



Université Larbi Ben M'hidi Oum El – Bouaghi

Faculté Des Sciences Exact Et Sciences De La Nature Et De La Vie

Département De Sciences De La Nature Et De La Vie

Thèse De Doctorat

Pour L'obtention Du Diplôme De Doctorat 3ème Cycle En Biologie

Option: Biologie Et Physiologie Végétale

THÈME :

**Valorisation des espèces végétales de l'Est Algérien « Etude
phytochimique, caryologique et activités biologiques des huiles
essentielles »**

Présentées par:

OUNOUGHI ABDELKADER

Soutenue le 06/07/2021

Devant le Jury:

Kribaa Mohamed	Professeur	Univ. Larbi Ben M'hidi Oeb	Président
Ramdani Messaoud	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Directeur De Thèse
Lograda Takia	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Examineur
Zellagui Amar	Professeur	Univ. Larbi Ben M'hidi Oeb	Examineur
Gherraf Noureddine	Professeur	Univ. Larbi Ben M'hidi Oeb	Examineur

Laboratoire de : Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles (VRBN)

Année 2021

Remerciement

Avant toute chose, Je Remercie Allah Le Tout Puissant Pour Tout...

*J'exprime ma reconnaissance et ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur **Ramdani Messaoud**, Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, mon encadreur pour tous ses efforts et pour le soutien qu'elle m'a témoigné tout au long de cette étude placée sous sa direction, ses compétences scientifiques, pour son aide et son encouragement qui ont été pour moi un solide repère et réconfort dans tous les moments.*

*Je tiens à remercier très vivement Monsieur **Kribaa Mohamed** « Université Larbi Ben M'hidi oum elbouaghi » qui m'a honoré en acceptant d'être président de ce jury et pour ses précieux conseils.*

*Je tiens à remercier Les examinateurs: **Lograda Takia - Zellagui Amar - Ghrraf Noureddine**, pour avoir accepté de faire partie du jury à fin d'examiner et d'apprécier notre travail.*

*Je remercie Madame **El kolli Meriem** pour son aide, sa gentillesse et pour son encouragement.*

Je remercie tous mes enseignants de l'année théorique, et ceux qui ont participés par leur soutien dans la réalisation de la partie pratique.

Enfin, Je remercie toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail par un soutien moral ou matériel.

Dédicace

Je remercie Allah de m'avoir aidé et donné la santé, Le courage et la volonté

afin d'atteindre mon objectif

Je dédie ce travail :

A ma source de bonheur, d'amour et de lumière, mes chers parents

A mes sœurs

A tous mes amis

بسبب التوجه الكبير مؤخرا الخصائص المفيدة للمواد الطبيعية البيولوجية خاصة منها النباتية في
(.....) المفرط للمواد الصناعية. ارتأينا دراسة

Inula viscosa حيث جمعت عيناته من 15 . الزيوت الأساسية

للأجزاء الهوائية لهذه العينات تم الحصول عليها بواسطة التقطير المائي باستخدام جهاز Clevenger.
هذا الأخير قوية مع مردود ضعيف قدر : 0,23%, التحليل الكيميائي

لهذه الزيوت الأساسية تم بتقنية الكروماتوغرافيا الطور الغازي المرفقة بمطيافية (GPC/SM).

حيث تمكنا من 75 كيميائي مع وجود تباين في تركيز هذه المركبات من عينة لأخرى

وهذا يؤكد التحليل الإحصائي. المركبات الأساسية في هذه الزيوت هي le polygodial, nerolidol-Z

le phytol, le fokienol, l'intermedeol néo, le caryophyllène oxide, le nerolidol-E

l' α -ionone isométhyl-E. قدرت النشاطية ضد بكتيرية لهذه الزيوت الأساسية على 15 بكتيرية

عن طريق تقنية على الوسط الصلب حيث أسفرت عن امتلاك هذه الأخيرة تأثيرا مرتفعا ضد جميع

بكتيرية . والتي أظهرت امتلاك هذه الزيوت لنشاطية ضد ميكروبية عالية.

النشاطية المضادة للأكسدة للزيوت عن طريق تقنية DPPH والتي أسفرت عن نشاطية ضعيفة.

الكربولوجية من تحديد العدد لهذا النوع و هو الصيغة $2n=18$.

$x=9$.

الكلمات المفتاحية.

Inula viscosa ، 'الزيت الأساسي' كيب الكيميائي 'بكتيري'

الدراسة الكربولوجية.

Résumé

En raison de la grande tendance récente à exploiter les propriétés bénéfiques des matériaux biologiques naturels, notamment végétaux, dans divers domaines (médical et alimentaire ...) et à limiter l'exploitation excessive des matériaux industriels. Nous avons décidé d'étudier la plante médicinale *Inula viscosa*, car ses échantillons ont été collectés dans quinze stations de l'Est de l'Algérie. Les huiles essentielles des parties aériennes de ces échantillons ont été obtenues par distillation aqueuse avec un appareil de type Clevenger. Ce dernier aboutit à un liquide visqueux de couleur jaune et à forte odeur avec un faible rendement de 0,23%: L'analyse chimique de ces huiles essentielles a été réalisée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM). Nous avons identifié 75 composants chimiques avec une variation de concentration de ces composés d'un échantillon à l'autre, et cela est confirmé par l'analyse statistique. Les composants majoritaires de ces huiles sont le polygodial, le phytol, le fokienol, l'intermedeol néo, le caryophyllène oxyde, le nérolidol-E, l' α -ionone isométhyl-E et nérolidol-Z.

L'activité antibactérienne de ces huiles essentielles a été estimée sur 15 souches microbiennes par diffusion sur milieu solide, car il en résulte un effet élevé de ces dernières contre toutes les souches microbiennes testées. Ce qui a montré que ces huiles ont une forte activité antibactérienne contre ces souches bactérienne. L'activité antioxydante des huiles a été testée par la technique DPPH, ce qui a entraîné une faible activité. L'étude chromosomique de cette espèce a également permis de déterminer un nombre de chromosomique diploïdes $2n = 18$. Avec un nombre de base $x = 9$ pour tous les échantillons étudiés.

Les mots clés

Inula viscosa, Algérie, huiles essentielles, L'analyse chimique, antibactérienne, antioxydante, étude chromosomique.

Abstract

Due to the recent great tendency to exploit the beneficial properties of natural biological materials, in particular plants, in various fields (medical and food ...) and to limit the excessive exploitation of industrial materials. We decided to study the medicinal plant *Inula viscosa*; its samples were collected in 15 regions of eastern Algeria. The essential oils of the aerial parts of these samples were obtained by aqueous distillation with a Clevenger type apparatus. The latter resulted in a viscous liquid with a yellow color and a strong odor with a weak yield of 0.23%: The chemical analysis of these essential oils was carried out using gas-phase chromatography attached to mass spectrometry (GPC/SM). We identified 75 chemical components with variation in the concentration of these compounds from sample to sample, and this is confirmed by statistical analysis. The major components of these oils are polygodial, phytol, fokienol, neo intermedeol, caryophyllene oxide, nerolidol-E isomethyl-E, α -ionone and nerolidol-Z.

The antibacterial activity of these essential oils was estimated on 15 microbial strains by diffusion on solid medium, since this result in a high effect of the latter against all the bacterial strains tested. This showed that these oils have a strong antibacterial activity against these microbes. The antioxidant activity of the oils was tested by the DPPH technique, which resulted in low activity. The chromosomal study of this species also made it possible to determine the number of diploid chromosomes $2n = 18$. With a base number $x = 9$ for all the samples studied.

Key words

Inula viscosa, Algeria, essential oils, Chemical analysis, antimicrobial, antioxidant, chromosome study.

- Publication

Ounoughi Abdelkader, Ramdani Messaoud, Lograda Takia, Chalard Pierre, Figueredo Gilles. 2018. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Elaeoselinum thapsioides* (Desf) Maire from Algeria. Sch. Acad. J. Biosci. 6(11): 704 – 712.

Ounoughi Abdelkader, Ramdani Messaoud, Lograda Takia, Chalard Pierre, Figueredo Gilles. 2020. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of *Hertia cheirifolia* L. from Algeria. Acta Scientifica Naturalis. ASN. 7(2): Pages 31 – 43.

Ounoughi Abdelkader, Ramdani Messaoud, Lograda Takia, Chalard Pierre, Figueredo Gilles. 2020. Chemotypes and antibacterial activities of *Inula viscosa* essential oils from Algeria. BIODIVERSITAS. 21(4): 1504 – 1517.

- participation à des congrès

Abdelkader Ounoughi, Ramdani Messaoud, Lograda Takia, Chalard Pierre, Figueredo Gilles. 2018. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of *Hertia cheirifolia* L. from Algeria. 4^{ème} journées internationales de chimie organique d'Annaba. Université Badji Mokhtar Annaba, faculté des sciences. 1-2 et 3 décembre 2018

Ounoughi Abd elkader, Messaoud Ramdani, Takia Lograda, Pierre Chalard. 2019. Chemical investigations of volatile constituent of *Inula viscosa* populations from Algeria. 7^{ème} Congrès international de biotechnologie et valorisation des bio-ressources (BVBR), 20-23 mars 2019, Tabarka, Tunisie.

Ounoughi Abdelkader, Ramdani Messaoud, Lograda Takia, Chalard Pierre, Figueredo Gilles. 2019. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of *Inula viscosa*, Aiton from Algeria. 2^{ème} édition du symposium national : protection des végétaux en zones arides. Université Mohamed khider, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie. 12 novembre 2019.

