) différents, peut également amener à constater des variations dans le métabolisme secondaire. C'est par exemple le cas pour certaines Lamiacées (thym, romarin, menthe, etc.), chez lesquelles il est possible de définir des races chimiques précises selon la composition qualitative et quantitative de leur huile essentielle (ex : thym à thymol, à carvacrol ou à linalol).

Les aspects de géobotanique sont également intéressants, car une plante qui est endémique d'une région doit certainement posséder des caractéristiques évolutives particulières et donc pouvoir fournir des substances chimiques nouvelles (Julien, 2002).

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1 Enquête ethnobotanique

IV.1.1 Introduction

La médecine traditionnelle demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé, non seulement du fait qu'elle constitue un élément important du patrimoine culturel, mais aussi pour les raisons de moyens financiers limités face aux produits conventionnels. Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement (Tabuti *et al.*, 2003). L'enquête ethnobotanique s'avère indispensable pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique (Babar *et al.*, 2007). De nos jours beaucoup des guérisseurs traditionnelles à puiser leur secret en valorisant de ces plantes dans le traitement de plusieurs maladies graves. L'objectif des études ethnobotaniques s'est basé sur :

- D'identifier les différentes utilisations médicinales traditionnelles de l'espèce étudiée, et de documenter la connaissance médicinale traditionnelle liée à l'utilisation de différentes parties de cette plante et enfin de déterminer le potentiel curatif de *Ballota hirsuta* dans les localités choisies.
- Cette étude est indispensable car elle permet de cibler les axes de recherche phytochimiques.
- Sert aussi de trait d'union entre les deux médecines (conventionnelle et traditionnelle).

L'enquête s'inscrit dans le cadre d'une étude transversale ayant pour objectif l'utilisation de la Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) par la population de la province de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale). La population enquêtée, découragée par la cherté des médicaments de synthèse et leurs effets secondaires, s'approvisionne fréquemment en plantes médicinales chez les herboristes et les tradipraticiens. Cela justifie en grande partie la raison sur laquelle on s'est basé pour réaliser notre enquête, cette dernière contribue à rassembler et constituer une source d'information très précieuse sur l'espèce étudiée, prête à être exploitée sur le plan scientifique.

IV.1.2 Localités de l'enquête

➤ Zone d'étude

La wilaya de Sidi Bel Abbès borde la partie méridionale occidentale du Tell algérien. Située au nord ouest du pays, elle occupe une position centrale stratégique et s'étend sur environ 15% de l'espace régional, totalisant de ce fait une superficie cadastrale de 915 063 km². La ville de Sidi Bel Abbès est située à 470 m d'altitude.

La commune de Tessala fait partie d'un ensemble de communes montagneuses à cheval entre trois wilayas (Sidi Bel Abbès, Oran et Ain Témouchent). Elle couvre une superficie de 11.824 ha. Il s'éloigne de la ville de Sidi Bel Abbès d'environ 10 Km et est traversée par l'axe routier RN°95 reliant Sidi Bel Abbès-Témouchent (Figure n°1). Elle s'inscrit entre les coordonnées géographiques suivantes : X1= 35°17'20.34'', Y1= 0°51'54.67'', X2= 35°20'31.04'', Y2= 0°42'54.96''.

La localité de Tessala est surmontée par une montagne abritant tout un ensemble des plantes médicinales dont l'espèce étudiée. Elle constitue le grenier des herboristes et des tradipraticiens de la région.

Le choix de la deuxième localité est basé sur la proximité du mont de Tessala par rapport à la ville de Sidi Bel Abbès. Cette dernière abrite un nombre considérable d'herboristes et de tradipraticiens.

➤ Les stations de l'enquête

L'enquête a été menée dans trois stations dans chacune des deux localités. Les trois stations de la localité de Tessala sont éloignées l'une de l'autre de 300 m en moyenne. Les stations 1 et 2 se trouvent à la périphérie tandis que la station 3 est par contre située au centre du village de Tessala.

Les trois stations échantillonnées de la ville de Sidi Bel Abbès sont choisies en fonction de la fréquentation de la population constatée au niveau de l'hôpital universitaire, les herboristes et les tradithérapeutes.

➤ Population enquêtée

Cette enquête réalisée durant les mois de Février, Mars et Avril de l'année 2012, a porté sur l'utilisation, le mode d'emploi et les maladies traitées par cette plante. La population enquêtée compte 500 personnes de niveaux intellectuels et de sexes différents. Elle est constituée par 220 hommes et 280 femmes de différents âges. Les paramètres de l'enquête sont portés sur une fiche destinée à rassembler les différents renseignements recherchés auprès de la population (Annexe 1).

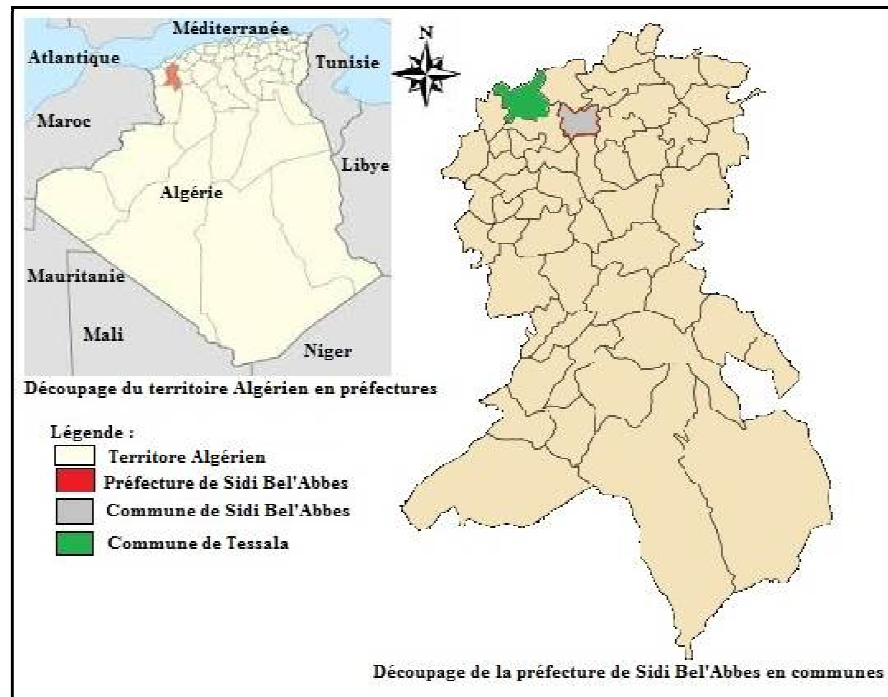


Figure n° 20: Localisation des deux communes de la préfecture de Sidi Bel'Abbes (Algerie occidentale)

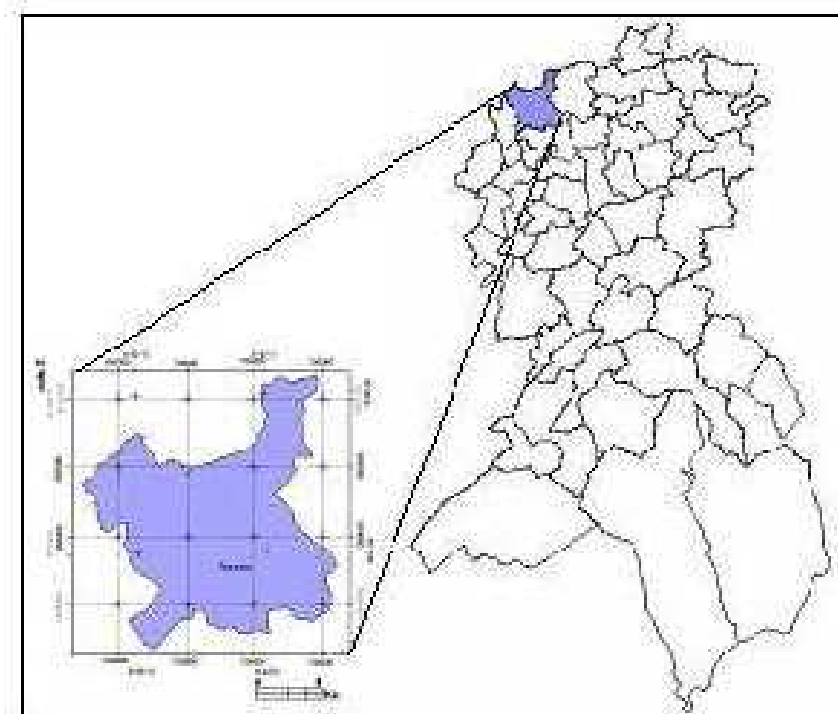


Figure n°21 : Localisation de la commune de Tessala (Ferka zazou, 2006)

IV .2Etude phytochimique

IV .2. 1Choix du matériel végétal :

Le choix de cette espèce, repose sur deux critères essentiels :

- Les résultats des études phytochimiques obtenus des autres espèces de même genre, d' une façon générale (La richesse en métabolites secondaires : acides phénoliques, flavonoïdes, lignanes et saponines).
- Les activités biologiques attribuées aux plantes de cette famille (antidiabétiques, anti-oxydantes, anti-fongiques, anti-microbiennes, anti-virales, et cytotoxiques).

IV .2 .2 Station de prélèvement

La récolte du matériel végétal est effectuée dans la zone des monts de Tessala de la wilaya de Sidi- Bel- Abbès au niveau de trois points de la station choisis.

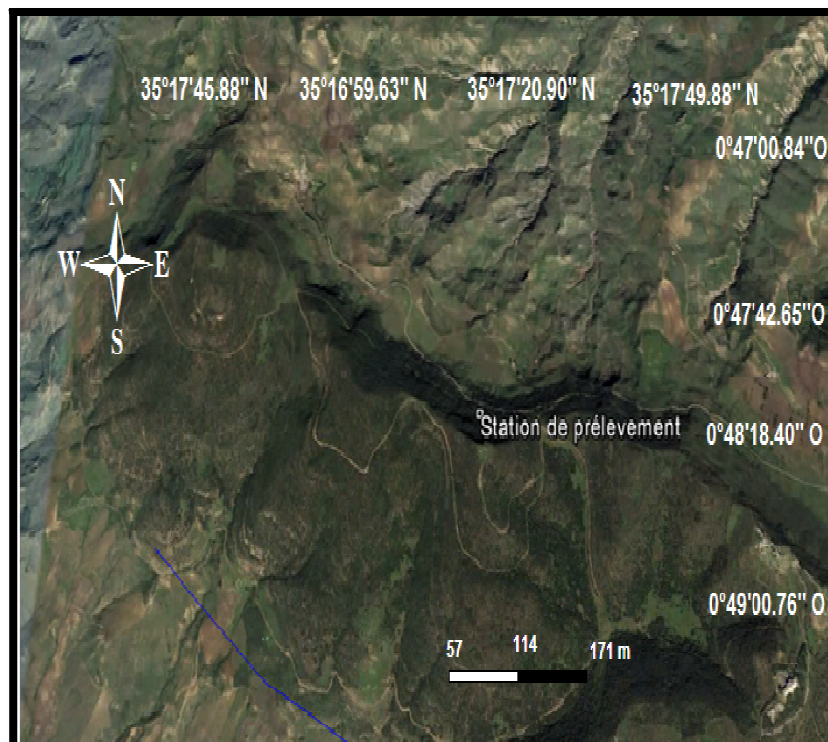


Figure n °22 : Station de prélèvement

IV.2 .3 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes et souterraine de *Ballotahirsuta* Benth, (feuilles, tiges et racines), après lavage à l'eau courante, les échantillons ont été séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules. Ainsi selon Bruneton (1987) cette méthode de séchage ne dégrade pas les composés actifs de la plante. Les échantillons ont été ensuite broyés et tamisés pour obtenir une poudre à structure granulaire homogène.



Figure n °23 : La plante sèche

IV .2 .4 Caractérisation physico-chimique de la matière végétale

➤ **pH (NF V 05-108, 1970)**

On détermine le pH d'une solution de la poudre à 4% à l'aide d'un pH mètre (4 gr de poudre de l'espèce étudiée est dilué dans 100 ml d'eau distillée).

➤ **Détermination de la teneur en eau**

La méthode utilisée est la dessiccation par évaporation à la température 103 °C dans l'étuve jusqu'à poids constant (Audigiet *al.*, 1978). La teneur en eau est déterminée par l'équation suivante :

H% : Teneur en eau

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

M₀ : poids de la coupelle

M₁ : poids de la coupelle + prise d'essai

M₂ : poids la coupelle + prise d'essai après dessiccation

➤ **Matière sèche**

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS\% = 100 - H\%$$

➤ **Détermination de la teneur en cendres**

L'obtention des cendres est basée sur l'incinération totale d'une prise d'essai à la température élevée à 500+25 °C (Laurent, 1991).

La teneur en matière minérale par rapport la matière sèche st calculée selon la formule suivante :

$$MM\% = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100 \times \frac{100}{100 - H}$$

M₀ : Poids de creuset

M₁ : Poids de creuset+prise d'essai

M₂ : Poids de creuset+prise d'essai après l'incinération

➤ **La matière grasse**

L'extraction a été réalisée par la méthode de Soxhlet (1881). Pour cela la poudre végétale est introduite dans une cartouche diurèse ; cette dernière est fermée par le coton dégraissé et placée dans l'extincteur. Elle est ensuite transposée dans un ballon à col adaptable contenant 500 ml d'hexane ; le tout est porté sur un chauffe-ballon électrique. L'extraction a duré 6 heures en moyenne. La matière grasse est ensuite pesée après évaporation de l'hexane.

La teneur en matière grasse par rapport la matière sèche st calculée selon la formule suivante :

$$MG\% = \frac{P2 - P1}{\text{Prise d'essai}} \times 100 \times \frac{100}{100 - H}$$

P1 : poids du ballon en (gr) avant extraction (vide),

P2 : poids du ballon en (gr) après extraction

➤ **Détermination de la teneur en éléments minéraux (A.O.A C, 1970)**

On fait dissoudre 1gr decendres obtenus après incinération, dans 1 ml d'acide chlorhydrique (6N), p+prise d'essai uis on lui ajoute avec précaution 10 ml d'eau distillée;

- La solution obtenue est versée dans une fiole jaugée de 100 ml, puis ajustée à 100 ml avec de l'eau distillée.

• A partir de cette solution on détermine les éléments minéraux (Mg, Cu, Fe, Cd, Zn, k, Na, Co, Cr, Mn, Ni, Pb et Cd par le spectrophotomètre d'adsorption atomique de type (VARIAN AA240) lié à l'atomiseur de flamme GTA 120.

La concentration mg/l des éléments minéraux a été déterminée à l'aide des courbes étalons préparées au préalable.

➤ **Microstructure de la poudre par M.E.B**

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images de surfaces de pratiquement tous les matériaux solides, à des échelles allant de celle de la loupe (x10) à celle du microscope électronique en transmission (x500.000 ou plus). Les échantillons peuvent être massifs, de dimension allant de quelques 1mm (particules) à une dizaine de cm de diamètre, l'image est formée de manière séquentielle en balayant la surface de l'échantillon et en recueillant les particules émises (Faerber, 2004), la morphologie de la poudre a été réalisée par M.E.B de type Philips XL-30 à l'université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

➤ **Détermination de groupement fonctionnelle par Infrarouge**

L'analyse par infrarouge est une des méthodes rapide utilisées pour déterminer des molécules organiques et inorganiques à partir de leurs propriétés vibrationnelles. (Déformation, élongation). La comparaison entre rayonnement incident et transmis à travers l'échantillon suffit pour déterminer les principales fonctions chimiques présentes dans l'échantillon (Hamm, 1998).

IV .3Screening phytochimique

Ces essais permettent d'avoir des informations préliminaires sur les compositions chimiques, le principe est soit basé sur la formation des complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation soit réaction de coloration.

➤ **Caractérisation des tanins**

Introduire dans un tube l'infusé à 10% (5 ml) et une solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1% (1ml). La présence de la coloration verdâtre ou bleu noirâtre dans le tube à essai indique leur existence

➤ **Caractérisation des flavonoïdes**

A 1 ml d'extrait, on ajoute 5ml d'alcool à 50% puis 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. Une coloration orange, rouge ou rose apparaît en présence des flavonoïdes.

➤ **Anthraquinones**

À l'extrait chloroformique de chacun des organes, on ajoute du KOH aqueux 10 % (v/v). Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge (Ribéreau-Gayon et al, 1968).

➤ **Les saponosides**

La présence des saponosides est déterminée par le calcul de l'indice de mousse dans une série de 5 tubes à essai (Douhou., et al 2003). On note le numéro du premier tube qui présente une hauteur de la mousse proche de 1 cm.

IM : indice de mousse

$$IM = (\text{hauteur da la mousse du tube noté en cm } 5) / 0,0X$$

X : numéro de tube noté

Quand $IM > 100$: présence de saponines

➤ **Les mucilages (Composé réducteur)**

Les mucilages sont caractérisés par l'apparition d'un précipité floconneux en ajoutant 5ml de l'éthanol absolu à 1ml décocté aqueux préalablement préparé.

➤ **Les stérol et les diterpène**

Sont mis en évidence par l'ajout de 1ml $CHCl_3$ au résidu de 10ml du macéra évaporé, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet révèle leur présence (Bruneton, 2009).

➤ **Anthocyanes**

Sont révélés par ajout à 5 ml d'infusé à 5% de H_2SO_4 à 10% et de 5ml de NH_4OH à 50%. Si la coloration de l'infusé s'accroît par acidification puis vire en bleu en milieu basique, on peut conclure à la présence d'anthocyanes (Bruneton, 2009).

➤ **Les alcaloïdes**

Elle est effectuée sur des réactions de précipitation avec le révélateur général des alcaloïdes: le réactif de Dragendorff (Douhou, 2003). Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 ml de l'extrait (infusé à 10%) ensuite, nous avons ajouté, 5 gouttes de réactif de Dragendorff. Un deuxième tube servant de témoin contient 1 ml de caféine 0.02% et 5 gouttes de réactif de Dragendorff. En présence d'alcaloïdes, il y a formation d'un précipité ;

- orange dans le premier tube.
- orange abondant dans le tube témoin.

IV .4 Dosage saisonnier des phénols totaux et des flavonoïdes :

L'objectif de cette étude, c'est de suivre l'impact saisonnier (Printemps, été, Hiver, Automne) sur la variation quantitative de métabolites secondaires dans les trois organes de l'espèce étudiée (feuille, tige et racine) ce suivi est effectué dans la même station de prélèvement.

Le dosage de ces métabolites répond à deux objectifs :

- ❖ Traiter un nombre important d'échantillon à partir de très peu de matière végétale
- ❖ Être transposable à tout types de tissu (feuilles, racines, tiges...).

IV .4.1 Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

➤ **Principe :**

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif de Folin dans une solution alcaline

➤ **Extraction :**

0,2 g de poudre de chaque organe sont broyés à froid (4°C) dans le méthanol à 80%. Après agitation au vortex, le mélange est centrifugé à une vitesse de 4000 t x 10 min et le surnageant est ainsi récupéré. Cette opération est répétée 3 fois pour épuiser le contenu en composés phénoliques solubles de l'échantillon. Les surnageants sont regroupés et constituent l'extrait hydroalcoolique à conserver à -20°C pour les analyses.

➤ **Protocole :**

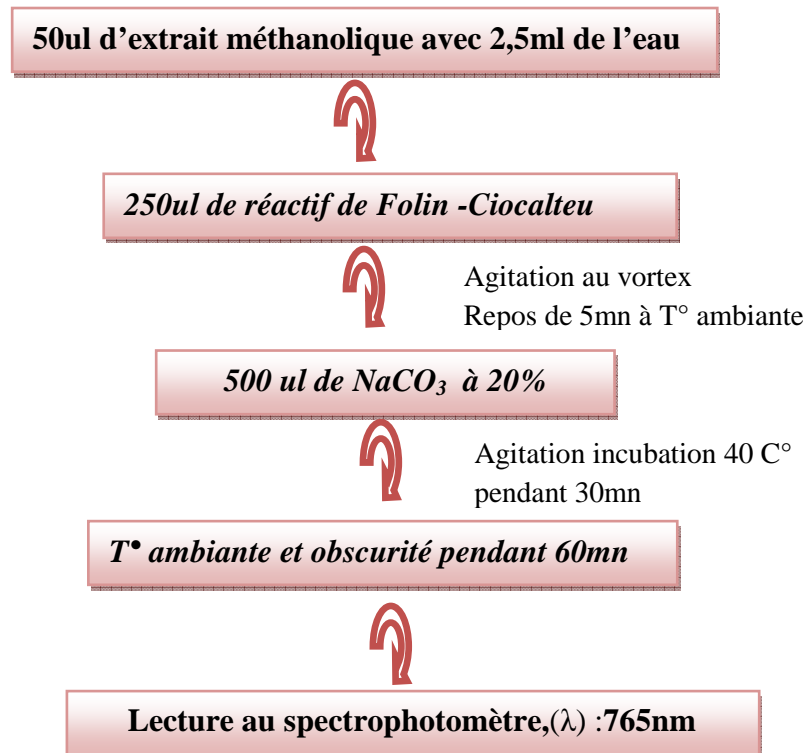


Figure n °24 : Protocole de dosage des phénols(El Hadrami *et al.*, 1997)

➤ **Courbe d'étalonnage:**

On réalise une gamme étalon en milieu aqueux (6 points de concentration de 0 à 500 mg/l) avec un polyphénol témoin de l'acide gallique. A 50 µl d'acide gallique à différentes concentrations (100-200-300-400-500 mg/ l) on ajoute 250 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange correspondant à chaque concentration est agité au vortex et laissé reposer 5 mn à température ambiante, 500 µl de carbonate de sodium (20%) sont ajoutés. L'ensemble est mis à l'obscurité à température ambiante pendant 60 mn. La densité optique (D.O) de chaque mélange est lue à une longueur d'onde (λ) de 765 nm, pour déterminer la teneur en phénols totaux des différentes parties de notre plante. Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 mg/l de la gamme.

IV.4.2 Dosage des flavonoïdes

➤ **Mise en évidence des flavonoïdes**

La présence ou l'absence des flavonoïdes dans un extrait peut être mis en évidence par un test simple et rapide au magnésium (Karumi et *al.*, 2004). Le test consiste à ajouter à un minimum de volume de l'extrait méthanolique quelques gouttes de HCl concentré (2N) et 0.5g de Mg. On laisse agir 3 minutes, la coloration orange ou rouge implique la présence des flavonoïdes. La méthode au $AlCl_3$ (Lamaison et Carnet, 1990; Huang et *al.*, 2004) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits.

➤ **Protocole :**

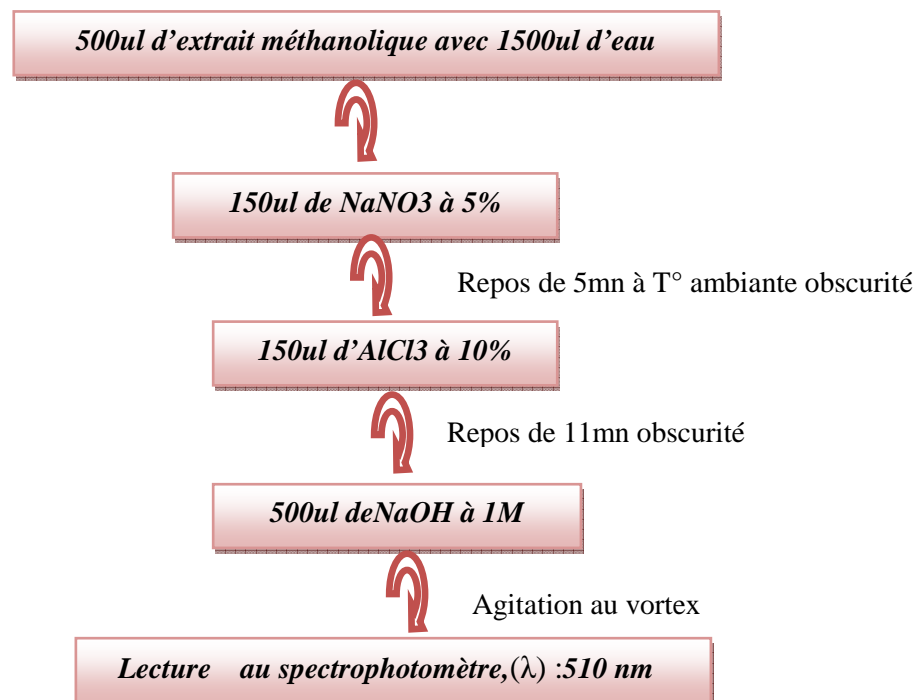


Figure n°25 : Protocole de dosage des flavonoïdes(El Hadrami et *al.*, 1997)

➤ **Courbe d'étalonnage :**

Une courbe d'étalonnage réalisée par la catéchine à différentes concentrations (0-10-20-30-40-50 mg/l) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons servira à la quantification des flavonoïdes.

IV .4. 3 Dosage des tannins :

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés.

IV.4. 3 .1 Tannins hydrolysables :

0,2 gr de feuilles broyées sont macérés pendant 18h dans 10ml de méthanol (80%). Après macération, le mélange est filtré, 1ml du filtrat est additionné à 3,5 ml d'une solution préparée à base de trichlorure ferrique (FeCl₃) à 0,01M dans l'acide chlorhydrique (HCl) à 0,001M. L'absorbance ou la densité optique du mélange est lue 15 secondes après l'addition du réactif, à une longueur d'onde (λ) de 660 nm sur spectrophotomètre (Mole, S. el *al.*, 1987).

🚩 Les tanins hydrolysables sont exprimés par la formule suivante :

$$T (\%) = (D.O \times M \times V) / E \text{ mole} \times P$$

Avec :

- D.O : Densité optique ;
- E mole : 2169 de l'acide ellagique (constante exprimée en mole) ;
- M : masse = 300 ;
- V : volume d'extrait utilisé ;
- P : poids de l'échantillon.

IV .4. 3 .2 Tanins condensés :

0,2 gr de feuilles broyées sont macérés pendant 18h dans 10ml de méthanol (80%). Après macération, le mélange est filtré, 1 ml de filtrat est additionné à 2 ml d'une solution préparée à base de vanilline à 1 % dans l'acide sulfurique à 70 % (1g de vanilline dans 77,77 ml de H₂SO₄ à compléter avec de l'eau distillé pour avoir 100 ml).

L'ensemble du mélange est placé dans un bain- marie pendant 15 mn à 20°C à l'abri de la lumière, la densité optique (DO) du mélange est lue à une longueur d'onde (λ) de 500 nm sur spectrophotomètre (Swainetal., 1959).

✚ Les tanins condensés sont exprimés par la formule :

$$T (\%) = (5,2 \times 10^{-2} \times D.O \times V) / P$$

Avec :

- $5,2 \times 10^{-2}$: constante exprimée en équivalent de cyanidines ;
- D.O : Densité optique ;
- V : volume d'extrait utilisé ;
- P : poids de l'échantillon.

IV .4. 4 Analyses statistiques:

La concentration moyenne de chaque polyphénol a été exprimée sur la base de trois mesures \pm l'écart type. L'analyse de la variance à un critère (ANOVA 1) a été utilisée pour comparer la quantité des composés phénoliques dosés sur les organes feuilles, tiges et les racines de la même saison et nous l'avons utilisé aussi pour comparer saisonnièrement la concentration en polyphénols dans un même organe. Nous avons utilisé une analyse en composantes principales (ACP) pour faire le bilan des ressemblances entre les individus (les organes végétaux dans les quatre saisons). Les résultats ont été confirmés par classification hiérarchique ascendante (CHA) Pour obtenir rapidement les informations majeures et de façon ordonnée Ces analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de logiciel STATISTICA 6.

IV .5 Extraction des flavonoïdes :

Tous les flavonoïdes n'ont pas la même propriété de solubilité car certains flavonoïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool alors que d'autres ont des propriétés hydrosolubles extrêmement faible (Bruneton, 1999.) de ce fait le principe utilisé pour l'extraction des flavonoïdes est basé sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques.L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon le la méthode présenté par (Elâgoun, 2003).En vue de mettre en évidence certains composés appartenant à certaines classes des composés phénoliques nous avons soumis notre extrait sec méthanolique à un fractionnement à différentes solvants

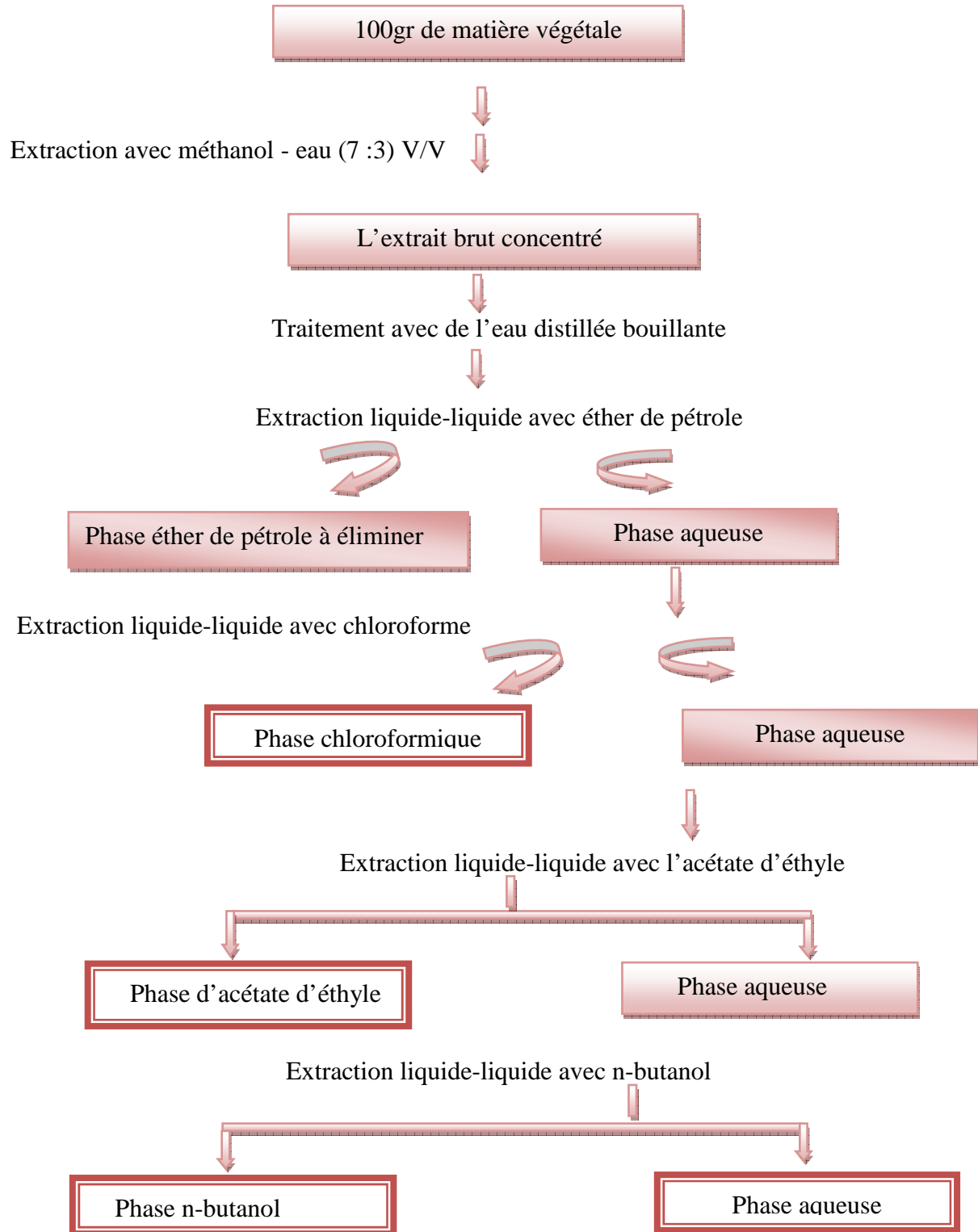


Figure n°26 : Protocole d'extraction des flavonoïdes(Elâgoun, 2003).

L'extraction permet d'obtenir quatre fractions ;

- La fraction chloroformique(F-CHCl₃)
- La fraction d'acétate d'éthyle (F-AcOEt),
- La fraction du n-butanol (Fn-BuOH),
- La fraction aqueuse FAq) résiduelle.

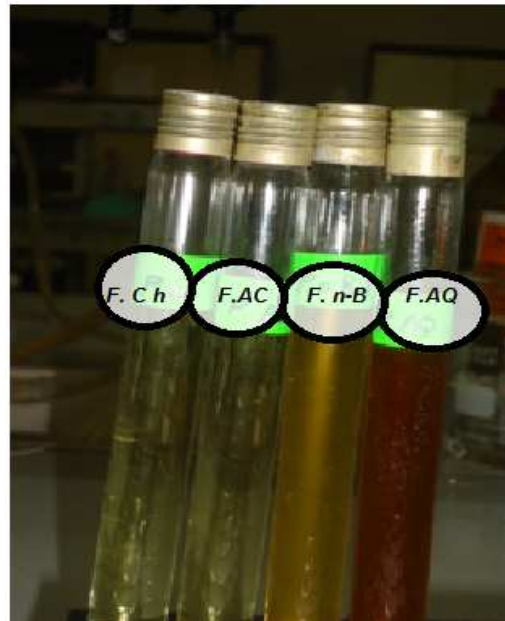


Figure n°27: Fractionnement de l'extrait brut

- **Calcul des rendements en extraits secs**

Le rendement de la plante en extrait sec est déterminé en calculant le rapport suivant :

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

- **P1** : poids du ballon avec l'extrait;
- **P2** : poids du ballon vide ;
- **P3** : poids de la matière végétale de départ.

IV .5 .1 Analyse des extraits par La chromatographie sur couche mince CCM

La CCM repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel.

➤ **La phase stationnaire**

Une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque d'aluminium (20×20 cm) à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.

➤ **La phase mobile**

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques qui va entraîner les composés à séparer le long de la phase stationnaire.

Tableau n°8: Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice

CCM sur gel de silice	
Système de solvant	Proportion (v/v/v/v).
1-Acétate d'éthyle, acide formique eau distillé	65: 15 : 20 Males et Medić- Sarić(2001).
2-Acétate d'éthyle, MeOH, H ₂ O	100/13.5/10 Maleš <i>et al</i> , 1998
3-Acétate d'éthyle, acide formique, acide acétique, H ₂ O	100/11/11/27 Maleš <i>et al</i> , 1998

- **Le dépôt** : le dépôt se fait avec des tubes capillaires en verre à usage unique d'une façon perpendiculaire. Les extraits sont déposés à des points précis, à 1cm du bord inférieur de la plaque (Sine, 2003).
- **Développement des plaques** : chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (Sine, 2003).
- **Révélation** : si les constituants sont colorés, ils seront directement visible sur la plaque, sinon la révélation peut se faire soit aux UV ou bien par des méthodes chimiques.

- **Révélation par des méthodes chimiques** : ces méthodes consistent à mettre en contact de la plaque un réactif plus ou moins spécifique qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler (Latifou, 2005).
- **Révélation aux UV** : qui permet de mettre en évidence sous forme des taches des substances qui absorbent les UV entre 254 nm et 365 nm.

IV .5.2 Analyse chromatographique par HPLC

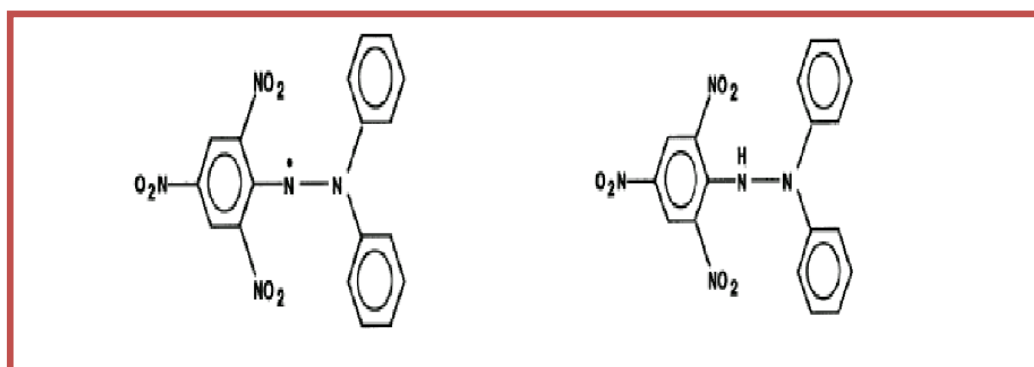
La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est une technique de séparation, identification et quantification des constituants d'un mélange, elle est particulièrement utile dans le cas d'identification des molécules à hauts poids moléculaires. L'HPLC est sans doute la technique analytique pour caractériser les composés polyphénoliques (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

- ✚ 20 µl de chaque extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse
- ✚ La phase mobile est constituée de trois éluants : l'eau distillée, le méthanol et l'acide acétique (50 : 47 : 2.5) (V /V /V).
- ✚ Le débit est fixé à 1ml/min
- ✚ La détection se fait à 350 nm (Amarowicz *et al.*, 2005).