Ounoughi Abdelkader, Ramdani Messaoud, Lograda Takia, Chalard Pierre, Figueredo Gilles. 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Elaeoselinum thapsioides* (Desf) Maire from Algeria. 1^{er} symposium national biomolécules and biotechnologies. Université saad dahalb blida1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 18-19 décembre 2019.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

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

Chapitre I. Généralités

1- Tribu des <i>Inuleae</i>	4
1-2- Le genre <i>Inula</i>	4
1-3- <i>Inula viscosa</i> L	4
1-3-1 Description botanique et habitat	5
1-3-2-Classification botanique	7
1-3-3-Utilisation médicinale	7
2- Les huiles essentielles.....	8
2-1- Caractères physico-chimiques des huiles essentielles.....	9
2-3- Composition chimique des huiles essentielles.....	9
2-3-1- Les composés terpéniques.....	13
2-3-2- Les composés aromatiques.....	14
2-4- Qualité des huiles essentielles.....	15
2-5- Rôle de l'huile essentielle dans la plante.....	15
2-6- Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles.....	16
2-7- Composition chimique des huiles essentielles d' <i>Inula viscosa</i>	17
2-8- Activités des huiles essentielles.....	17
2-8-1- Les activités antibactériennes.....	18
2-8-3- Activité antioxydante... ..	19
2-9- Emplois des huiles essentielles.....	20
2-10- La toxicité des huiles essentielles.....	21
2-11- Conservation des huiles essentielles.....	22
2-12- Extraction des huiles.....	19
2-12-1- Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	22
2-12-1-1- Extraction par distillation à la vapeur.....	22
2-12-1-2- Extraction d'huiles essentielles par les solvants.....	24
2-12-1-3- Extraction par enfleurage.....	24
2-12-1-4- Extraction par CO ₂ supercritiq.....	24
2-12-1-5- L'expression à froid.....	25

2-12-1-6- Extraction par fluide a l'état supercritiq.....	25
2-13- Méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	26
2-13-1- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM).....	26
2-13-2- La chromatographie liquide à haute performance (CLHP).....	27
2-13-3- La résonance magnétique nucléaire (RMN).....	27
3- la caryologique.....	28

Chapitre II. Matériel et méthodes

1- Matériel végétal	32
1-1- Description d'espèce échantillonnée.....	32
1-2- Zone d'étude.....	32
2- Méthodes.....	34
2-1- Extraction des huiles essentielles.....	34
2-1-1- Le rendement en huile essentielle.....	35
2-2- Analyse chimiques des huiles essentielles.....	35
2-2-1 indices de KOVATS.....	37
2-3- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	37
2-3-1- Méthode de diffusion.....	37
2-3-2- Préparation des milieux de culture.....	38
2-3-3- Aromatogramme.....	39
2-3-4- Repiquage des souches bactériennes.....	40
2-3-5- Préparation de l'inoculum bactérien.....	40
2-3-6- Ensemencement.....	40
2-3-7. Préparation des disques.....	40
2-4- Evaluation de l'activité antioxydants des huiles essentielles.....	41
2-4-1- Piégeage du radical DPPH	41
2-5- Méthode caryologique.....	43
2-5-1- Prétraitement.....	43
2-5-2- Fixation.....	44
2-5-3- Maturation.....	45
2-5-4- Coloration et Technique d'écrasement (Squash).....	45

2-5-5- Préparation de l'orcéine acétique.....	45
2-5-6- Coloration et écrasement des racines.....	45
2-5-7- Observation et photographie.....	46
2-5-8- Montage et conservation des préparations.....	46
2-6- Analyse statistique.....	47
2-6-1- Analyse en Composantes Principales (ACP).....	47
2-6-2- Analyses UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means).....	47
2-6-3- Analyse de variance (ANOVA).....	48

Chapitre III : Résultats et Discussion

1- Résultats chimiques.....	49
1-1- Rendement en huiles essentielles.....	49
1-2- Analyse chimique des huiles essentielles.....	50
1-3- Analyses statistiques.....	57
1-3-1- Analyse en Composantes Principales (ACP).....	57
1-3-1-1- Etude des variables.....	57
1-3-1-2- Etude des populations.....	61
1-3-2- Analyse des clusters (UPGMA).....	63
1-4- Discussion.....	65
2- Résultats microbiologiques.....	68
2-1- Activité antibactérienne des huiles essentielles d' <i>Inula viscosa</i>	68
2-2- Analyse de la variance (ANOVA) de l'huile essentielle d' <i>Inula viscosa</i>	71
2-3- Test de désirabilité.....	74
2-4 Discussion.....	75
3- Activité antioxydant.....	78
3-1- Evaluation de l'activité antioxydant.....	78
3-2- Analyse de la variance (ANOVA) de l'huile essentielle d' <i>Inula viscosa</i>	83
3-3- Test de désirabilité.....	87

SOMMAIRE

4- Résultats Caryologique.....	89
Conclusion.....	91
Références Bibliographiques.....	92

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification d'*Inula viscosa* L.

Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*

Tableau 3. Nombres chromosomique du genre *Inula*.

Tableau 4 : Cordonnées géographiques des stations échantillonnées

Tableau 5 : Rendements en huiles essentielles des populations d'*Inula viscosa*

Tableau 6 : Composition chimique des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Tableau 7 : Classes chimiques d'*Inula viscosa*.

Tableau 8 : Composants de l'huile utilisés dans les analyses statistiques

Tableau 9 : Matrice de corrélation des composants des huiles d'*Inula viscosa*

Tableau 10 : Chemotypes des populations d'*Inula Viscosa*

Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Tableau 12: Effets et interactions des huiles essentielles d'*Inula. Viscosa*

Tableau 13 : Efficacité des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les bactéries testées

Tableau 14 : Effet des dilutions sur la zone inhibitrice des bactéries testées

Tableau 15 : Groupes de sensibilité des bactéries testées aux huiles d'*Inula viscosa*

Tableau 16 : pourcentages d'inhibition des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Tableau 17 : Les valeurs des activités antioxydantes des les huiles d'*Inula viscosa*

Tableau 18 : Effets et interactions des huiles essentielles d'*Inula. Viscosa*

Tableau 19 : Efficacité des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les radicaux libres de DPPH

Tableau 20 : Effet des dilutions sur le pourcentage d'inhibition de DPPH.

Liste des figures

Figure 1 : *Inula viscosa* (A: fleur, B: graine)

Figure 2 : Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre vue au microscope électronique à balayage (image colorisée, x813)

Figure 3 : Poils sécréteurs présents sur la face inférieure d'une feuille de tomate
Vue au microscope électronique à balayage

Figure 4 : Poches schizo gènes d'une feuille d'Eucalyptus citronné vus au microscope électronique à balayage

Figure 5 : Canal résinifère de l'aiguille de Pin (X400)

Figure 6 : Occurrence du nombre de base dans le genre *Inula*

Figure 7 : *Inula viscosa* de la région de Sétif

Figure 8 : Stations d'échantillonnage d'*Inula viscosa*

Figure 9 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger

Figure 10 : Les étapes de réalisation du test d'activité antibactérienne

Figure 11 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

Figure 12 : Germination des graines d'*Inula viscosa*.

Figure 13 : Rendement en huile essentielle en fonction de l'Altitude.

Figure 14 : Chromatogramme GC/MS (Mass et Fid) d'*Inula viscosa* population de Sétif

Figure 15 : Classes chimiques de l'huile d'*Inula viscosa*

Figure 16 : Variabilité des composants des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Figure 17 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2)

Figure 18 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x3)

Figure 19 : Projection des populations d'*Inula viscosa*, sur le plan (1-2)

Figure 20 : Projection des populations d'*Inula viscosa*, sur le plan (1-3)

Figure 21 : Projection spatiale des populations d'*Inula viscosa*

Figure 22 : UPGMA cluster des 15 populations d'*Inula viscosa*

Figure 23 : Méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide

Figure 24 : Les pourcentages d'inhibition de *Staphylococcus aureus*

Figure 25 : Diamètres des zones d'inhibition des huiles d'*Inula viscosa*

Figure 26 : Test de désirabilité des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Figure 27 : Activités antioxydants des huiles essentielles d'*I viscosa*, comparée à celle de la référence BHT

Figure 28 : Pourcentages d'inhibition des huiles des populations *d'Inula viscosa*.

Figure 29 : Pourcentage d'inhibition des huiles et leur dilution d'*Inula viscosa*.

Figure 30 : Test de désirabilité des huiles essentielles *d'Inula viscosa*

Figure 31 : Plaque métaphasique des cellules méristimatiques racinaires des espèces d'*Inula viscosa* $2n = 2x = 18$.

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de normalisation

ATCC : American Type Collection Culture

CFU : Colony forming units

CLHP : chromatographie liquide à haute performance

DMSO : Diméthyl sulfoxide

DPPH : Diphénylpicrylhydrazine

GC/MS : Gas chromatography/ mass spectrometry

HE : huiles essentielles

MH : milieu de Mueller Hinton

ANOVA : Analyse of Variance

BHT : Butylhydroxtoluene

CCM : chromatographie sur couche mince

CFU : Colony forming units

DPPH : Diphénylpicrylhydrazine

IC50 : concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

MH : milieu de Mueller Hinton

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'Algérie de par sa position géographique présente une grande diversité de biotopes occupée par une importante richesse floristique (**Véla et Benhouhou, 2007**). Elle recèle une biodiversité considérable d'espèces végétales, source d'une multitude de molécules aux propriétés biologiques variées, susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmaceutique, parfumerie, cosmétique et agroalimentaire). L'exploitation de façon durable et éco-respectueuse de ces biomolécules est actuellement centrée sur le développement de nouvelles techniques.

La végétation Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale. Regroupant 3139 espèces (**Quézel et Santa, 1962-63 ; Véla et Benhouhou, 2007**), cette flore est estimée à 4449 taxons dont 3950 espèces indigènes (**Dobignard et Chatelain, 2010-13**) avec un taux d'endémisme de 15% (**Amirouche et Misset, 2009**).

Récemment, il y a eu un grand intérêt pour les huiles essentielles et les extraits de médicaments des plantes, herbes et épices pour le développement des additifs alimentaires alternatifs, afin d'éviter la croissance de pathogènes d'origine alimentaire ou pour retarder la détérioration des aliments. Par conséquent, l'utilisation d'huiles essentielles pour le traitement de diverses maladies inflammatoires comme les rhumatismes, la fièvre, le diabète suggère que le stress oxydatif joue un rôle dans la maladie humaine et l'apport d'antioxydants peuvent améliorer la santé humaine.

Les végétaux présentent un potentiel anti radicalaire qui leur permet de jouer un rôle bénéfique en termes d'action préventive très importante (**Sabu et Kattan, 2002**). L'activité anti radicalaire des plantes a été démontrée *in vitro* avec des perspectives d'établissement de nouvelles drogues anti radicalaires. On assiste, ces dernières années, à un regain d'intérêt pour les plantes médicinales et aromatiques et pour leurs extraits (**Sabu et Kattan, 2002**). Récemment, l'intérêt a augmenté considérablement avec la découverte des antioxydants. Ces antioxydants peuvent protéger le corps humain contre les radicaux libres et retarder la progression des maladies chroniques. En effet, plusieurs composés antioxydants extraits des plantes

ont été identifiés comme un chélateur des radicaux libres ou de l'oxygène actif (**Guimaraes et al., 2010**). En taxonomie végétale, les caryotypes peuvent être utiles dans les études génétiques et les informations sur la reproduction des espèces, l'identification et l'analyse des populations hybrides (**Anjali et Srivastava, 2012**).

La cytotaxonomie est une branche de la cytogénétique, consacrée à l'étude comparative des caryotypes à des fins systématiques et évolutives (**Siljak Yakovlev et Peruzzi, 2012**). Aujourd'hui, un certain nombre de données peuvent être obtenues par des études chromosomiques nombre de chromosomes, structure du caryotype, asymétrie des caryotype, bandes chromosomiques,...) (**Graphodatsky et al., 2011; Peruzzi et Eroğlu, 2013**). Les chromosomes de la famille des *Asteraceae* sont actuellement connus pour moins de 40% des espèces, de nouvelles études sont encore nécessaires pour améliorer la connaissance de ce groupe de plantes.

Le travail de notre thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche des substances naturelles d'origines végétales à activités biologiques et le dénombrement chromosomiques. Dans le but de la valorisation des plantes algériennes, notre choix s'est porté sur une espèce médicinale très utilisées par la médecine traditionnelle, *Inula viscosa*.

Dans ce travail plusieurs volets ont été abordés :

- Une caractérisation phytochimique des différents composants des huiles essentielles, de 15 populations de cette espèce, obtenues par hydrodistillation et analysées par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS.

- Une évaluation des activités antioxydants par la méthode du radical stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

- Une évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles sur quinze souches bactériennes par la méthode de diffusion de disque.

- Une étude caryologique, vise à déterminer les nombres chromosomiques de l'espèce *Inula viscosa* par la technique d'écrasement (Squash).

Notre travail est présenté sous forme de trois chapitres bien distincts :

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique traitant des généralités sur (les Asteraceae et l'espèce *Inula viscosa*, les huiles essentielles, les activités antioxydants, et antibactériennes ainsi que des généralités sur la caryologie des Astéracées).

Le matériel végétal et les méthodes utilisées, pour l'obtention des résultats, sont décrits en détail dans le deuxième chapitre.

Le troisième chapitre regroupe les résultats obtenus dans cette étude : phytochimique, activités antioxydants et antibactériennes et les résultats caryologique.

CHAPITRE I

GENERALITES

I- Généralités

1- Tribu des *Inuleae*

Les plantes de la tribu *Inuleae* sont des herbes, sous-arbustes ou arbustes, très rarement petits arbres. La tribu est caractérisée par des feuilles alternes, parfois en rosette basilaire, simples, non divisées, souvent glandulaires, pétiolées ou sessiles, à marges entières ou dentées (**Anderberg et al., 1991**).

Les capitules à fleurs périphériques hermaphrodite, uni ou plurisériées, tubuleuses, souvent filiformes et actinomorphes, plus rarement ligulées, zygomorphes. Les fleurs centrales sont hermaphrodites, toutes tubuleuses, actinomorphes, parfois non fertiles, terminées par 4-5 dents ou lobes. Les anthères sont différemment appendiculées au sommet, habituellement caudiculées à la base, à 2 caudicules longues et dépourvues de pollen, parfois ciliées, à branches hémicylindriques, tronquées, arrondies ou effilées-subaiguës au sommet, couvertes de poils collecteurs seulement au sommet ou jusqu'à la base des branches (**Shweta et al., 2013**). Les fruits des *Inuleae* sont des Akènes squamiforme, annulaires ou nul.

La tribu regroupe environ 180 genres et 2100 espèces. Les plus grands genres étant *Inula* et *Pulicaria* avec environ 100 et 80 espèces respectivement (**Chen et al., 2011**). La tribu se trouve exclusivement dans l'ancien monde, beaucoup d'espèces se trouvent également en Afrique du Nord et en Arabie (**Anderberg et al., 2009**).

1-2- Le genre *Inula*

Le genre *Inula* a été décrit pour la première fois par Carl Von **Linné (1753)**. C'est un genre de la tribu *Inuleae* avec plus d'une centaine d'espèces. Il est répandu dans les régions tempérées d'Europe, En Afrique et en Asie, principalement dans la région méditerranéenne (**Seca et al., 2014; Ana et al., 2014**).

Le genre regroupe des plantes herbacées vivaces, à feuilles alternes, les têtes fleuries (capitule) sont hétérogames et rayonnants, les deux rayons et les fleurons du disque sont jaunes.

Les capitules sont généralement disposés en corymbes terminaux ou cymes mais dans certains taxons, ils sont solitaires et pédonculés (*Inula orientalis* et *I. racemosa*) ou sessiles et densément congestionnés au centre (*I. rhizocephala*). Les fleurs périphériques sont pistillées, à ligules tridentées. Les akènes sont munis de côtes et les aigrettes sont simple (Shweta *et al.*, 2013).

1-3- *Inula viscosa*

Inula viscosa (L.) Aiton, le nom du genre « Inule » dérive du grec « inaien » qui signifie purifier, et viscosa est un mot latin qui signifie collant au touchée, se référant principalement à l'exsudat collant des poils glandulaires de la plante (Mànez *et al.*, 1999). *Inula viscosa* a été inclus dans le genre *Dittrichia* en 2000 suite à une révision taxonomique de ce genre. Actuellement elle est classée comme *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter (Bekkara *et al.*, 2008).

1-3-1-Description botanique et habitat

Inula viscosa est une plante herbacée vivace, ligneuse et parfumée, elle est originaire du bassin méditerranéen, largement distribuée en Europe, en Australie et en Asie (figure 2). L'espèce préfère principalement dans les régions sèches, les lits de rivières et les champs, sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau. Elle est largement répandue en Algérie sur les rocailles et les terrains argileux, abandonne jusqu'à 1500 m d'altitude (Quézel et Santa, 1962).

Les tiges sont dressées, frutescentes à la base, et très feuillées. Les feuilles sont longues et étroites avec des bords dentelés et des poils glandulaires sur les surfaces. L'exsudat collant des poils glandulaires diffuse une odeur désagréable (odeur de camphre (Parolin *et al.*, 2014; Laura *et al.*, 2019).

La floraison d'*Inula viscosa* commence à partir du mois de Septembre. Les inflorescences sont de longues grappes pyramidales avec des capitules jaunes (Figure 1).

Les fleurs périphériques sont liguliformes, celles du centre sont tubulaires. Les fruits sont des akènes velus à aigrette grisâtre.

Le nom vernaculaire d'*Inula viscosa* est Magramenen dialecte algérien, en Anglais : Sticky fleabane (Wang *et al.*, 2004) et en Français : *Inule visqueuse*.



Figure 1: *Inula viscosa* (A: fleur, B: graine)

Inula viscosa est assez commune dans les bords de routes et les habitats rudéraux.

1-3-2- Classification botanique

Selon APG III la position systématique d'*Inula viscosa* est la suivante (tableau 1).

Tableau 1: Classification d'*Inula viscosa* L.

	APG III
Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Astéridae
Sous classe	Dicotylédones
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	<i>Inula viscosa</i> L.

1-3-3- Utilisation médicinale

L'espèce *Inula viscosa* est utilisée en médecine traditionnelle en zone méditerranéenne pour ses vastes applications éthno-pharmacologiques (Nawres *et al.*, 2019; Laura *et al.*, 2019). De nombreuses propriétés biologiques ont déjà été décrites : antipyrétiques, anti-inflammatoires, antibactériennes et antidiabétiques (Kattouf *et al.*, 2009), ainsi que son rôle de bioaccumulateur et de bioindicateur de pollution par les éléments trace métalliques (Parolin *et al.*, 2014).

Inula viscosa est utilisée pour les usages externes comme antispasmodique, sédative, antiseptique, pour la cicatrisation des plaies, l'infertilité féminine, antirhumatismale, pour le traitement des bronches, les troubles expectorants et les hémorroïdes (Al Dissi *et al.*, 2001). Elle est aussi utilisée pour des usages internes comme antipyrétique, tonique général, pour les maux de tête, les maux d'estomac, comme antispasmodique, antidiabétique, anti diarrhéique et anthelminthique (Haoui *et al.*, 2015).

Les extraits organiques et certains métabolites ont montré une activité antifongique contre les dermatophytes et *Candida albicans* (Maoz *et al.*, 2000).

2- Les huiles essentielles

La phytothérapie reste la médecine la plus employée dans le monde. Toutes les civilisations antiques ont développé à côté de l'agriculture, la médecine par les plantes et la plupart des grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes (**El Rhaffari et Zaid, 2004**).

Le terme « huile essentielle » a été utilisé pour la première fois au XVI siècle par Paracelsus von Hohenheim, qui a qualifié le composant efficace d'un médicament de « quinta essentiel » (**Guenther, 1950**).

Une huile essentielle ou « essence végétale » est l'essence volatile extraite de la plante par distillation. Le terme « huile essentielle » est défini à la fois par l'Agence nationale de sécurité du médicament (**ANSM, 2017**) pour les usages pharmaceutiques et cosmétiques et par l'AFNOR/ISO pour les usages aromatiques et alimentaires. Selon la commission de la **Pharmacopée Européenne (2008)** une huile essentielle est « Un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**Bruneton, 2016**).

L'huile essentielle n'est pas réellement une huile car elle ne contient pas de corps gras. Elle est obtenue de l'essence riche en arômes naturels et actifs, ingrédients que sécrètent les cellules de certaines parties de la plante.

La notion de chémotype (chimiotype ou encore race chimique) est une notion clé en aromathérapie. Le chémotype est un groupe chimiquement défini au sein d'une population d'individus morphologiquement indiscernables (**Keefover et al., 2009**). Plusieurs chemotypes trouvent leur origine dans de légères différences des voies de biosynthèse, aboutissant à l'accumulation de métabolites secondaires différents.

La variabilité chimique s'explique par l'environnement, ainsi, en fonction du pays, du sol, de l'altitude, du climat ou encore du lieu de production, une même plante peut produire des huiles essentielles différentes aux propriétés bien

spécifiques. Il est indispensable, pour certaines HE de bien préciser le chémotype car il peut conditionner l'activité et/ou la toxicité (ANSM, 2017).

2-1- Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont lipophiles et très peu solubles dans les solvants inorganiques, tout en étant soluble dans les solvants organiques (éther, alcool) et dans tout type de corps gras (liposolubles) organiques (Franchomme et Pénéol, 2001). Ce sont des liquides volatils à température ambiante, c'est ce qui les rend entraînables à la vapeur. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou « fixes ». Si ces dernières laissent des taches indélébiles, la trace laissée par une huile essentielle tendra à disparaître plus ou moins rapidement. Ayant une odeur caractéristique, les huiles essentielles sont largement utilisées en parfumerie, aromathérapie, et dans l'industrie cosmétique (AFSSAPS, 2008; Bruneton, 2016; Muhammad *et al.*, 2019). Elles sont huileuses, mais non grasses et s'évaporent facilement. Chaque huile essentielle est unique et se caractérise par une odeur, une couleur, une viscosité et des propriétés spécifiques. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (ANSM, 2017).

La couleur des huiles essentielles est très variable. Cela comprend rougeâtre pour les huiles de cannelle, jaune pâle pour les huiles de sauge sclérée et de romarin officinal, le bleu (lié à la présence de cham azulène) des sommités de tanaïsie annuelle (*Tanacetum annuum*), le vert émeraude (azulène) de l'inule odorante ou de l'Immortelle d'Italie (*Helichrysum italicum*). On retrouve également le rouge de certaines sarriettes (*Satureja sp.*), la plupart des huiles essentielles ont une couleur jaune presque imperceptible (Robin, 2017).

Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (Couic *et al.*, 2013).