IV .6 Activités anti oxydantes des fractions obtenues

IV .6 .1 Test au DPPH :

Le pouvoir antioxydant de nos extraits a été testé par la méthode de DPPH, Les piégeurs de radicaux libres transforment, le DPPH. (2,2 diphenyl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune par le phénomène de réduction. (Maataouiet *al.*,2006).



Forme libre

Forme réduit

Figure n°28 : Forme libre et réduite du DPPH(Molyneux, 2004)

La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UVvisible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits (Molyneux, 2004).

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou et *al.*, (2007).

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,950ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,950 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

IV .6.2 Calcul des pourcentages d'inhibitions :

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I \% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

Ac: absorbance du contrôle ;

At: absorbance du test effectué

IV .6.3 Calcul des IC₅₀ :

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

IV .7 Activité antibactérienne

IV .7.1 Extraits flavonoïques

Plusieurs classes de polyphénols telles que, flavonoïdes et les tannins servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes (Fallehet *al.*, 2008 ; Shan *et al.*, 2007) ces molécules sont des substances antibactériennes importantes. Cela nous amène à évaluer *in vitro* ce pouvoir inhibiteur vis-à-vis certaines souches Gram+ et Gram -.

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode de diffusion des disques décrite par (Rota *et al.*, 2008). La mise en évidence de la sensibilité et de la résistance des agents microbiens consiste à les mettre sur un milieu de culture solide au contact direct avec des substances testées, dans le but d'apprécier leur effet antibactérien.

➤ **Souches bactériennes**

Les souches bactériennes ayant fait l'objet de cette étude sont reportées dans le tableau 9.

Le test est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie (C.H.U) Sidi Bel Abbes,

Tableau n° 9: Germes étudiés

Bactéries	Gram -	<i>E.coli ATCC 25922</i>
		<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853</i>
	Gram +	<i>Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>

➤ **Mode opératoire de l'aromatogramme**

✚ **Préparation des dilutions des différentes fractions**

A partir de la solution mère, on procédera à des dilutions allant de 1/2 jusqu'à 1/16 pour obtenir des concentrations de 3mg/ml à 0,18mg/ml. Les extraits secs ont été repris avec le Dimethylsulfoxyde (DMSO).

✚ **Préparation de milieu de culture (Muller –Hinton)**

La gélose et le bouillon (Muller –Hinton) ont constitué les principaux milieux de culture utilisés. On répartit la gélose en surfusion dans des boîtes de pétri afin d'obtenir une épaisseur de 4 mm.

✚ **Préparation des suspensions bactériennes:**

On a préparé des suspensions bactériennes à partir de gélose nutritive. On a délayé les colonies dans 9ml d'eau physiologique, jusqu'à bonne turbidité. Puis pour une bonne dispersion des bactéries dans l'inoculum, on a fait agiter 1h30 (120 balancements par minute). Puis, on assure un ensemencement dans toutes les directions de la boîte de pétri, avec dépôt des disques imprégnés de différentes concentrations de chaque fraction.

✚ **Ensemencement**

Des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râtelier stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries. A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

✚ **Evaluation de l'activité antibactérienne**

Le caractère de sensibilité ou de résistance des souches bactériennes est apprécié en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37°C.

IV .7.2 Extraction et purification des pigments chlorophylliens

Notre objectif est de purifier Les caroténoïdes et les xanthophylles comme étant des métabolites secondaires appartenant à la famille des terpénoïdes avec 8 unités isoprène (C₅)

➤ **La chlorophylle**

La chlorophylle est le principal pigment photosynthétique, deux structures remarquables caractérisent cette molécule :

Un noyau tétrapyrrolique ou chlorine, contenant un atome de magnésium en son centre ; une chaîne terpénique ou phytol, constituée de vingt atomes de carbone. Il existe différentes formes de chlorophylles, dont les seules présentes chez les végétaux supérieurs sont la chlorophylle a et la chlorophylle b.

➤ **Les caroténoïdes et les xanthophylles**

Sont présents chez de nombreux êtres vivants, végétaux, animaux et microorganismes, ces molécules appartenant à la famille des terpénoïdes en C₄₀. Plus de six cent formes de caroténoïdes ont été répertoriées à ce jour. Ils sont divisés en deux grandes familles : les carotènes, uniquement composés de carbone et d'hydrogène, et les xanthophylles qui sont synthétisés à partir des carotènes et possèdent en plus des atomes d'oxygène. Dans le chloroplaste, on distingue deux formes principales de carotènes (α-carotène et β-carotène) et cinq de xanthophylles (lutéine, zéaxanthine, violaxanthine, anthéroxanthine et néoxanthine) (Lichtenthaler, 1987).

IV .7.2 .1 Extraction des pigments

L'extraction de la chlorophylle a été faite selon le protocole de (Ramesh, 2000) en utilisant quelques solvants comme l'acétone à 80% et l'éther de pétrole.

IV .7.2 .2 Purification des pigments et l'activité antibactérienne

La séparation des pigments chlorophylliens a été réalisée selon la méthode de (Ruiz, 2005) en utilisant les solvants d'extraction suivants : acétone pure, éther de pétrole, méthanol, éther éthylique (Figure 29). Les extraits obtenus sont évaporés à sec à l'évaporateur rotatif puis lyophilisés afin de déterminer les rendements d'extraction. Tous les lyophilisats ont été conservés à -20°C jusqu'à leurs utilisations.

Le même protocole expérimental a été appliqué à l'activité antibactérienne des flavonoïdes ainsi que les mêmes dilutions de la solution mère de différents extraits ont été testées.

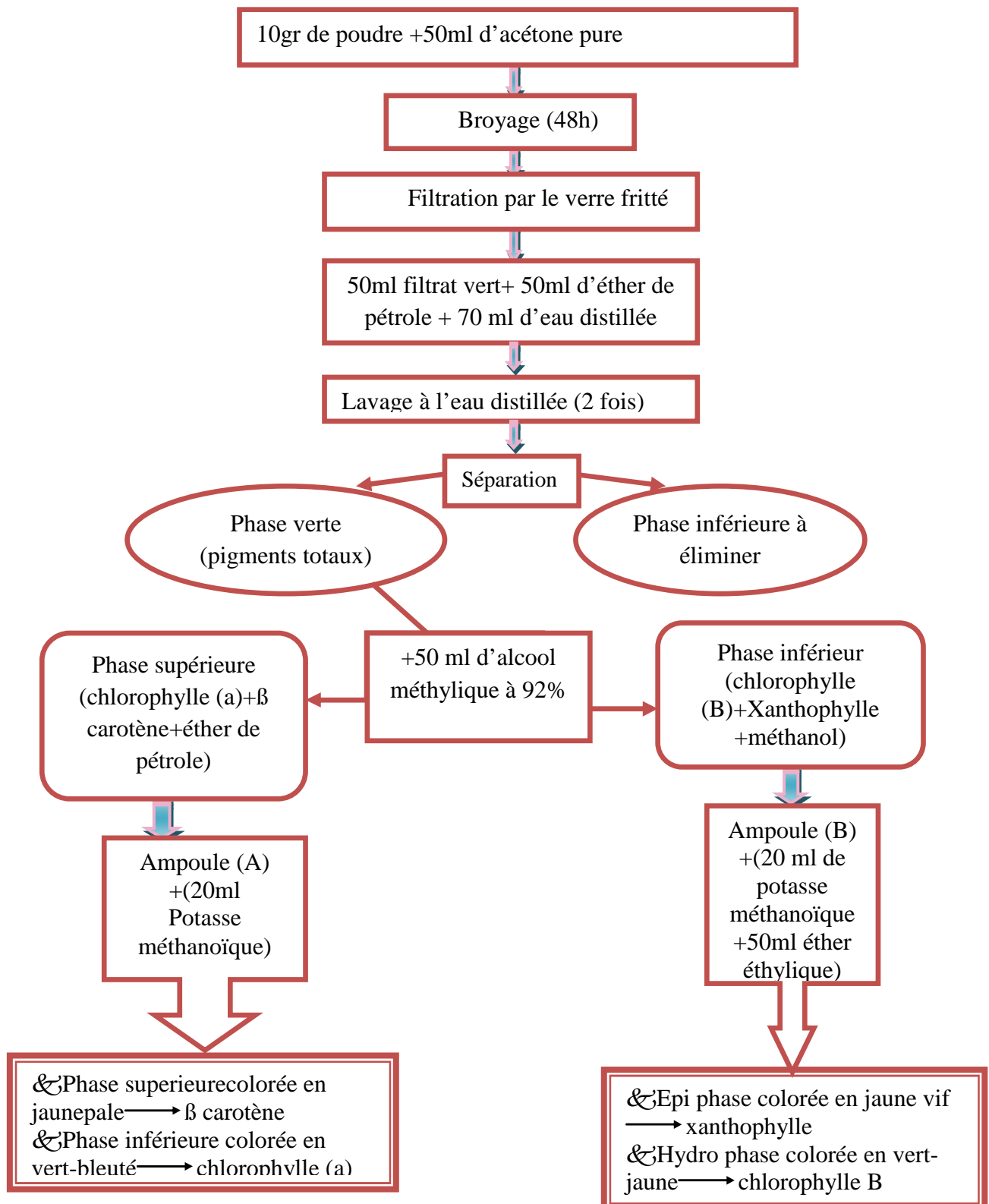


Figure n°29 : Schéma simplifié du protocole d'extraction Des pigments chlorophylliens(Ruiz, 2005)

IV .8 Etude histologique

La morphologie, la distribution et la fréquence des trichomes sont employées comme des caractères distinctifs au niveau des Lamiacées (Ascensão et *al.*, 1995) ,la raison pour laquelle plusieurs études ont été faites pour mettre une signification taxonomique, dont le but de comparer les différentes formes des trichomes : les sites primaires de la biosynthèse de molécules actives. Nous avons réalisé des coupes au niveau de la feuille et la tige ainsi des mesures micrométriques de trichomes ont été effectuées à l'université de Tiaret. On a suivi la technique utilisée selon le protocole de laboratoire d'Anatomo-pathologie centre hospitalo-universitaire, les coupes semi fine ont été réalisées au microtome.

IV .8.1 Prélèvement des échantillons

Les feuilles ont été conservées dans éthanol 70%.

IV .8 .2 Fixation des échantillons

Les échantillons sont coupés transversalement et placés dans des cassettes, ensuite sont fixés dans une solution de Formaldéhyde à 36,99% pendant 24h. La fixation permet de tuer les cellules sans altérer leurs structures (Figure 30).



Figure n°30 : Fixation des échantillons (Cliché Kechar, 2013)

IV .8.3 Déshydratation des échantillons

Après la fixation, les échantillons sont soigneusement lavés à l'eau courante, ils sont placés dans un automate de type « LEICA » de déshydratation qui sert à éliminer la teneur en eau contenu dans les échantillons.



Figure n°31 : Automate de déshydratation (ClichéKechar, 2013)

Cet automate de déshydratation contient douze baignoires qui contiennent chacune un réactif pour un temps donné.

Tableau n°10 : Les étapes de la déshydratation

Les baignoires	Les produits	La durée
1^{er} bain	Formol 36,99%	1h20
2^{ème} bain	Ethanol 75%	1h30
3^{ème} bain	Ethanol 95%	1h30
4^{ème} bain	Ethanol 100%	2h
5^{ème} et 6^{ème} bain	Acétone	1h30
7^{ème} bain	Acétone	1h
8^{ème} et 9^{ème} bain	Xylène	1h
10^{ème} bain	Paraffine	1h
11^{ème} et 12^{ème} bain	Paraffine	1h30

IV .8.4 L'Enrobage (préparation des blocs)

Après la déshydratation, les cassettes qui contiennent les échantillons vont être plongées dans la paraffine, puis on ouvre les cassettes pour mettre les échantillons dans les moules, qui sont placés sous le robinet un par un afin de les remplir de paraffine et enfin les moules sont déposés sur la partie froide de l'appareil pour le refroidissement ou elles seront appelées « blocs ».



Figure n°32 : Appareil d'enrobage (préparation des blocs (Cliché Kechar, 2013)).

IV .8 .5 Confection des coupes

Les blocs obtenus après refroidissement et solidification sont taillés à l'aide d'un microtome pour obtenir des coupes (2,5 μm d'épaisseur).



Figure n° 33: Les blocs contenant les échantillons déshydratés (ClichéKechar, 2013).

IV .8.6 Montage des coupes sur lames

Les rubans de coupes sériées sont plongés dans un bain marie pour faciliter leurs fixations sur des lames, puis ces rubans seront posés sur la lame, ensuite ils sont séchés par un papier filtre (Figure 34).



Figure n° 34:Montage dans le Bain marie (ClichéKechar, 2013)

IV .8.7 Déparaffinage et réhydratation des coupes

Les lames sont numérotées puis placées dans une étuve à 60°C pendant 2 à 3 minutes pour le déparaffinage, après sont plongé dans une cuve contenant du xylène pendant quelques secondes à quelques minutes. Une fois déparaffinées, les échantillons sont ensuite réhydratés dans les bains d'éthanol à degrés décroissant (100%, 95%, 75%) pendant 2 minutes puis rincés à l'eau distillé pendant 10 secondes.

IV .8.8 Colorations

Nous avons utilisé deux colorations pour la mise en évidence des structures histologiques :

- 🚩 **Coloration à l'hématoxyline-éosine :** permet de colorer les noyaux cellulaires en rose.

Nous avons procédé à la coloration à l'aide d'un automate (LEICA) en appliquant la méthode selon les procédés suivants :

1. Trempage des coupes dans un bain marie de hématoxyline Harris pendant 5mn ;
2. Rinçage à l'eau distillée pendant 10 sec ;
3. Trempage des lames dans un bain d'acide chlorydrique pendant 8secondes ;
- 4 .Trempage dans une solution de carbonate de lithium pendant 10 secondes ;
5. Rinçage à l'eau distillée pendant 10 secondes ;
6. Trempage des coupes dans une solution d'alcool 95° pendant 1minute ;
7. Coloration avec l'éosine pendant 10minutes ;
8. Trempage dans deux bains successifs de l'alcool 100°, pendant 2 mn pour chacun ;
9. Trempage dans du xylène pendant 2mn.



Figure n°35:Automate de coloration histologique à hématoxyline-éosine

✚ **La double coloration (vert de méthyle-rouge Congo 1%) :** la coloration par combinaison vert de méthyle-rouge Congo permet de colorer spécifiquement les parois lignifiées en rouge et les parois pecto-cellulosiques en bleu (Srebotnik et Messner, 1994).

• **Protocole expérimentale :**

- 1) Mordançage avec l'acide acétique pendant 10mn.
- 2) Colorer pendant 10mn avec le Rouge Congo (1%).
- 3) Bien rincer les lames avec H₂O stérile (3-4 fois).
- 4) Colorer pendant 10mn avec le vert de Méthyle (1%).
- 5) Bien rincer les lames avec H₂O stérile (3-4 fois).
- 6) Laisser les lames bien sécher.
- 7) Monter avec une goutte d'eau entre lame et lamelle.
- 8) Possible de monter directement avec l'huile à immersion.

IV .8.9 Montage et observation au microscope optique

A la fin de chaque coloration, les lames sont montées dans une goutte d'eukitentre lame et lamelle (Figure36), pour être ensuite observées au microscope optique et on été photographie à l'aide d'un appareil photo numérique.

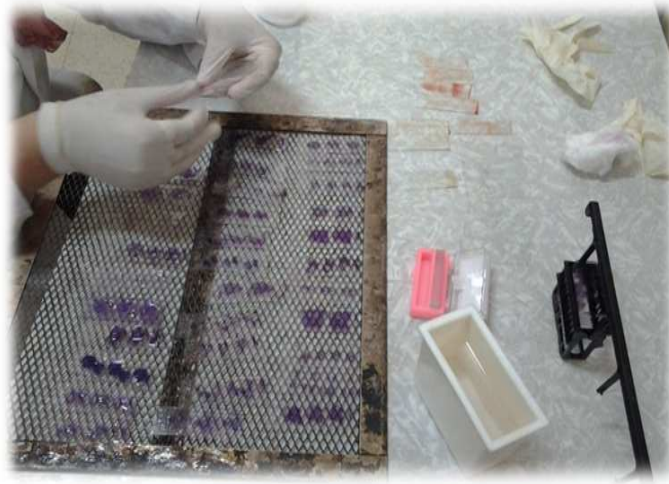


Figure n°36 : Montage des coupes (ClichéKechar, 2013).

Chapitre V : Résultats

V.1 L'enquête ethnobotanique

V.1.1 Caractérisation des enquêtées

➤ **Sexe**

L'enquête a porté sur une population constituée de 500 personnes dans les deux localités, village de Tessala et ville de Sidi B el Abbas, cette population est répartie entre les deux sexes 44% hommes et 56% femmes.

➤ **Classes d'âge**

Les informations obtenues montrent que les personnes les plus âgées ont plus de connaissances de notre espèce par rapport aux autres classes d'âges (Figure 37). Les personnes âgées constituent la principale source d'information à l'échelle locale au sujet de l'usage des plantes en médecine traditionnelle.

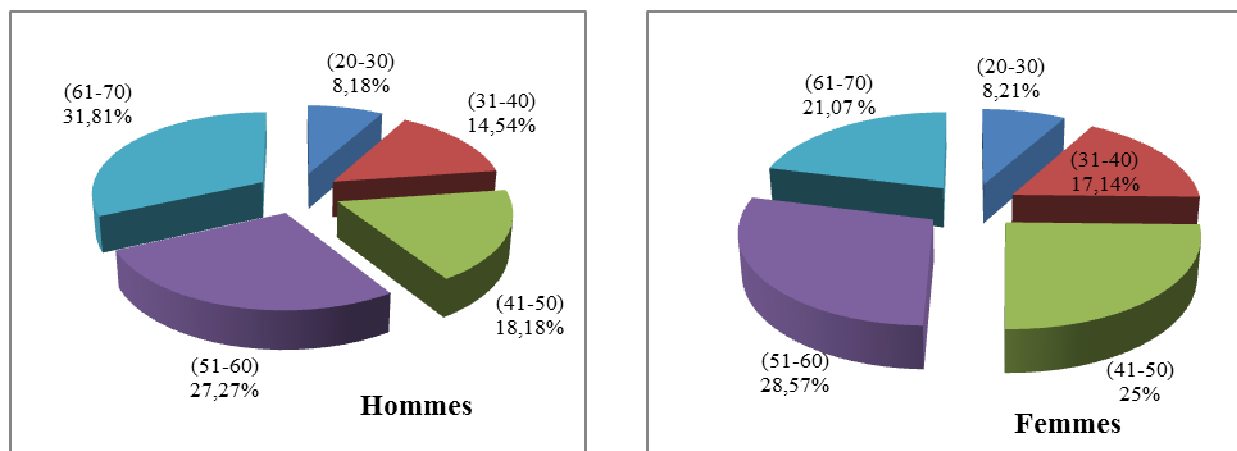


Figure n° 37 : Répartition de la population par classes d'âge

➤ **Niveau de scolarisation**

Le niveau intellectuel de la population choisie dans les deux localités est variable. Selon le recensement général réalisé en 2012 dans la zone d'étude, la grande majorité des usagers de cette espèce sont analphabètes, avec respectivement un pourcentage de 32,72% chez les femmes et 32,14% chez les hommes (Figure 38).

Néanmoins, les personnes ayant le niveau de l'école primaire, moyenne, secondaire et certificat d'étude marquent un pourcentage d'utilisation plus ou moins appréciable alors que les autres utilisent très peu cette plante.

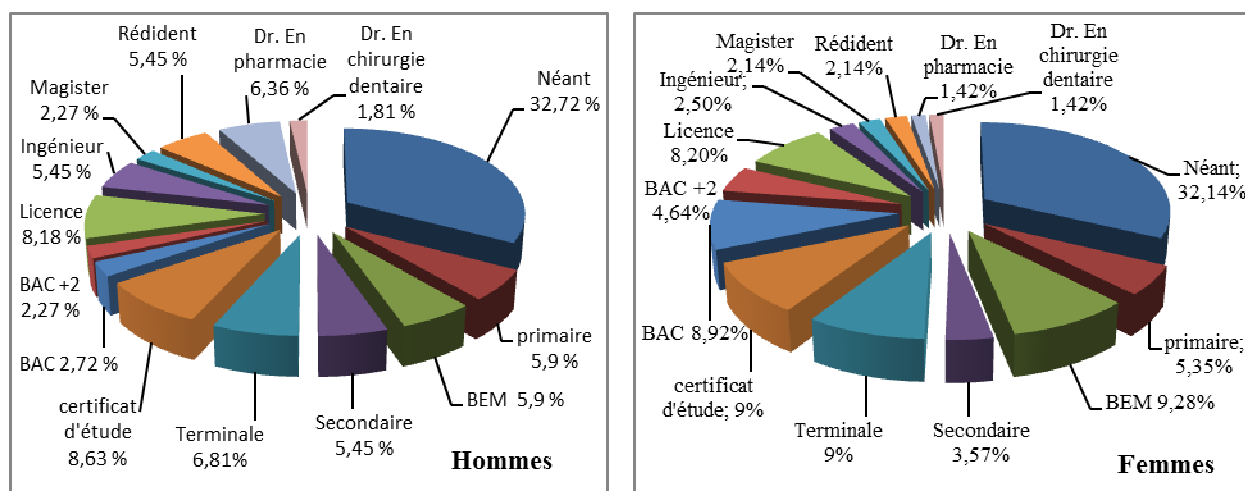


Figure n° 38 : Répartition de la population selon le niveau intellectuel

V.1.2 Utilisation de la plante

V.1.2.1 Utilisation de la plante selon leur vertu

Ballota hirsuta Benth est considérée, en grande partie par les enquêtés dans les deux localités, comme plante médicinale. Elle est aussi considérée comme plante cosmétique par les femmes (Figure 39).

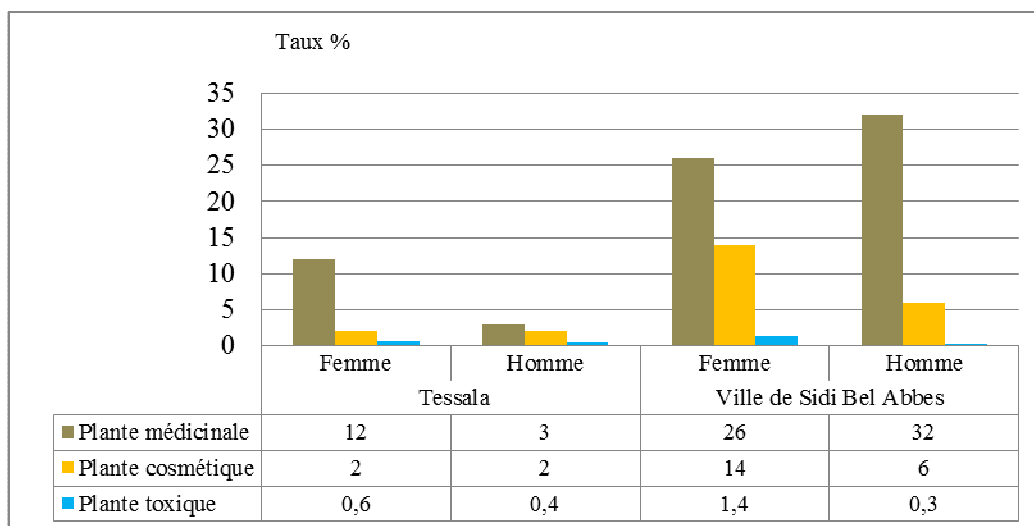


Figure n°39 : Les vertus de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) selon la population enquêtée de la wilaya de Sidi Bel'Abbes

V.1.2.2 Partie utilisées par les individus

Les différents organes de la plante sont utilisés pour traiter les diverses pathologies. Les feuilles sont les plus utilisées par la population interrogée de la ville de Sidi Bel Abbes comptant 36 % de femmes et 27,2 % d'hommes. Elles sont aussi employées par la population de Tessala (7,8% de femmes et 12 % d'hommes). Les fleurs sont beaucoup plus utilisées par rapport aux autres organes par la population féminine (14%) de Tessala (Figure 40).

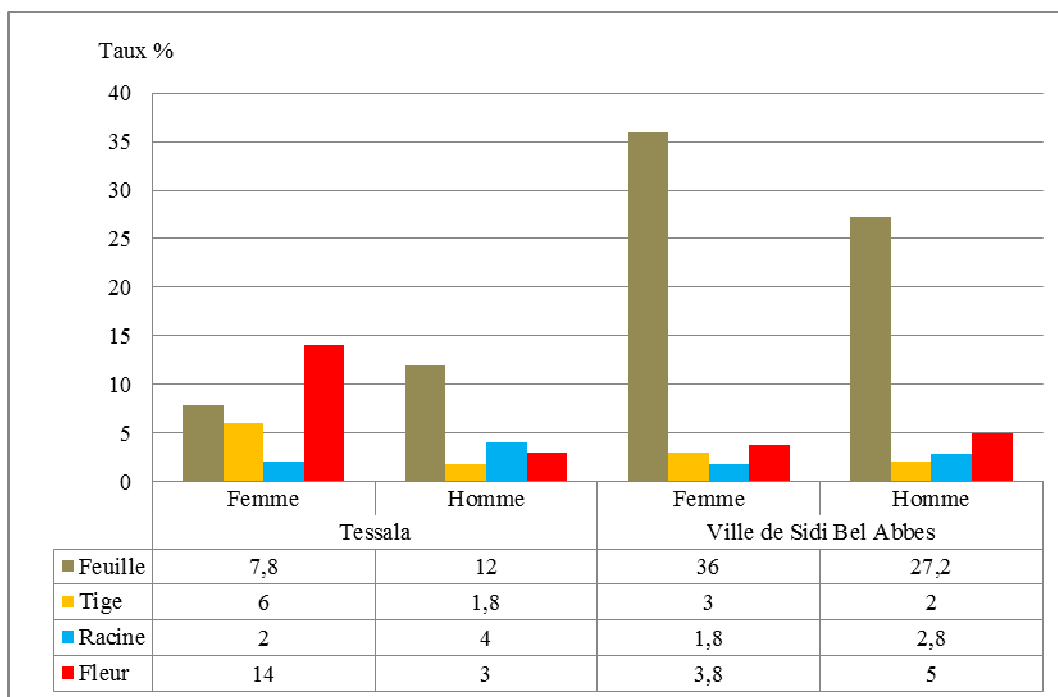


Figure n °40: Les parties utilisées de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) selon la population enquêtée de la wilaya de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale).

V.1.2.3 Mode de préparation de la plante

La plupart des recettes nécessitent au préalable le séchage de la partie concernée de la plante ; tandis que d'autres l'utilisent à l'état frais. Les résultats de l'enquête indiquent que les organes de la plante sont employés sous forme d'une préparation pâteuse (cataplasme), avec une fréquence élevée à Sidi Bel Abbes (20% chez les hommes et 18% chez les femmes) et à Tessala (11% chez les hommes et 10% chez les femmes).

Les préparations, à base de poudre, sont aussi employées à des fréquences variables selon le sexe et la localité (8,4% chez les femmes et 9% chez les hommes de la ville de Sidi Bel Abbas). Les autres modes de préparation de la ballote hirsute sont peu employés par la population autochtone.

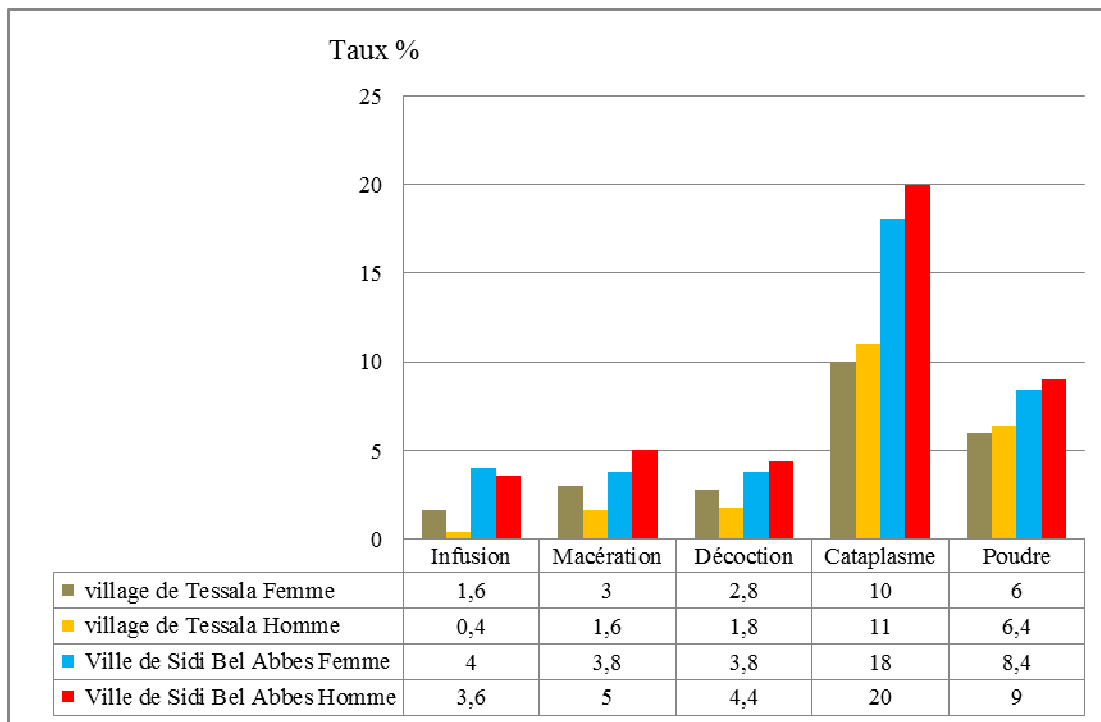


Figure n°41 : Le mode de préparation des parties utilisées de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) à Tessala et à la ville de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale).

V.1.2.4 Maladies traitées par la plante

La ballote hirsute est très prisée par les tradipraticiens comme remède à de nombreuses maladies. Elle est très souvent utilisée pour traiter les lésions sous cutanées (contusion), les douleurs rhumatismales et de guérir diverses plaies. Les fréquences les plus élevées concernent le traitement des contusions (12,4% à 14%). Elles sont relevées chez la population enquêtée de la ville de Sidi Bel Abbas. Le traitement des blessures et des douleurs rhumatismales, par la ballote hirsute, présente respectivement des taux allant de 6,8% à 8,4% et 7,2% à 8% (Figure n°42). La plante étudiée est utilisée par les femmes pour tonifier la peau (5,6% à 8% de la population féminine enquêtée).

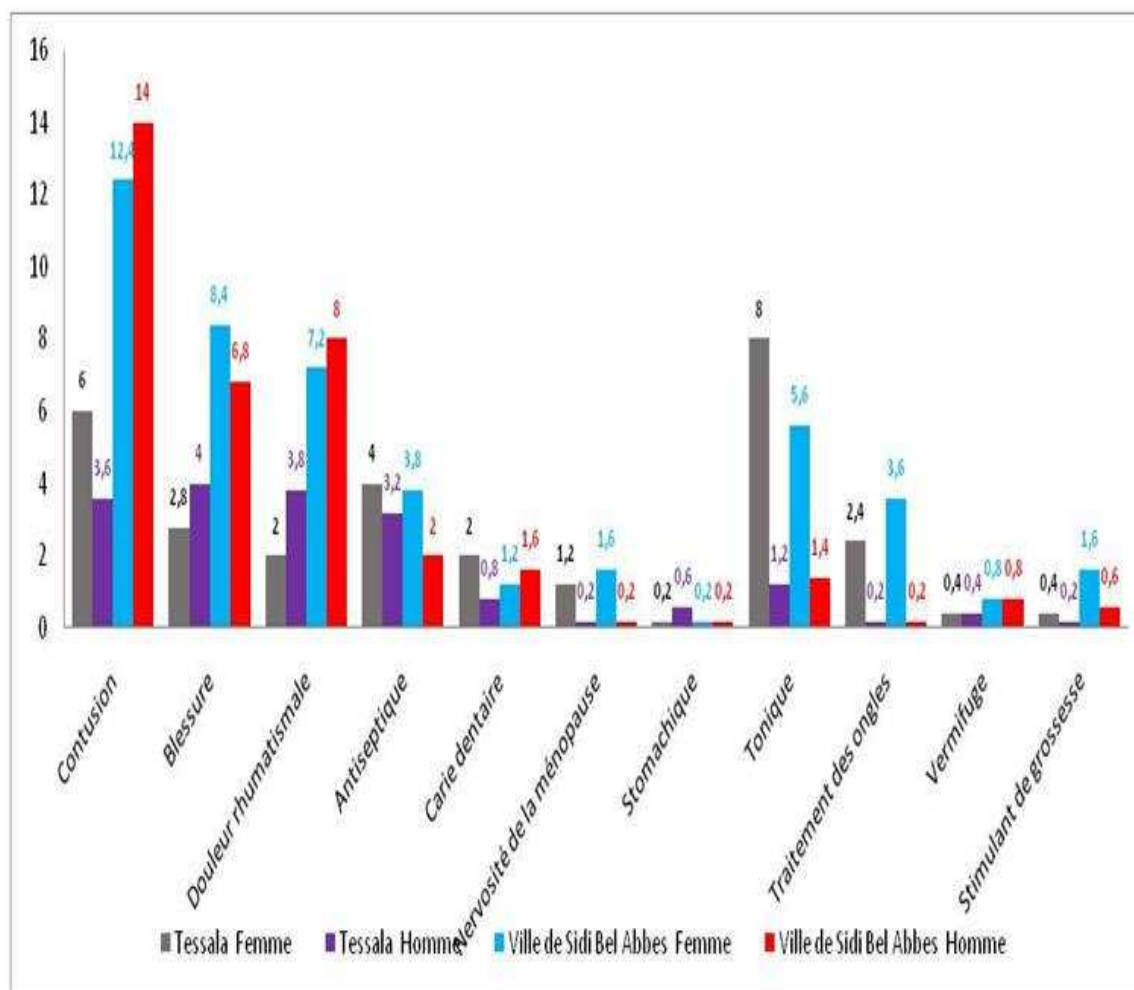


Figure n°42 : Les maladies traitées par la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) selon la population enquêtée dans la wilaya de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale).

L'enquête ethnobotanique dans les zones d'études met en évidence l'usage médical traditionnel de différentes parties de *Ballota hirsuta* benth. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 11

Tableau n°11 : Résultats de l'enquête ethnobotanique menée sur l'utilisation de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth.) selon la population enquêtée dans la wilaya de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale).

<i>Maladies traitées</i>	<i>Parties utilisées</i>	<i>Préparations</i>	<i>Administrations</i>
<i>Contusion</i>	Feuilles, Tiges	Poudre, cataplasme	Application locale
<i>Blessure</i>	Racines, Feuilles	Poudre, cataplasme	Application locale
<i>Douleur rhumatismal</i>	Racines, feuilles	Décoction	Application locale
<i>Antiseptique</i>	Feuilles, Fleurs, tiges	Macération décoction	Bain corporelle
<i>Carie dentaire</i>	Feuilles	Décoction macération	Bain buccale
<i>Nervosité de la ménopause</i>	Feuilles	Infusion, macération	Voie oral
<i>Stomachique</i>	Feuilles	Infusion	Voie orale
<i>Tonique</i>	Fleurs, Feuilles	Macération, décoction	Gommage Bain corporelle
<i>Traitement des angles</i>	Feuilles	Macération, décoction	Application locale
<i>Vermifuge</i>	Feuilles	Infusion	Voie orale
<i>Stimulant de grossesse</i>	Feuilles, tiges	Infusion, poudre	Voie orale

V.1.2.5 Fréquences d'utilisation de la plante par localité et par sexe

Les forts pourcentages de personnes possédant l'information sur la plante étudiée concerne la population enquêtée de la ville de Sidi Bel Abbès. Le taux le plus élevé est observé chez les herboristes (20% chez les hommes et 24% chez les femmes). Il vient ensuite les tradipraticiens avec des taux de 6,8% chez les hommes et 12% chez les femmes. Les personnes enquêtées à l'hôpital universitaire, constituées de patients et de corps médical, ont des connaissances thérapeutiques sur l'espèce étudiée. Les femmes sont plus informées sur la thérapeutique de l'espèce (9,2%) que les hommes (8%). La population enquêtée de Tessala présente des taux inférieurs à celle de la ville de Sidi Bel Abbès (Figure 43).