2-2 Biosynthèse des huiles essentielles

Les substances odorantes se synthétisent dans les fleurs et les feuilles, où la plupart d'entre elles se trouvent et restent jusqu'à la floraison. Les huiles essentielles migrent vers les fleurs, et une partie est consommée dans le processus de fertilisation. Après la fécondation, elles s'accumulent dans les fruits et graines ou il

Il y a une migration vers les feuilles, l'écorce et racine (**Jasim et al., 2016; Bakari et al., 2018**). A priori, toutes les plantes possèdent la faculté de produire des composés volatils mais le plus souvent seulement en traces. Parmi les espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques » (**Boukhatem et al., 2019**). Bien que les plantes aromatiques se répartissent sur un grand nombre de familles botaniques, certaines concentrent un grand nombre d'espèces concernées, citons par exemple les *Apiaceae* (coriandre), *Asteraceae* (camomille), *Geraniaceae* (géranium), *Illiciaceae* (anis), *Lamiaceae* (menthe), *Lauraceae* (cannelle), *Myristicaceae* (noix), *Myrtaceae* (eucalyptus), *Oleaceae* (jasmin), *Rosaceae* (rose), *Sandatalaceae* (bois de santal) et *Rutaceae* (citron). Les monocotylédones sont principalement représentées par les familles *Poaceae* (vétiver) et *Zingiberaceae* (gingembre) (**Spichiger, 2000; Khandelwal, 2008**).

Le nom des plantes aromatiques est attribué aux espèces qui contiennent une quantité d'huile volatile (supérieure à 0,1%), avec une odeur suffisamment perceptible ou qui se prêtent à exploitation économiquement viable (**Bruneton, 2016; Ouis et al., 2017; Marinova et al., 2018**).

La synthèse et l'accumulation de ces Huile essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante, comme celles des fleurs (roses), sommités fleuries (lavande), feuilles (citronnelle), écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade) (**Parthasarathy et al., 2008; Hassan et al., 2017; Saidi et al., 2017**).

La synthèse des essences se fait au sein de différents tissus sécréteurs présents dans tous les organes de la plante, ces tissus peuvent également produire des résines, de composition chimique proche des huiles essentielles et également insoluble dans l'eau, mais non volatiles. On retrouve quatre structures sécrétrices :

Les cellules sécrétrices isolées : De telles cellules existent dans les organes floraux des *Rosaceae* ou les organes souterrains du gingembre (*Zingiber officinale*) (**Figure 2**).

Les poils sécréteurs : On les retrouve dans de nombreuses familles comme les *Lamiaceae* ou les *Solanaceae* (**Figure 3**).

Les poches sécrétrices : Ces poches sont présentes chez l'*eucalyptus* (**Figure 4**).

Les canaux sécréteurs : ces canaux sont par exemple présents dans le fruit de l'Anis (*Pimpinella anisum*) (**Figure 5**).

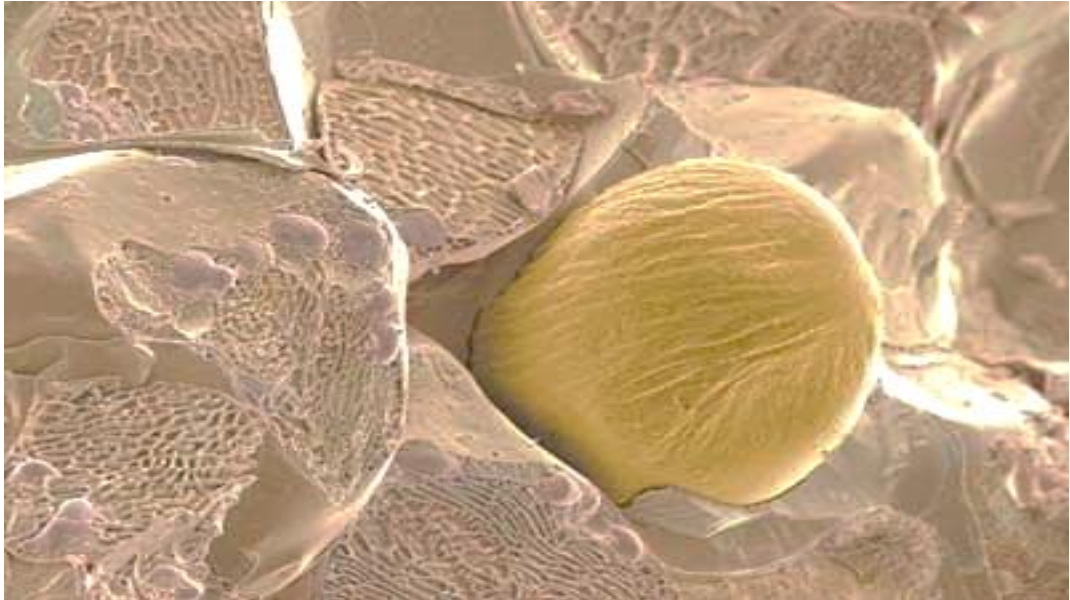


Figure 2: Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre vue au microscope électronique à balayage (image colorisée, X813) (**Svoboda, 2000**).

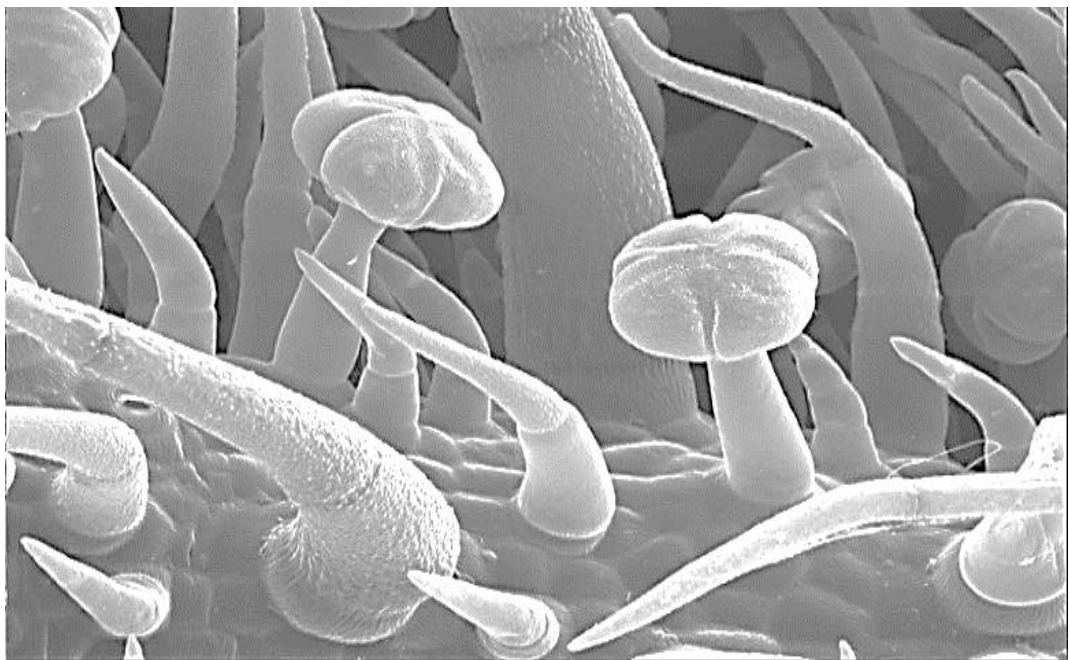


Figure 3 : Poils sécréteurs présents sur la face inférieure d'une feuille de tomate
Vue au microscope électronique à balayage (X504) (**Howard, 2017**).

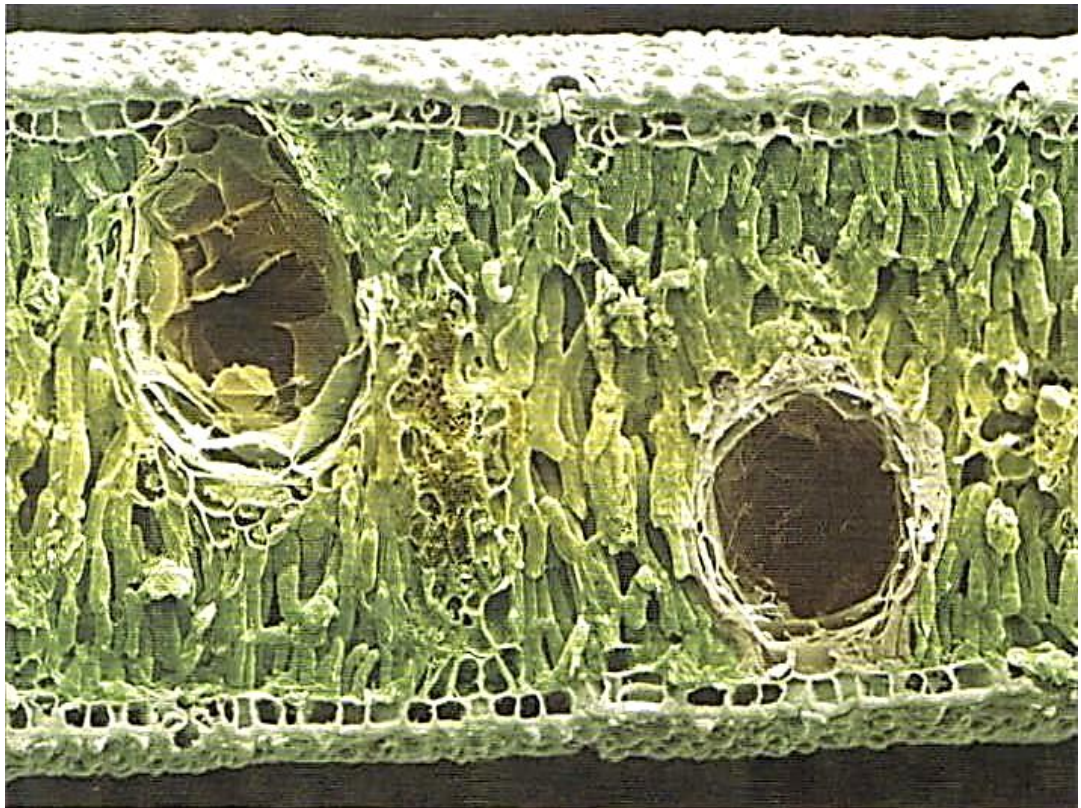


Figure 4 : Poches schizo gènes d'une feuille d'Eucalyptus citronné, vus au microscope électronique à balayage (image colorisée, X204) (Svoboda, 2000).

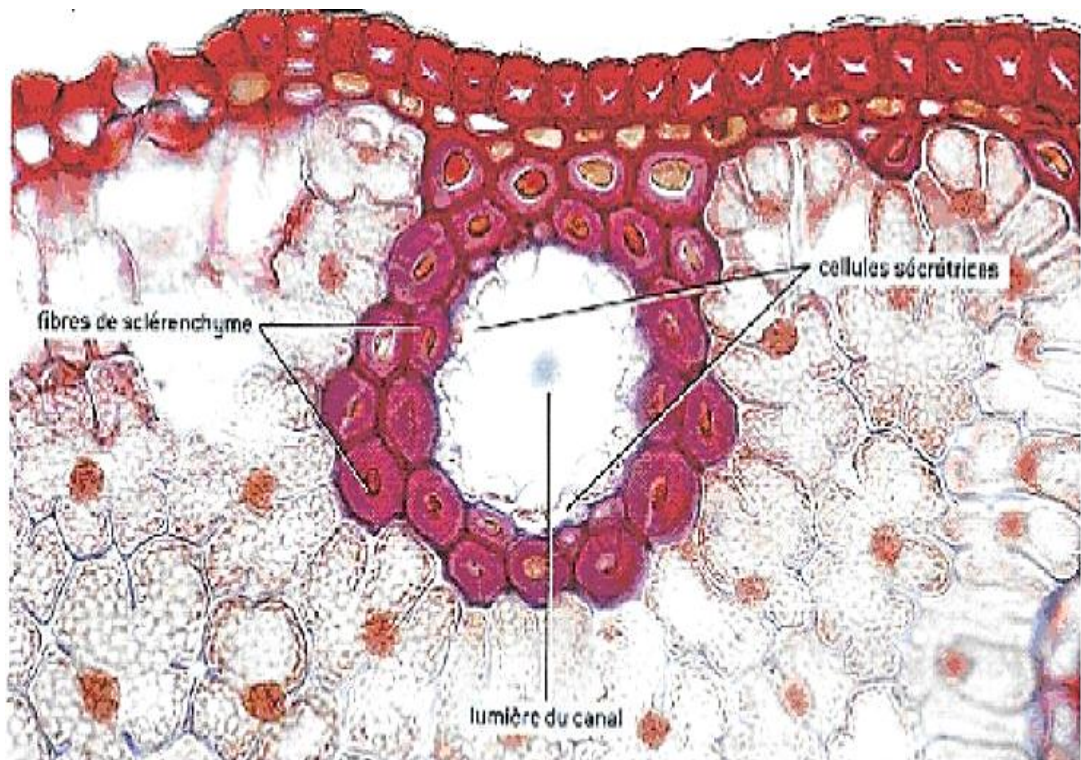


Figure 5 : Canal résinifère de l'aiguille de Pin (X400)

2-2- Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe. Il y a de 5000 à 7000 constituants chimiques à des concentrations différentes. Cette variation peut s'observer au sein d'une même espèce. Elles dépendent en fait de différents paramètres extrinsèques (sol, environnement, climat), intrinsèques (degré de maturité, facteurs génétiques, localisation), technologiques (type de culture, mode de récolte), ainsi que les modes d'extraction (**Robin, 2017**). La composition chimique des huiles essentielles peut être subdivisée en deux groupes de fractions :

-La fraction volatile représente 90 à 95% du poids total de l'huile. Elle contient les monoterpènes, sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés, alcools aliphatiques, esters et aldéhydes qui peuvent également être présent dans ces fractions volatiles (**Raut et karuppayil, 2014**).

-Les résidus non volatils représentent 1 à 10% de l'huile essentielle totale. Ils regroupent des acides gras, des hydrocarbures, des stérols, des cires, des flavonoïdes et des caroténoïdes (**Raut et karuppayil, 2014**).

D'une façon générale, ces composants chimiques peuvent être divisés en deux grands groupes : le groupe majeur des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques qui sont des dérivés du phénylpropane (**Raynaud, 2016**).

2-3-1- Les composés terpéniques

Dans le règne végétal, les composés terpéniques sont largement rencontrés dans les huiles essentielles. Ils possèdent des particularités structurales très diverses dont la structure de base dans leur squelette est l'unité isopréniques (C_5H_8) (**Baser et Buchbauer, 2010**). D'après le nombre de carbone qui constituent les molécules de ce groupe les composés terpéniques rassemblent plusieurs groupes (**Laurent, 2017**).

- Les hémiterpènes (1 unité C_5)
- Les terpènes simples (monoterpènes), formés de deux isoprènes, $C_{10}H_{16}$ ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicyclique. Ils constituent plus de 90% des huiles essentielles.

– Les sesquiterpènes, formés de trois unités isoprènes ($C_{15}H_{24}$), les plus répandus sont les carbures, les alcools et les cétones.

Ces trois premiers groupes sont à l'origine de très nombreuses essences.

- Les diterpènes, formés de quatre unités isoprènes, $C_{20}H_{32}$
- Les triterpènes (six isoprènes) qui, par oxydation, conduisent à de nombreuses résines.
- Les tétraterpènes (huit isoprènes) qui conduisent aux caroténoïdes
- Les polyterpènes (n-isoprènes) qui comprennent, en particulier, le caoutchouc et la gutta-percha.

2-3-2- Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont dérivés du phénylpropane (C_6-C_3), beaucoup moins fréquents que les terpénoides. Constitués d'un noyau aromatique lié à une chaîne de trois carbones, ils sont classés selon la nature des fonctions qu'ils portent (acides, aldéhydes, phénols...) et sont responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles (Laurent, 2017).

2-4- Qualité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits naturels qui développent une revitalisation intense de l'organisme. L'obtention d'une huile essentielle de qualité thérapeutique se révèle être un processus particulièrement délicat. Cette huile essentielle chimotypée est une huile essentielle qui possède une classification chimique, avec une appellation chimiotype (CT), cela permet de définir (la) ou les molécules majoritaires d'une HE. Il peut exister des chemotypes différents qui présentent des activités thérapeutiques et des toxicités différentes. Ces variabilités chimiques doivent impérativement être prises en compte dans l'utilisation des huiles essentielles (Raynaud, 2006). Selon Florence (2012) et Laurent (2017), les huiles essentielles doivent répondre à de nombreux critères de qualité :

- ✓ **La certification botanique :** L'appellation de la plante doit préciser le genre, l'espèce, la sous-espèce et le cultivar afin d'empêcher toute erreur issue des noms vernaculaires.

- ✓ **L'origine géographique :** Le nom du pays ou d'une région apporte des précisions intéressantes sur le biotope de la plante aromatique et caractérisera sa composition biochimique particulière.
- ✓ **Le mode de culture :** Cette précision montre si la plante est sauvage ou cultivée et si elle est issue d'une culture biologique (label BIO) ou non.
- ✓ **Le stade de développement botanique :** Les caractéristiques des chemotypes dépendent parfois du stade de développement, cueillette avant, pendant ou après la floraison.
- ✓ **L'organe utilisé dans l'extraction :** La composition biochimique des huiles essentielles (chemotypes) varie en fonction de la partie ou de l'organe de la plante utilisé.
- ✓ **Le mode d'extraction :** La composition des H.E.C.T. peut varier selon le mode d'extraction utilisé, distillation, hydrodistillation, percolation, expression.
- ✓ **Les chemotypes ou chimiotype :** L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse indique les molécules fondamentales pour une bonne utilisation des H.E.C.T.

2-5- Rôle de l'huile essentielle dans la plante

L'existence des huiles essentielles dans les végétaux, même si leur fonction n'est pas toujours précisément connue, répondrait aux besoins d'une protection spécifique des espèces en fonction de leur environnement (**Jahan *et al.*, 2015; Bruneton, 2016; Hariri *et al.*, 2018**). Elles remplissent une action de protection contre les brûlures solaires, elles représentent aussi une réserve d'énergie mobilisable (ex. en cas de conditions climatiques défavorables). Certains de leurs composants seraient des messagers internes ou encore des intermédiaires du métabolisme de la plante (**Figueredo, 2007**).

Elles attirent au contraire les insectes pollinisateurs (fleurs parfumées, fécondées par certains insectes butineurs) et permettent ainsi à la plante d'assurer sa reproduction. Elles assurent la défense chimique contre les micro-organismes et repoussent les parasites. Elles protègent la plante de certaines maladies grâce à leurs propriétés antifongiques, antivirales, antibactériennes ou insectifuges. Elles pourraient même permettre aux plantes de communiquer entre elles, par exemple :

une plante attaquée par un herbivore pourrait envoyer des signaux d'alerte (substances volatiles comme hexénal ou l'ocimène) aux autres plantes du secteur, pour lesquelles déclenchent des mécanismes de défense (**Couic marinier, 2013**).

2-6- Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Il est important de préciser qu'il ne faut pas confondre les propriétés pharmacologiques d'une huile essentielle et l'activité de la plante dont elle provient. De très nombreuses propriétés des huiles essentielles, soit n'ont pas été prouvées scientifiquement, soit sont trop spécifiques pour permettre des généralisations (**Florence, 2012; Laurent, 2017**).

Des huiles essentielles peuvent également être de simples excipients dans des médicaments et servir par exemple d'arôme pour masquer le goût d'un principe actif (**Kaloustian et Hadji, 2012**), comme agent de pénétration percutanée (**Karande et Mitragotri, 2001**), ou encore comme source de précurseur d'hémisynthèse, comme les citrals qui servent à la production de la vitamine A (**Franchomme et Pénnoël, 2001**).

Leurs propriétés antifongiques et antibactériennes sont exploitées, notamment depuis que l'utilisation des antibiotiques a été limitée dans les élevages. Ainsi on utilise aujourd'hui les huiles essentielles comme répulsifs ou insecticides, comme conservateur, dans l'alimentation animale ou tout simplement pour soigner les animaux de différentes affections (**Burt, 2004; Baser et Buchbauer, 2009**). Le pouvoir antifongique des huiles essentielles a été mis en évidence par de nombreux chercheurs contre des champignons pathogènes et opportunistes (**Abou Jawdah et al., 2002 ; Omezzine et al., 2011; Mahmoudi et al., 2016; Rhimi et al., 2017**).

Les huiles essentielles ont la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire des champignons, ce qui conduit à la désintégration des membranes mitochondriales. Ceci est causé par des altérations dans le flux, cela peut aussi endommager les protéines et les acides nucléiques contenus dans les cellules infectées par les champignons pathogènes (**Arnal Schnebelen et al., 2004**). Les huiles essentielles ou leurs composés actifs sont également employés comme agents

antifongiques dans les industries agro-alimentaires (Zambonelli *et al.*, 2004; Papajani *et al.*, 2015).

2-7- Composition chimique des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Parmi les classes chimiques les plus répandue dans les huiles essentielles d'*Inula viscosa* se trouvent les mono, les sesqui et les tri terpènes, (Akkawi *et al.*, 2014; Haoui *et al.*, 2015). En Algérie, *I. viscosa* est caractérisée par le β -caryophyllène, le tricosane et l'acide isocostique (Boudouda, 2014; Madani *et al.*, 2014). Les populations d'Italie ont été caractérisées par le 12-carboxy eudesma-3-11-(13)-diène (De Laurentis *et al.*, 2002) (Tableau 2).

D'autres études, en Italie, ont montrés que l'huile est composée de globulol, de valérianol et d'oxyde de caryophyllène (De Laurentis *et al.*, 2002; Marongiu *et al.*, 2003). Les populations d'Island sont caractérisées par le 10-épi- γ -eudésma, l' α -eudesmol, β -caryophyllène et le limonène (Laura *et al.*, 2019). Les populations de France et d'Espagne contiennent du fokiéanol, du nérolidol-(E) et de l' α -eudesm-6-en-4-ol (Camacho *et al.*, 2000; Marie *et al.*, 2006; Blanc *et al.*, 2006).