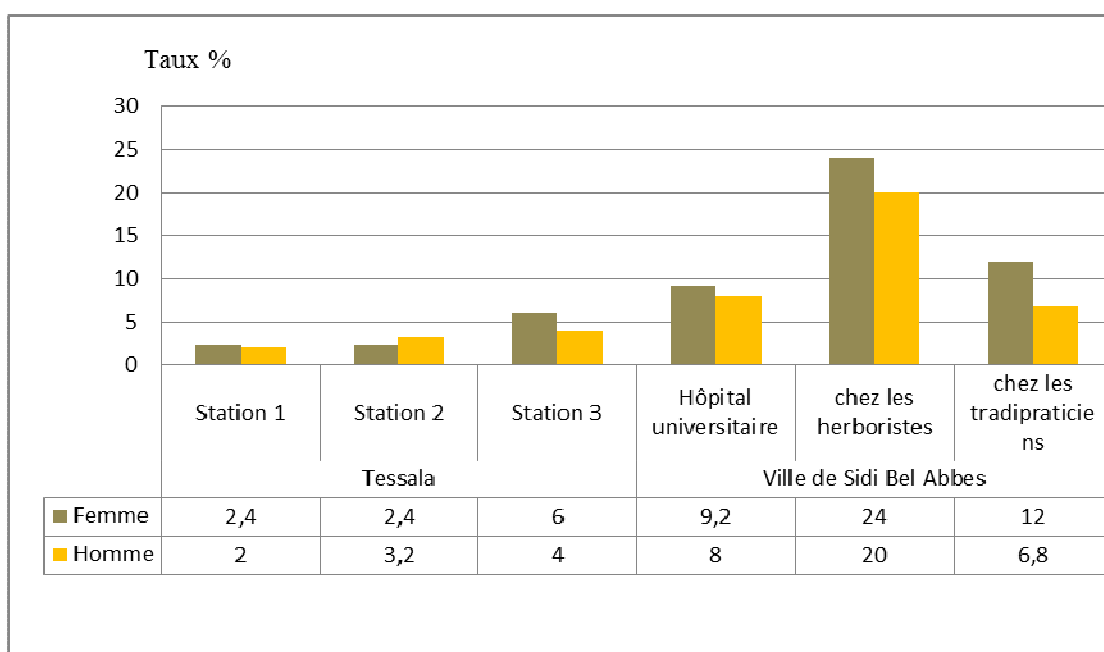


Figure n° 43 : La fréquence d'utilisation de la plante à Tessala et la ville de Sidi Bel Abbès (Algérie occidentale).

V.2 Résultats de la caractérisation de la poudre

Il est bien connu que les caractères physico-chimiques de la matière première traduisent significativement les vertus et les qualités de la plante étudiée.

V.2.1 pH et la teneur en eau

Les résultats obtenus montrent que la poudre des trois organes est caractérisée par un pH acide allant de 5,5 à 6. La feuille est l'organe le plus riche en eau ; environ 70,66±1,15 d'humidité relative. Le taux de la matière organique est inversement proportionnel à la teneur en cendres totale, la valeur de la fraction minérale de la tige est supérieure à celle des feuilles et des racines ; le taux des cendres indique que la plante dispose d'un potentiel d'éléments minéraux important.

V.2.2 Matière grasse

L'extraction de la matière grasse de feuille fournit environ 3,3% (3,3 g/100g de matière sèche) la quantité la plus importante, suivie par celle de la tige et la racine. La valeur enregistrée dans les trois organes reste faible par rapport à d'autres espèces. Les résultats sont regroupés dans le tableau 12

Tableau n°12 : Caractères physico-chimiques de la matière végétale de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

<i>Organe</i>	<i>Feuille</i>	<i>Tige</i>	<i>Racine</i>
<i>Paramètre</i>			
PH à 22C°±	6,66±0,57	5,33 ± 0,57	5,66±1,15
<i>Ecart-type</i>			
Humidités %± Ecart-type	70,66±1,15	64 ,33±1,52	57,33±1,52
<i>Ecart-type</i>			
Matières sèche %±	29,33±1,15	35 ,66±1,52	43,66±1,52
<i>Ecart-type</i>			
Matière organique% ±	90, 33 ± 0,70	73 ±3	82,19± 1,52
<i>Ecart-type</i>			
Cendres %±	9,83 ± 0,75	27±3	16±6,243
<i>Ecart-type</i>			
Matière grasse	3,3±0,25	2,2± 0,22	1,83±0,2
<i>% ± Ecart-type</i>			

V.2.3 Composition minérale

Les résultats de la composition minérale de la poudre, déterminée par spectrophotomètre d'adsorption atomique, est présentée dans le tableau 13. D'après les résultats obtenus on remarque que l'espèce étudiée renferme des valeurs élevées de potassium (K) notamment dans les racines et les tiges. Le magnésium (Mn) a été enregistré dans les feuilles et les tiges avec des valeurs presque identiques, environ 0,553mg/l et 0,538mg/l respectivement; Les racines ne contiennent que très peu de magnésium 0,063mg/l. Concernant le Fer et le Cuivre, des valeurs appréciables sont enregistrées dans les racines avec respectivement 0,548mg/l et 0,353 mg/l. Une faible quantité de Zinc (Zn) est détectée dans les trois organes. Aucune quantité superflue des métaux lourds Nickel (Ni), Cadmium (Cd), Cobalt (Co), Chrome (Cr) et Plomb (Pb) n'a pu être remarquée.

Tableau n °13: Composition minérale de la matière végétale de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale). Teneurs exprimées en mg /l

<i>Minéraux Organe</i>	Fe	Zn	Cu	K	Ni	Cd	Co	Mn	Cr	Pb
<i>Feuille</i>	0,004	0,0633	0,018	0,198	0,030	0,001	0,004	0,553	0,064	0,02
<i>Tige</i>	0,234	0,091	0,024	0,543	0,056	0,006	0,034	0,538	0,056	0,05
<i>Racine</i>	0,548	0,0446	0,353	0,897	0,032	0,000	0,014	0,063	0,061	0,04

V.2.4 Morphologie des poudres

Une quantité de la poudre de la ballote hirsute (feuilles, tiges et racines) est observée sous microscope électronique à balayage (M.E.B). Les éléments prédominants caractérisant la poudre sont relativement irréguliers ; ils forment un agglomérat d'une forme fibreuse complexe (Figures 43, 44 et 45).

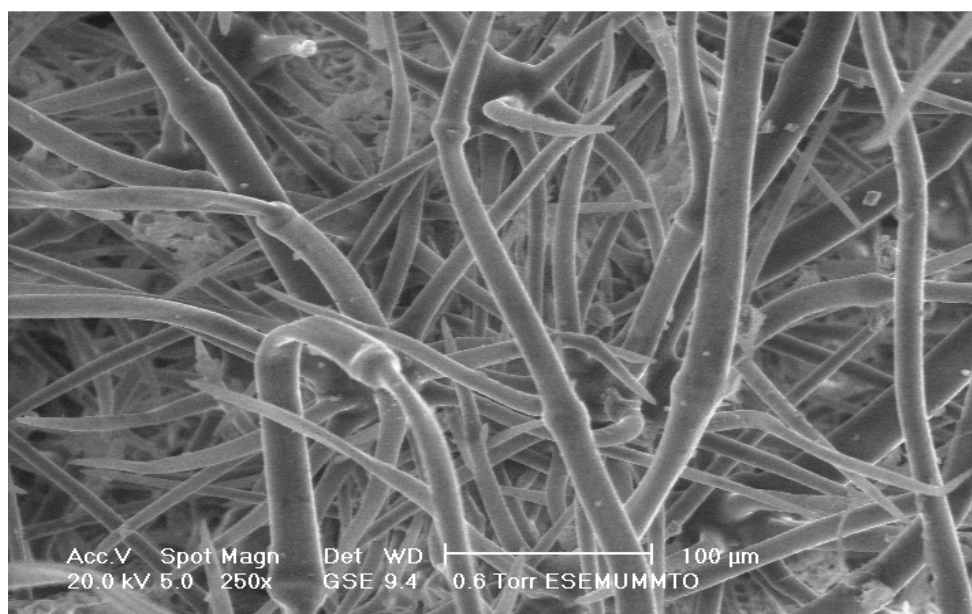
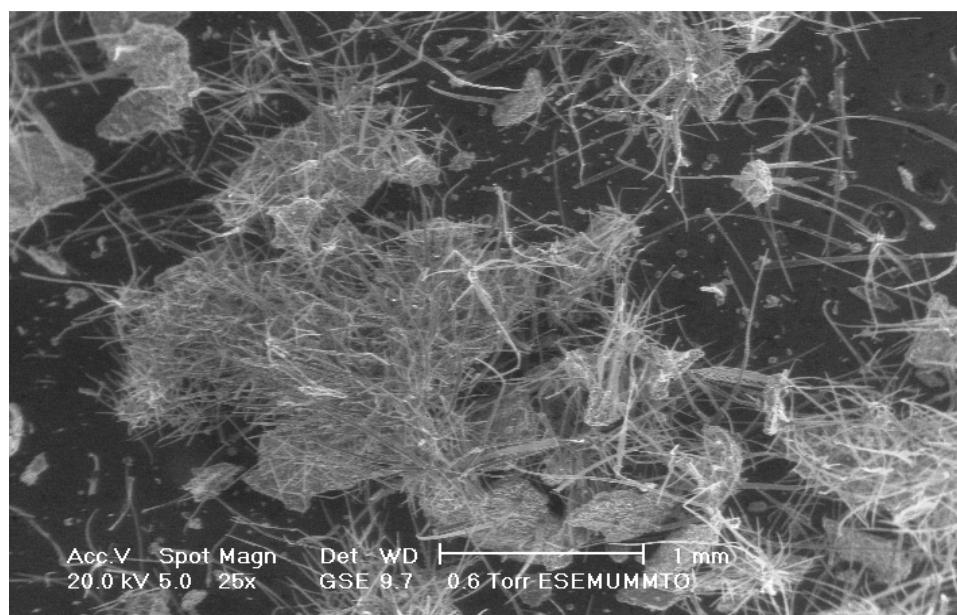


Figure n°44 : Photos prise par microscope électronique à balayage (M.E.B) de la poudre de la feuille de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

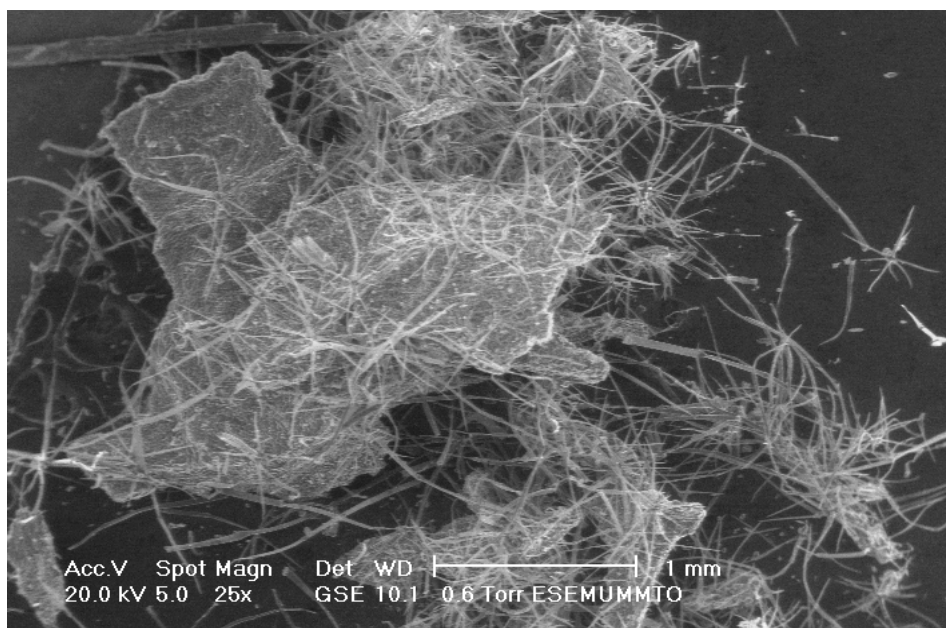


Figure n°45 : Photos prise par microscope électronique à balayage (M.E.B) de la poudre de la tige de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

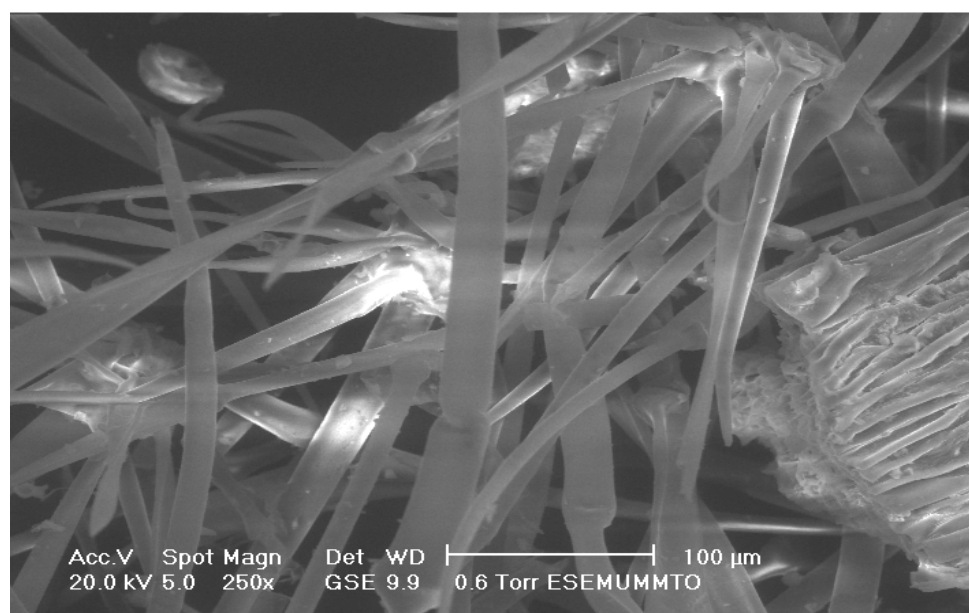
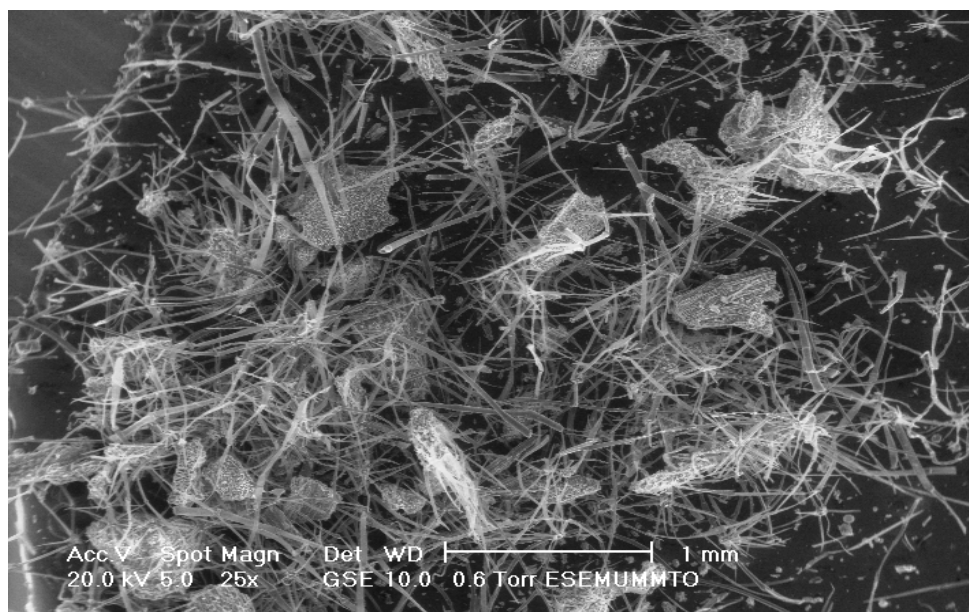


Figure n°46 : Photos prise par microscope électronique à balayage (M.E.B) de la poudre de la racine de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

V.2.5 Infrarouge des poudres

L'Analyse infrarouge d'un échantillon d'origine biologique est une méthode qualitative rapide qui permet de révéler la présence de certains groupements fonctionnelle caractéristique, les empreintes de ces fonctions dans la feuille, la tige et la racine enregistrée dans les figures 47,48 et 49.

- Les spectres des feuilles et des racines montrent une bande caractéristique à 3405 et 2918 cm^{-1} , ces bandes sont attribuées à la structure de groupement hydroxyle OH.
- Les spectres des tiges, des racines indiquent aussi la présence d'une fonction carboxyle C-O localisée à 1735 cm^{-1} approximativement.

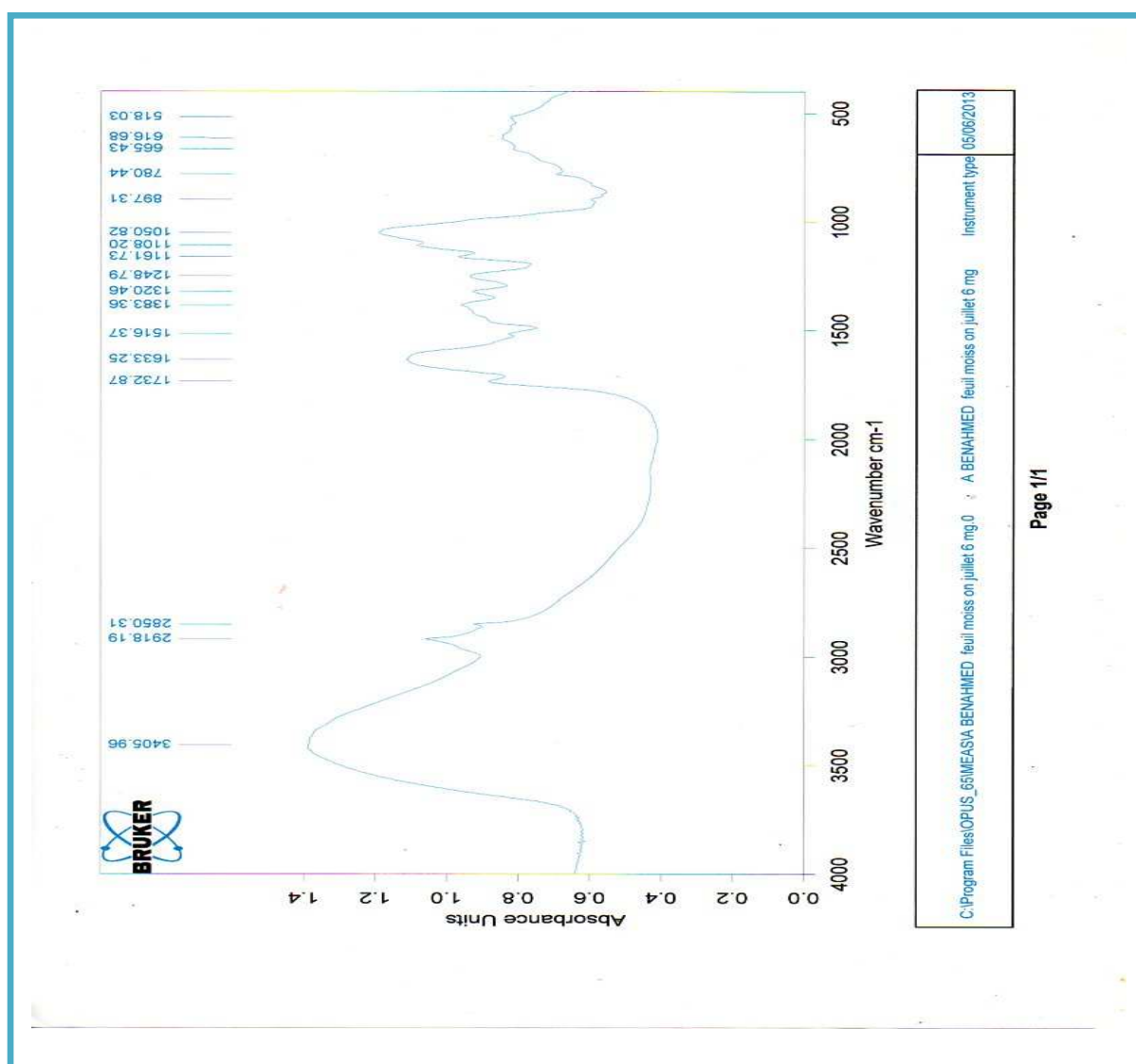


Figure n°47 : Spectre d'absorption d'infrarouge de la feuille de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

- La bande située à 1037 cm^{-1} (tige) et 1108 cm^{-1} (racine) est attribuée à la présence de (C-O-H) alcool primaire, l'alcool secondaire se trouve dans le spectre de feuilles à 1110 cm^{-1} , le spectre de tige caractérise par l'apparition d'un pic à 1161 cm^{-1} cette bande est attribuée à l'alcool tertiaire.
- La poudre de la tige révèle la présence d'une bande localisée à 2919 cm^{-1} et 2350 cm^{-1} ces deux bandes présentent la fonction amino-acide N-H. l'analyse de spectres de feuilles et racines montrent aussi un amide primaire solide localisé à 1633 cm^{-1} et un amide secondaire situé à 1516 cm^{-1} uniquement dans le spectre de racines.

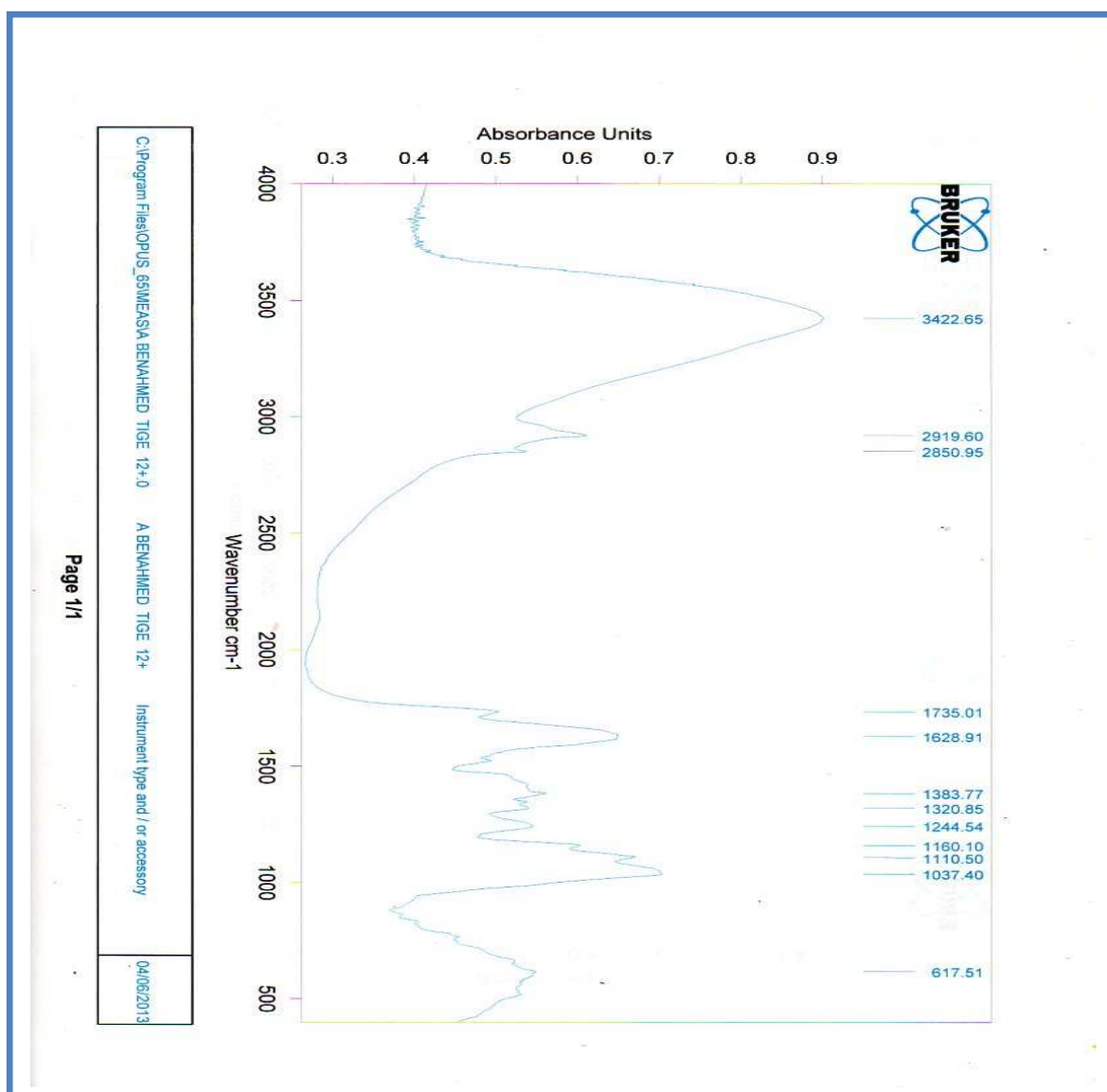


Figure n °48 : Spectre d'absorption d'infrarouge de la tige de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

- Les spectres de feuilles et racines présentent une bande d'absorption située à 780 cm^{-1} cette dernière est attribuée à la fonction C-H et le C-H cycle aromatique¹ est apparue uniquement dans le spectre de feuille à 897 cm^{-1} .
- Les empreintes IR montrent aussi des pics à 1244 cm^{-1} (tiges) et 1240 cm^{-1} (feuilles) représentés par la fonction C-O-C (éther aryl). Cependant les racines contiennent un éther aliphatique attribué à la bande 1050 cm^{-1} .
- L'analyse IR des feuilles révèle l'apparition d'une bande située à 1516 et 1383 cm^{-1} correspondant respectivement aux Benzène et OH phénol.

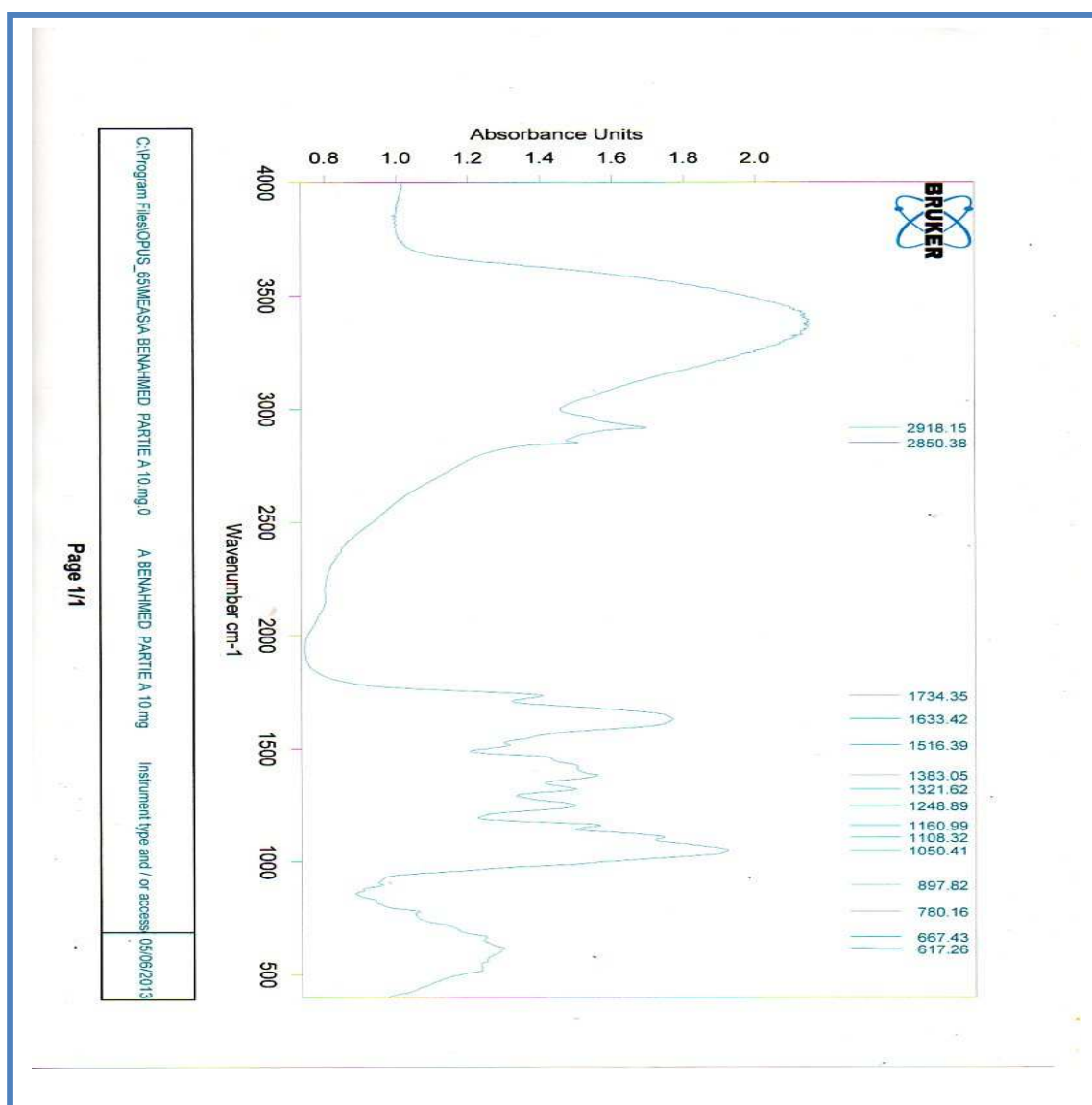


Figure n°49 : Spectre d'absorption d'infrarouge de la racine de la ballote hirsute du mont de Tessala (Algérie occidentale).

V.3 Caractérisation phytochimique

Les résultats de screening phytochimiques sont classés en fonctions de différents critères d'observation. Les flavonoïdes et les tanins sont présents beaucoup plus dans les feuilles, cependant les racines referment une quantité très appréciable en alcaloïdes, mucilages et saponoside. Les résultats sont consignés dans le tableau 14.

Tableau n ° 14: Résultats de screening dans les différentes organes *de Ballota hirsuta* Benth du mont de Tessala (Algérie occidentale).

<i>Organes</i>	<i>Feuille</i>	<i>Tige</i>	<i>Racine</i>
<i>Métabolites</i>			
<i>Anthraquinones</i>	++	+	+
<i>Les saponosides (IM, CM)</i>	150, ++	116, ++	250, +++
<i>Les mucilages</i>	++	++	+++
<i>Les stérols et les diterpène</i>	+++	++	+
<i>Anthocyanes</i>	++	++	0
<i>Les alcaloïdes</i>	++	++	+++
<i>Flavonoïdes</i>	++++	+++	++
<i>Tanins</i>	++++	++	+++

Les résultats sont classés en :

Réaction très positif : +++++

Réaction positif : +++

Réaction moyennement positif : ++

Réaction douteuse : +

Test négatif : 0

IM : Indice de mousse, **CM** : Caractère moussant

V.4 Dosage des métabolites

A l'issu de screening phytochimique on a constaté que les flavonoïdes sont les molécules les plus représentées, d'où l'intérêt de leur dosage et leur extraction.

L'étude est basée sur la détermination quantitative et saisonnière des phénols, des flavonoïdes et des tanins à partir de chaque organe de la plante (feuille, tige et racine). Le dosage s'est appuyé sur une courbe d'étalonnage préalablement préparée. Les résultats sont consignés dans le tableau n °15 et illustrés dans la figure 53. Ils sont comparés par le test de l'analyse de la variance.

Tableau n °15: Concentration moyennes en métabolites des différents organes de la ballote hirsute du mont de Tesssala (Algérie occidentale).