Tableau 2 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*

Localités	Syria 1	Martina	Putignano	Bari	Oranto	Sidi Rezine	Turkey 1	Syria 2	France	Spain	Turkey 2	Jordan	Lebanon	Ain El-Bey	Ham Bouziane	Portugal	Sardinia
Référence	A	B				C	D	E	F	G	H	I	J	K		L	M
Fokiéanol	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	0.0	0.0	21	39	0.0	30	0.0	4.4	7.2	0.0	0.0
Acide linoléique	0.0	0.0	3.0	0.0	3.8	7.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.1	9.1	0.0	0.0
Pentacosane	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	5.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	2.0	0.4	0.0	0.0
Heptacosane	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	1.9	0.0	0.0
Nérolidol B	15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Caryophyllène oxide	3.8	2.6	0.6	1.3	2.2	0.2	1.5	1.9	2.5	0.0	3.4	2.6	2.2	5.5	0.1	0.0	8.0
Farnésène-E époxyde	22	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Séllin-6-en-4-ol	2.2	3.3	1.4	2.1	2.0	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Octadécanoïque acide	11	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Cinéol-1-8	0.0	9.6	0.3	2.3	2.3	0.0	0.0	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
α -Terpinéol	0.0	3.1	3.9	2.6	1.7	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
β -Caryophyllène	0.0	1.7	1.0	1.0	1.9	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	25	9.6	0.0	0.0
acide Hexahydrofarnésyl	0.0	5.1	0.9	1.8	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12-Carboxy eudesma-3,11(13)	0.0	20	42	48	27	29	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tricosane	0.0	4.6	0.5	0.7	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0
acide Isocostic	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10	25	59	0.0
Bornéol	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0
Bornyl acétate	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Lsbornyl acétate	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	23	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Eugénol	0.0	0.0	7.3	4.0	1.2	0.0	0.0	2.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Intermédeol néo	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.4	7.5	0.0	0.0
2,4-dioxy-3-méthyl-6-isopropyl	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	29	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Eudésma-5,11(13)-dien-8,12-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Bicyclo sesquiphellandène épi	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	17	0.0	0.0	0.0	0.0
Cadinol	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3	0.0
Globulol	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	4.1	0.0	0.0	0.0	17
Nérolidol-E	0.0	6.9	3.4	2.4	2.9	0.0	1.5	1.1	8.6	0.0	0.0	20	0.0	0.0	0.1	1.1	1.9
Valérianol	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12
1,3-(1,1-diméthyl éthyl)2Mxy-5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	21	0.0	0.0	0.0	0.0
2,3,5,6,Tétraflouroanisole	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	17	0.0	0.0	0.0	0.0
Azulène	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	9.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Eucalyptol	0.0	10	0.3	2.3	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

A- Nasser *et al.*, 2014; B- De Laurentis *et al.*, 2002; C- Haoui *et al.*, 2011; Perez-Alonso *et al.*, 1996; Alalan *et al.*, 2015; F- Blanc *et al.*, 2006; G- Camacho *et al.*, 2000; H- Sevindik et Paksoy, 2017; I- Al Qudah *et al.*, 2010; J- Assi *et al.*, 2014; K- Boudouda *et al.*, 2012; L- Graça *et al.*, 2008; M- Marongiu *et al.*, 2003.

2-8- Activités des huiles essentielles

2-8-1- Activités antibactériennes

Les huiles essentielles présentent des propriétés antibactériennes remarquables. Ces activités sont variables d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalembe et Kunicka, 2003**).

La présence d'une membrane plasmique hydrophile externe chez les Gram négatif empêche la pénétration intracellulaire des molécules hydrophobes composant la majorité des huiles essentielles. Cette caractéristique confère aux bactéries à Gram négatif une résistance à l'huile et même aux antibiotiques (**Lewis et Ausubel, 2006; Raut et Karuppayil, 2014**). Généralement, les composés phénoliques présents dans les huiles essentielles comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol sont responsables des activités antibactériennes des huiles essentielles (**Dorman et Deans, 2000**). Ces composés peuvent provoquer la coagulation du contenu cellulaire et perturber la membrane cytoplasmique (**Pauli, 2001**).

La plupart des activités antibactériennes des huiles essentielles sont dues aux terpénoïdes oxygénés (alcools et terpènes phénoliques), tandis que certains hydrocarbures présentent également des effets antimicrobiens (**Delaquis et al., 2002; Burt, 2004**).

Le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques dans la cellule bactérienne, qui dépendent du type et des caractéristiques des constituants chimiques présents dans l'huile essentielle, les constituants chimiques de l'huile essentielle ont une propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (**Keita, 2002**).

Certaines études ont démontré que les huiles essentielles entières ont généralement une activité antibactérienne plus élevée que les mélanges de leurs principaux composants, suggérant que les composants mineurs sont essentiels à l'activité synergique, bien que des effets antagonistes et additifs ont également été observés (**Sikkema et al., 1994, Mourey et al., 2002**).

2-8-2- Activité antioxydant

Les composés phénoliques et les autres métabolites secondaires présents dans les huiles essentielles présentent généralement des propriétés antioxydants et anti radicalaires importantes (**Sacchetti et al., 2005**). Les composés antioxydants majeurs sont le carvacrol et le thymol, l'activité de ces composés est liée à leur structure phénolique (**Burt, 2004**). L'activité antioxydante des huiles essentielles est également due à d'autres fonctions des structures présentes dans les huiles essentielles comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les éthers et les monoterpènes, comme le linalol, le géraniol, le néral, le 1,8-cinéole, l'isomenthone, la menthone, le citronellal, le α -terpinolène, le α -terpinène, et le β -terpinène (**Aruoma, 1998**).

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est développé comme substitut dans le domaine alimentaire. Car les antioxydants sont capables d'empêcher la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés du produit alimentaire (**Danino et al., 2009; Miguel, 2010; Trimech et al., 2014; Hellali, 2016**).

Il a été rapporté que certaines huiles essentielles peuvent jouer un rôle essentiel pour limiter l'oxydation des lipides, en particulier dans la viande et dans

d'autres produits gras (**Chahmi et al., 2015; Mahmoudi et al., 2016; Kheyar et al., 2018; Mohti et al., 2019**).

2-9- Utilisation des huiles essentielles

- En pharmacie

Les huiles essentielles ont un rôle important dans le domaine médical en raison de leurs propriétés pharmacologiques. Plusieurs huiles essentielles montrent des effets fongicides, antidépresseurs, antibactériens, effet stimulant et relaxant et peuvent être utilisés comme agent thérapeutique efficace, c'est pourquoi ces huiles sont utilisées efficacement pour le traitement de plusieurs infections causées par des agents pathogènes ou des maladies non pathogènes en tant qu'aromatisant pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale (**Kaloustian et Hadji Minaglou, 2012**). Certaines huiles essentielles possèdent une activité hypotensive ou anticancéreuse (cancer du sein, tumeurs, leucémie, gliome) (**Edris, 2007; Milner, 2001, 2006**). Les éléments d'hydrocarbures sesquiterpéniques présents dans les huiles essentielles en très petites quantités sont efficaces pour le traitement du gliome (**Deangelis, 2001**). Les huiles essentielles ont la capacité de promouvoir le bien-être lorsqu'elles sont utilisées dans le cadre de mode de vie sain, Les huiles essentielles sont également utilisées dans les programmes de perte de poids lorsque leur utilisation est combinée avec une alimentation saine et des exercices physiques (**Muhammad et al., 2019**).

- En industrie alimentaire

- Les premières utilisations des plantes aromatiques par l'homme se sont faites pour enrichir la cuisine. Les Egyptiens diffusaient des odeurs par le chauffage de mélanges contenant des huiles essentielles dans le but d'augmenter l'appétit des personnes malades (**Baser et Buchbauer, 2009**). Les huiles essentielles donnent aux épices leurs saveurs.

Les essences d'Anis et de Badiane sont la principale source d'anéthol naturel, composés utilisés en liquoristerie (fabrication des boissons anisées) et en confiserie (bonbon, chocolat...) (**Fernandez et Chemat, 2012**).

- Les huiles essentielles possèdent une forte activité antioxydante en inhibant la peroxydation des lipides, et une excellente activité scavenger de l'oxygène actif (Nassu *et al.*, 2003; Wei et Ho, 2006). Leur activité antibactérienne bien reconnue est également exploitée pour augmenter la durée de conservation des aliments. On sait par exemple que les huiles essentielles de cannelle, de clou de girofle, de thym ou encore d'origan ont une réelle efficacité dans la conservation de la viande alors que la menthe est plus efficace dans le contrôle des contaminations dans les yaourts (Fernandez et Chemat, 2012).

- Les contaminations fongiques peuvent rendre impropres à la consommation des denrées alimentaires par la production de mycotoxines, ou tout simplement les détruire. Certaines huiles essentielles sont des agents antifongiques à large spectre qui pourraient être exploitées pour la conservation des aliments. (Kumar *et al.*, 2008).

- En aromathérapie

Le mot « aromathérapie » est à l'origine lié à l'idée de l'utilisation holistique des huiles essentielles pour promouvoir la santé et le bien-être. Les effets psychophysiologiques des huiles essentielles ont été explorés en permanence. L'utilisation d'aromathérapie pour favoriser la sédation et réduire l'anxiété est également discutée en aromathérapie. La pratique de l'aromathérapie est étroitement liée à l'inhalation des huiles essentielles à petites doses et leurs applications sur la peau sous forme fortement diluée en tant que partie de massage d'aromathérapie. L'aromathérapie fait partie des thérapies complémentaires qui sont utilisées pour le traitement de nombreuses maladies avec l'utilisation des huiles essentielles comme principal agents thérapeutiques (Franchomme et Pénoel, 2001; Kaloustian et Hadji, 2012).

2-10- La toxicité des huiles essentielles

Comme tous les produits naturels, les huiles essentielles peuvent causer des menaces lors de leur utilisation. La toxicité de ces huiles varie en fonction du mode d'utilisation. La voie orale est la plus toxique, puis la voie anale, la voie vaginale, la voie percutanée et enfin la voie aérienne (Franchomme et Pénoel, 2001; Chahmi *et al.*, 2015; Nawres *et al.*, 2019).

Certaines huiles se révèlent cytotoxiques selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact. A titre d'exemple, la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (**Inouye, 2003**). La toxicité aiguë est rare, sauf si les huiles sont ingérées en grandes quantités (**Balz et al., 1999**).

2-11-Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile, pour limiter les risques de leurs dégradations et la modification leurs propriétés. La durée de conservation des HE varie entre 12 à 18 mois selon l'huile essentielle (**Laurent, 2017**). Leur conditionnement doit se faire dans des flacons propres et secs, fait en aluminium, acier inoxydable ou en verre teinté, presque entièrement remplis ou sous atmosphère d'azotefermé de façon étanche et stocké à l'abri de la chaleur et de la lumière (**Valnet, 2000**).

2-12- Extraction des huiles

2-12-1- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs modes d'extraction des huiles essentielles, parmi les méthodes les plus courantes on peut citer :

2-12-1-1- Extraction par distillation à la vapeur

C'est la méthode couramment utilisée pour extraire l'huile volatile de la plupart des plantes aromatiques. La vapeur d'eau pénètre dans la masse végétale, soumise à distillation, le revêtement des oléfines sera détruit, l'huile et ensuite volatilisée et mélangée avec de l'eau. Le mélange vapeur/eau et la vapeur d'huile, passe dans le réfrigérant, où il se transforme en un liquide.

Ce mélange atteint le florentin où la séparation aura lieu, l'huile volatile étant plus légère se dépose au-dessus de l'eau (**Dilali et al., 2017**). Selon la façon dont la matière première est placée pour chauffage, deux types de distillation sont connus :

- **Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

La distillation à la vapeur d'eau, ou entraînement à la vapeur d'eau est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences. Elle est utilisée dans la plupart des pays producteurs des huiles essentielles (**Farhat, 2010**).

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'huile essentielle obtenue est plus délicat. (**Masango, 2005; Pharmacopée Européenne, 2007; Gavahian et Chu, 2008; Kaloustian et Hadji, 2012**).

- **Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles (**Lucchesi, 2005**). Selon **Bruneton (1999)**, Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique.

La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition.

Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydro distillation (**Farhat, 2010**).

Les conditions opératoires et la durée de la distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'huile essentielle. C'est pourquoi, aujourd'hui, des modèles mathématiques qui permettent d'optimiser, au mieux, ces conditions sont développées, afin de produire des huiles essentielles de manière reproductible.

Cependant, le contact direct des constituants de l'huile avec l'eau occasionne des réactions chimiques conduisant à des changements dans la

composition finale de l'extrait. Labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par HD soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal (**Boukhatem, 2018**).

2-12-1-2- Extraction d'huiles essentielles par les solvants

C'est l'une des plus anciennes méthodes connues et utilisées pour la production d'huiles essentielles. Elle remplace aujourd'hui celle de l'enfleurage. Elle aboutit également à l'obtention d'absolus très recherchés par les parfumeurs pour la pureté de leur puissante odeur. L'utilisation de solvants est une méthode lourde et coûteuse et rarement appliquée. Cette méthode est basée sur la capacité des huiles essentielles de se dissoudre dans diverses substances telles que les graisses animales, les huiles végétales, l'essence, l'éther de pétrole, etc. (**Hubert, 1992**).

L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient des hydrolysats, des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (éthanol/eau), des résinoides (extraits éthanolique concentrés) et des concrètes (extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers) (**Lucchesi, 2005**).

2-12-1-3- Extraction par enfleurage

La technique de l'enfleurage (ou macération à saturation) concerne les plantes ou parties de plantes dont l'arôme est trop fragile pour supporter la chaleur d'une distillation. Elle consiste à étendre une couche de ces substances végétales fragiles entre deux couches épaisses de matière grasse. On renouvelle les matières végétales fraîche jusqu'à saturation de la graisse en fragrance. On débarrasse alors le parfum de l'excédent graisseux et l'on obtient une essence absolue (huile essentielle de très haute qualité) (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

2-12-1-4- Extraction par CO₂ supercritique

Le CO₂ permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Il est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression

d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (**Chemat, 2009**).

Le CO₂ répond à de nombreux critères relatifs au solvant « idéal ». Il est naturel, chimiquement inerte, inflammable, peu toxique, sélectif, relativement peu coûteux car abondant et son élimination se fait facilement sans le moindre résidu. De plus, l'extraction se faisant sans eau et à une température peu élevée, il n'y a pas de transformations chimiques, ce qui rend la méthode encore plus attractive. Les inconvénients de cette méthode résident dans la complexité des installations qui les rendent chères, d'autant que sa mise en œuvre nécessite une bonne maîtrise technique. La méthode est également gourmande en énergie (**Fernandez et Chemat, 2008**).

2-12-1-5- L'expression à froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes (citron, citron vert, orange douce, bigarade) en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification (**Belsito et al., 2007; Ferhat et al., 2016**).

2-12-1-6- Extraction par fluide à l'état supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de

l'extrait (**Peterson *et al.*, 2006; Gomes et Rodrigues, 2007; Pereira et Meireles, 2010**).

2-13- Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Différentes techniques analytiques classiques et modernes sont utilisées pour analyser les huiles essentielles. Les techniques d'analyse chimique très performantes actuellement sont mises à la disposition des chercheurs (chromatographies CCM, CG, spectroscopie de masse 'SM', résonance magnétique 'RMN'). Ces techniques ont permis d'avoir une connaissance plus approfondie des structures moléculaires présentes dans les huiles essentielles (**Sylvain, 2011**). L'analyse des huiles essentielles permet de désigner la molécule majoritairement présente. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifiques de la plante à savoir le climat, le sol, l'exposition des végétaux, les facteurs phytosociologiques et la période de récolte qui peuvent influencer la composition de l'huile essentielle.

La méthode d'analyse la plus fiable et complète est la chromatographie en phase gazeuse, cette méthode s'adapte plus particulièrement aux substances volatiles, comme les molécules aromatiques. Elle permet d'identifier les molécules aromatiques et ainsi de déterminer le chemotypes de l'huile essentielle, cette analyse donne une véritable carte d'identité de l'huile essentielle (**Victoria, 2017**). L'appareil, chromatographie en phase gazeuse, de haute technologie est aujourd'hui l'outil indispensable pour le contrôle qualité des huiles essentielles.

On détermine en plus quelques paramètres physico-chimiques comme l'indice de peroxyde, l'indice d'acide, la polarité, etc... (**Schwedt, 1993**).

2-13-1- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

La méthode la plus utilisée dans le domaine des huiles et des arômes est le couplage de la chromatographie gazeuse avec la spectrométrie de masse (GC-MS). Soit la chromatographie en phase gazeuse (GC) ou une combinaison de chromatographie en phase gazeuse et de masse la spectroscopie (GC-MS). Ce sont des méthodes puissantes pour l'analyse de routine, le contrôle de qualité et de la

recherche. En raison de la variation des paramètres tels que les différences des dispositifs, les débits de colonne, la programmation de la température et d'autres paramètres de colonne différents tels que le type de colonne, la longueur de colonne, le diamètre de colonne interne, les chromatogrammes d'une huile essentielle particulière ne peuvent être comparés qu'en conditions d'expérimentation identiques (**Middleitch, 1979**).

Les huiles essentielles sont d'abord séparées par chromatographie en phase gazeuse, puis les composants séparés sont identifiés à partir de leurs fragmentations spectrales de masse (**Rouessac et Rouessac, 2000**).

Les interprétations des spectres de masse sont effectuées par des bibliothèques de référence informatisées. L'identification est généralement basée sur le temps de rétention et les indices de rétention (**Lucaccioni et al., 1993; Rouessac et Rouessac, 2000**).

Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse (**Desjobert et al., 1997**). L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (IR) et des données spectrales (spectres de masse) (**Paolini, 2005**).

2-13-2- La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

Cette technique est indiquée pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour effectuer des préfractionnements.

Elle peut être couplée également à un analyseur de masse. La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine et une phase mobile liquide circulant sous l'effet d'une haute pression. Après la séparation des différents constituants de l'échantillon, un calculateur assure l'acquisition et le traitement des données (**Audigie et al., 1995**).

2-13-3- La résonance magnétique nucléaire (RMN)

Parmi toutes les techniques spectroscopiques, la RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques, elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules.

L'originalité de la RMN par rapport aux autres techniques spectroscopiques réside dans le fait d'apporter une information précise et individuelle sur la très grande majorité des atomes constitutifs de la molécule, de permettre l'identification des connexions entre atomes des diverses entités tout en les situant dans l'espace les uns par rapport aux autres (**Platzer, 2002**).

3- La caryologie

La cytotaxonomie est une branche de la cytogénétique, consacrée à l'étude comparative des chromosomes, à des fins systématiques et évolutives (**Siljak et Peruzzi, 2012**). Aujourd'hui, un nombre de données important pouvant être obtenues par des études chromosomiques (nombre de chromosomes, structure du caryotype, asymétrie du caryotype...) (**Graphodatsky et al., 2011; Guerra, 2012; Peruzzi et Eroğlu, 2013**).

Les données chromosomiques de base sont des caractères fondamentaux des espèces végétales et sont pertinentes pour la systématique et l'évolution des plantes. Ces données sont le nombre de chromosome, la taille des chromosomes, la morphologie et les caractéristiques de coloration chromosomiques (**Stace, 2000**).

Les caractères morphologiques les plus évidents sont la taille des chromosomes et la position du centromère (également appelée constriction primaire). L'occurrence et la position des rétrécissements secondaires donnent des informations morphologiques supplémentaires. La description de la morphologie des chromosomes s'est avéré une méthode puissante pour caractériser les génomes végétaux.

Le nombre de chromosomes dans la tribu des *Inuleae* est très variable et complexe. En première approximation, $x = 10$ est considéré comme nombre chromosomique de base ancestral de la tribu, avec une longue série de dysploïde (se caractérisant par des restructurations dites Robertsoniennes n'entraînant aucune modification de la quantité d'ADN (**Philippe, 2020**)). Le nombre chromosomique de

base de la tribu des *Inuleae* est très variable ($x = 5 - 6 - 7 - 8$ et 9), ces nombres de base dérivent d'un nombre chromosomique ancestral ($x = 10$) (**Anderberg, 1991**).

Dans les *Inuleae*, seul le groupe *Nauplius* est défini par le nombre de chromosomes avec $x = 7$ ou moins, malgré la présence de nombre chromosomiques de base $x = 5 - 8$ et 9 . Les nombres chromosomiques de base $x = 5$ se trouvent également dans les Astérideae (**Wiklund, 1985**).

Le passage d'un chromosome métacentrique à deux chromosomes télocentriques est fréquent. Cette transformation est observée chez plusieurs genres (*Inula*, *Pulicaria*,...) (**Anderberg, 1991**).

Ces modifications des nombres chromosomiques confirment que la dysploïdie est un mécanisme évolutif très important dans le groupe des *Inulea*. Ce phénomène est commun dans de nombreux genres de la famille des *Astéraceae* (**Torrell et al., 2001; Vallès et al., 2001**).

Les études cytologiques du genre *Inula* ont été limitées à quelques dénombrements chromosomiques et l'étude des caryotypes. Ces études ont montré que les espèces du genre *Inula* sont des polyploïdes (**Brullo et al., 2004; Chepinoga et al., 2009; Chepinoga et al., 2009**).

Le terme de polyploïde qualifie les individus ou les cellules qui présentent plus de deux lots de chromosomes. La polyploïdie a été décrite chez différents organismes eucaryotes comme les plantes (**Mable et al., 2011**).

Alors que la polyploïdisation ou la duplication du génome entier est un phénomène récurrent chez les végétaux et plus particulièrement chez les Angiospermes, environ 50% des espèces d'angiospermes sont d'origine polyploïde (**Masterson, 1994**). Ce phénomène aboutit à une augmentation brutale du nombre de chromosomes (**Soltis et Soltis, 2012**). La polyploïdie conduit généralement à une spéciation, augmentant ainsi la biodiversité et fournissant un nouveau matériel génétique pour l'évolution (**Wendel et Doyle, 2005**). Le nombre chromosomique de base du genre *Inula* est multiple de $x = 9$, avec un diploïde de ($2n = 18$), généralement, les espèces de ce genre sont diploïdes (**Fernandes et Queiros, 1971; Brullo et al., 2004; Ortega et al., 2004; Javeid, 1973**) (Tableau 3).