Saison	Printemps			Eté			Automne			Hiver		
	F	T	R	F	T	R	F	T	R	F	T	R
Métabolite												
Polyphénols (mg EAG/g de MV ± écart-type)	92,00 ±1,38	7,99 ±0,57	9,12 ±0,45	97,63 ±0,69	10,27 ±0,46	9,58 ±0,45	130 ±2,00	11,86 ±0,68	14,22 ±0,70	124 ±1,52	11,26 ±0,33	12,40 ±0,57
Flavonoïdes (mg EC /g de la MV ± écart-type)	64,39 ±1,33	3,68 ±0,15	3,41 ±0,25	68,68 ±1,57	3,91 ±0,15	3,30 ±0,20	51,04 ±1,54	4,89 ±0,15	3,44 0,10	56,59 ±1,15	4,76 ±0,2	3,51 ±0,15
Tanins hydrolysables % ± écart-type	0,37 ±0,01	0,11 ±0,01	0,13 ±0,01	0,37 ±0,03	0,06 ±0,01	0,06 ±0,02	0,42 ±0,03	0,04 ±0,02	0,14 ±0,02	0,40 ±0,01	0,06 ±0,01	0,14 ±0,02
Tanins hydrolysables mg/g ± écart-type	0,75 ±0,03	0,23 ±0,03	0,26 ±0,03	0,74 ±0,06	0,12 ±0,03	0,13 ±0,04	0,84 ±0,06	0,08 ±0,05	0,28 ±0,05	0,80 ±0,03	0,13 ±0,03	0,28 ±0,05
Tanins condensés % ± écart-type	0,71 ±0,05	0,11 ±0,01	0,17 ±0,02	0,60 ±0,04	0,09 ±0,005	0,09 0,01	0,51 ±0,06	0,14 0,005	0,09 0,01	0,55 ±0,08	0,08 0,01	0,12 0,005
Tanins condensés mg/g ± écart-type	1,42 ±0,10	0,23 ±0,03	0,35 ±0,05	1,21 ±0,08	0,19 ±0,01	0,18 ±0,02	1,02 ±0,13	0,28 ±0,01	0,18 ±0,02	1,1 ±0,16	0,16 ±0,03	0,23 ±0,03

EAG : équivalence à acide gallique. **EC** : équivalence à la catéchine. **F** : Feuille, **T** : Tige, **R** : Racine

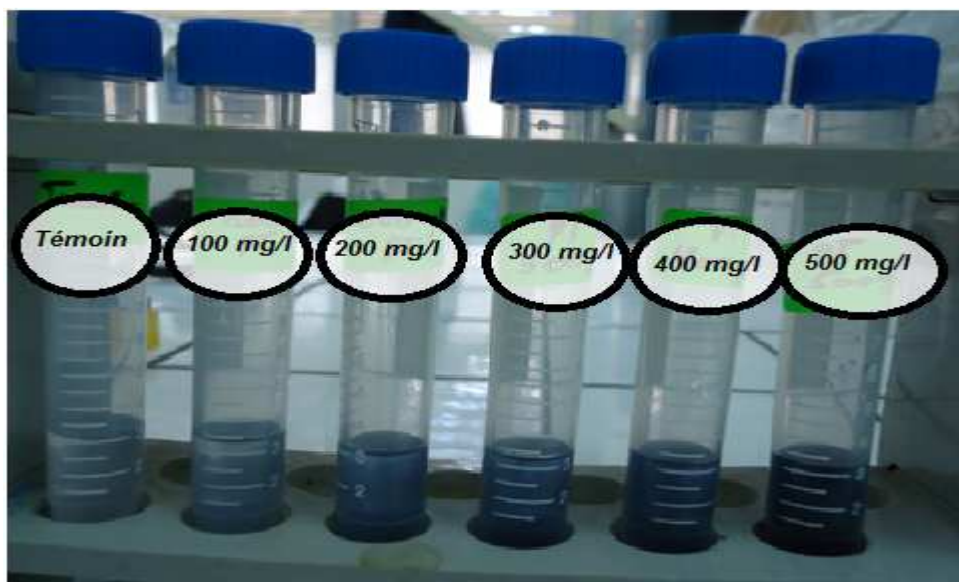


Figure n °50 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique en mg/l

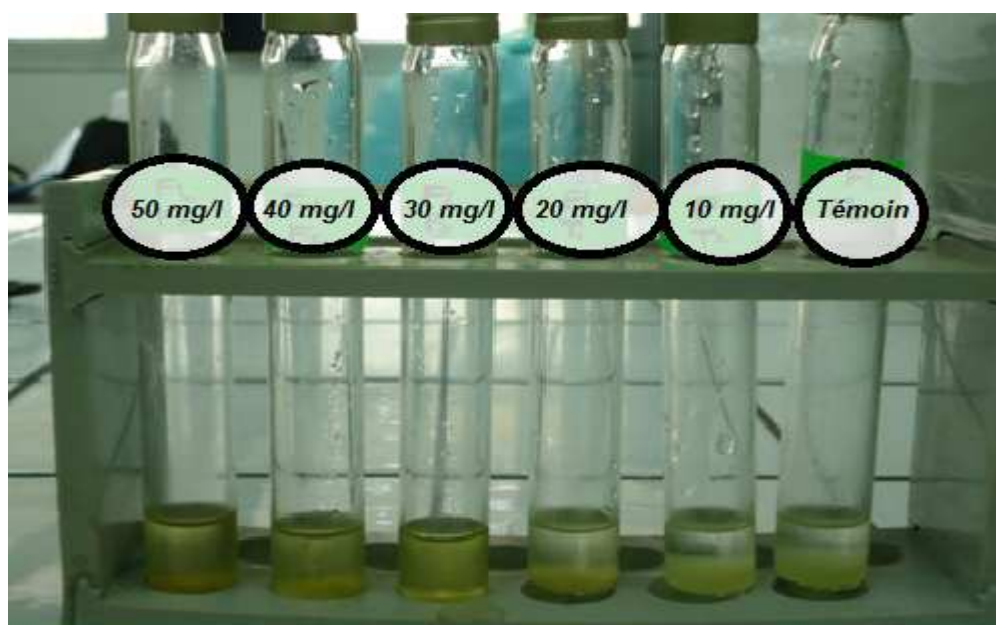
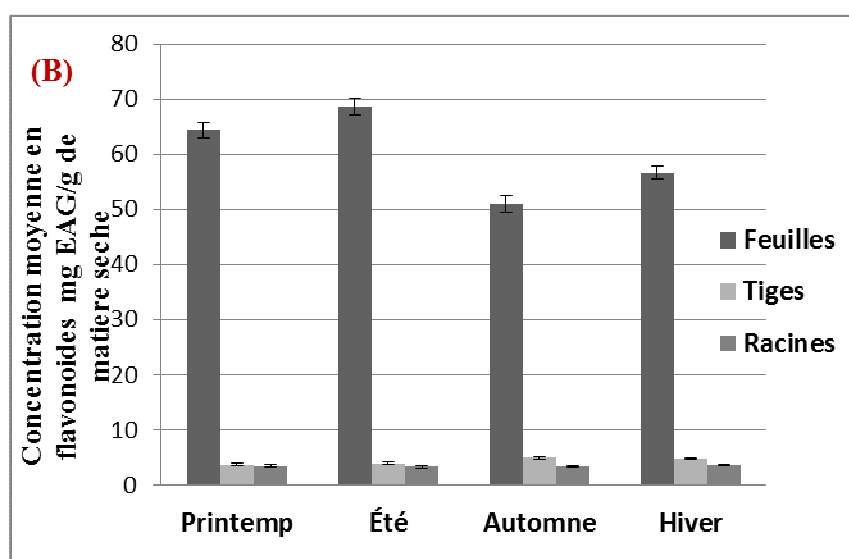
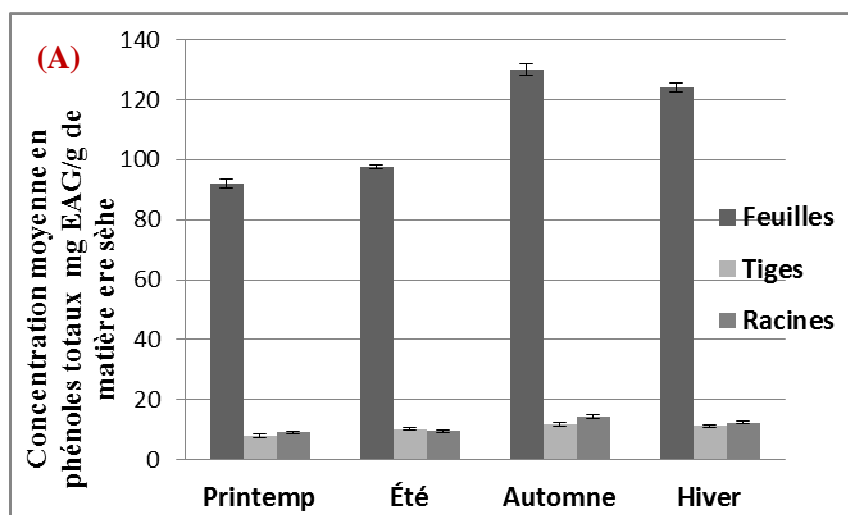


Figure n °51 : Courbe d'étalonnage de la catéchine en mg/l.

- ❖ Les résultats obtenus montrent une variabilité de la teneur en phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins dans les différents organes étudiés quelque soit la saison de prélèvement, et le composé dosé. Les résultats sont confirmés par l'analyse de la variance ($P < 0.05$). Les feuilles refferment des teneurs très importantes en métabolites. Les valeurs de composés phénoliques enregistrées dans les tiges et les racines sont très proches durant toutes les saisons.
- ❖ La différence de la concentration en polyphénoles est significative ($P < 0.05$) d'une saison à une autre. Les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et les tanins condensés sont enregistrées dans les feuilles d'été et de printemps ; par contre les concentrations moyennes les plus importantes en phénols totaux et les tanins hydrolysables sont enregistrés en automne et en hiver (Figure 52).



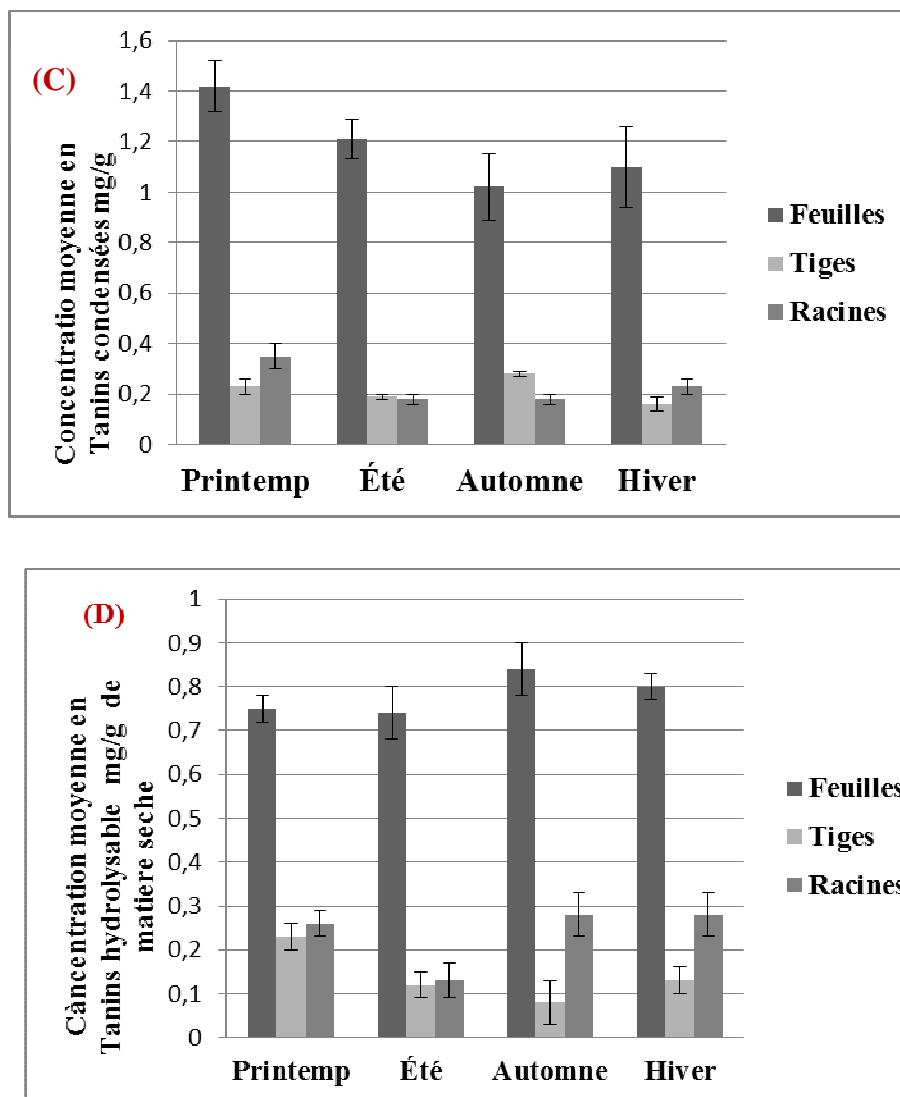


Figure n°52 : Concentrations moyennes des composés phénoliques de *Ballota hirsuta* du mont de Tessala (Algérie occidentale).

V.4.1 Analyses statistiques :

La concentration moyenne de chaque polyphénol est exprimée sur la base de la moyenne de trois mesures \pm l'écart type. L'analyse de la variance à un critère de classification (**ANOVA 1**) est utilisée pour comparer la quantité des composés phénoliques dosés à partir des organes de la plante étudiée (feuilles, tiges et racines de la même saison). La comparaison est aussi effectuée par saison sur les concentrations en polyphénols du même organe. L'application d'une analyse en composantes principales (**ACP**) aux données a permis de distinguer les ressemblances entre les individus (les organes végétaux dans les quatre saisons). Les résultats sont confirmés par la classification hiérarchique ascendante (**CHA**).

V.4.2 Analyse en composantes principales (ACP)

On considère les individus comme étant les organes (feuilles tiges, racines) sur les quels sont effectué les dosages ; ces individus au nombre douze (trois individus pour chaque saison) prélevés durant les quatre saisons. Sur le plan factoriel F1xF2 on a obtenu un résumé suffisamment précis de l'information contribué aux variables.

- L'axe F2 2,87% permet de distinguer deux groupes Gr1 et Gr2. Le groupe Gr1 formé par les organes les plus riches en polyphénols, quelques soit la saison de récolte ou bien le métabolite dosé, Il s'agit des feuilles de printemps (Fprin), feuilles d'été (Fété), feuilles d'automne (Faut), feuilles d'hiver (Fhiv) Le groupe Gr2 formé par les organes pauvres en métabolite dosée constitué par les tiges et les racines de quatre saisons, tiges de printemps (Tprin), tiges d'été (Tété), tiges d'automne (Taut), tiges d'hiver (Thiv), racines printemp (Rprin), racines d'été (Rété), racines d'automne (Raut), racines d'hiver (Rhiv).
- L'axe F1 97,13% deux sous groupes s'individualisent le premier formé par les feuilles d'automne, d'hiver et le deuxième rassemble les feuilles de printemps (début de floraison) et d'été (plaine floraison) (Figure 53)

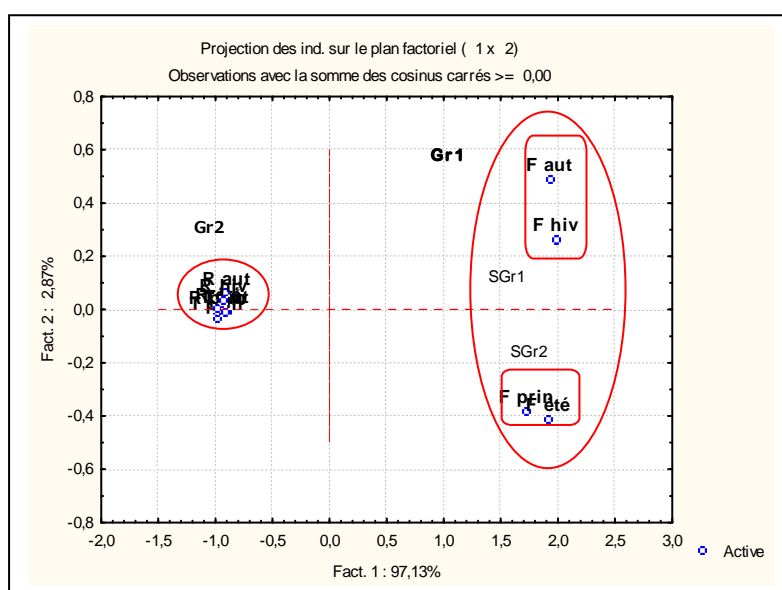


Figure n ° 53: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F2)

Faut : Feuilles d'automne, **Fhiv** : Feuilles d'hiver, **Fprin** : Feuilles printemps, **Fété** : Feuilles d'été, **Taut**: Tiges d'automne, **Thiv** : Tiges d'hiver, **Tprin** : Tiges printemps, **Tété** : Tiges d'été, **Raut**: Racines d'automnes, **Rhiv** : Racines d'hiver, **Rprin** : printemps, **Rété** : Racines d'été.

V.4.3 Classification ascendante hiérarchique (C.A.H)

La classification ascendante hiérarchique est une méthode de classification itérative dont l'objectif est de retirer l'information concernant les nœuds successifs, Ces regroupements successifs produisent un arbre binaire de classification (dendrogramme), dont la racine correspond à la classe regroupant l'ensemble des individus. Ce dendrogramme représente une hiérarchie de partition qui permet de visualiser le regroupement progressif des données.

- Le premier niveau d'agrégation montre deux groupes l'un est formé par les feuilles de quatre saisons (organes riche en polyphénols) et l'autre regroupe les tiges et les racines de tous les saisons (les organes les plus pauvre en polyphénols).
- Le deuxième niveau apparait des sous-groupes formés par les feuilles d'automne, d'hiver et les feuilles de printemps (début de floraison) et d'été (plaine floraison). Les résultats de CAH confirment ce qui a été rapporté par l'analyse en composantes principales (ACP).

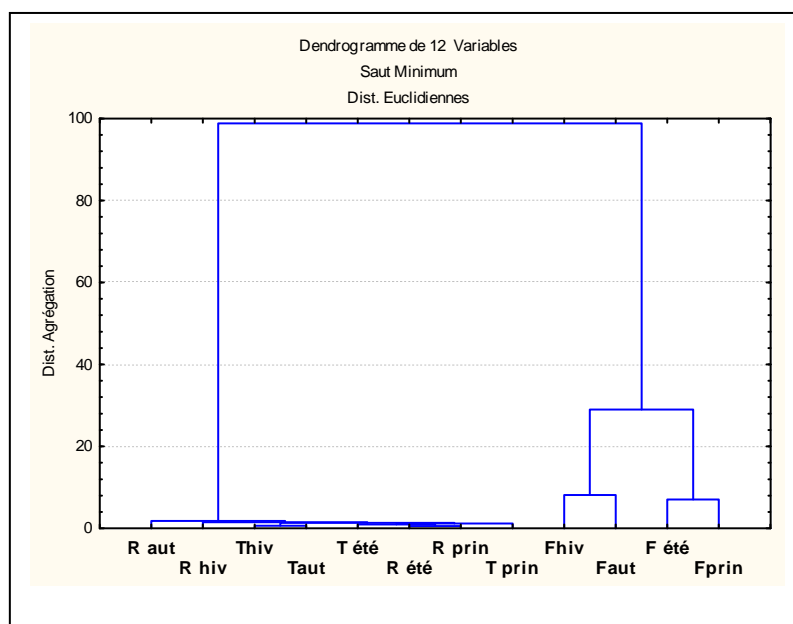


Figure n °54 : Dendrogramme de la C.H.A issue de l'analyse quantitative de métabolites

Faut : Feuilles d'automne, **Fhiv** : Feuilles d'hiver, **Fprin** : Feuilles printemps, **Fété** : Feuilles d'été, **Taut**: Tiges d'automne, **Thiv** : Tiges d'hiver, **Tprin** : Tiges printemps, **Tété** : Tiges d'été, **Raut**: Racines d'automnes, **Rhiv** : Racines d'hiver, **Rprin** : printemps, **Rété** : Racines d'été.

V.5 Rendement des flavonoïdes

Les extraits flavonoïques obtenus présentent un aspect liquide de différentes couleurs : vert foncé, vert clair, vert jaunâtre, marron foncé, (F Aq) représente le poids le plus élevé de la matière sèche des feuilles, suivi (Fn-BuOH), (F AcOEt) et (F- ChCl₃) (Figure 55).

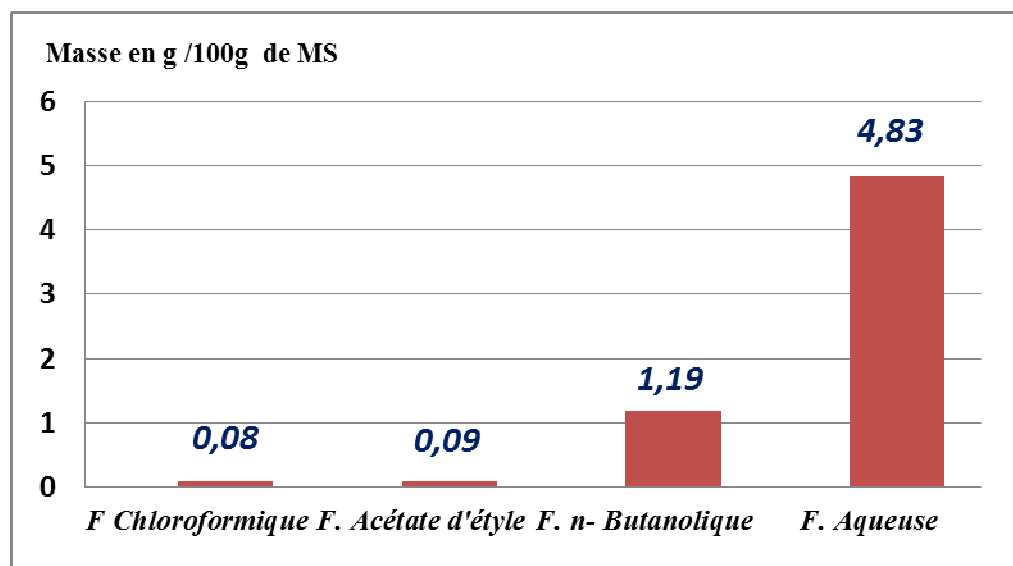


Figure n°55 : Rendement des extraits

V.5.1 Chromatographie analytique sur couche mince :

- **Système de solvant 1** : Acétate d'éthyle, acide formique eau distillée 65: 15 : 20; (v/v/v/v)

Les différentes taches de produits présents sur les chromatogrammes sont délimitées. Les couleurs des spots et leurs R_f observés sous UV, ont permis de révéler la présence des composés flavonoïques (Figure 56).

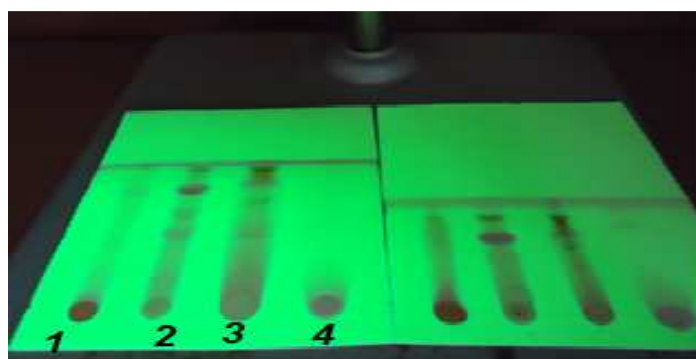


Figure n°56 : CCM analytique représentative des flavonoïdes de *Ballota hirsuta* dans le système solvant 1, 1 : Fraction n-BuOH, 2 : Fraction (AcOEt), 3 : Fraction ChCl₃, 4 : Fraction (Aq)

Dans ce système de solvant, on a constaté que le nombre de taches dans la fraction d'acétate d'éthyle atteint six spots alors que dans la fraction chloroformique est de l'ordre de quatre. Tandis que celle de la fraction butanolique une seule tache est apparue, aucun spot n'est observé dans la fraction aqueuse (Tableau 16).

Tableau n°16: Comportement chromatographique des flavonoïdes dans le système solvant 1

Fraction n- butanol		Fraction chloroformique		Fraction acétate d'éthyle		Fraction aqueuse	
Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm
Brun	0,79	Vert	0,2	Marron	0,1	–	–
–	–	Brun +++	0,54	Brun	0,33	–	–
–	–	Brun	0,67	Vert	0,43	–	–
–	–	Violet+++	0,89	Violet	0,51	–	–
–	–	–		Jaune	0,88	–	–

➤ **Système de solvant 2** Acétate d'éthyle, MeOH, H₂O 100/13.5/10 (v/v/v/v)

Après la révélation sous lampe UV à 365nm, les Rf des différents extraits flavonoïques sont comparés avec ceux des témoins utilisés dans les mêmes conditions opératoire (Tableau 17).

Tableau n° 17 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des témoins par le système solvant 2

Témoins	Rf	Couleur	La présence de témoin
Rutine	0,05	Violet	Fraction acétate
Catéchine	0,09	Violet	Fraction chloroformique
Quercétine	0,42	Jaune	Fraction acétate

Le système de solvant 2 a permis de séparer plusieurs constituants et mettre en évidence d'autres composés flavonoïques, où on a constaté que dans le nombre de taches dans la fraction d'acétate d'éthyle atteint six spots alors que dans la fraction chloroformique il est de l'ordre de six. Tandis que celle de la fraction butanolique et la fraction aqueuse une seule tache a été apparue. En comparaison avec les témoins testés nous avons pu identifier 3 composés appartenant à la classe des Flavonols, Rutine et Quercétine dans la fraction acétate et Catéchine dans la fraction chloroformique (Tableau 18)

Tableau n°18: Comportement chromatographique dans le système solvant 2

Fraction n- butanol		Fraction chroformique		Fraction acétate d'éthyle		Fraction aqueuse	
Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	Rf cm
Marron	0,88	Violet++	0,0 9	Violet	0,05	Jaune pale	0,82
		Vert	0,2	Jaune+	0,1		
		Marron	0,32	Brun	0,35		
		Jaune	0,76	Jaune	0,42		
		Violet	0,86	vert	0,66		
		Marron++	0,91	Violet++	0,88		

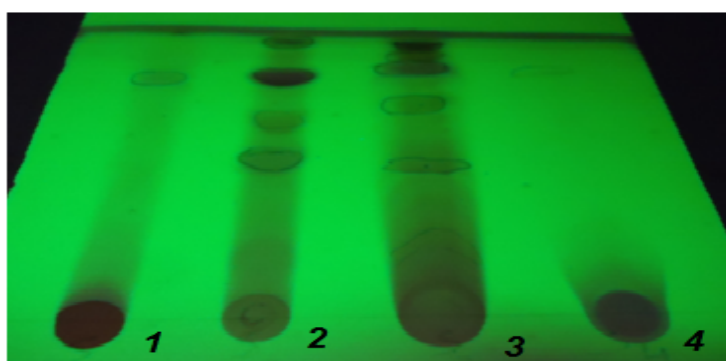


Figure n°57 : CCM analytique représentative des flavonoïdes de *Ballota hirsuta* sur plaque de silice développée dans le système solvant 2

1 : Fraction n-BuOH , 2 : Fraction (AcOEt), 3 : Fraction ChCl₃, 4 : Fraction (Aq)

- **Système de solvant 3** : Acétate d'éthyle, acide formique, acide acétique, H₂O
100/11/11/27 ; (v /v/v/v).

Nous avons pu observer dans la fraction d'acétate d'éthyle, la fraction chloroformique et la fraction n-BuOH deux taches. Tandis que celle de la fraction aqueuse trois taches sont apparues (Figure 58).

Tableau n °19 : Comportement chromatographique dans le système solvant 3

Fraction n- butanol		Fraction Chroformique		Fraction acétate d'éthyle		Fraction aqueuse	
Spot coloré sous UV à 365 nm	RF cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	RF cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	RF cm	Spot coloré sous UV à 365 nm	RF cm
Brun	0,78	marron	0,71	Marron+++	0,77	Brun	0,21
Mauve	0,91	mauve	0,87	mauve	0,93	Marron	0,34
–	–	–	–	–	–	Marron++	0,43
–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–

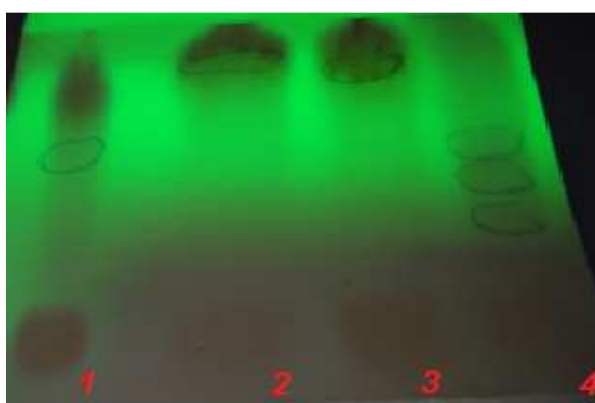


Figure n°58 : CCM analytique représentative des flavonoïdes de *Ballota hirsuta* développée dans le système solvant 3

1 : Fraction n-BuOH , 2 : Fraction (AcOEt), 3 : Fraction ChCl₃, 4 : Fraction (Aq)

V.5.2 Analyse quantitative par HPLC

La colonne utilisée pour séparer les composés phénoliques est exclusivement à phase inverse. Ce système est une haute technique de résolution chromatographique largement répandue, pour la séparation et la quantification des substances phénoliques. Les chromatogrammes d'HPLC des standards et des différents extraits sont représentés ci-dessous (Figures 59 et 60).

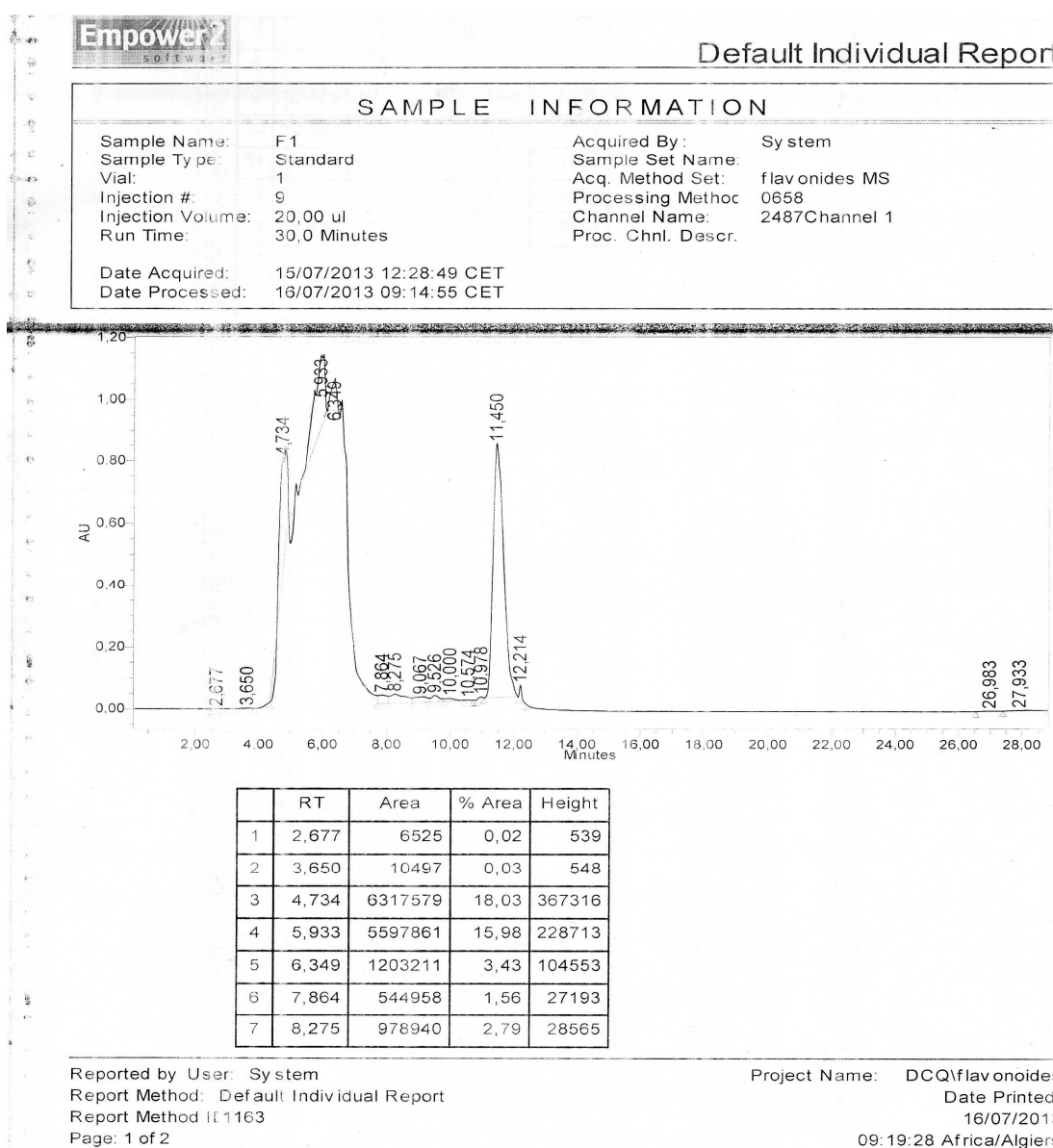


Figure n° 59: HPLC de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles de *Ballota hirsuta Benth* du mont de Tessala (Algérie occidentale).

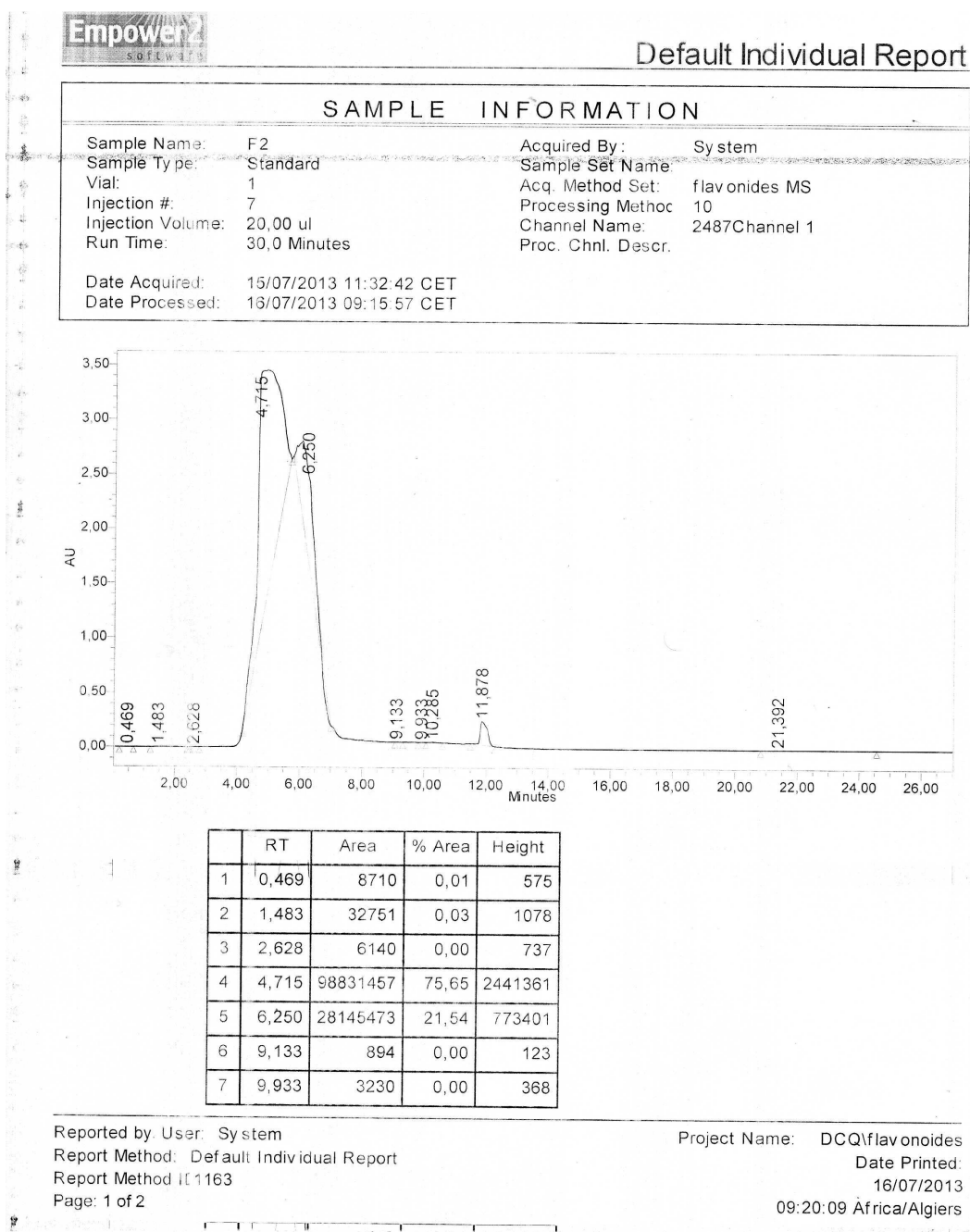


Figure n °60 : HPLC de l'extrait n-BuOH des feuilles de *Ballota hirsuta Benth* du mont de Tessala (Algérie occidentale).

V.5.3 La lecture des profils chromatographiques

Les spectres HPLC et le temps de rétentions des standards ont été fourni par SAYDAL. La comparaison des temps de rétention (Tableau 20) des standards avec ceux enregistrés dans les deux extraits (Tableau 21), permet l'identification probable de certains flavonoïdes dans ces extraits.

Tableau 20: Temps de rétention des flavonoïdes standard

Molécules	Naringine	Sylibine	Taxifoline
Temps de rétention (min)	6,2	8,2	7,8

Les résultats montrent la présence de la Naringine dans la F-AcOEt et Fn-BuOH. Cependant ces analyses chromatographiques révèlent la présence de Sylibine et Taxifoline dans la fraction acétate.

Tableau 21 : Temps de rétention des flavonoïdes présents dans les extraits

Temps de rétention (min)		Le flavonoïde probable
F-AcOEt	Fn-BuOH	
2,6	0,4	–
3,6	1	–
4,7	2	–
6,2	4	Présence de la Naringine dans la F-AcOEt
6,3	6,2	Présence de la Naringine dans la Fn-BuOH
7,8	9	Présence de la Taxifoline dans la F-AcOEt
8,2		Présence de la Sylibine dans la F-AcOEt

V.6 Activité anti oxydantes

V.6.1 Pouvoir réducteur

Cette activité est évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Les résultats figurant dans les tableaux et les figures ci-après illustrent les pourcentages de l'activité antiradicalaire des principaux extraits de *Ballota hirsuta* Benth.

L'absorbance du DPPH mesuré à 515nm, montre une chute rapide de cette dernière dans un intervalle réduit de la dose des l'extraits, ce qui est bien lisible dans la figure ci-dessous.

Ces courbes montrent la réduction de l'absorbance en présence des antioxydants naturels à des concentrations différentes, la réduction du DPPH devient considérable jusqu'à un seuil de concentration élevé.

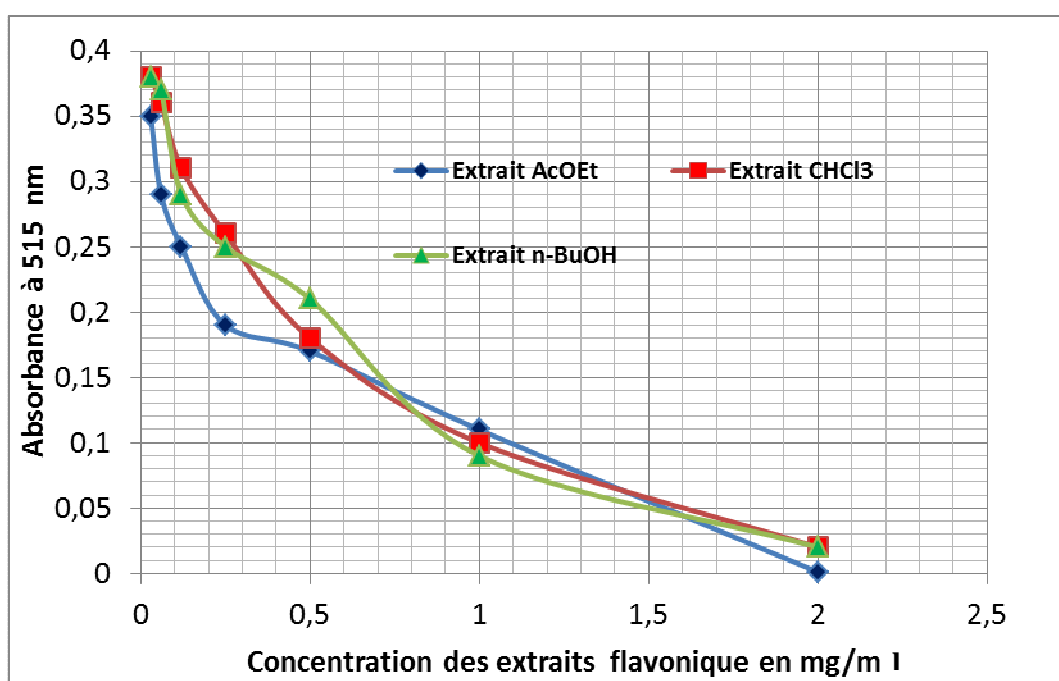


Figure n°61: Pouvoir réducteur des trois extraits

V.6.2 Pourcentage d'inhibition

Les résultats des activités anti radicalaire des extraits analysés montrent que le pourcentage d'inhibition des extraits de la ballote hirsute est supérieur à 90% à des concentrations de l'ordre de 2 mg/ml pour tous les extraits (Figure 62).

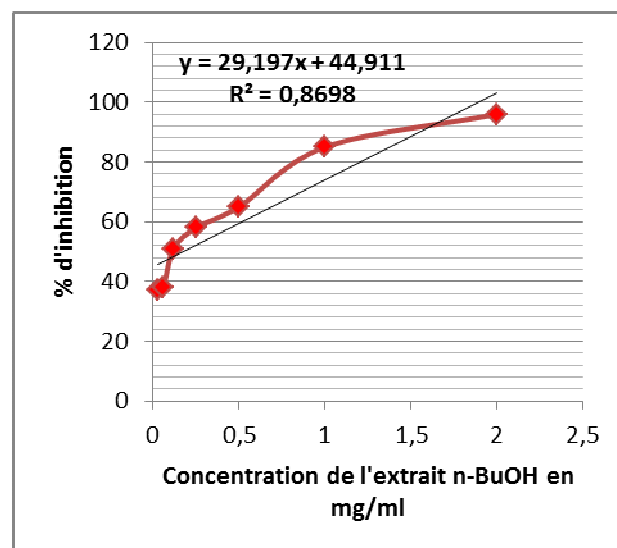
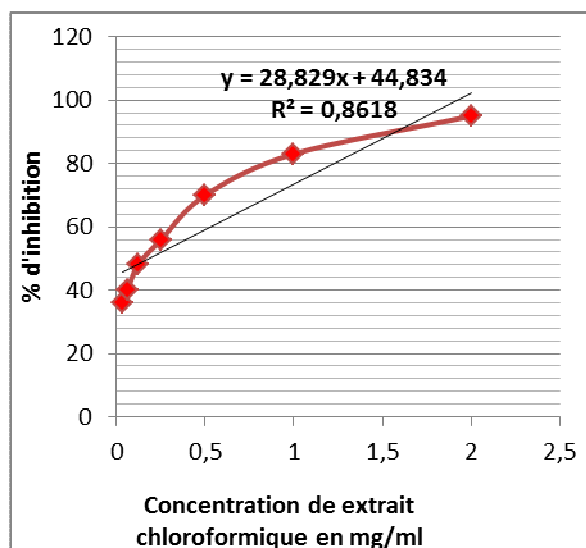
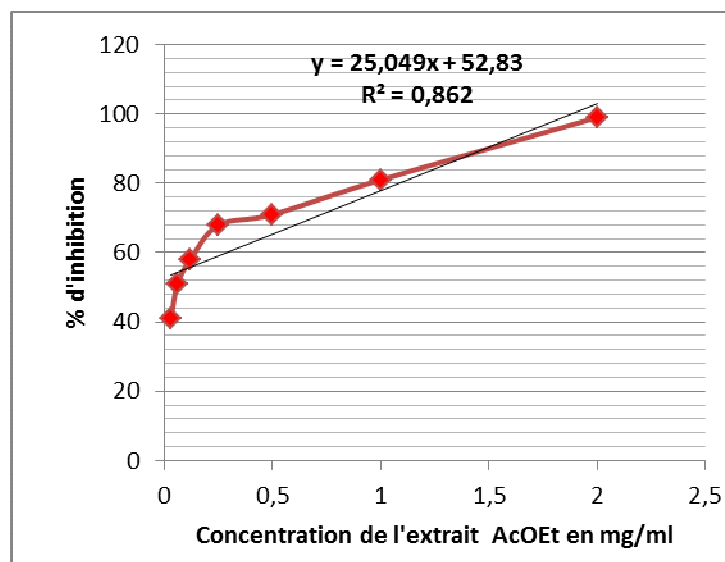


Figure n°62 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits flavonoïques

V.6.3 Concentration inhibition de 50% (IC 50)

Pour mieux comprendre le pouvoir antioxydant de nos extraits, on a déterminé la valeur de IC50 mg /ml qui est défini comme étant la concentration de l'extrait nécessaire pour piéger 50% de radical DPPH. Les valeurs d'IC50 de différents extraits chloroformique, acétatique et n-butanolique sont illustrées dans la figure 63.

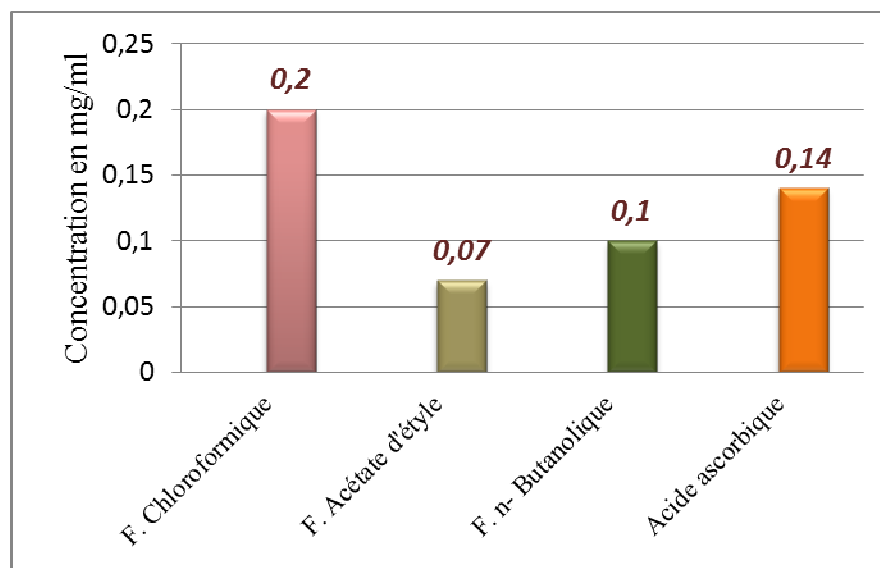


Figure n° 63: Valeurs des IC 50 des différents extraits

En résumé, le pouvoir antiradicalaire des extraits peut être classé comme suit :

Fraction d'acétate d'éthyle > fraction n-butanol > fraction chloroformique.

Parmi Les différentes fractions obtenues, La fraction d'acétate d'éthyle représente l'extrait le plus actif, son IC50 est de 0,07 mg/ml, suivi de l'extrait Fn-BuOH avec une IC50 de l'ordre de 0,1mg/ml. Par contre, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par l'extrait F-chloroformique avec un IC50 de l'ordre de 0,2 mg/ml. En comparaison avec l'acide ascorbique, les deux fractions n-BuOH et FAcOEt s'avèrent plus actifs.

V.7 Pouvoir antibactérien

V.7.1 Extraits flavonoïques

Il s'agit de la mise en application d'un test appelé aromatoigramme qui permet d'illustrer le pouvoir inhibiteur sur la prolifération bactérienne autour des disques contenant les produits flavonoïques à tester vis-à-vis de trois germes. Après ce test et l'incubation pendant 24h, on a obtenu les résultats suivants :

Tableau n °22 : Spectre antibactérien de la fraction n-BuOH)

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) ±écart type			
	les dilutions de la fraction n-BuOH			
	1 / 2	1 / 4	1 / 8	1 / 16
<i>Escherichia coli ATCC</i>	12,66 ±0,47	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC</i>	10,33 ±1,64	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	33,33 ±0,49	22 ±0,57	12 ±1	-

(Diamètre <6 mm) résistant, Diamètre du disque est inclus, - : Inhibition

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches, de la concentration, type de l'extrait testé. Ainsi *Staphylococcus aureus (ATCC)* se montre très sensible aux dilutions de la fraction n-BuOH en présentant des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de 33,33 ±0,49, 22 ±0,57, 12 ±1 mm. Cependant *Escherichia coli (ATCC)*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC* présentent une faible sensibilité, sauf que cette activité est apparue à la concentration la plus élevée avec des diamètres de zones d'inhibition respectivement 12,66 ±0,47 ; 10,33 ±1,64 mm.

Les tableaux ci-dessous illustrent les résultats de l'activité inhibitrice des extraits flavonoïques de la fraction chloroformique de *Ballota hirsuta* Benth vis-à-vis de trois germes testés.

Tableau n°23 : Spectre antibactérien de la fraction chloroformique présence de différentes concentrations.

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) ±écart type			
	les dilutions de la fraction chloroformique			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	22±2,08	15,33±0,57	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	16±1,15	10±1,15	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	28±1	23±0,57	17±0,57	-

(Diamètre <6 mm) résistant, Diamètre du disque est inclus, - : Inhibition

Staphylococcus aureus ATCC s'avère très sensible aux dilutions de la fraction chloroformique en présentant les diamètres des zones d'inhibition (28±1 ; 23±0,57 ; 17±0,57mm). Cependant *Escherichia coli* ATCC , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC présentent une faible sensibilité, sauf que cette activité est apparue à la concentration le plus élevé avec les diamètres des zones d'inhibition varient entre (22±2,08 ; 15,33±0,57) mm pour *Escherichia coli* et (16±1,15 ; 10±1,15) pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC.

Les tableaux ci-dessous illustrent les résultats de l'activité inhibitrice des extraits flavonoïques de la fraction acétate de *Ballota hirsuta* Benth vis-à-vis de trois germes testés.

Tableau n° 24 : Spectre antibactérien de la fraction AcOEt

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) ±écart type			
	les dilutions de la fraction AcOEt			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	8,33±0,23	-	-	-

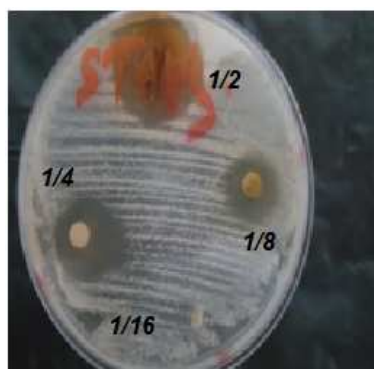
(Diamètre <6 mm) résistant, Diamètre du disque est inclus, - : Inhibition

Les dimensions des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC et *Escherichia coli* ATCC sont plus résistante vis-à-vis des flavonoïdes testés de la fraction acétate. Ces mêmes flavonoïdes développent une zone d'inhibition moyennement importantes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC dont le diamètre est de 8mm à une concentration plus élève.

Chaque composé agit différemment sur les microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe (la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux flavonoïdes testés de la fraction n-butanolique et chloroformique) ou une action moindre, voire même nulle sur un autre (la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC et *Escherichia coli* ATCC vis-à-vis les dilutions de la fraction acétate).

Généralement *Pseudomonas aeruginosa* ATCC s'avère la bactérie la plus résistante aux produits flavonoïques et même de toute sorte de métabolite et cela a été prouvé par des travaux antérieure.

(A)



Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa



Escherichia coli

(B)



Staphylococcus aureus



Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa

(C)



Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa



Escherichia coli

Figure n°64 : Photos représentatives des zones inhibitions (mm)

(A): F CHL3

(B): F n-BuOH

(C): F- AcOEt

V.7.2 Pouvoir antibactérien des pigments

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi dans l'activité antibactérienne des flavonoïdes.

Les extraits de la chlorophylle A et B montrent une activité inhibitrice vis-à-vis des trois souches testées à des concentrations les plus élevées 1/2 et 1/4. Cependant aucune activité n'est apparue à des faibles concentrations (Tableaux 25, 26 et Figure 65)

Tableau n°25 : Mesure du diamètre d'halos d'inhibition en mm (Chlorophylle A)

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) ±écart type			
	Les dilutions			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli ATCC</i>	12,66±0,23	10±1	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC</i>	10,33±0,23	9±0,7	-	-
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	14,33±0,47	10±1	-	-

(Diamètre <6 mm) résistant, Diamètre du disque est inclus, - : Inhibition

Tableau n°26 : Mesure du diamètre d'halos d'inhibition en mm (Chlorophylle B)

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) ±écart type			
	Les dilutions			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli ATCC</i>	13,16±0,76	10±1,00	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa ATCC</i>	12,16±0,76	9,66±1,15	-	-
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	13±0,94	11±0,57	-	-

(Diamètre <6 mm) résistant, Diamètre du disque est inclus, - : Inhibition

En comparaison avec la chlorophylle A et B, la xanthophylle et β -carotène enregistrent des halos d'inhibitions considérable notamment chez *Staphylococcus aureus*. Cette ampleur a été remarquée même chez *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée comme la bactérie la plus résistante aux substances actives.

Tableau n°27 : Mesure du diamètre d'halos d'inhibition en mm (Xanthophylle)

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) \pm écart type			
	Les dilutions			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	30,66 \pm 2,08	23,83 \pm 1,75	14 \pm 1	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	32 \pm 2,5	23 \pm 1,15	16 \pm 0,67	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	33,33 \pm 0,47	23 \pm 1	15 \pm 0,4	-

Tableau n°28 : Mesure du diamètre d'halos d'inhibition en mm (β carotène)

Les souches Bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) \pm écart type			
	Les dilutions			
	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>Escherichia coli</i> ATCC	18 \pm 1,52	12 \pm 0,57	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	14 \pm 1	11,33 \pm 0,94	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	29 \pm 1,15	24 \pm 1,52	14 \pm 0,5	-

Diamètre <6 mm) résistant, Diamètre du disque est inclus, - : Inhibition

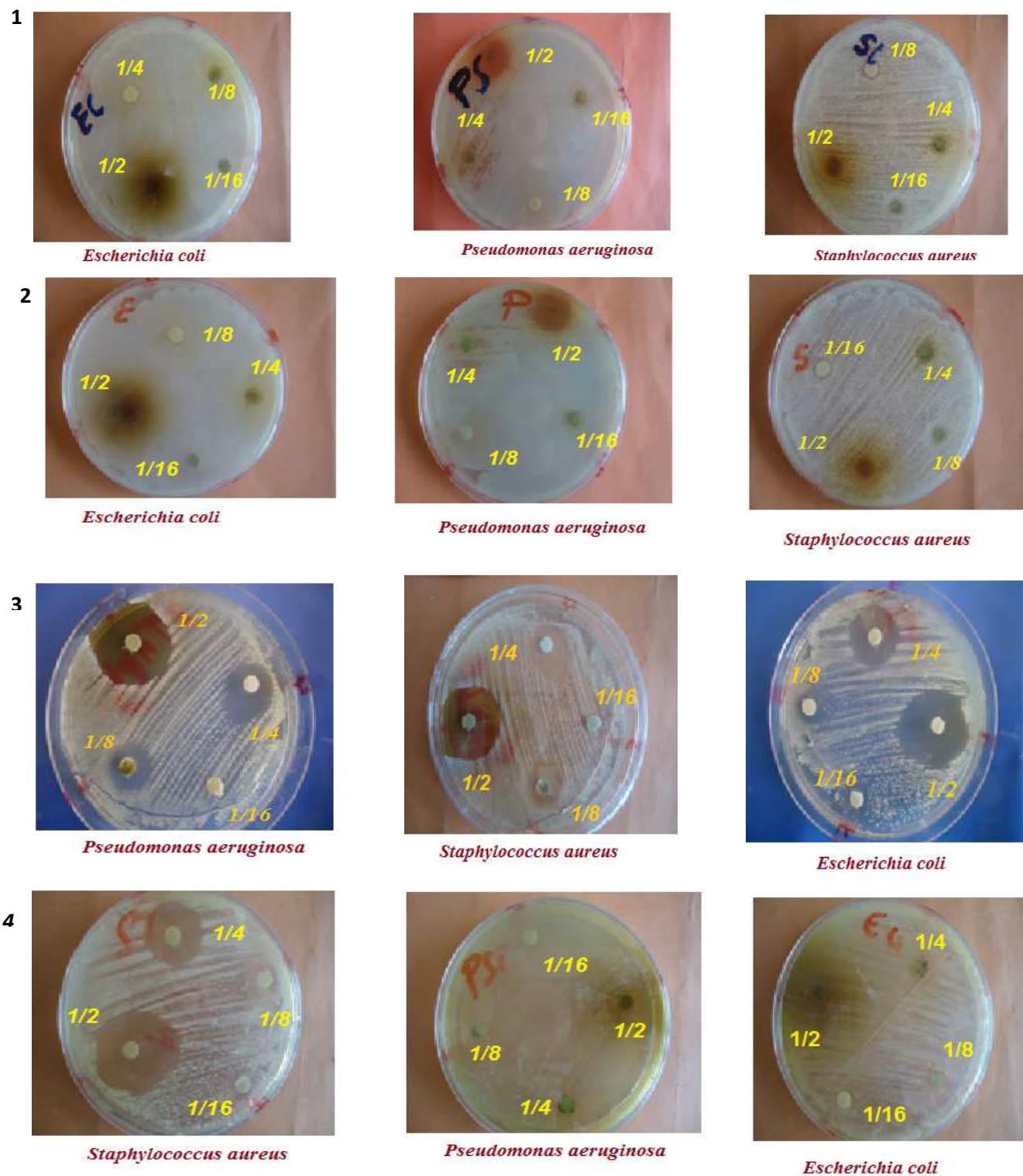


Figure n °65 : Photos montrant les zones inhibitions (mm)

1 : Chlorophylle A, 2 : Chlorophylle B, 3 :Xanthophylle, 4 : β carotène

V.8 Histologie

Les colorations permettent d'identifier les différents tissus de l'espèce étudiée de l'extérieur vers l'intérieur et de décrire les constituants morphologiques des feuilles et des tiges. Pour cela deux types de colorants sont utilisés : le vert de méthyle et le rouge Congo permettent de colorer spécifiquement les parois lignifiées en rouge et les parois pecto-cellulosiques en bleu. L'hématoxyline-éosine permet de colorer les noyaux cellulaires en rose ainsi que les multiplications cellulaires. Concernant les différents tissus identifiés sur les feuilles de *Ballota hirsuta* ils sont représentés dans la (planche **I**, **II** et **III**), correspondant à une vue par microscope photonique avec le grossissement : Gr x 100 et Gr x 400.

V.8.1 Feuilles de *Ballota hirsuta* Benth.

Les épidermes sont couverts d'une couche de cuticule mince. L'épaisseur des deux épidermes cuticules est à peu près égale. il y a des poils glanduleux sur les deux épidermes,

- ✚ **L'épiderme** : constitue le système de tissu protecteur des feuilles. En plus des cellules relativement peu spécialisées qui forment la plus grande partie de l'épiderme. On y trouve les cellules de garde des stomates qui contrôlent les échanges gazeux, y compris ceux de la vapeur d'eau, entre la plante et le milieu ambiante. Dans les parties aériennes, leurs parois sont couvertes d'une cuticule qui réduit les pertes d'eau.
- ✚ Il existe des **collenchymes** qui forment souvent des amas séparés ou des cylindres continus sous l'épiderme supérieur des feuilles, le plus exposé à la lumière, formant un **parenchyme palissadique**.
- ✚ Sous le parenchyme palissadique, sur la face opposée à celle qui reçoit la lumière, se trouve le **parenchyme lacuneux**. Il est constitué de cellules chlorophylliennes sphériques qui permettent les échanges gazeux de la photosynthèse et de la respiration.
- ✚ **Les cellules de transferts** sont extrêmement fréquentes et leurs fonction et probablement la même dans tout l'organisme. Elles sont associées au xylème et au phloème dans les feuilles de nombreuses dicotylédones herbacées.
- ✚ **Le xylème** se trouve normalement du côté supérieur de la nervure.
- ✚ **le phloème** vers la face inférieure. Un cambium se développe entre le phloème et le xylème.
- ✚ On peut trouver des **trichomes** épidermiques sur l'une ou l'autre des faces de la feuille ou sur les deux faces. Ces structures ont différentes fonctions (protection de la plante).

V.8.2 Tiges de *Ballota hirsuta* Benth

La tige est clairement quadrangulaire en section transversale.

- ✚ **Epiderme** : L'épiderme est recouvert par une cuticule mince. L'épiderme est constitué d'une couche de forme ovale, cellules carrées ou rectangulaires l'épiderme de la tige possède généralement beaucoup moins de stomates que l'épiderme foliaire
- ✚ **Un collenchyme**, donnant la forme de la tige, permet l'identification des familles étudiées, comme chez les lamiacées où la section transversale est plutôt carrée que ronde.

Les cellules parenchymateuses forment généralement des ensembles continus « le tissu parenchymateux » situé dans la région **corticale** des tiges.

- ✚ **Le xylème** des tiges de cette espèce se situe dans l'épiderme inférieur et le phloème vers l'extérieur.

La croissance secondaire est nulle ou peu importante dans la tige de nombreuses dicotylédones. Ces tiges ne sont pas ligneuses, mais herbacées ce qui confirme nos observations.

- ✚ **Un parenchyme médullaire** occupent le centre de la tige est formée de grandes cellules à parois fines et ne présentent pas de large méats.

Nous avons pu constater que les trichomes sont des caractères distinctifs entre les tissus des organes différents. Ce qui a été confirmé par cette étude.

Planche I

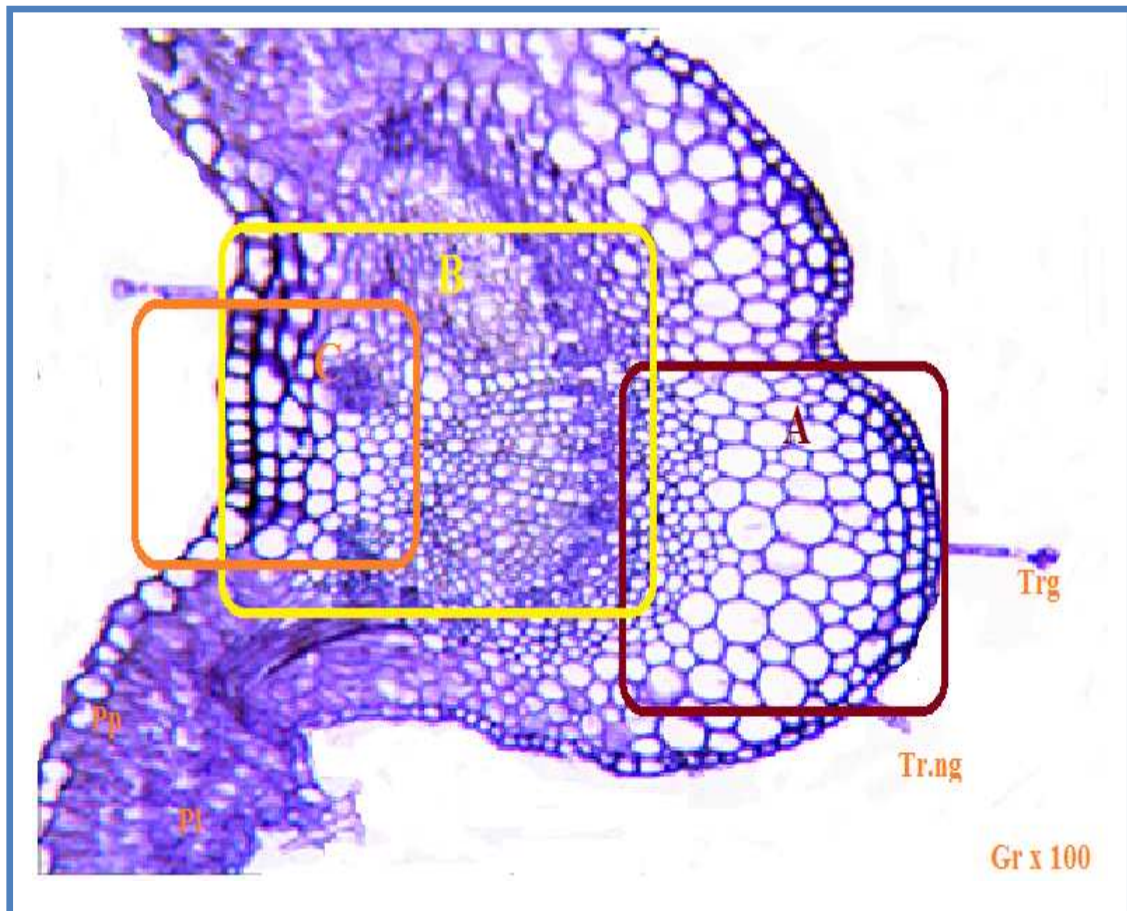


Figure n° 66: Coupe transversale sériée réalisée au niveau de la nervure principale d'une feuille de *Ballota hirsuta* Benth

Tr.ng : Trichome non glandulaire

Tr.g : Trichome glandulaire

Planche II

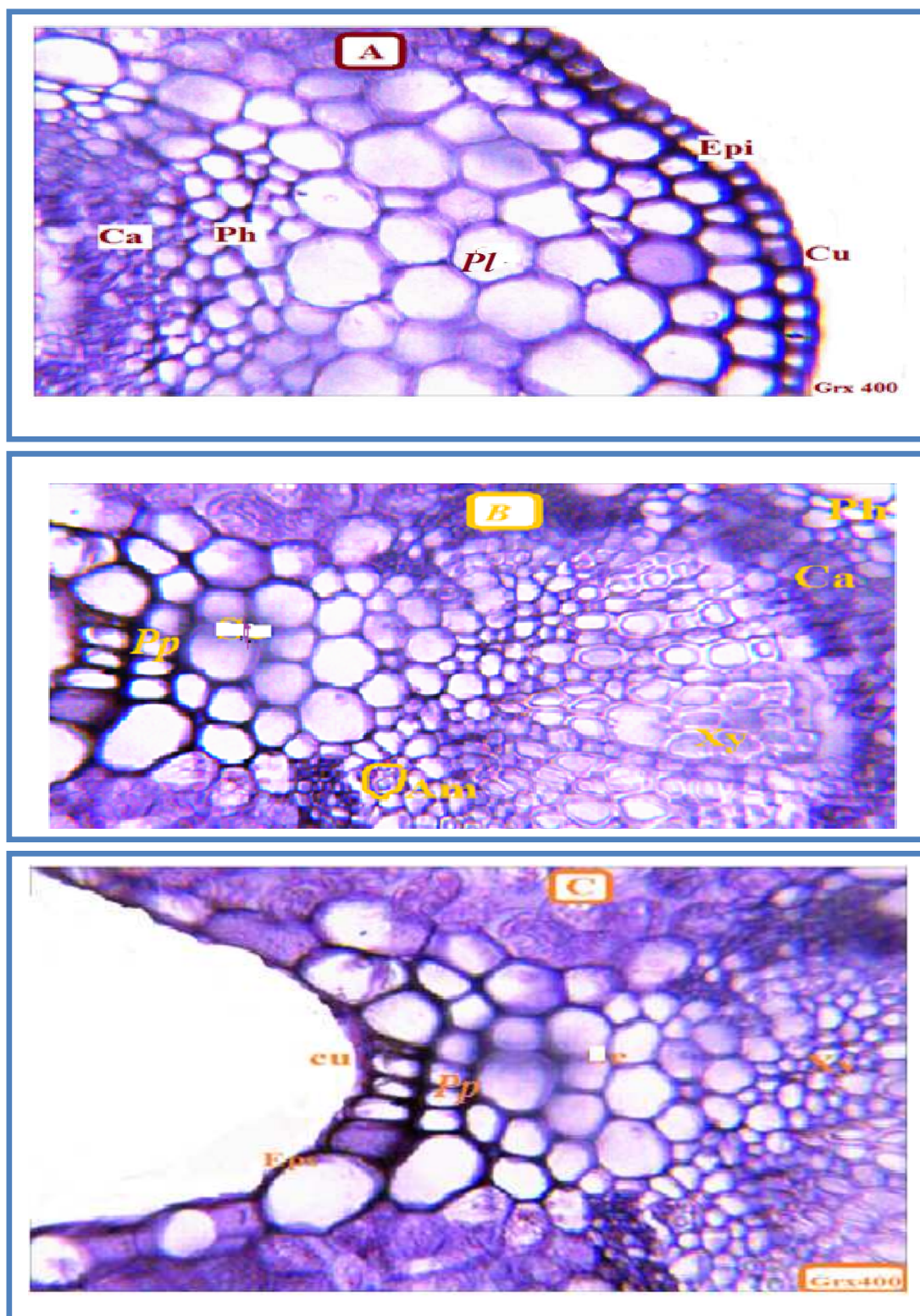
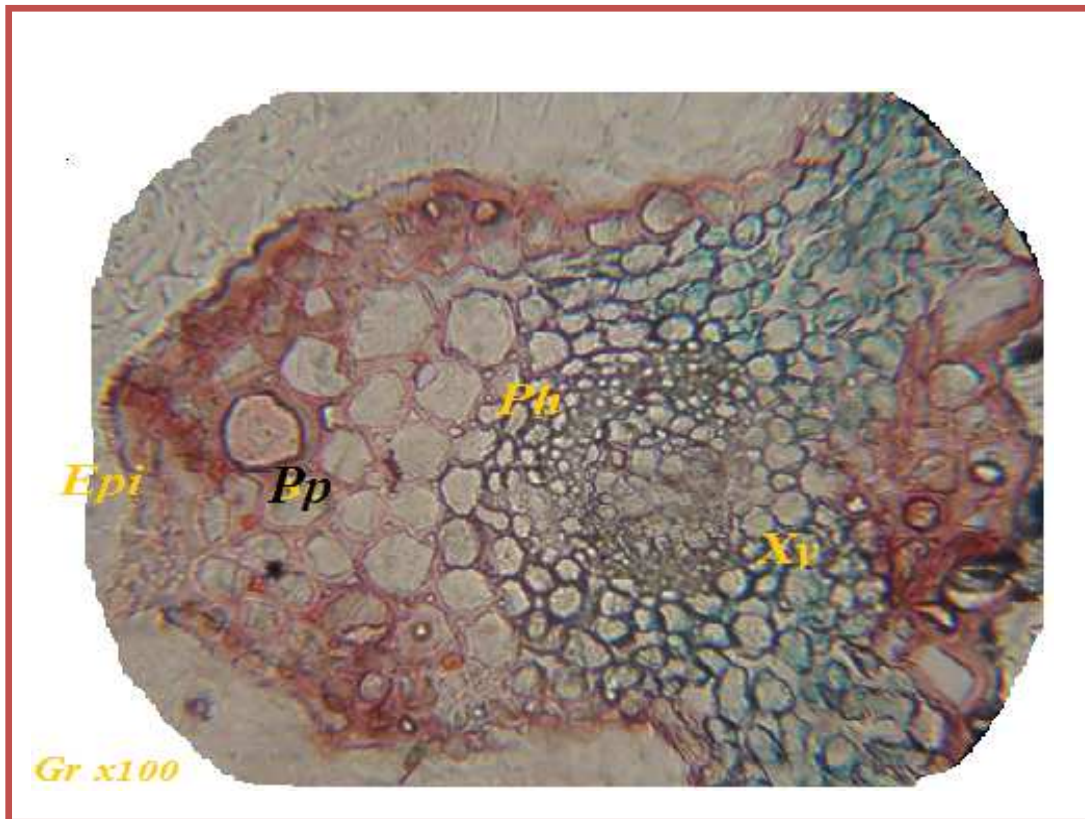


Figure n° 67 (A, B et C) : Coupe transversale montrant les compartiments cellulaire d'une feuille de *Ballota hirsuta* Benth

Planche III



Np : nervure principale ; **Eps** : épiderme supérieur ; **Epi** : épiderme inférieur ; **Col** : collenchyme ; **Pl** : parenchyme lacuneux ; **Ph** : phloème ; **Xy** : xylème ; **Cu** : cuticule **Pp** : parenchyme palissadique, **Am** : Amyloplastes ; **Ca** : Cambium ; **Tr.ng** : Trichome non glandulaire ; **Tr.g** : Trichome glandulaire.

Figure n° 68 : Coupe transversale sériée au niveau de nervure principale d'une feuille de *Ballota hirsuta Benth*, colorée par combinaison vert de méthyle -rouge Congo

V.8.3 Les différents types des trichomes

L'étude histologique a permis d'identifier les différents territoires cellulaires relatifs aux organes (feuilles et tiges). Conformément aux coupes effectuées, il ressort que la feuille est bien pourvue de certaines structures, tel que les trichomes spécialisées dans la synthèse des polyphénols analysés dans ce présent travail.

Deux principaux types de trichomes sont observés dans les feuilles et les tiges de la ballote hirsute ; glandulaire et non glandulaire trichomes. Ces deux types sont souvent présents dans la famille des Asteraceae, Lamiaceae et Solanacées. Les trichomes non glandulaires sont très allongés, flagelliformes variable en longueur, composé d'un ou plusieurs cellules ou plus et sont soutenus par les cellules épidermiques, ils peuvent être subdivisés (ramifié) ou simple (non ramifié). Tandis que les trichomes glandulaires se divisent en deux types peltés et capités : ces derniers peuvent être se distingue par la taille de la tête et de la longueur de la tige. Peltés sont court avec une tige uni ou bicellulaire et une grande tête sécrétoire, et capité trichomes avec une tige plus au moins longue et petite tête. Les tiges et les têtes des trichomes glandulaires peuvent être unicellulaire, bicellulaire, tricellulaire ou multicellulaire et l'absence de ce dernier fournie des trichomes sessile.

Planche IV

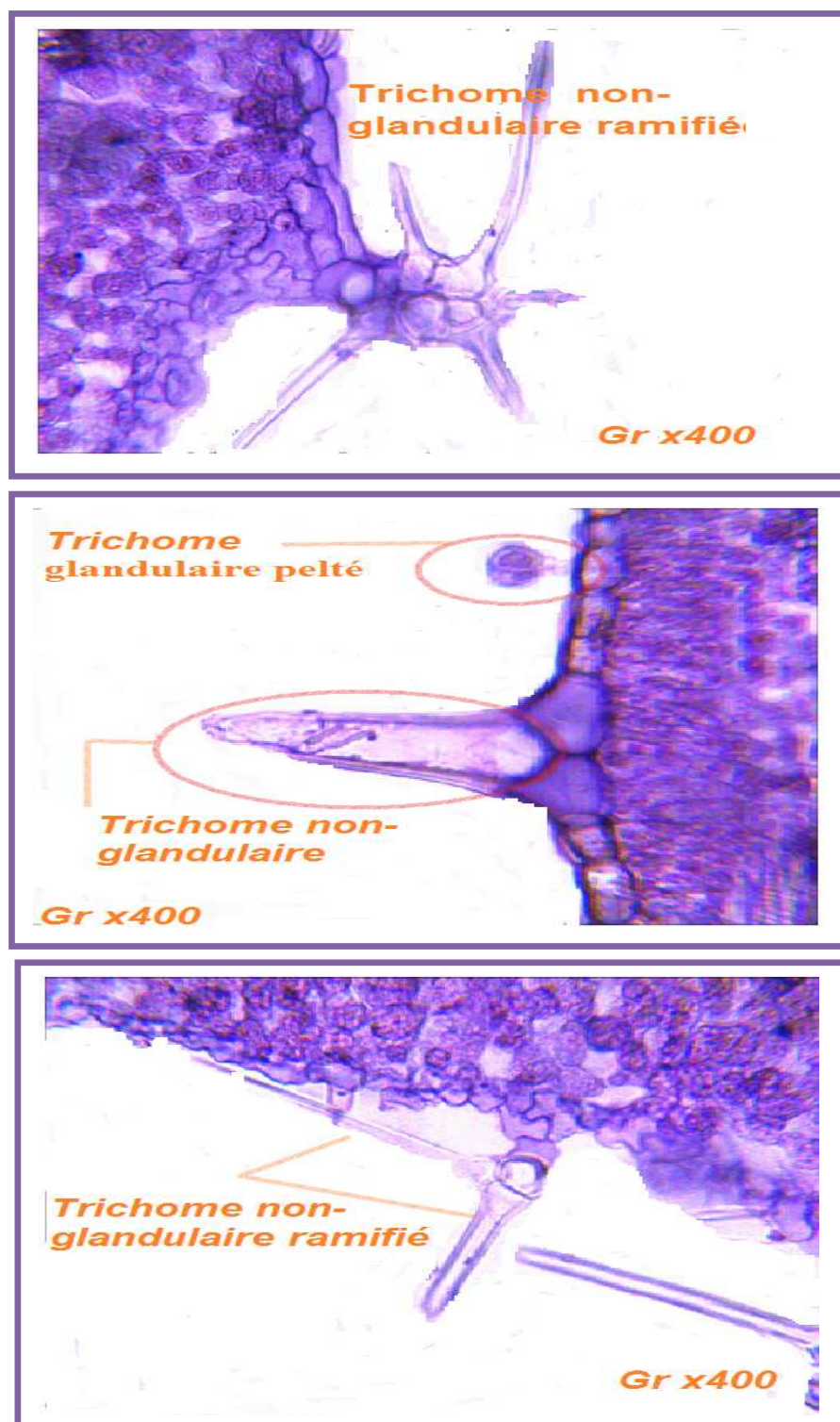
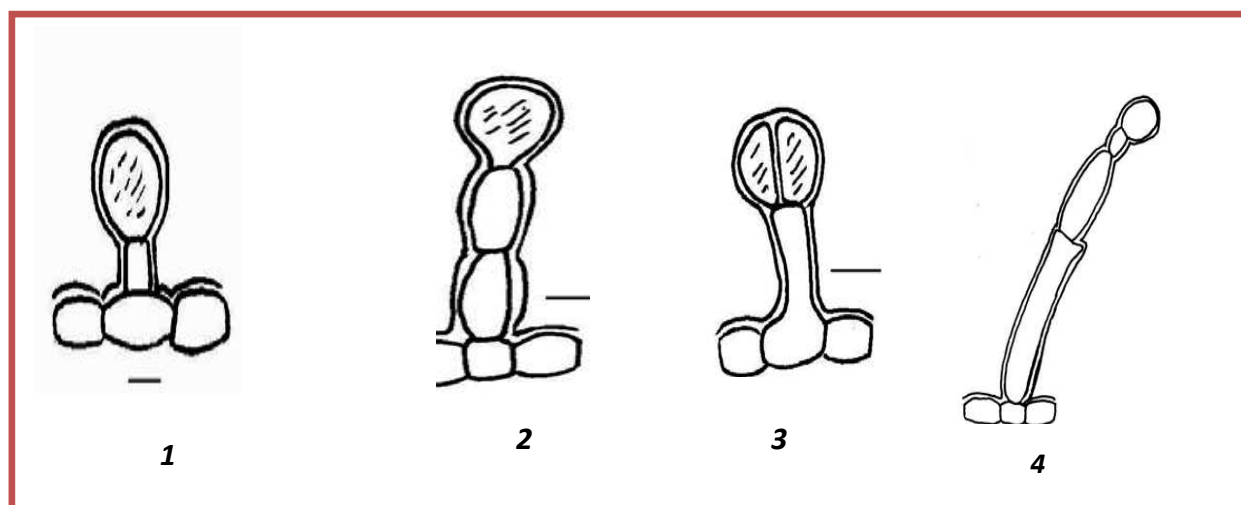


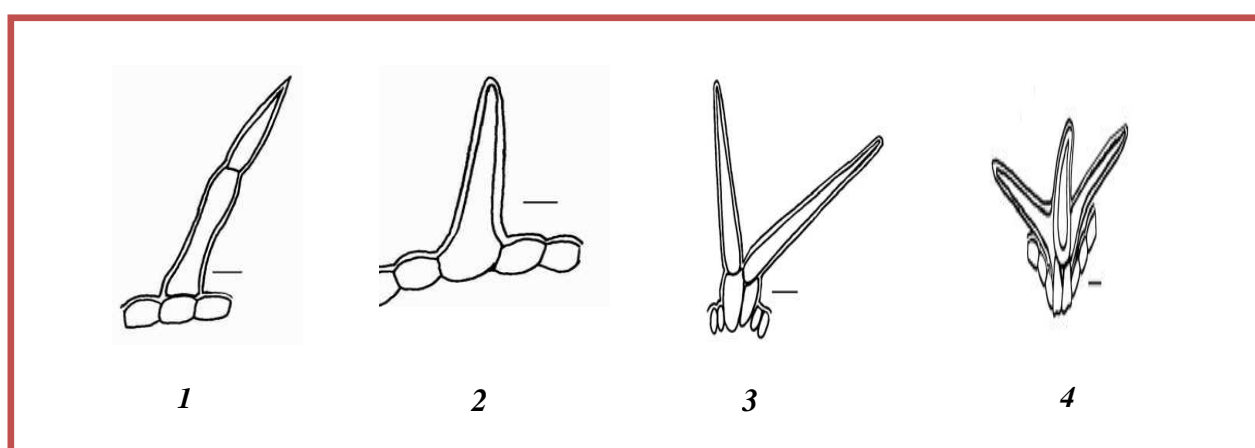
Figure n° 69 : Quelques types de trichomes glandulaires et non glandulaires observés chez *Ballota hirsuta* Benth

Les figures ci-après (70, 71) illustrent les différentes formes de trichomes observés chez l'espèce étudiée et celles trouvés par Osman (2012) sur *Ballota kaiseri*, *Ballota damascens*.



- 1 : Trichome glandulaire pelté avec tige court unicellulaire et tête unicellulaire
- 2: Trichome glandulaire capité avec tige bicellulaire et tête unicellulaire
- 3: Trichome glandulaire capité, tige unicellulaire avec tête bicellulaire
- 4 : Trichome glandulaire capité, tige tri -cellulaire avec tête unicellulaire

Figure n °70 : différente type des trichomes glandulaires



- 1 : Trichome bicellulaire
- 2 : Trichome unicellulaire
- 3 : Trichome bicellulaire ramifiées
- 4 : Trichome tricellulaire ramifiées

Figure n °71 : différente type des trichomes non-glandulaires

V.8.4 Histométrie des trichomes

Les mesures histométriques (en μm) réalisées au niveau des différents types de trichomes nous a permis d'enregistrer les résultats suivants :

 **Feuille**

- **Type I** : Trichomes glandulaires peltés se compose d'une cellule basale épidermique, une tige monocellulaire très court de longueur (16,66 -19,76 μm) et de largeur (9,102- 15,995 μm) et un large tête de sécrétion uni ou multicellulaire ronde de longueur (6,771-7,476 μm) et de largeur (8,451- 10,138 μm).
- **Type II** : Trichomes glandulaires capités se compose d'une cellule épidermique unicellulaire à tige bicellulaire de longueur variable (86,23- 90,353 μm), et de largeur (8,342-10,187 μm). la tête de sécrétion bicellulaire ou unicellulaire (3,456-6,34 μm de largeur μm , 20-50 μm longueur).
- **Type III** : Trichome non glandulaire. Il est unicellulaire à tricellulaire, non ramifié de longueur (31,59-190,707 μm) et de largeur (5,861- 37,365 μm).

Tableau n°29: Histométrie des trichomes en μm

	<i>Types de trichomes</i>				
	<i>Glandulaire Peltée Type I</i>		<i>Glandulaire Capitée Type II</i>		<i>Non-Glandulaire Type III</i>
	Tige	Tête	Tige	Tête	
Feuille Longueur en μm	18,5966 $\pm 1,688$	7,176 $\pm 0,364$	89,238 \pm 2,634	5,064 \pm 1,16	112,985 \pm 61,844
Feuille Largeur en μm	12,399 $\pm 3,456$	9,191 \pm 0,862	9,1656 \pm 1,890	4,846 \pm 1,176	20,350 \pm 13,113
Tige Longueur en μm	13,670 \pm 0,940	7,063 \pm 1,116	61,430 \pm 1,84	6,567 \pm 1,81	–
Tige Longueur en μm	9,508 \pm 0,86	6,814 \pm 0,910	8,4 \pm 0,54	5,432 \pm 0,520	–

μm : micromètre ; (-) Absence de trichomes

 **Tige**

- **Type I** : Trichome glandulaires peltés portent une tige de longueur presque identique. On a enregistré des valeurs entre (12,234-14,423 μm)
- **Type II** : Trichomes glandulaires capités possèdent une tige plus au moins courte par rapport la tige de trichome capité de la feuille (61,430 \pm 1,84)

V.8.5 Distribution des trichomes

Les feuilles portent de nombreux trichomes non glandulaires et glandulaires sur les deux surfaces. Trichomes non glandulaires densément couverts la surface de la feuille entière, mais étaient plus abondants sur la face abaxiale des feuilles. Ces glandes produisent principalement des composés non volatiles ou peu volatiles qui sont directement exsudée à la surface du trichome (Tableau 30).

Les observations microscopiques montrent que les tiges referment un nombre réduit de trichomes glandulaires et généralement une absence des trichomes non glandulaire.

Tableau n°30 : Distribution de différents types de trichomes dans de feuille et dans la tige

	Type des trichomes			
	<i>Glandulaire Peltée Type I</i>	<i>Glandulaire Capitée Type II</i>	<i>Non-Glandulaire Type III</i>	
			<i>Ramifié</i>	<i>Non ramifié</i>
<i>Feuille face abaxial</i>	++	++	+++	+++
<i>Feuille face adaxial</i>	+	+	++	++
<i>Tige</i>	+	+	-	-

(-) Absence de trichomes, (+) quelques trichomes, (++, +++), Présence de trichomes.

Chapitre VI : Discussion

IV.1 Etude ethnobotanique

Les informations issues des enquêtes révèlent que les feuilles de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) sont les plus utilisées dans les deux communes de la wilaya de Sidi Bel Abbes de l'Algérie occidentale pour soigner diverses pathologies. L'utilisation abondante des feuilles sous diverses formes est à mettre en parallèle avec l'abondance des familles chimiques présentes dans cet organe. Elle peut être expliquée par le fait qu'elles sont le siège de stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante (Bigendako MJ, Lejoly J 1990).

L'étude a permis de recenser 11 maladies dont les principales sont : la contusion, blessure, douleurs rhumatismales, antiseptiques, tonique et carie dentaire. Parmi ces maladies 3 étaient les plus citées : La contusion, les douleurs rhumatismales, tonique, la contusion qui résulte après d'un choc violent et qui provoque une lésion et une douleur dans la zone touchée généralement traitée par cette espèce.

Les feuilles, les tiges et les racines sont transformées, après séchage, en poudre et utilisées directement sous forme de pâte à base d'eau et de beurre pour traiter la contusion, les blessures et d'autres infections de la peau. Les pâtes sont employées surtout chez les hommes pour traiter la contusion et les inflammations de la peau dues aux morsures des chiens.

Les extraits de cette dernière sont utilisés par les hommes et les femmes comme désinfectant. Cette activité est due essentiellement aux produits terpéniques comme l'hispanolone qui a donné le nom *Ballota hispanica* (Quezel et Santa, 1963). Les travaux de Citoglu et al., 1998 prouvent l'activité antibactérienne d'extraits de la Ballote et montrent les effets du dehydrohispanolone et de la ballonigrine contre certains Gram positives, Gram négatif et des champignons. Les femmes questionnées emploient les fleurs sous forme de masque avec d'autres additifs pour tonifier la peau. Les préparations à base de fleurs sont utilisées contre les radicaux libres secrétés par le corps qui provoquent le vieillissement précoce de la peau, en plus Le rôle de ces d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (Vârban D.I., et al. 2009).

Les flavonoïdes exercent une action antalgique intéressante dans le cas de douleurs rhumatismales et articulaires ce qui explique l'utilisation des extraits de cette plante par les individus de la population. Selon Beloued (2001) cette plante contient un principe amer de l'acide gallique ainsi que des flavones (Judd, 2002).

Les résultats sont en concordance avec plusieurs travaux montrant que la famille la plus représentée est celle des lamiacées (Mehdioui, 2007). Des études à l'échelle méditerranéenne ont abouti aux mêmes constatations (Novais *et al.*, 2004 ; Miara *et al.*, 2013). Cette famille est réputée par l'abondance de différentes formes de trichomes, site de synthèse des métabolites, issues des cellules épidermiques (Werker *et al.*, 1985).

La fréquence d'utilisation de la plante dans la ville de Sidi Bel Abbès est très liée au profil des personnes enquêtées et le niveau d'études de cette population, la grande majorité des usagers d'espèce sont des analphabètes et des personnes âgées. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal presque partagé, cependant les femmes ont un peu plus de connaissances sur l'espèce étudiée par rapport aux hommes. Ces résultats confirment les résultats d'autres travaux ethnobotaniques, qui ont montré que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel, le séchage, le stockage et la préparation des recettes pour les soins des membres de la famille. Les soins sont effectués par les femmes tandis que la collecte des plantes dans les zones réputées dangereuses est assurée par les hommes. La connaissance des usages et les propriétés des plantes médicinales sont généralement acquises suite à une longue expérience. Les jeunes, comparés aux personnes âgées, ne connaissent généralement pas les noms vernaculaires ni l'utilité de l'espèce. Ils recourent à la médecine conventionnelle pour se soigner. La transmission de l'usage et le savoir faire des plantes médicinales se fait de moins en moins entre les générations (Anyinam, 1995). La source d'informations de l'usage des plantes en médecine traditionnelle s'amenuise par la disparition des personnes âgées et le manque d'archivage des connaissances des thérapeutiques des plantes médicinales. Certains tradithérapeutes ont remarqué quelques effets secondaires liés à l'usage de certaines préparations tels que vomissement le concept de dose n'est pas bien maîtrisé par ces guérisseurs ; les effets évoqués pourraient être liés à un surdosage.

VI.2 Caractérisation de la poudre

- ✚ La diminution de PH aurait pour principale cause augmentation de la température de stockage, la variation des conditions de stockage influe directement sur le changement de PH, et même les altérations provoquées par les bactéries et les moisissures affectent surtout les altérations organoleptiques et peuvent sous certaines conditions provoquer une production de mycotoxine (Bourgeois *et al.*, 1988)
- ✚ Les plantes sont essentiellement constituées d'eau, c'est un élément indispensable et vital pour les processus biochimique qui se déroulent au cours de la croissance de la plante. Nous remarquons que les feuilles refferment la quantité la plus grande en eau, plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau. Nous

constatons que notre espèce est très riche en eau cela par apport d'autres espèces de la même famille comme le romarin qui renferme environ 40% (Albu et *al.*, 2004).

- ✚ Les cendres représentent la quantité des sels minéraux présents dans un échantillon et Selon (Laurant, 1991) la présence de la silice dans la poudre analysée gêne la calcination engendrant par la suite un taux de cendres élevé. Les variations rencontrées dans la teneur en eau et le taux de cendres de nos échantillons comparés à certains travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques. Le teneur en cendre est dépendant principalement à des conditions de fertilisation de sol.
- ✚ La matière grasse extraite de plantes possède une haute valeur biologique qui peut être due à la présence de trois acides gras essentiels, ces acides gras ne sont pas synthétisés par les animaux et les êtres humains, notamment l'acide gras γ -linoléique qui est considéré comme un antibiotique actif (Santoyo et *al.*, 2006).
- ✚ Les éléments minéraux sont indispensables à une bonne croissance et un bon développement des plantes, végétatifs ou génératifs mais également pour la résistance aux maladies et ravageurs. Les organes analysés sont plus au moins riches en potassium qui est toujours abondant dans la matière sèche des végétaux, ses fonctions dans le métabolisme sont multiples (photosynthèse...). En outre ce dernier présente un effet hydroabsorbant dans les tissus animaux (Barri Wingo 1977). Le Mn est un méso-élément, cet élément est indispensable dans la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique (Soltner 2001), il est localisé dans les feuilles et surtout dans les plus vieilles et même dans la tige. Les oligo-éléments sont des éléments indispensables au bon fonctionnement du métabolisme de la plante mais dans des proportions relativement faibles : Cu, Zn, Fe. Les racines sont plus riches en cuivre que les parties feuillées, cet élément joue un rôle physiologique important dans la respiration (Soltner, 2003). Le fer s'accumule dans les racines avant de laisser passer le surplus dans la tige, une faible quantité a été trouvée dans les feuilles, cet élément joue un rôle important dans la photosynthèse.

En ce qui concerne les métaux lourds, les parties analysées de la plante ne présentent aucune surdose en métaux toxiques (Ni, Cd, Co, Cr et Pb), la raison pour laquelle il est important de réaliser un contrôle sur les teneurs en métaux lourds des espèces destinées à l'utilisation phyto-thérapeutique administrée par voie orale. Toutefois les plantes photosynthétiques comprennent des fonctions carboxyles sulfates et d'autres fonctions ionisables qui permettent la fixation ionique ou chimique de

molécules (cas de la plupart des oligo-éléments et des métaux essentiels). De point de vue composition minérale, les espèces végétales se différencient parfois nettement d'une région à une autre et cette variation peut être attribuée à la composition de milieu, et espèce elle-même (Solisio et al., 2006)

✚ La matière végétale contient diverses molécules biologiquement actives tel que le sucre, les pigments, protéine, cellulose.....ex, cela peut expliquer la structure complexe de trois poudres. En fait, les diverses dimensions particulières et les distributions granulaires peuvent être influencées par la composition des poudres (Xinde et al. 2007).

✚ Les analyses d'IR montrent une différence relative dans la position et l'intensité des pics de trois poudres cette différence est étroitement liée aux groupements chimiques présents dans chaque organe. Alors ces empreintes IR révèlent que les trois organes contiennent majoritairement les groupements amino, carboxylique et hydroxyle, la présence de ce dernier indique la teneur en humidité. Les résultats obtenus confirment les résultats d'études de la composition de plusieurs espèces végétales (Loukidou et al., 2004; Doshi et al., 2006).

VI.3 Etude phytochimique

VI.3.1 Screening phytochimique

Le test du screening phytochimique sur *Ballota hirsuta* Benth met en évidence la présence de plusieurs composés chimiques possédant des activités biologiques intéressantes. On a observé des réactions positives concernant les flavonoïdes et les tanins surtout dans les feuilles. Plusieurs travaux prouvent l'activité anti oxydante et anti inflammatoire de ces molécules (Wang et al., 2002), les tanins sont des très bons piègeurs des radicaux libres ; ils inhibent la formation du radical superoxyde (Aron et al., 2008). Cela explique que les enquêtés de la population choisissent souvent des préparations à partir des feuilles pour protéger la peau contre l'effet nocif des radicaux libres et pour traiter aussi les inflammations issues de blessures.

Les stérols et les triterpènes sont présents aussi bien dans les feuilles que dans les tiges et les racines. La présence de dérivées terpéniques pourrait expliquer nombreuses activités biologiques comme l'activité antimicrobienne. Cela a été prouvé par les travaux de Citoglu et al., 1998 sur les extraits de ballote.

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux, ils forment des solutions moussantes avec de l'eau, l'indice de mousse est plus remarquable dans les racines que dans les feuilles et les tiges d'après Bruneton (2009) aucune activité

antibactérienne et antivirale des saponosides *in vitro* a été observée, généralement ces métabolites sont reconnus pour leur propriétés tensioactifs. Les saponines manifestent une forte activité spermicide. C'est pour cette raison, que ce groupe de composés chimiques a été utilisé pour des essais de crèmes contraceptives destinées à l'application vaginale (Bruneton, 1999). Le test avec le réactif de Dragendorff révèle que les racines contiennent une proportion élevée d'alcaloïdes par rapport aux feuilles et les tiges. D'après Guignard (1985), Les racines sont le siège de la biosynthèse des alcaloïdes. *Ballota hirsuta* Benth apparaît donc être une plante riche en métabolites secondaires, largement utilisée en médecine traditionnelle dans les deux sites pour combattre et guérir différentes pathologies.

VI.3.2 Dosages saisonniers de polyphénols

Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes et en tanins de la Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) montrent une variabilité selon les saisons et l'organe étudié. Les feuilles en synthétisent et secrètent des quantités considérables par rapport aux tiges et aux racines, quel que soit le métabolite dosé et la saison de prélèvement. Ceci a été prouvé par l'analyse en composantes principales (ACP). Ces sécrétions sont dues principalement à des structures histologiques spécialisées. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe (Bruneton, 1993). Ces sites présents dans les cellules épidermiques des feuilles où les polyphénols sont en forte concentration (Rozema *et al.*, 2002). Généralement, le nombre et la forme des canaux sécréteurs sont des caractères très variables, fortement influencés par des facteurs environnementaux, telles que la température et l'intensité de la lumière (Krstic *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus montrent que les feuilles renferment respectivement des teneurs plus élevées en phénols totaux pendant l'automne et l'hiver. Ces concentrations sont comparables à celles obtenues chez d'autres espèces de la famille des Lamiacées comme *Salvia officinalis* (132 mg EAG /g de matière sèche) (Matkowski *et al.*, 2006). Cependant les concentrations moyennes enregistrées dans les feuilles pendant la période début et pleine floraison sont inférieures à celle de la période végétative. Les faibles teneurs sont obtenues dans les racines et les tiges. Plusieurs travaux prouvent que Les racines synthétisent beaucoup plus les alcaloïdes que les composés phénoliques (Guignard, 1985).

Les flavonoïdes assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et protègent la plante contre les radiations d'été (Stalikas, 2007). Cela peut expliquer les quantités les plus importantes en flavonoïdes enregistrées en saisons de printemps et d'été ; les teneurs les plus faibles en automne et hiver. Les feuilles de la

Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth.) renferment une quantité importante de phénylpropanoïdes (précurseurs des principaux flavonoïdes) en période estivale ; cette quantité s'affaiblit durant la période hivernale (Hoffmann et al., 2004; Tóth et al., 2009). Les feuilles de Sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) sont plus riches en flavonoïdes totaux durant la saison de printemps (Generalic et al., 2012). Des travaux antérieurs attribués aux autres espèces signalent des teneurs élevées de catéchine en été et de l'anthocyanine au printemps dans les échantillons de *Pennisetum purpureum* (Tsai et al., 2007). Ces résultats indiquent que les composés polyphénoliques sont sous influence des facteurs environnementaux d'ordre climatique (Dela et al., 2003).

Les plus fortes concentrations des tanins condensés sont enregistrées dans les feuilles de printemps et d'été. Par contre les tanins hydrolysables sont plus représentés en automne et en hiver. Les tanins sont des métabolites actifs, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). La plante investit massivement dans les défenses très efficaces lorsqu'elle se trouve très exposée comme les espèces vivace et donc facile à trouver par les herbivores, alors ces molécules participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés (radiation d'été) et jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et al., 2005). Les tanins sont considérés comme des inhibiteurs qualitatifs interviennent généralement à petites doses, dans le cas de stress environnemental, ils sont retrouvés dans les tissus vulnérables tels que les nouvelles feuilles et les bourgeons. Les tanins donnent aux plantes beaucoup de leurs pigments rouge, bleu, jaune et blanc, (Stalikas, 2007). Cela peut expliquer les quantités les plus importantes en tanins dans les feuilles. Sur le plan chimique et d'après les travaux antérieurs, plusieurs espèces de la famille de lamiacées renferment au niveau de leurs feuilles des quantités considérables en tanins (Kurbatova et al., 2003).

Les plantes riches en tanins sont utilisées dans les domaines phytothérapeutiques, cas de rhume, les infections internes ou externes, blessures, coupures et brûlures (Bruneton, 1999). Alors l'utilisation abondante des feuilles de ballote hirsute sous diverses formes en médecine traditionnelle est à mettre en parallèle avec l'abondance des familles chimiques présentes dans cet organe, ces produits naturels constituent une ressource primordiale de guérison de fait qu'elles recouvrent un large spectre de maladie, ce qui lui permettra de prendre une place très importante dans le domaine thérapeutique. La quantité de ces métabolites dans les extraits méthanoliques de la plante dépend essentiellement de leur origine (Ebrahimzadeh et al., 2008). Certains facteurs comme la variété, la saison de culture, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, affectent considérablement la

teneur des métabolites (Park et *al.*, 2003). En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (les conditions de stockage) (Podsdek, 2007; Fallehetal., 2008).

Rendement d'extraction

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement d'extraction n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques de l'espèce utilisée, à la nature des organes pour une même espèce, à l'origine géographique, aux conditions de récolte (Lin, Weng, 2006 ; Narayana et *al.*, 2001) et aux méthodes d'extraction appliquées.

VI.3.3 l'analyse chromatographique CCM et HPLC


Trois systèmes de solvant ont été choisis, après développement dans différents mélanges de solvants de migration et révélation sous UV à 365nm, plusieurs bandes colorées sont apparues et qui sont décrites en fonction de leur Rf.


Dans le premier système de solvant environ 10 composés ont été observés regroupant toutes les fractions, tandis que dans le deuxième système il y avait 4 produits supplémentaires ont été apparus, si on le compare avec le premier éluant. En comparant les Rf ainsi la coloration sous UV à ceux des standards réalisés dans les mêmes conditions opératoires, on a pu identifier la rutine et la quercétine dans la fraction acétate, la catéchine a été détectée dans la fraction chloroformique. Notant qu'un nombre réduit de composés ont été ségrégués par le troisième éluant, la fraction aqueuse révèle la présence de 3 produits, ce que n'était pas possible dans le premier et le deuxième système, l'Anthocyanidine 3,5 di glucoside séparés seulement par ce système, représenté par des spots mauve (Markham, 1982).

 **La bande verte** : correspond à flavanones, l'aurone.

 **La bande orange** : correspond à l'Anthocyanidine 3 glucoside

 **La bande jaune** : correspond aux Flavonols

 **La bande mauve**: correspond à l'Anthocyanidine 3,5 di glucoside

 **La bande violette** : correspond aux flavones

Ces résultats sont en accord avec ceux qui ont déjà été publiés pour les lamiales ; les flavanols sont identifiés dans *Satureja obovata* (Francisco et *al.*, 1988). La quercétine, la lutéoline, l'apigénine, et la catéchine ont été isolées de *Ajugaiva* (El-Hilaly et *al.*, 2004). Les travaux de Ferreres et *al.*, (1986) indiquaient que quatorze flavonoïdes ont été identifiés, par analyse chromatographique, dans les parties aériennes de la Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth), dont huit aglycones (savigenin, Kumatochenin...) et six glucosides (luteolin-7-glucoside, quercetin-3-glucoside...). Le type et la quantité de ces substances varient on

fonction de la croissance et la maturité de la plante, même les conditions écologiques doivent être prises en compte.

Les résultats de HPLC montrent que la fraction acétate d'éthyle regroupe 16 composés flavonoïques, 04 d'entre eux sont majoritaires et 12 sont minoritaires. Cependant la fraction n-butanol contient 10 composés, 02 étaient majoritaires. Plusieurs travaux antérieurs ont confirmé que la fraction acétate s'est montrée la plus riche en différentes substances flavonoïques (Athamena, 2010). Ces constatations sont en accord avec nos résultats qui révèlent la présence de la majorité des standards testés dans la fraction acétate.

VI.3.4 Activité biologique

VI.3.4.1 Activité antioxydante

En raison de l'implication des radicaux libres dans diverses pathologies, les chercheurs de nouvelles molécules pouvant pallier le déficit du système de défense endogène se sont largement intensifiés.

Les extraits flavonoïques sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé (Ozturk *et al.*, 2007). Tous les flavonoïques ont présenté un très bon pouvoir antioxydant, ce qui est confirmé par les bibliographies que les flavonoïdes d'origine naturelle sont des capteurs puissants de radicaux libres (Bartosikova *et al.*, 2003).

D'après nos résultats, l'extrait d'acétate d'éthyle paraît le plus actif par rapport aux autres extraits, il est plus important sur la réduction du DPPH à partir de la concentration la plus basse, cette constatation est concordante avec celles obtenues sur d'autres Lamiacées il s'agit par exemple de *Satureja calamintha* et *Ajuga reptans*, la fraction d'acétate d'éthyle de ces deux espèces représente l'extrait le plus actif, même plus actifs que l'extrait brut et l'acide ascorbique (Bougandoura, 2011).

Pour le mécanisme de piégeage de radical, la réaction entre l'antioxydant et DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent rapidement avec DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (Bondet *et al.*, 1997).

Par ailleurs, l'activité de piégeage de radical libre des flavonoïdes dépend de la présence du groupe OH, en particulier 3-OH. Les flavonoïdes avec 3-OH et 3',4'-catéchol s'avèrent 10 fois plus importants que le catéchol correspondant et les flavonoïdes avec un hydroxyle libre au C3 (3-OH) (Heim *et al.*, 2002), alors la présence d'un OH libre en C3 améliore énormément cette activité dont de nombreux auteurs annonçaient que le groupe 3OH est le

facteur le plus important qui confère aux flavonoïdes une activité antioxydante significative (Arora *et al.*, 2002 ; Amicet *et al.*, 2003). Alors l'activité antioxydante est croissante en fonction du nombre des groupements OH dans la molécule (Le *et al.*, 2007)

Certains auteurs supposaient que la capacité de la quercétine à piéger les radicaux libres est en relation directe avec la présence d'une structure O-dihydroxybenzène qui est considérée comme un caractère essentiel pour avoir une activité antioxydante importante (Es –Safi *et al.*, 2007).

Selon (Turkmen *et al.*, 2007) les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques l'un avec l'autre devrait être prise en considération dans l'activité biologique. D'un autre côté, la fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (Falleh *et al.*, 2008).

En effet le *Ballota hirsuta* Benth. est une plante qui appartient à la famille des *Lamiaceae*, qui inclut un grand nombre de plantes qui sont bien connues pour leurs propriétés anti-oxydantes et que la plupart de leurs composants antioxydants ont été identifiés (Tepe *et al.*, 2006 ; Kivilompolo *et al.*, 2007). Ces résultats montrent que nos extraits possèdent une puissante activité à céder le proton pour neutraliser le radical DPPH. D'après le HPLC la fraction acétate d'éthyle renferme plusieurs composés flavonoïques actifs.

VI.3.4.2 Activité antibactérienne

Pouvoir inhibiteur des flavonoïdes

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des extraits naturels des plantes pour traiter les différentes maladies infectieuses. C'est pourquoi le choix a porté sur un certain nombre de germes impliqués dans les différentes pathologies.

Les résultats obtenus révèlent une activité inhibitrice considérable des deux fractions, F-n-BuOH et F-chloroforme vis-à-vis les souches testées. Cependant l'extrait acétate s'est montré le plus faible. Il a été rapporté par Četković *et al.*, (2007) que l'extrait d'acétate d'éthyle de *Satureja montana* présente une bonne activité contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* par rapport à l'extrait n-butanol ce que n'était pas le cas pour nos extraits, Les différences trouvées peuvent être attribuées aux plusieurs facteurs tel que la nature de composé, la membrane de la souche testée, la saison de prélèvement, solvant utilisé

pour l'extraction, les endroits où l'espèce se pousse. Néanmoins, il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (Balansard, 2007).

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne soit la méthode de diffusion à partir des puits sur gélose ou bien la méthode de diffusion en milieu gélosé influe aussi les résultats (Natarajan *et al.*, 2005). Généralement, toutes les plantes de la famille *Lamiaceae* connues pour leurs composés phénoliques, ont été prouvées actives contre une variété de micro-organismes (Gortzi *et al.*, 2007). Cowan (1999) supposait que les flavonoïdes dépourvus des groupements hydroxyles libres ont plus d'activité antimicrobienne par rapport à ceux qui en sont pourvus, ce qui conduit à une augmentation de leur affinité chimique aux lipides membranaires, donc on peut supposer que la cible microbienne de ces flavonoïdes testés est la membrane cytoplasmique. L'activité antimicrobienne du romarin a été également attribuée à l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique et l'acide caféique (Tsai *et al.*, 2007),

La présence de composés actifs dans les différentes fractions obtenues pourrait leur conférer cette activité inhibitrice, les alcools possèdent une activité microbicide plutôt que microbiostatique (Carson *et al.*, 2002). Selon Burt (2004), il est très probable que leur activité ne soit pas attribuée à un seul mécanisme d'action spécifique mais à plusieurs agissant simultanément.

L'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée aussi par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (Karou *et al.*, 2005).

Certaines études ont montré que l'activité (antimicrobienne, antivirale, insecticide, larvicide et ovicide) des substances naturelles est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément, les composants minoritaires ont un rôle déterminant dans l'activité microbienne, ils pourraient avoir un effet synergétique avec ces dernières (Burt, 2004). Selon Lamert *et al.*, (2001) il existe une synergie entre le carvacrol et son précurseur biologique, le *p*-cymène : la présence de *p*-cymène permet au carvacrol de pénétrer plus facilement dans la cellule de la souche bactérienne.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Koné *et al.*, 2004), Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane

des cellules, possèdent une couche additionnelle la membrane externe inhibe la diffusion de certaine molécules actives.

Pseudomonas présente une résistance contre les trois extraits par rapport les autres souches car elle est naturellement résistante aux nombreux antibiotiques et les substances actives. Cette multi résistance est la conséquence de l'action conjuguée de trois phénomènes :

- ✓ Faible perméabilité de la membrane externe de sa paroi qui est constituée de phospholipides et des lipopolysaccharides.
- ✓ Une faible affinité pour les cibles des antibiotiques.
- ✓ Production naturelle d'une céphalosporinase chromosomique inductible (Alouf et al., 2000).

Pouvoir inhibiteur des pigments chlorophylliens

L'étude microbiologique permet d'affirmer que les molécules actives de la chlorophylle présentent un large spectre d'action contre les trois germes testés. La chlorophylle a et b présentent une action bactériostatique, en présentant des diamètres d'inhibitions moyenne ce pendant la xanthophylle et le caroténoïdes caractérisées par une action bactéricide avec des halos d'inhibitions assez élevés. L'activité antibactérienne de ces molécules (terpenoïdes) dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels (Kalemba et Kunicka, 2003)

En outre Le β -carotène est le caroténoïde le plus abondant dans la nourriture et il semblerait qu'il diminue les risques de certains cancers. Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, les radicaux peroxy et alkoxy en capturant les radicaux libres (Hostettmann, 1989). Ils stimulent la synthèse d'anticorps.

Ces données montrent que les substances actives de la chlorophylle ayant une activité protectrice significative et qui pourraient donc être utilisées contre les germes responsables de certaines pathologies (épidémies et infection).

VI.4 Histologie

Les résultats obtenus montrent que les trichomes sont abondants dans les feuilles, ce qui a été prouvée dans plusieurs études antérieures (David, 1997). Ces structures peuvent se différencier en glandes (*Ballota*), en vésicules (*Chenopodium*) ou en poils sécréteurs (*Urtica*). La formation de poils épidermiques unicellulaires à partir de cellules épidermiques de la feuille (trichome) constitue le modèle de référence pour l'étude des mécanismes gouvernant la détermination du devenir cellulaire chez les plantes (Dolan et Costa, 2001), ainsi que pour l'analyse de la structuration de l'épiderme (Schellmann et Hulskamp, 2005).

Les feuilles synthétisent et secrètent des quantités considérables des produits naturels par rapport aux tiges et aux racines, ce qui a été confirmé par le dosage des polyphénols ci-dessus. D'après les résultats de l'étude histologique, les trichomes sont abondants dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuille où les polyphénols sont en forte concentration par rapport à la tige, cela confirme alors que la présence ou bien l'absence des sites sécréteurs est étroitement corrélée avec la sécrétion de métabolites. Cette étude visait à fournir des informations utiles sur l'anatomie et la morphologie de ces sites. Les trichomes varient en morphologie, la structure et en nombre sur la surface de l'épiderme, selon les espèces, les organes et les contraintes de l'environnement (Serrato-Valenti *et al.*, 1997; Ascensao *et al.*, 1999; Rozema *et al.*, 2002).

Les chercheurs ont pour la plupart trouvé trois types principaux qui ont été observés chez les espèces étudiées, la présence de poils non glandulaires et glandulaires est caractéristique des espèces Lamiaceae (Werker *et al.*, 1985). Les trichomes peltés sont généralement composés de plusieurs cellules sécrétoires, qui pourrait varier en nombre selon les espèces *Salvia* de quatre cellules (Bisio *et al.*, 1999; Krstić *et al.*, 2006). En raison des grandes variations de la structure et la taille des trichomes capités certains auteurs soulignent leur importance en tant que caractère taxonomique de Lamiacées (Navarro *et al.*, 2000). La variation de la morphologie est étroitement liée aux processus de la sécrétion certains modifications ultrastructurales ont été observées au cours de la sécrétion, caractérisées par prolifération du système endomembranaire. Les deux trichomes glandulaires et non glandulaires étaient présents surtout dans les taxons étudiés de Ballote (Husain *et al.*, 1990; Maleci Bini & Servettaz, 1991) tandis que nos résultats et celle de (Osman, 2012) ne confirment pas exactement la similitude entre les espèces de ce genre, concernant la distribution, les types de trichomes et les mesures micrométriques qui ne sont pas totalement identiques dans ces espèces. Les trichomes se mettent en place à distance d'un autre trichome, et ne sont qu'exceptionnellement adjacents à un autre trichome, ce qui suggère l'existence d'un mécanisme de contrôle de la densité des trichomes (Hulskamp *et al.*, 1994). Malgré les différences observées dans leurs distributions épidermiques, les données de la génétique moléculaire ont permis de montrer qu'un ensemble commun de facteurs de transcriptions régulent la structuration des trichomes (Serna, 2005).

On a remarqué que l'épiderme inférieur présente un nombre de trichomes plus important que l'épiderme supérieur. Cela peut être dû à une influence environnementale sur le développement de trichomes. Cependant, le nombre de trichomes glandulaires est généralement un caractère très variable, qui est fortement influencé par des facteurs externes tels que la température et l'intensité de la lumière (Krstić *et al.*, 2006).

Gairola et *al.*, (2009) ont montré que les jeunes feuilles sont densément couvertes de trichomes; Cependant, la densité de ces trichomes diminue progressivement à la feuille maturité. Dans des études distinctes, Werker *et al.*, (1993) et Ascensão *et al.*, (1995) ont montré que la densité des trichomes était élevée dans les jeunes feuilles, mais a diminué rapidement avec l'expansion de la feuille. Alors que certaines études ont montré que les trichomes restent fonctionnels en maturité des feuilles (Werker, 2000), Plusieurs études ont montré que différents types de trichomes peuvent être produits par la même plante (Kaya et *al.*, 2003; Kolb & Muller, 2004; Serna & Martin, 2006; Kaya et *al.*, 2007).

La répartition et l'abondance des trichomes non glandulaires sur l'épiderme est un phénomène naturel dans la plupart des angiospermes et pourrait être associée à la protection contre les insectes butineurs et propagules aériennes de champignons (Fahn, 1967). Alors la surface de l'épiderme de la plante constitue la première barrière pour les agents pathogènes et les herbivores arthropodes (Fordyce *et al.*, 2009), les trichomes non glandulaires peuvent empêcher physiquement les mouvements des arthropodes herbivores sur la surface de la plante ou à prévenir les herbivores pour atteindre la surface avec leur rostre (Cardoso, 2008; Pott et *al.*, 2012). De plus, les arthropodes peuvent devenir piégés dans des exsudats tels que des sucres acyles ou les polyphénols produits par les trichomes. Les herbivores piégés meurent généralement en raison de toxines ingérées (Simmons et *al.*, 2004). Il est apparu que le pyrèthrine produit par les trichomes glandulaires (pyrèthres fruits) peuvent être pris par la semence et transmis aux plantes, ce produit entraîne une inhibition de la croissance fongique (Ramirez et *al.*, 2012). Les principales classes de produits chimiques secondaires qui ont été trouvés pour être produits par les trichomes sont les terpènes, les phénylpropènes et les flavonoïdes (Fridman *et al.*, 2005). Bien que tous ces composés jouent un rôle dans la défense de la plante, deux trichomes glandulaires et non glandulaires peuvent avoir de nombreuses autres fonctions, y compris l'attraction des pollinisateurs, la protection contre les UV en raison de la présence de flavonoïdes et d'autres composés absorbant les UV dans les trichomes, régulation de la température et la réduction de l'évaporation (Ehleringer, 1984), mais la fonction spécifique de chaque type de trichome n'est pas encore connue (Ascensão *et al.*, 1999). La duplication de gènes suivie de leur diversification fonctionnelle est un mécanisme évolutif permettant la création de nouvelles fonctions chez les trichomes (Causier et *al.*, 2005).

L'enquête ethnobotanique menée sur la Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) a permis d'évaluer le potentiel curatif de l'espèce étudiée dans les deux communes de la préfecture de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale). La population utilise surtout les feuilles pour traiter un certain nombre de pathologies comme la contusion, les blessures et les douleurs rhumatismales par voie d'administration généralement externe.

Les composés phénoliques sont métabolites secondaires synthétisées par les plantes, lorsqu'ils réagissent avec leur environnement. Pour démontrer cet effet, nous avons suivi la variation saisonnière sur la répartition quantitative des polyphénols dans les trois organes feuilles, tiges et racines durant les quatre saisons. Nos résultats montrent que les feuilles accumulent des quantités assez élevées polyphénols dans les quatre saisons, par rapport les tiges et les racines. La période estivale caractérisée par la dominance des flavonoïdes dans les feuilles, cette répartition inégale des métabolites dosés confirme alors que la sécrétion de métabolites secondaires répond au stress abiotique (climat...).

Les résultats screening phytochimique, CCM et HPLC réalisés sur les extraits de feuille de la *Ballota hirsuta* Benth a prouvé qu'elles contiennent différents groupes de composés chimiques notamment certaines classes flavonoïques, qui seraient responsables du pouvoir antimicrobien, et antioxydante de l'espèce étudiée.

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des antioxydants et des antimicrobiens naturels. À la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'étude de l'activité antioxydante des extraits de la ballote selon la méthode du radical libre DPPH a montré que ces derniers possèdent une activité anti radicalaire puissante par rapport d'autres espèces végétales, la fraction d'acétate d'éthyle s'est montrée plus active à céder le proton pour neutraliser le radical DPPH que celles de fractions du chloroforme et du n-butanol, cette activité due principalement aux substances flavonoïques que referment l'espèce étudiée.

Cependant les extraits flavonoïques de ballote hirsute possèdent un pouvoir inhibiteur considérable sur la croissance des souches microbiennes testées, la fraction d'acétate d'éthyle s'est montrée plus faible que celles de fractions du chloroforme et du n-butanol.

L'activité antioxydante et antibactérienne des flavonoïdes est étroitement liée avec le nombre des hydroxyles libres, alors que la présence ou l'absence de groupe OH est le facteur le plus important qui confère aux flavonoïdes les différentes activités biologiques.

Enfin cette étude phytochimiques est faite dans le but d'une validation scientifique des usages traditionnels de la *Ballota hirsuta*. Ces extraits pourraient donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques.

L'étude histologique révèle l'existence de trichomes abondants au niveau l'épiderme supérieur et inférieur des feuilles, deux types de trichome ont été observés : trichome glandulaire et non glandulaire. Ces sites de sécrétion varient en morphologie, la structure et en nombre sur la surface de l'épiderme cela est étroitement liée par influence des conditions environnementale (température..) sur le développement de trichomes, alors la présence ou bien l'absence de ces sites est à mettre parallèle avec la quantité de métabolite sécrétée.

L'ensemble des résultats expliquerait en partie, et ce de façon rationnelle, l'engouement des tradithérapeutes et la population en général à utiliser les plantes médicinales notamment *Ballota hirsuta* pour se soigner.

Selon la norme AFNOR NF. Z. 41-006)

- AIDOU A.** Fonctionnement des écosystèmes méditerranéens. Recueil des Conférences. Lab. Ecol. Vég. Univ. Rennes 1. France (1997) : 50 p.
- ALBERT W.W. CHRISTOPHER A., GRA.** Transformation of hispanolone Novel Michael adduct with, in planta activity against rice blast. (2005). vol.61(35): 8493-8498 p.
- ALBU S. JOYCE E. PANIWNKY L. LORILER J.P., MASON T.J.** Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*. (2004). Vol. 11: 261-265 p.
- ALOUF J.** Traité de microbiologie clinique Montagnier et Eyquem Ed Piccin Italie (2000) 23-34 p.
- AMAROWICZ R. TROSZNSKA A. SHAHIDI F.** Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. *J food lipids*.(2005).vol.12: 344-358 P.
- AMIC D. BESLO D. TRINAJSTIC N.** Structure–Radical scavenging activity relationships of flavonoids. *CROATICA CHEMICA Acta CCACAA*. ESLO.(2003). Vol. 76 (1) : 55-61 p.
- AMIN A.H. SUBBIAH T.V. ABBASI K.M.** Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay, and mode of action. *Can. J. Microbiol.*(1969). vol. 15: 1067-1076 p.
- ANYINAM C.** Ecology and ethnomedicine. Exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. *Social Science and Medicine*. (1995) vol. 4: 321-329 p.
- A.O.A.C.** Official methods of analysis. Ed Washington, D, Itth. 1970 185 P.
- ARON P.M. KENNEDY J.A** Flavan-3-ols, nature, occurrence and biological activity, *Mol. Nutr. Food Res*. (2008). Vol. 5: 79 -104 p.
- ARORA A. SAIRAM R. SRIVASTAVA G.** Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science* (2002). Vol. 82: 1227-1238 p.
- ASCENSAO L., MOTA L. & CASTRO M.** Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Ann. Bot.* (1999). Vol.84:437-447 p.
- ASCENSAO L., MARQUES N. & PAIS M.S.** Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Annals of Botany* (1995). Vol. 75:619–626 p

- ATHAMENAS.** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminumcyminum*L. Lebanese Science Journal. 2010 (11) 1.
- ATTAOUI I.** Contribution à l'écologie d'*Ampelodesmosmauritanicus* (poir) D et S. dans djebel Tessala (Algérie occidentale) Thèse de magister Université de Djilali Liabes Sidi Bel Abbes. (2008).
- AUDIGIE Cl. FIGUREARELLA J. ZONZAIN F.** Manipulations d'analyses biochimiques. Doin (Ed). Paris, (1978).274 p.
- BABAR ALI M. HAHN E.J. PAEK K.Y.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*.(2007). Vol.12: 607-621p.
- BALANSARD G.** Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés Antibactérienne
- BALLESTA M. BALLESTA C.PASCUAL.VILLALOBOS M J. RODRIGUE B.** Short communication.The antifeedant activity of natural plant products towards the larvae of *Spodopteralittoralis* Journal of Agricultural Research.2007. vol. 6(1):85-91 p.
- BARRI Y. WINGO C.** The effects of potassium depletion and supplementation on blood pressure a clinical review. Am J. Med Sci. 1997 314(1):37-40.
- BARTOSIKOVA. NECAS J. SUCHY V.** Antioxidative effects of morine in Ischemia-Reperfusion of kidneys in the laboratory Rat.Acta Brno. (2003). vol.72:87-94 p.
- BELOUED A.** Plantes médicinales d'Algérie. Ed Office de Publications Universitaires. Alger. (1998). 184 p.
- BELOUED A.** Plantes médicinales d'Algérie Ed 2.01.4267 (2001). 40 P.
- BENABDELI K.** Modalités pratiques de gestion de l'espace communal dans la wilayade Sidi Bel Abbés. Journée d'étude sur la protection de l'environnement dans la wilaya de Sidi Bel Abbés (1998).
- BENHAMMOU N. ATIK BEKKARA F., PANOVSKA K.T.**Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistaciaalenticus* and *Pistaciaatlantica*Desf. Advances in Food Science (AFS), (2007).vol.29(23): 155-161 p.
- BENYAHIA M. BENNABDELI K. MOUDDENE K.** Géologie, pédologie et systèmes de production dans les monts de Tessala (Sidi Bel Abbés). Ecosystèmes – Revue des Sciences de la nature et de l'environnement. (2001) vol .11 :70-75 p.
- BHORUNT.** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritus*. (1997) : 83-94 p.

- BIGENDAKO M.J. LEJOLY J.** La pharmacopée traditionnelle au Burundi. Pesticides et médicaments en santé animale. Pres. Univ. Namur, (1990). 425-442 p.
- BISIO A., CORALLO A., GASTALDO P., ROMUSSI G. CIARALLO G. FONTANA, N. TOMMASI N. & PROFUMO P.**Glandular hairs and secreted material in *Salvia blepharophylla* Brandegeee ex Epling grown in Italy. *Ann. Bot.* (1999). Vol. 83: 441- 452 p.
- BOIRGEOIS C. M. MESCLE J. F., ZUCA A. J.** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Tome I, Ed, Lavoisier. Paris 1988. 9 p.
- BONDET V., WILLIAMS W.B., BERSET C.** Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft Un Technologie*, (1997) vol.(30): 609-615 p.
- BOUARAB K.** Bases biochimiques et cellulaires des interactions plante-pathogène dans le système *Chondrus crispus* *Acrochaete operculata* These de Doctorat université de Paris 6 Spécialité Océanologie Biologique et Environnement Marin 2000. 107 p.
- BOUGANDOURA N.** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha spnepta* (nabta) et *Ajugaiva L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire de magister (2011).
- BOUKLIKHA M.** Essai d'améliorations édaphiques des sols argileux pour une occupation optimale (cas du versant sud du Tessala, Sidi Bel Abbes). Thèse de magister Université de Djilali Liabes Sidi Bel Abbes (2001).
- BRUNETON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Ed. Lavoisier. Paris (1993).
- BRUNRTON J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Paris: Editions médicales internationales. Editions Tec & Doc Lavoisier (1999).
- BRUNTON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, 4^{ème} Edition Lavoisier (2009).
- BURT S.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* (2004). Vol.94 : 223-253 p.
- CALZADA F. VELAZQUEZ C. CEDILLO R. R. ESQUIVEL B.** Antiprotozoal activity of the constituents of *Teloxys graveolens*. *Phytother. Res.* (2003). 17: 731-732 p.
- CARDOSO M.Z.** Herbivore handling of a plant's trichome: The case of *Heliconius charithonia* (L.) (Lepidoptera: Nymphalidae) and *Passiflora lobata* (Killip) Hutch. (Passifloraceae). *Neotrop. Entomol.* (2008). 37:247–252 p.

- CARSON C. F. MEE B.J.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* (2000). Vol. 46: 1914-1920 p.
- CAUSIER B., CASTILLO R. ZHOU J. INGRAN R. XUE Y. SCHWARZ Z. DAVIES B.** Evolution in action: following function in duplicated floral homeotic genes. *CurrBiol* (2005). Vol. 15: 214-219 p.
- CHARIF K. BENABDELI K.** Importance de la maîtrise de l'occupation des espaces dans la lutte contre la désertification. *Rev. Ecosystème.* (2001). Vol 1 : 1-5 p.
- CHERIFI K. BOUZIDI M ALI.** Approche préliminaire d'étude d'impact du surpâturage dans les Monts de Tessala (Wilaya de Sidi Bel Abbes) Université Djilali Liabes, Sidi Bel Abbes, Algérie. (2008).
- CHERIFI K. MEHDADI Z. LATRECHE.** Impact de l'action anthropozoogènes sur l'écosystème forestier du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Sécheresse*(2011). vol. 22 : 197-206 p.
- CITGLU G., TANKER M. SEVER B. ENGLERT J. ANTON R. ALTANLARN.** Antibacterial activities of diterpenoids isolated from *Ballotasaxatilis* subsp. *Saxatilis*. *PlantaMedica.* (1998).vol. 64(5): 484-485 p.
- CITOGLU G. S. SEVER B. ANTUS S. BAITZ. GACS E. A.** Nurten, *Pharm. Biol.* (2004). Vol.42: 659-663 p.
- CITOGLU G. TANKER M. SEVER. ELERT J. ANTON R. ALTANLAR N.** Antibacterial activities of diterpenoids isolated from *Ballotasaxatilis* subsp. *Saxatilis*. *Planta Medica* (1998). vol. 64(5): 484-485 p.
- COQUE R.** Géomorphologie. Ed. Armand collin. Paris.(1977). 452p.
- CORNET A.** La désertification un problème d'environnement, un problème de développement. Résumé de la conférence Agropolis Museum. 2002. 29 p.
- COWAN M. M.** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.* (1999). vol.12 (4) : 564-570 p.
- DALLAOUI.** Géologie des monts de Tessala. Éd. SÉDES, Paris, (1952). 385 p.
- DAVID M.** Molucular genetic analysis of trichome development in *Arabidopsis* *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* (1997). Vol. 48:137-63 p.
- DECLOITRE F.** Impact des facteurs alimentaires sur les mécanismes de la cancérogénèse : bases d'une prévention des cancers par l'alimentation. *Cahiers de Nutrition et de diététique.* (1993). Vol. 28(2) : 85-95 p.

- DELA G. OVADIA R. NISSIM A. WEISS D. OREN-SHAMIR M.** Changes in anthocyanin concentration and composition in ‘Jaguar’ rose flowers due to transient high-temperature conditions. *Plant Science*.(2003). Vol. 164: 333–340 p.
- DOHOU N., YAMNI K. TAHROUCH S. I. DRIDDANI L M. BADOUC A. GMIRA** Screening phytochimique d’une Endémique ibéro-marocaine , *Thymelaealithroides* Bull Soc.pharm Bordeaux (2003). vol. 142:61-78 p.
- DOLAN L., COSTA S.** Evolution and genetics of root hair stripes in the root epidermis. *J Exp Bot.* (2001). vol. 52:413-417 P.
- DOSHI H. KOTHARI I.** Spectroscopic and scanning electron microscopy studies of bioaccumulation of pollutants by algae. *Current. Microbiology* . (2006). Vol. 35: 148-157P.
- DOUGUEDROIT A.** le climat du bassin méditerranéen. In : le climat, l’eau et les hommes. ouvrage en l’honneur de jean MOUNIER, Presses Universitaires de Rennes. (1997) : 251-280 p.
- DUBEY V.S. BHALLA R.** An overview of the non- mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plant *J.Bisci.* (2003). vol. 28 (5). 637-646 p.
- DUDAREVA N ANDERSSON S. ORLOVA I. GATTO N. REICHEL T. RHOES D.** The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flower *Ed Rodney B . Croteau, Washington State University .Pullman, WA.PNAS.*(2005). vol.102 (3) 933-038 p.
- DURAFFOURD C., LAPRAZ J.C.,& CHEMLI R.** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granché. Paris. (1997): 222 p.
- EBRAHIMZADEH M. A. POIRMMORAD F. HAFEZI S.** Anti oxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish journal of biology*, (2008).vol. 32: 43-49 p.
- ECKER J.R.** (1995). The ethylene signal transduction pathway in plants. *Science* 268, 667-675.
- EHLERINGER J.** Ecology and ecophysiology of leaf pubescence in North American desert plants. In *Biology and Chemistry of Plant Trichomes*; Rodriguez, E., Healey, P.L., Mehta, I., Eds.; Plenum Press: New York, NY, USA. (1984). 113–132 p.
- EI HADRAMI I. RAMOS T. EI BELLAJ M. EI IDRISI T. MACHEIX .** A sinapic derivative as an induced defense compound of date plam against *Fusariumoxysporum* sp. *albedinis*, the agent causing bayoud disease. *J. Phytopathol.* (1997).Vol. 145: 329-333 p.
- EI-HIALY J. LYOUSSI B. WIBO M. MOREL N.** Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajugaiva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology.* (2004). Vol.93: 69-74 p.

- ELODIE GUINOISEAU.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action thèse de Doctorat Université de Corse.
- ENYEDI A.J. YALPANI N. SILVERMAN P. RaASKIN I.** Signal molecules in systemic plant resistance to pathogens and pests. *Cell.* (1992).vol. 70 : 879-886 p.
- ES –SAFI N. E.KOLLMANN I. KHLIFI S. et DUCROT P. H.** Antioxidants effect of compounds isolated from *Globulariaaalpum*L Structure-activity relationship. *LWT-Food* et exercices. Ellipses editions marketing S A. (2003). 99-101 p.
Faculté des Sciences et Techniques 2010. 143 p.
- FAERBER J.** Microscopie électronique à balayage Microanalyse X par sonde électronique, Institut de physique et chimie de matériaux de Strasbourg (2004). 5- 53 P.
- FAHN A.** Plant Anatomy.Pergamon Press, Oxford. . (1967):534 p.
- FAHSELT D.** Secondary biochemistry of lichens. *Symbiosis.* (1994). Vol.16, 117-165 p.
- OUZILLEAU J. PAYETTE S.** Croissance de quelques lichens à caribou du genre *Cladonia* (sous-genre *Cladinà*) en milieu subarctique. Nouveau-Québec. *Naturaliste canadien*, (1975). 102. vol. 597-602 p.
- FALLAH H., KSOURI R., CAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N. TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLY C.** Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies.* (2008). Vol. 331: 372-379 p.
- FERKA ZAZOU N.** Impact de l'occupation spatio-temporelle des espaces sur la conservation de l'écosystème forestier : Cas de la commune de Tessala, wilaya de Sidi Bel Abbés, Algérie. Mémoire de Magister, Univ. Tlemcen (2006). 154 p.
- FERRERES F. TOMAS. BARBERAN. FTOMAS.LORENTE.** Flavonoid compound from *Ballotahirsuta*, *J. Nat. Prod.* (1986) vol. 49 (3): 554–555 p.
- FORDYCE J.A. AGRAWAL A.A.** The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battusphineor*.*J. Anim. Ecol.* (2001), 70: 997–1005 p.
- FOURNIER P.** Les plantes médicinales Tome I. (1947). 183 p.
- FRANCISCO A. TOMAS-BARBER N. SYED Z-H., MARIA I.G.** The Distribution of Methylated Flavones in the Lamiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology.*(1988).16: 43-46 p.
- FRIDMAN E. WANG J. IJIMA Y. FROEHLICH J.E. GANG D.R. OHLROGGE J. PICHERSKY E.** Metabolic, genomic and biochemical analyses of glandular trichomes from the wild tomato species *Lycopersiconhirsutum* identify a key enzyme in the biosynthesis of methyl ketones. *Plant Cell.*(2005).17: 1252–1267 p.

- GAIROLA S., NAIDOO Y, BHATT A & NICHOLAS A.**An investigation of the foliar trichomes of *Tetradeniariiparia*(Hochst.)Codd [Lamiaceae]: an important medicinal plant of Southern Africa. *Flora*. (2009). vol. 204: 325-330 P.
- GAMET-PAYRASTRE L. MANENTI S. GRATACAP M.P. TULLIER J. CHAP H. PAYRASTRE B.** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology*. (1999). vol.32: 279- 286 p.
- GENERALIC I. SKROZA D. SURJAK J. MOZINA S. LJUBENKOV I. KATALINIC A. SIMAT V. KATALIC V.** Variations saisonnières des composés phénoliques et des propriétés biologiques de la sauge (*Salvia officinalis* L). *ChemBiodivers*. (2012).Vol.2:441-57 p.
- GIBBONS S.** Phytochemicals for bacterial resistance – strengths, weaknesses and opportunities.*Planta Med*. (2008) vol. 74: 594-602 p.
- GOMEZ-CARAVACA A.M. GOMEZ-ROMERO M. ARRAEZ-ROMAN D. SEGURA-CARRETERO A. FERNANDEZ-GUTIERREZ A.** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. (2006). vol.41: 1220-1234 p.
- GORLACH J. RAESECHE H, RENSCH .REGENASS M. ROY P. ZALA M. KEEL C. BOLLER T. AMRHEIN N. & SCHMID J.** Temporally distinct accumulation of transcripts encoding enzymes of the prechorismate pathway in elicitor-treated, cultured tomato cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* .(1995). 92: 3166-3170 p.
- GORTZI O. LALAS S. CHINOI I. TSAKNIS J.** Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules*. (2007). 12: 932-945 p.
- GUIGNARD J L.** Botanique systématique moléculaire *Ed Masson* Pris (2001).
- GUIGNARD J. L. COSSON M. HENRY.** Abreger de phytochimie. *Ed. Masson*, (1985). 224p.
- HADI M.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. (2004). 155p.
- HAMM H. LIM M.** Structure of amide I band of peptides measured by femtosecond nonlinear- infrared spectroscopy *J phyd chm*.(1998). vol. 102 23-61 P.

- HEIM K.E., TAGLIAFERRO A.R., BOBILYA D.J.** Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *Journal of Nutritional Biochemistry*. (2002). Vol. 13(10): 572-584 p.
- HERTOG M. G.** Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceeding of the nutrition society*.(1996). vol. 55: 385-397 p.
- HOFFMANN L. BESSEAU S. GEOFFROY P. RIZENTHALER C. MEYER D. LAPIERRE C. POLLET B. LEGRAND M.** Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*, (2004). Vol.16: 1446-1449 p.
- HOFFMANN L., BESSEAU S., GEOFFROY P., RIZENTHALER C., MEYER D., LAPIERRE C., POLLET B.** et Legrand M. Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. (2004). Vol.16(6) : 1446 p.
- HOPKINS G.** Physiologie végétale 2^{ème} édition Université des sciences et technologie de Lille France (2003). 270 p.
- Hopkins G.,** 2003. Physiologie végétale 2^{ème} édition Université des sciences et technologie de Lille France (2005). 270 p.
- HOSTETTMAN K. POTTERAT O.** Plant sources of natural drugs and compounds. *Encyclopedia of environmental Biology*(1995). Vol.3:139-153 p.
- HOSTETTMANN K.** Tout Savoir sur le Pouvoir des Plantes Sources de Médicaments. Editions Favre, Lausanne. (1997). Vol. 93: 104-135p.
- HUANG D.J. LIN C.D. CHEN H. J. LIN Y.H.** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents *Bot. Bull. Acad. Sin.* (2004). Vol. 45 : 179-186 p.
- HULSKAMP M.** Plant trichomes: a model for cell differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol* (2004). Vol. 5: 471-480 p.
- HUMAIN S.Z., DIKLIC N. & PETKOVIC B.** Micromorphological and phytochemical studies in two endemic *Nepeta* (Lamiaceae) species in Yugoslavia. *Pak. J. Bot.* (1989). vol. 21: 210-217 p.
- HUNT M.D. DELANEY T.P. DIETRICH R. A. WEYMANN K.B. DANGL J.L. & RYALS J.A.** Salicylate independent lesion formation in Arabidopsis *Isd* mutants. *Mol. Plant-Microbe Interact.* (1997). Vol. 10: 531-536 p.
- JONES J.D.G. DANG I. J.L.** The plant immune system. *Nature*.(2006). Vol. 444: 323-329p.

- JUDDI W.S., CHISTOPHER S.C. ELIZABETH A.K., PETER S.** Botanique systématique, une perspective phylogénétique 1^{ère} édition. (2002). 3710 P.
- JULIEN F.** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidiainvolucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne. 2002 p.
- KALEMBA D, KUNICKA A.** (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829 p.
- KAROU D., DICKO M. H., SIMPORE J. YAMEOGO S., SANON S. et TRAOR2 A. S.** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Maîtrise des procédés en vue d'améliorer la qualité des aliments, utilisation des OGM, analyse des risques en agroalimentaire. novembre. Ouagadougou. (2005). 8-11p.
- KARUMI Y., ONYEYILI P.A. et OGUGBUAJA V.O.** Identification of Active Principles of *M. balsamia* (Balsam Apple) Leaf Extract. *J. Med. Sci.* (2004). vol.4 (3) : 179-182 p.
- KAYA A, DEMIRCIASER K.** Glandular trichomes and essential oils of *Salvia glutinosa* L. *South African Journal of Botany.* (2003). vol.69: 422-427 p.
- KAYA A., DEMIRCI B. & BASER K.** Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. & Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oils. *South African Journal of Botany.* (2007). Vol. 73: 29-34 P.
- KEITH B. DONG X. AUSUBEL F.M. & FINK G.R.** Differential induction of 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase genes in *Arabidopsis thaliana* by wounding and pathogenic attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (1991). Vol. 88: 8821-8825 p.
- KIKKEN R.** Géologie et stratigraphie des monts de Tessala. Edit. FOUQUET Oran. (1962). p 220.
- KIVILOMPOLO M., HYLAINEN T.** Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *J Chromatography A.* (2007). Vol. 1145: 155-164 p.
- KOLB D. MULLER M.** Light, conventional and environmental scanning electron microscopy of the trichomes of *Cucurbitapep* sp. *pep* var. *styriaca* and histochemistry of glandular secretory products. *Annals of Botany* (2004). Vol. 94: 515-526 p.
- KONE W.M. KAMANZI, TERREAUX C. HOSTETTMANN K., TRAORE D. DOSSO M.** Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol.* (2004). Vol. 93: 43-49 p.

- KRSTIC L. MALENCIS D. et ANACKOV G** .Structural investigations of trichomes and essential oil composition of *Salvia verticillata*. *Bot.Helv.*, (2006). Vol. 116 : 159-168 p.
- KURBATOVA NV, MUZYCHKINA RA, MUKHITDINOV NM, PARSHINA GN C** (2003). Comparative phytochemical investigation of the composition and content of biologically active substances in *Marrubium vulgare* and *Marrubium alternifolium*. *Chem Nat Comp* 39: 501–2
- LAHOUEL M. 2005**. Interaction flavonoïdes-mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de doctorat de
- LAMAISON J.L.C. et CARNET A**. Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la végétation. *Pharm. Acta. Helv.* (1990). Vol. 65: 315-320 p.
- LAMARTI A. BaADOC A. DEFFIEUX G. CARDE J.P.** Biogenèse des Monoterpènes. *Bull. Soc Pharm. Bordeaux* (1994). vol.133:69-118 p.
- LAMERT R.G.W., SKANDAMIS P.N., COOTE P.J. NYCHAS G. J.E.** Study of the minimum inhibitory concentration and mode of action oregano essential oil, thymol and carvacrol, *Journal of Applied Microbiology*, (2001). vol.91: 459-462 p.
- LATIFOU L**. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur de Strasbourg. (2005).
- LAURENT L**. Eléments minéraux. In : *Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. Volume 4. Lavoisier (Ed). Paris. (1991) 78-98 p.
- LEBRETON P, JAY M, VOIRIN B** (1967) Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoïdes. *Chim. Anal. Fr* vol.49 (7): 375-383 p.
- LEE K. W. KIM Y.J. LEE H.J. LEE C.Y.** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than tea and red wine. *Food Chemistry*. (2003). Vol. 51:7292-7295 p.
- LEK, CHIU F.** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 1(2007).05, 353-363.
- LICHTENTHALER H.K.** Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembrane, *Methods in Enzymology*. (1987). Vol.148:350-382 p.
- LIN JK, WENG MS** Flavonoids as nutraceuticals. In: Grotwold E (ed) *The science of flavonoids*. Springer, Columbus, Ohio, (2006).213–39 p.
- LOUKIDOU.M ZOUBOULIS A.** Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) Biosorption by *Aeromonas caviae*. *Colloids and surface A Physio. Chem. Eng. Aspect* (2004) 242: 93 -104 P.
- LUGASI A. HOVARI J. SAGI K. V. BIRO L.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*. (2003). Vol.47(4): 119-125 p.

l'université Mentouri de Constantine.

MAATAOUI B. S., HMYENE A., HILALI S. Activites anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. (2006). vol. 7: 3-8 p.

MACHEIX J.J., A. FLEURIET C. JA-ALLEMAND. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'une importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires. Romandes. Lausanne (2005) .

MALAMY J. KLESSIG D.F Salicylic acid and plant disease resistance. *The Plant Journal* (1992).vol.2 :643-654 p.

MALECI BINI L., A. PINETTI & SERERVETTAZ O.Micromorphological and phytochemical researches on *Teucriummassiliense*L. In: *Advances in Labiatae Science. Royal Botanic Gardens*, (Eds.): R.M. Harley and T. Reynolds. (1992). 349-355 p.

MALES Z.MEDIC-ŠARIC M.Optimization of TLC analysis of flavonoids and phenolic acids of *Helleborusatrorubenswaldst. Et Kit*. *Journal of Pharmceutical and Biomedical Analysis*.(2001). Vol. **24**: 353-359 p.

MALES Z., MEDIC-ŠARICM. BUCAR F. Flavonoids of *Guierasenegalensis*J F GMEL–Thin layer chromatography and numerical methods. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA*.,(1998). Vol.71 (1) : 69-79 P.

MARKHAMK R.Téchniques of flavonid identification, *Biological Téchniques Series* .Ed.Treherne J.E etRubery P. H Academic Press. (1982). 113 P.

MATKOWSKI A. PIOTROWSKA M. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. (2006). vol. 77: 346-353 p.

MEHDIOUI R.K. Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira) *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie*. (2007). Vol. 29 : 11-20 p.

MIARA M.D AIT HAMMOU. HADJADJ S. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*. (2013) vol.11:206-218 p.

MIDDLETON E. KANDASWAMI C. THEOHARIDES T. C.The effects of plants flavonoids on mammalian cells.Implication for inflammation, heart disease, and cancer.*Phamacological reviews*. (2000). Vol.52 (4): 673-751 p.

MOLE S. WATERMAN P.G.critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II, Techniques for biochemically defining tannins.*Oecologia*. (1987).Vol 72: 148-156 p.

MOLYNEUX P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* (2004). vol. 26 (2):211-219 p.

MULLER F. H. Allelopathy, an update. *The Botanical Review* 1980.17-109 p.

NARAYNA KR, REDDY MS, CHALUVADI MR, KRISHINA DR. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J Pharmacol* (2001). vol.33: 2–16 p.

NATARAJAN D., JOHN S. SRINIVASAN K. NAGAMUGAN N., MOHANASUNDRI C., PERUMAL G. Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol.*(2005) vol. 102: 123-126 p.

NAVARRO T., & EL OUILIDI J. Trichome morphology in *Teucrium* L. (Labiatae), a taxonomic review. *Annals Jardin Botanique de Madrid.* (2000). Vol. 57:277-297 p.

NF- 05-108 Produced agriculture. Products derived from the fruits and vegetables. Conventional determination of the soluble dry residue .Refractometric method. 1970.

NOVAIS M.H. SANTOS I MENDES S. Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *J. Ethnopharmacology.* (2004.) vol.93: 183-195 p.

O.N.M Office National de Météorologie Données climatiques de 1985 à 2013. Oran (2014).

O.N.M. Office National de Météorologie Données climatiques de 1980/2009 (2009).

OSMAN A.K. Trichome micromorphology of Egyptian *Ballota*(LAMIACEAE) with emphasis on its systematic implication *Pak. J. Bot.* (2012). Vol. 44(1): 33-46 p.

ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie.* (2007). 42 p.

OZBEK H. CITOGLU G.S. DULGER H. UGRAS S. SEVER B. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Ballota glandulosissima*. *Journal of Ethnopharmacology* (2004). Vol.95:143-149 p.

OZTURK M., AYDOGMUS-OZTURK F., DURU M-E. Topcu, G. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.* (2007) Vol.103: 623-630 p.

PAOLINI V. DORCHIES P. HODTE H. Effet des tanins condensés et des plantes à sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre Unité Mixte Associée INRA /ENVT « physiopathologie des Maladies infectieuses et parasitaires des Ruminants » Toulouse 2003.5 P

PARK H. J. CHA H. C. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean Journal of biological society*, (2003). Vol.7: 327-330 p.

PATZAK A. *Ann. Naturh. Mus. Wien.* (1962). 57-86 p.

- PERONNY S.** La perception gustative et la consommation des tanins chez le MAKI *Lemurcatta* thèse de Doctorat en Eco-Ethologie. Muséum national d'histoire naturelle P154
- PERSIDIS A.** Antibacterial and antifungal drug discovery. *Nature Biotechnol.* (1999) :17 : 1141-1142.
- PINCEMAIL J. MEURISSE M. IMET R. L. DEFRAIGNE J. O.** Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *vaisseaux, coeur, poumons.*, 1999.4 (4) p.
- PODSEDEK A.** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT.* (2007). Vol.40:1-11 p.
- PORTER N.** Essential oils and their production. *Crop & Food Research.* Number.(2001). 39.
- POTT C., MLOUGHLIN S. SHUNQING W. & FRIIS E.M.** Trichomes on the leaves of *Anomozamites villosus* sp. nov. (Bennettitales) from the Daohugou beds (Middle Jurassic), Inner Mongolia, China: Mechanical defence against herbivorous arthropods. *Rev. Paleobot. Palyno.*(2012). Vol. 169: 48–60 p.
- products isolation, (éd. Canell, R. J. P.); Humana Press, Totowa, 1998.473 p.
- QUEZEL.** Biodiversité végétale de forêts méditerranéennes, son évolution d'ici à trente ans. forêts méditerranéenne, (1999) : 3-8p.
- RAMESH M.N.** Effet of cooking and drying on the thermal conducting of rice. *Int.Journal. Food. Properties.* (2000). Vol. 3:1 77-92 p.
- RAMIREZ A.M. STOOPEN G. MENZEL T.R. GOLS R. BOUWMEESTER H.J. DICKE M. JONGSMA M.A.** Bidirectional secretions from glandular trichomes of *Pble* immunization of seedlings. *Plant Cell* (2012). Vol.24: 4252–4265 p.
- RAVEN P. RAY E. SUSEN E.** Biologie végétale 6^{ème} édition Paris. 2003. 33 p.
- RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E.** *Les composés phénoliques des végétaux.* Traité d'oenologie. Paris : Édition Dunod, 1968. 254 p.
- ROTA M. C. HERRERA A., MARTINEE R. M., SOTOMAYOR J. A. et JORDAN M. J.** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and
- ROZEMA J., BJOEN L. BORNMAN J. GABERS A. HADER D. TROST T.** The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems-an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology.*(2002). Vol. 66: 2–12 P.
- RUIZ G.** Extraction, Détermination structurale et valorisation chimique de phycolloïdes d'algues rouge. Thèse N° 58-2005 chimie appliquée, chimie des naturelles Université de Limoges. (2005).

- SANTOYO S. HERRERO F. SENORANS A.** Functional characterization of pressurized liquid extracts of spirulina platensis Eur. Food Res Technol. (2006). Vol. 224: 75-81 p
- SAVONA G., PIOZZI. HANSON F .J. R., SIVERNS M. J.** Chem. Soc., Perkin.(1976). Vol. 15: 1607-160 p.
- SCHELLMANN S. HUSKAMP M.** Epidermal differentiation: trichomes in *Arabidopsis* as a model system. *Int J Dev Biol.* (2005). Vol. 49: 579-584 p.
- science and technology.* (2007). Vol. 40: 1246-1252 p.
- SEGUIRI R.** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires du Genre *Centaurea: C. africana, C. nicaensis* Thèse de Doctorat Université Mentouri – Constantine. (2006).
- SELTZER S.** Le climat d'Algérie. Alger, (1946) 219 .
- SEREMA L MARTIN C.** Trichomes: different regulatory networks lead to convergent structures. *Trends in Plant Science* (2006). Vol.11: 274- 280 p.
- SERNA L .** Epidermal cell patterning and differentiation throughout the apical-basal axis of the seedling. *J Exp Bot.* (2005) . vol. 56: 1983-1989 p.
- SERRATO-VALENTI G., BLISIO A. CORNARA L. & CIRALLO G.** Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. *Ann. Bot.* (1997).vol.79:329-336 p.
- SHAN B., CAI Y.Z., BROOKS J.D., CORKE H.** The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J Food Microbiology.*(2007). vol.117: 112-119 p.
- SHARMA S. SANGWAN N. S. SANGWAN R. S.** Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint. *Current Science.* (2003). 84 (25): 544-550 p.
- SIMMONS A.T., GURR G.M. MCGRATH D. MARTIN P.M. NICOL H.I.** Entrapment of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on glandular trichomes of *Lycopersicon* species. *Austr. J. Entomol.* (2004) vol. 43: 196–200 p.
- SINE J. P.** Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours
- SOICHIGER E. SAVOLAINE V.V. FIGEATM. JEAN M.B.** Botanique systématique des plantes à fleurs une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales 3^{ème} édition. (2004). 413p.
- SOLISIO C LODI A. TORRE P. CONVERTI A. DEL BORGHI M.** Copper removal by dry and rehydrated biomasse of *Spirulina platensis* (2006).
- SOLTNER D.** Les bases de la protection végétale. Tom II, 4^{ème} édi. Sci et Tech. Agr. Sainte Gène sur la Loire. France.(1987).466 p.

- SOLTNER** Les bases de la production végétale – La plante et son amélioration édition Dominique; Collection Sciences et techniques agricoles Tome III 2001.
- SOLTNER** Les bases de la production végétale Le sol et son amélioration; édition Dominique; Collection Sciences et techniques agricoles. Tome I (2003).
- STALIKAS C. D.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Review. *J. Sep. Sci.* (2007). vol. 30:3268 – 3295 p.
- STEAD P. SILVA G. I. LEE I. S. KINGHORN D. A. & WRINGHT A. E.** Natural
- STERMIZ F.R. LORENZ P. TAWARA J.N. LAUREN A. ZENEWICZ L. LEWIS K** Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2000a). vol.97: 1433-1437 p.
- STERMIZ F.R. LORENZ P. TAWARA J.N. LAUREN A. ZENEWICZ L. LEWIS K** 5'-Methoxyhydnocarpin-D and pheophorbide A: *Berberis* species components that potentiate berberine growth inhibition of resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Nat. Prod.* (2000b). vol.63: 1146-1149 p.
- SWAIN T. HILLIS W.E.** The phenolics constituents of *Prunus domestica*-I- the quantitative analysis of phenolics constituents. *J. Sci. Food Agric.* (1959). vol.10: 63-81 p.
- TABUTI J.R.S. LYE K.A. DHILLION S.S.** Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J. Ethnopharmacology.* (2003). vol. 88:19-44 p.
- TEPE B. SOKMEN M., AKPULAT H.A., SOKMEN.A** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* . (2006). vol.95: 200-204 p.
- THIERRY H.** Investigation chimique chimiotaxonomique pharmacologique de lamiales protectrices d'antioxydants *Marrubium peregrium*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées) Thèse de doctorat Université de Lille France.(2006).
- TISSIERA.** Glandular trichomes: What comes after expressed sequence tags *Plant J.* (2012). vol.70:51–68 p.
- TOTH E. TOTH G. MATHE I. BLUNDEN. BIOVHEM G.** *Syst. Ecol.* (2007) 35: 894-897 p.
- TOTH ENIKO. GABOR JANICSAK I. GERALD B.** Determination of phenylpropanoids in three *Ballota* species *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC.* (2009). Vol. 22 :293-296p.
- TOTHE. GADOR J. IMRE M. GERALD B.** Determination of phenylpropanoids in three *Ballota* species. *Journal of Planar Chromatography.*(2009). Vol. 4:293-296 p.

- TSAI P. TSAI T. HOS. SHIAU, C. CHENG B.** Role of polyphenols in antioxidant capacity of napiergrass from different growing seasons. *Food Chemistry*, (2007). Vol.106: 27–32 p.
- TSAI P., TSAI T. and HO S.** In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chem.*, 2007, 105 (1), 311-316.
- ĆETKOVIC G.S. ĆANADANOVIC J. CETKOVIC D.D.** Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana L. subsp. Kitaibelii* Extracts. *Int. J. Mol. Sci.* (2007). vol.8(10) : 1013-1027 p.
- TURKMEN N., VELIOGLU Y. S SARI F. POLAT G.** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. (2007). vol.12:484-496 p.
- VARBAN D. I. DUBA M. VARRBAN R. MUNTEAN S.** Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis L.* Culture. *Bullet in UASVM Agriculture*. (2009). Vol. 66(2): 225- 229 p.
- VERHOEHN M. E. BOVY A. COLLINS G. MUIR S. ROBINSON S. COLLIVER S.** Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*. (2002). Vol.53(377) : 209 -210 p.
- VRCHOCSKA V. J. SPILKOVA P. VALENTAON. SOUSA. SEA R.M.** *Food Chem.* (2007). Vol.10.1016 p.
- WANG J. MAZZA G.** Effet of anthocyanins and other Phenolic compounds on the production of the Tumor Necrosis Factor alpha in LPS /IF N-Y Activated RAW 2664 . 7 Macrophages . *J. Agric. Food Chem .* (2002) .vol. 50:4183 p.
- WEKER E., PUTIEVSKY E. RAVID U. DUBAI N. & KATZIR I.** Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum L.* (Lamiaceae). *Annals of Botany* (1993). Vol. 71: 43-50 P.
- WERKER E RAVID U. PUTIEVSKY E.** Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Isr. J. Bot* (1985). vol.34 : 34-45 p.
- WERKER E.** Trichome diversity and development. *Advances in Botanical Research*. (2000). vol. 31: 1-35p.
- WERKER E., RAVID U.& PUTIEVSKY E.** Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Isr. J. Bot.*, (1985).vol.34, 31-45 p.
- WHITTAKER R. H. FEENEY P. P.** Allelochemicals: Chemical interactions between species. *Science*, (1971). Vol. 171 (3973): 757-769 p.

WIVECKE D. Contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens Fructiculeux *cladinastellaris* et *Cladina Rangiferina* Mémoire présenté à l'université du Québec 2003 212 p.

WONG C.C., LI H.B., CHENG K.W., CHEN F.A. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay.

XINDE X., SHANJING Y., NING H., BIN S.H. Measurement and influence factors of the flowability of microcapsules with high content β carotene, *Chin. Journal. Chem. Eng.* (2007). Vol. 15:579–585 p.

XOPLAKI E. Climate variability over the Mediterranean. Thèse de Doctorat de l'Université de Berne (Suisse) (2002). 193p.

XU Y.C., LEUNG S.W.S., YEUNG D.K.Y., HU L.H., CHEN G.H., CHEN C.M., MAN R.Y.K. Structure- activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery. *Phytochemistry*. (2007). Vol. 68: 1179-1188 p.

ZEIN EL DINE, NOUCEUR, BENOIT, LANGEL, IMEN TURKI. changements climatiques au Maghreb : vers des conditions plus humides et plus chaudes sur le littoral algérien. *Géographie physique et environnement* volume (2013). vol.7 : 307- 323 p.

Site web:

<http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/nt/29985/synthese>

Enquête ethnobotanique sur la *Ballota hirsuta* Benth à Sidi Bel Abbes (Algérie)

Ethnobotanical investigation of *Ballota hirsute* (Benth) at Sidi Bel Abbes (Algeria)

K. Kechar · B. Hellal · N. Ayad · A. Benahmed-Djilali

© Lavoisier SAS 2015

Résumé L'enquête réalisée en 2012 dans la ville de Sidi Bel Abbes et la commune de Tessala (Algérie occidentale) a permis d'identifier 11 pathologies traitées par les différentes parties de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth). L'espèce étudiée est très fréquemment utilisée par la population citadine de la ville de Sidi Bel Abbes. La population des deux localités l'a classé comme plante médicinale. Les résultats de l'enquête ont montré que les feuilles constituent la partie la plus utilisée par rapport aux autres organes de la plante. L'espèce est employée, dans la majorité des cas, sous forme de cataplasme et en poudre. La poudre est utilisée beaucoup plus par les hommes (6,4 à 9%) que par les femmes (6 à 8,4%). L'utilisation sous forme de cataplasme est aussi plus ou moins élevée chez les hommes (11 à 20%) que les femmes (10 à 18%). Les maladies les plus fréquemment traitées par la plante étudiée sont la contusion, les blessures et les douleurs rhumatismales.

Mots clés *Ballota hirsuta* Benth · Plante médicinale · Tessala · Sidi Bel Abbes

Abstract Our investigation, carried out into 2012, in Sidi Bel Abbes city and Tessala town (western Algeria), allowed to identify 11 pathologies to treat by the various parts of *Ballota hirsuta* Benth. The species studied is frequently used by the urban population of the city of Sidi Bel Abbes. The population of the two communities has classified as medicinal plant. The results of the survey showed that the leaves are the most used part then the other organs of the plant. This species is used in most cases as cataplasm and powder, the powder is used

more by men (6.4 to 9%) than women (6 to 8.4%). Use as cataplasm is higher or lower in men (11 to 20%) than women (10 to 18%). The most commonly treated by the plant diseases are studied contusion, injuries and rheumatic pain.

Keywords *Ballota hirsuta* Benth · Medicinal plants · Tessala · Sidi Bel Abbes

Introduction

Les plantes médicinales sont encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement [1]. Ainsi selon l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé [2]. Les progrès de la chimie d'extraction ont permis d'obtenir les principes actifs à l'état pur et de tester leurs effets thérapeutiques ; c'est le temps des pénicillines isolées [3]. De nos jours beaucoup d'herboristes et personnes de peu de ressources utilisent des plantes, aux vertus médicinales, pour traiter plusieurs maladies [4]. La ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) est reconnue dans la pharmacopée traditionnelle algérienne pour traiter diverses pathologies grâce aux substances actives qu'elle renferme comme les flavonoïdes (quercetin-3-glucodide, luteolin-7-rutinoside...) [5]. L'enquête ethnobotanique s'est avérée indispensable pour identifier l'utilisation des différentes parties de la ballote hirsute. Elle s'avère également indispensable pour la recherche des principes actifs causant la guérison. Elle s'inscrit dans le cadre d'une étude transversale ayant pour objectif l'utilisation de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) par la population de la province de Sidi Bel Abbes (Algérie). La population enquêtée, découragée par la cherté des médicaments de synthèse et leurs effets secondaires, s'approvisionne fréquemment en plantes médicinales chez les herboristes et les tradipraticiens. Notre enquête contribue à rassembler et constituer une source d'information très précieuse sur l'espèce étudiée, prête à être exploitée sur le plan scientifique.

K. Kechar (✉) · B. Hellal · N. Ayad
Laboratoire de biodiversité végétale : conservation et valorisation,
Université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbés, 22000, Algérie
e-mail : kechark@yahoo.fr

A. Benahmed-Djilali
Laboratoire de technologie alimentaire :
Faculté des sciences de l'ingénieur Université,
M'hamed bougara boumerdes, 35000, Algérie

Matériel et méthodes

Zone d'étude

La wilaya de Sidi Bel Abbès borde la partie méridionale occidentale du Tell algérien. Située au nord ouest du pays. Elle occupe une position centrale stratégique et s'étend sur environ 15% de l'espace régional, totalisant de ce fait une superficie cadastrale de 915 063 km². La ville de Sidi Bel Abbès est située à 470 m d'altitude. La commune de Tessala fait partie d'un ensemble de communes montagneuses à cheval entre trois wilayas (Sidi Bel Abbès, Oran et Ain Témouchent). Elle couvre une superficie de 11.824 ha. Il s'éloigne de la ville de Sidi Bel Abbès d'environ 10 km et est traversée par l'axe routier RN 95 reliant Sidi Bel Abbès-Témouchent (Fig. 1). Elle s'inscrit entre les coordonnées géographiques suivantes : X1= 35°17'20.34", Y1= 0°51'54.67", X2= 35°20'31.04", Y2= 0°42'54.96". La localité de Tessala est surmontée par une montagne abritant tout un ensemble des plantes médicinales dont l'espèce étudiée. Elle constitue le grenier des herboristes et des tradipraticiens de la région. Le choix de la deuxième localité est basé sur la proximité du mont de Tessala par rapport à la ville de Sidi Bel Abbès. Cette dernière abrite un nombre considérable d'herboristes et de tradipraticiens.

Les stations concernées par l'enquête

L'enquête a été menée dans trois stations dans chacune des deux localités. Les trois stations de la localité de Tessala sont éloignées l'une de l'autre de 300 m en moyenne. Les stations 1 et 2 se trouvent à la périphérie tandis que la station 3 est par contre située au centre du village de Tessala. Les trois sta-

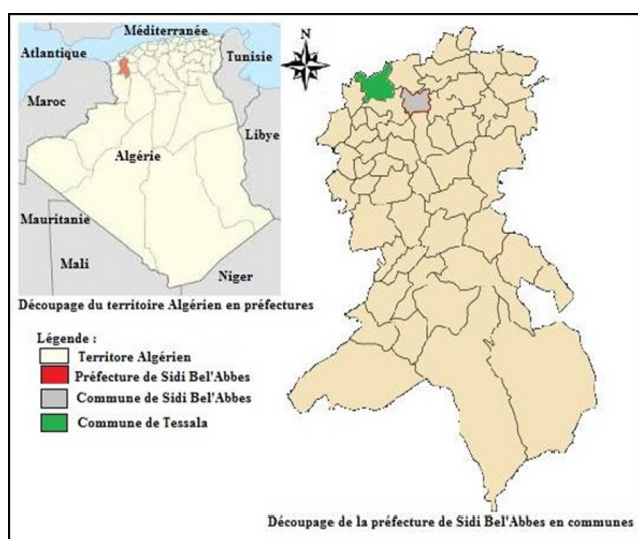


Fig. 1 Localisation des deux localités de la préfecture de Sidi Bel Abbès (Algérie occidentale)

tions échantillonnées de la ville de Sidi Bel Abbès sont choisies en fonction de la fréquentation de la population constatée au niveau de l'hôpital universitaire, les herboristes et les tradithérapeutes.

Population enquêtée

Cette enquête réalisée durant les mois de Février, Mars et Avril de l'année 2012, a porté sur l'utilisation, le mode d'emploi et les maladies traitées par cette plante. La population enquêtée compte 500 personnes de niveaux intellectuels et de sexes différents. Elle est constituée par 220 hommes et 280 femmes de différents âges.

Les paramètres de l'enquête sont portés sur une fiche destinée à rassembler les différents renseignements recherchés auprès de la population (Tableau 1).

Description de la plante

La ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) est une plante vivace, rameuse et entièrement couverte d'un duvet très court. Elle appartient à la famille des lamiacées caractérisée par des tiges ligneuses et velues de 24 à 60 centimètres de hauteur (Fig. 2). Les feuilles sont ovales ou arrondies à fortes nervures ; les supérieures sont sessiles à dents très obtuses tandis que les inférieures sont cordiformes ou tronquées à la base. Les fleurs sont de couleur rose ou pourpre en glomérules denses à l'aisselle des feuilles, lèvre supérieure bifide [6].

La plante évolue dans un matorral à une altitude de 789 m. Le couvert végétal est une formation naturelle à base de palmier nain (*Chamaeropshumilis* L.), la rue de Chalep (*Ruta chalepensis* L.), la rue des montagnes (*Ruta montana* L.), la germandrée blanc-grisâtre (*Teucrium polium* L.), la sauge argentée (*Salvia argentea* L.), le thym cilié (*Thymus ciliatus* (Desf.) Benth), l'urginée maritime (*Urginea maritima* L.), le calycotome épineux (*Calycotome intermedia* Presl.), le chêne vert (*Quercus ilex* L.) et l'olivier (*Olea europea* L.) [7]. Les conditions climatiques régnant dans cette région se caractérisent par une amplitude thermique annuelle de 33°C où les minimas avoisinent les 2,5°C et les maximas 35,5°C ; la pluviométrie se situe entre 335 et 409 mm. L'humidité relative affiche un maximum de 77% en hiver et un minimum de 52% en été. Ces caractéristiques climatiques indiquent que la région où évolue la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) est située dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver frais [8].

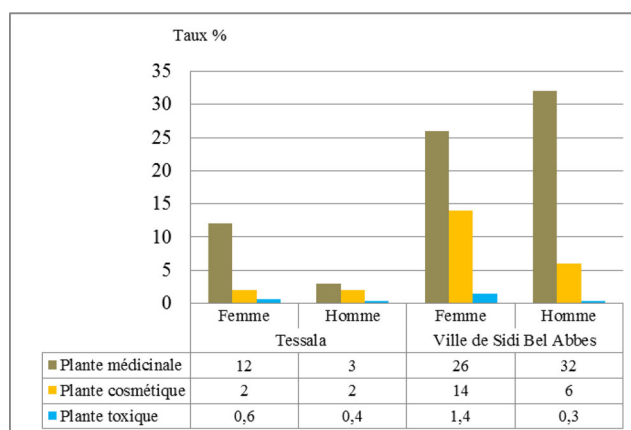
Résultats

Les vertus de la ballote hirsute

Ballota hirsuta Benth est considérée, en grande partie par les enquêtés dans les deux localités, comme plante médicinale.

Tableau 1 Questionnaire d'enquête ethnobotanique.

Localité :
Sexe :
Femme
Homme
Age :
Niveau intellectuel :
Utilisation de la plante :
Plante médicinale
Plante cosmétique
Plante toxique
Partie utilisées :
Feuille
Tige
Racine
Fleur
Grain
Fruit
Mode d'utilisation :
Infusion
Macération
Décoction
Poudre
Cataplasme (préparation pâteuse)
Administration :
Application locale
Voie orale
Bain
Maladies traitées par la plante :
Contusion
Blessure
Douleurs rhumatismales
Antiseptique
Carie dentaire
Nervosité de la ménopause
Stomachique
Tonique
Traitement des ongles
Vermifuge
Stimulant de grossesses

**Fig. 2** Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth.) en floraison**Fig. 3** Les vertus de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) à Tessala et Sidi Bel Abbas

Elle est aussi considérée comme plante cosmétique par les femmes (Fig. 3).

Parties utilisées de la plante

Les différents organes de la plante sont utilisés pour traiter les diverses pathologies. Les feuilles sont les plus utilisées par la population interrogée de la ville de Sidi Bel Abbas comptant 36% de femmes et 27,2% d'hommes. Elles sont aussi employées par la population de Tessala (7,8% de fem-

mes et 12% d'hommes). Les fleurs sont beaucoup plus utilisées par rapport aux autres organes par la population féminine (14%) de Tessala (Fig. 4).

Mode de préparation de la plante

La plupart des recettes nécessitent au préalable le séchage de la partie concernée de la plante ; tandis que d'autres l'utilisent à l'état frais. Les résultats de l'enquête indiquent que les organes de la plante sont employés sous forme d'une préparation pâteuse (cataplasme), avec une fréquence élevée à Sidi Bel Abbas (20% chez les hommes et 18% chez les femmes) et à Tessala (11% chez les hommes et 10% chez les femmes). Les préparations, à base de poudre, sont aussi employées à

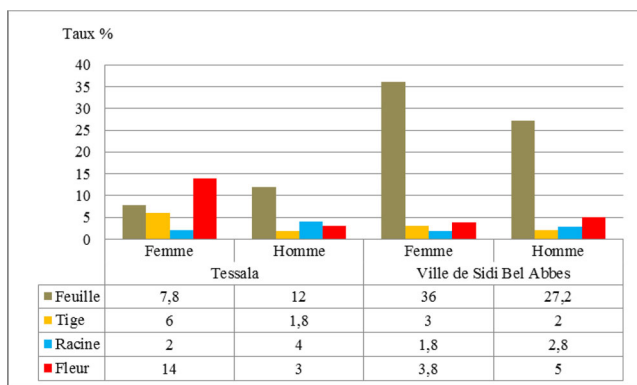


Fig. 4 Les parties utilisées de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) à Tessala et Sidi Bel Abbès

des fréquences variables selon le sexe et la localité (8,4% chez les femmes et 9% chez les hommes de la ville de Sidi Bel Abbès). Les autres modes de préparation de la ballote hirsute sont peu employés par la population autochtone (Fig. 5).

Domaines d'indication thérapeutique

La ballote hirsute est très prisée par les tradipraticiens comme remède à de nombreuses maladies. Elle est très souvent utilisée pour traiter les lésions sous-cutanées (contusion), les douleurs rhumatismales et guérir diverses plaies. Les fréquences les plus élevées concernent le traitement des contusions (12,4% à 14%). Elles sont relevées chez la population enquêtée de la ville de Sidi Bel Abbès. Le traitement des blessures et des douleurs rhumatismales, par la ballote hirsute, présente respectivement des taux allant de 6,8% à 8,4% et 7,2% à 8% (Fig. 6). La plante étudiée est utilisée par les femmes pour tonifier la peau (5,6% à 8% de la population féminine enquêtée). L'enquête ethnobotanique a mis

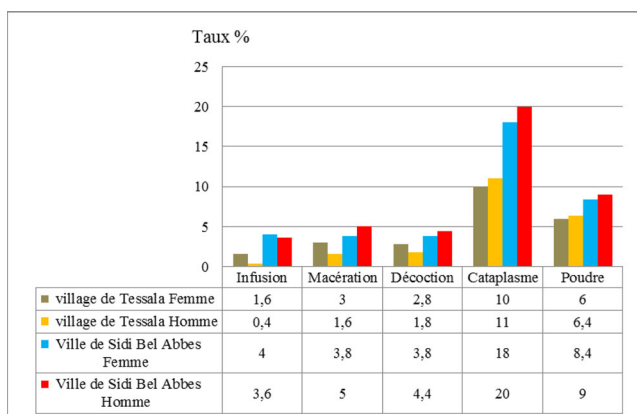


Fig. 5 Le mode de préparation des parties utilisées de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) à Tessala et Sidi Bel Abbès

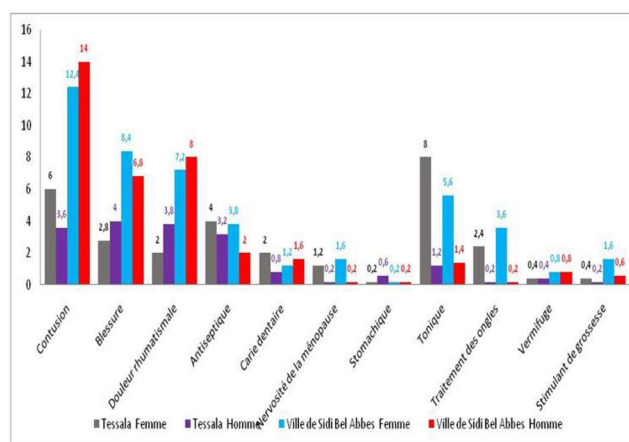


Fig. 6 Les maladies traitées par la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) à Tessala et Sidi Bel Abbès

en évidence l'usage médical traditionnel des différentes parties de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth). Les résultats sont rassemblés dans le tableau 2.

Fréquences d'utilisation de la plante par localité et par sexe

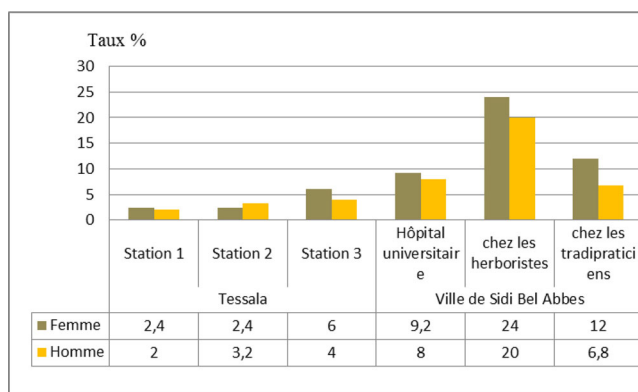
Les forts pourcentages de personnes possédant l'information sur la plante étudiée concerne la population enquêtée de la ville de Sidi Bel Abbès. Le taux le plus élevé est observé chez les herboristes (20% chez les hommes et 24% chez les femmes). Viennent ensuite les tradipraticiens avec des taux de 6,8% chez les hommes et 12% chez les femmes. Les personnes enquêtées à l'hôpital universitaire, constituées de patients et du corps médical, ont des connaissances thérapeutiques sur l'espèce étudiée. Les femmes sont plus informées sur la thérapeutique de l'espèce (9,2%) que les hommes (8%). La population enquêtée de Tessala présente des taux inférieurs à celle de la ville de Sidi Bel Abbès (Fig. 7).

Discussion

Les informations reçues auprès des enquêtées révèlent que les feuilles de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) sont les plus utilisées dans les deux communes de la préfecture de Sidi Bel Abbès de l'Algérie occidentale. L'utilisation abondante des feuilles sous diverses formes est à mettre en parallèle avec l'abondance des familles chimiques présentes dans cet organe. Elle peut être expliquée par le fait qu'elles sont le siège de la photosynthèse et le stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante [9]. La sécrétion de ces métabolites est due principalement à l'existence de plusieurs catégories de tissus sécréteurs chez l'espèce étudiée [10]. Ils sont universellement

Tableau 2 Résultats de l'enquête ethnobotanique menée sur l'utilisation de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth.) selon la population enquêtée de Tessala et de Sidi Bel Abbas (Algérie occidentale).

Maladies traitées	Parties utilisées	Préparations	Administrations
Contusion	Feuilles, Tiges	Poudre, cataplasme	Application locale
Blessure	Racines, Feuilles	Poudre, cataplasme	Application locale
Douleur rhumatismale	Racines, feuilles	Décoction	Application locale
Antiseptique	Feuilles, fleurs, tiges	Macération	Bain corporel
		Décoction	
Carie dentaire	Feuilles	Décoction	Bain buccal
		macération	
Nervosité de la ménopause	Feuilles	Infusion, macération	Voie orale
Stomachique	Feuilles	Infusion	Voie orale
Tonique	Fleurs, feuilles	Macération, décoction	Gommage
			Bain corporel
Traitement des ongles	Feuilles	Macération, décoction	Application locale
Vermifuge	Feuilles	Infusion	Voie orale
Stimulant de grossesse	Feuilles, tiges	Infusion, poudre	Voie orale

**Fig. 7** Fréquence d'utilisation de la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth.) à Tessala et Sidi Bel Abbas dans chaque station

présents dans la cuticule et les cellules épidermiques des feuilles.

Les feuilles, les tiges et les racines sont transformées, après séchage, en poudre. Cette dernière est utilisée directement ou sous forme de pâte à base d'eau et de beurre pour traiter la contusion, les blessures et d'autres infections de la peau. Les pâtes sont employées surtout chez les hommes pour traiter la contusion et les inflammations de la peau dues aux morsures des chiens.

L'enquête a montré que la plante étudiée est utilisée par la population autochtone pour traiter 11 maladies dont la contusion, les blessures et les douleurs rhumatismales. Les tradipraticiens rapportent que les lésions sous cutanées sont généralement traitées par cette espèce. Les extraits de cette dernière sont utilisés par les hommes et les femmes comme désinfectant. Cette activité est due essentiellement aux produits terpéniques comme l'hispanolone qui a donné le nom

Ballota hispanica [11]. Les travaux de Citoglu et al [12] prouvent l'activité antibactérienne de l'extrait de *Ballota* et montrent les effets du dehydrohispanolone et de la ballonigrine contre les bactéries et les champignons. Les femmes questionnées emploient les fleurs sous forme de masque avec d'autres additifs pour tonifier la peau. Les préparations à base de fleurs sont utilisées contre les radicaux libres sécrétés par le corps qui provoquent le vieillissement précoce de la peau [13]. Les flavonoïdes exercent une action antalgique intéressante dans le cas des douleurs rhumatismales. Quatorze flavonoïdes ont été obtenus à partir des parties aériennes de l'espèce étudiée [14].

Les résultats sont en concordance avec plusieurs travaux montrant que la famille la plus représentée est celle des Lamiacées [15]. Des études à l'échelle méditerranéenne ont abouti aux mêmes constatations [16,17]. Cette famille est réputée par l'abondance de différentes formes de trichomes, site de synthèse des métabolites, issues des cellules épidermiques [18]. Plusieurs types de trichomes sont observés chez au moins 5 genres de *Ballota* [19]. L'étude structurale des trichomes menée par Burt [20], a mis en lumière la nature du matériel sécrété et leur signification fonctionnelle. Les espèces aux trichomes glandulaires produisent généralement une quantité de bioactive relativement importante [21].

La fréquence d'utilisation de la plante dans la ville de Sidi Bel Abbés est très liée au profil des personnes enquêtées et le niveau d'études de cette population, la grande majorité des usagers d'espèce sont des analphabètes et des personnes âgées. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal presque partagé, cependant les femmes ont un peu plus de connaissances sur l'espèce étudiée par rapport aux hommes. Ces résultats confirment les résultats d'autres travaux ethnobotaniques, qui ont montré que les femmes sont davantage

détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel, le séchage, le stockage et la préparation des recettes pour les soins des membres de la famille. Les soins sont effectués par les femmes tandis que la collecte des plantes dans les zones réputées dangereuses est assurée par les hommes. La connaissance des usages et les propriétés des plantes médicinales sont généralement acquises suite à une longue expérience. Les jeunes, comparés aux personnes âgées, ne connaissent généralement pas les noms vernaculaires ni l'utilité de l'espèce. Ils recourent à la médecine conventionnelle pour se soigner. La transmission de l'usage et le savoir faire des plantes médicinales se fait de moins en moins entre les générations [22]. La source d'informations de l'usage des plantes en médecine traditionnelle s'amenuise par la disparition des personnes âgées et le manque d'archivage des connaissances des thérapeutiques des plantes médicinales.

Conclusion

L'enquête ethnobotanique menée sur la ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth) a permis d'évaluer le potentiel curatif de l'espèce étudiée dans les deux communes de la préfecture de Sidi Bel'Abbes (Algérie occidentale). La fréquence d'utilisation de cette espèce dans la ville s'est accrue par l'augmentation du nombre d'herboristes et de tradipraticiens. La population utilise surtout les feuilles pour traiter un certain nombre de pathologies comme la contusion, les blessures et les douleurs rhumatismales par voie d'administration externe. La majorité des remèdes est préparée sous forme de cataplasme. Certains tradithérapeutes ont signalé certains effets secondaires comme le vomissement et le vertige liés à un surdosage. A cet effet, la sensibilisation est de mise pour les générations futures lors de la transmission du patrimoine socio-culturel par les tradithérapeutes.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts

Références

1. Tabuti J, Lye K, Dhillon S (2003) Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J Ethnopharmacology* 88:19–44
2. Salhi S, Fadli M, Zidane L, et al. (2010) Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133–46
3. Ghestem A, Seguin E, Paris M, et al. (2008) Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique, Pharmacologie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed Tec & Doc, INTER, 275 p.
4. Beloued A (1998) Plantes médicinales d'Algérie. Ed Office de Publications Universitaires. Alger, p 184
5. Ferreres F, Tomas-Barberana FA, Tomas-Lorente F (1986) Flavonoid compound from *Ballota hirsuta* *J Nat Prod* 49 (3): 554–5
6. Quezel P, Santa S (1963) Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes (ed) Centre national de la recherche scientifiques Pris France, 19 p
7. Cherifi K, Mehdadi Z, Latreche A, et al. (2011) Impact de l'action anthropozoogènes sur l'écosystème forestier du mont de Tessa (Algérie occidentale). *Sécheresse* 22 : 197–206
8. Office National de Météorologie (2013) Données climatiques de 1970 à 2012. Oran
9. Bigendako M, Lejoly J (1990) La pharmacopée traditionnelle au Burundi. Pesticides et médicaments en santé animale. *Pres Univ Namur* pp 425-442
10. Bruneton J (1993) Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France : Ed Lavoisier, pp 278-279
11. Rodriguez B, Savona G, Piozzi F (1979) Two new unusual diterpenoids from *Ballota hispanica*. *Journal of Organic Chemistry* 44(13): 2219–21
12. Citoglu G, Tanker M, Sever, et al. (1998) Antibacterial activities of diterpenoids isolated from *Ballota saxatilis* subsp. *Saxatilis*. *Planta Medica* 64(5): 484–5
13. Vârban D, Duda M, Vârban R, et al. (2009) Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. *Bull UASVM Agricul* 66(2): 225–9
14. Ferreres F, Tomas-Barberana FA, Tomas-Lorente F (1986) Flavonoid compound from *Ballota hirsuta*. *J Nat Prod* 49 (3): 554–5
15. Mehdioui R (2007) Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira) *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie* 29: 11-20
16. Novais M, Santos I, Mendes S, et al. (2004) Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *J. Ethnopharmacol* 93: 183–95
17. Miara M, Ait Hammou, Hadjadj Aoul S (2013) Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie* 11:206–18
18. Werker E, Ravid U, Putievsky E (1985) Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Isr J Bot* 34 : 34–45
19. Osman A (2012) Trichome micromorphology of egyptian *Ballota* (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication Botany Department Faculty of Science, South Valley University, Qena, EgyptPak. *J Bot* 44(1): 33–46
20. Burt S (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int J Food Microbiol* 94: 223–53
21. Miguel M (2010) Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules* 15: 9252–87
22. Anyinam C (1995) Ecology and ethnomedicine. Exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. *Soc Sc Med* 4: 321–9