Tableau 3. Nombres chromosomique du genre *Inula*.

Espèces du genre <i>Inula</i>	2n	Localités, pays	References
<i>I. aucheriana</i>	16	Iran	Chehregani et Hajisadeghian, 2009
<i>I. bifrons</i>	16	Espagne	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. britannica</i>	16	Japan	Yukiko <i>et al.</i> , 2005
<i>I. britannica subsp. Linariifolia</i>	24	Japon	Kokubugata et Koyama, 1999
<i>I. conyza</i>	32	France	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. crithmoides</i>	18	Algerie	Ramdani <i>et al.</i> , 2015
<i>I. crithmoides</i>	18	Grèce	Kamari <i>et al.</i> , 2012
<i>I. crithmoides</i>	18	France	Javeid, 1973
<i>I. crithmoides</i>	18	France	Pavone <i>et al.</i> , 1981
<i>I. ensifolia</i>	16	France	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. helvetica</i>	16	France	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. macrophylla</i>	20	France	Vallès <i>et al.</i> , 2005
<i>I. helenium</i>	20	France-Spain	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. helvetica</i>	16	France	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. oculus-christi</i>	32	Russie	Chepinoga <i>et al.</i> , 2009
<i>I. salicina var. asiatica</i>	16	Japan	Kokubugata et Koyama, 1999
<i>I. peacockiana</i>	10	Turkey	Esra <i>et al.</i> , 2015
<i>I. tuzgoluensis</i>	18	Turkey	Meryem, 2013
<i>I. obtusifolia</i>	16	Inde	Pawan, 2015
<i>I. viscosa</i>	18	France	Javeid, 1973
<i>I. viscosa</i>	18	France	Brullo <i>et al.</i> 2004
<i>I. viscosa</i>	18	Espagne	Fernandes et Queiros. 1971
<i>I. viscosa</i>	18	Portugal	Ortega <i>et al.</i> , 2004
<i>I. viscosa</i>	18	Italie	Brullo <i>et al.</i> , 2004
<i>I. viscosa</i>	18	Italie	Antonino, 1933

Les nombres chromosomiques supérieurs à $2n = 20$ semblent dus éventuelle à la présence de chromosomes B, comme dans le genre *Pulicaria* (Brullo *et al.*, 2004)

Avec l'existence de variations extensives du nombre chromosomique et le niveau de ploïdie dans le genre, ce dernier ayant été rapporté comme $x = 5, 6, 8, 9$ (Chehregani et Hajisadeghian, 2009; Chepinoga *et al.*, 2009; Chen et Anderberg, 2011).

La synthèse bibliographique montre que le nombre de base le plus commun dans la nature chez le genre *Inula* est $x = 8$, suivi du nombre de base $x = 9$ (Figure 6). Le nombre de base le moins représenté est $x = 6$ alors que le nombre de base $x = 5$, représenté dans un diploïde à $2n = 2x = 10$ et trois tétraploïde à $2n = 2x = 20$ chromosomes

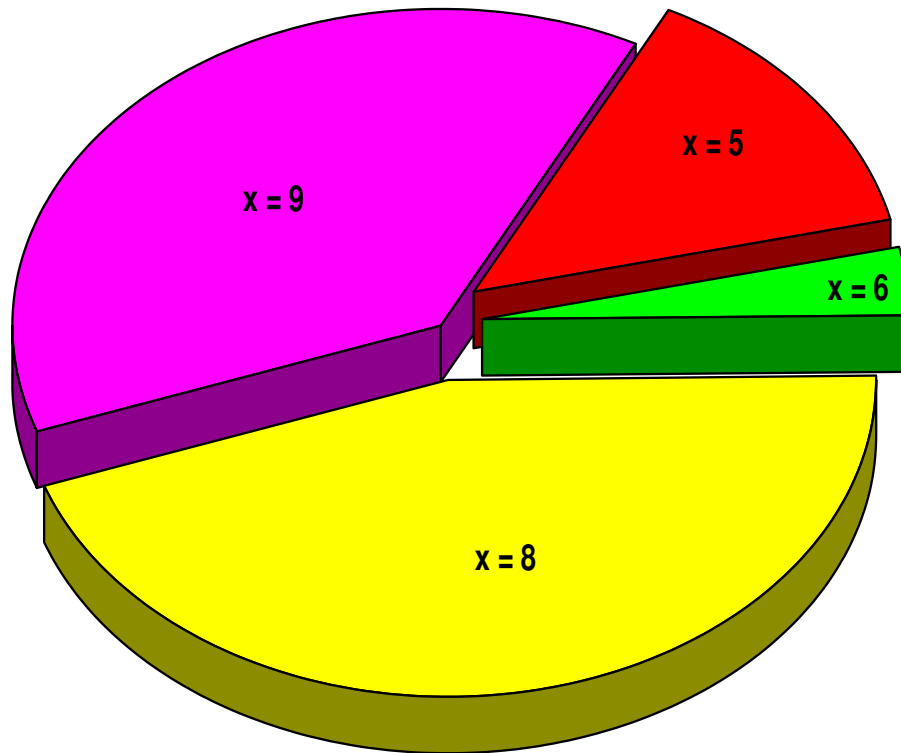


Figure 6 : Occurrence du nombre de base dans le genre *Inula*

Le niveau de ploïdie commun le plus élevé dans le genre *Inula* est le diploïde à $2n = 2x = 16$ présents chez 11 espèces. Alors que le diploïdes à $2n = 2x = 18$ est présent chez 9 espèces. Le niveau de ploïdie élevée est faiblement représenté. Trois tétraploïdes se retrouvent dans la nature ($2n = 4x = 20$) à nombre chromosomique de base $x = 5$, $2n = 2x = 24$ à nombre chromosomique de base $x = 6$ et deux tétraploïde à $2n = 2x = 32$ à $x = 8$.

CHAPITRE II

MATERIEL ET

METHODES

1- Matériel végétal

1-1- Description de l'espèce

Inula viscosa L. est une plante herbacée annuelle, visqueuse et glandulaire à forte odeur. Elle peut atteindre 50 cm à un mètre d'hauteur, possédant de nombreux capitules à fleurs jaunes au sommet de la tige (**Figure 7**), localement, elle est appelée Magramen. L'identification du matériel végétal a été facilitée par l'utilisation de la flore de **Quézel et Santa (1962-1963)**.



Figure 7 : *Inula viscosa* de la région de Sétif

1-2- Zone d'étude

Les parties aériennes de la plante sont récoltées, pendant la période de floraison, en octobre 2017 de 15 stations de l'Est et du centre algérien (**Figure 8**). Les coordonnées géographiques des stations échantillonnées sont regroupées dans le (**Tableau 4**).

Le matériel végétal frais (tige, feuille et inflorescence) est séché à l'abri de la lumière et de la chaleur en vue d'en extraire les huiles essentielles, les graines mures sont conservées dans le but de réaliser étude caryologique.

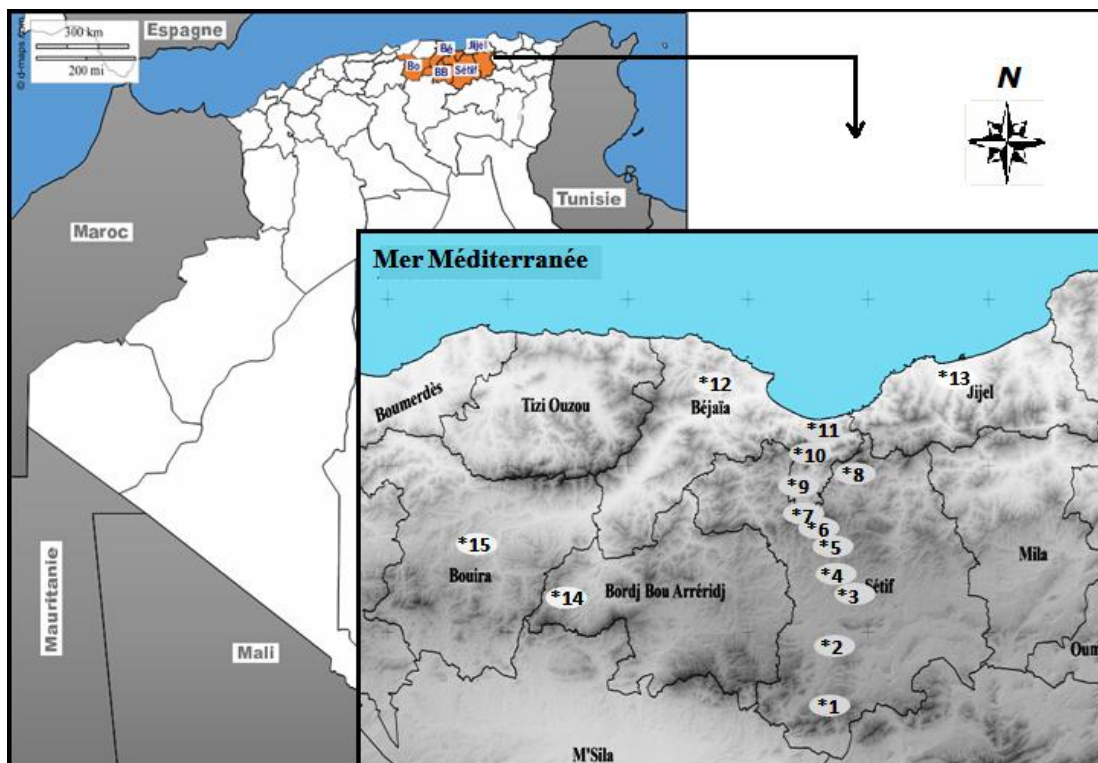


Figure 13 : Stations d'*I. viscosa* échantillonnées (les chiffre voir tableau 4)

Tableau 4 : Cordonnées géographiques des stations échantillonnées

	Localités	Coordonnées géographiques	Altitude (m)
1	Salah Bey	35° 52' 43" N, 5° 01' 43" E	978
2	Ain Oulmen	35° 56' 20" N, 5° 18' 43" E	950
3	Setif	36° 12' 55" N, 5° 27' 28" E	1100
4	El Baz	36° 12' 08" N, 5° 22' 01" E	1100
5	Ouricia	36° 17' 20" N, 5° 25' 04" E	1103
6	Amocha	36° 23' 52" N, 5° 25' 02" E	775
7	Tizi n'Bechar	36° 26' 42" N, 5° 22' 59" E	881
8	Babor	36° 29' 01" N, 5° 32' 42" E	954
9	Kherrata	36° 30' 54" N, 5° 16' 15" E	1197
10	Derguina	36° 34' 02" N, 5° 18' 22" E	1197
11	Souk Letnine	36° 38' 46" N, 5° 20' 11" E	199
12	Bejaia	36° 43' 54" N, 5° 03' 01" E	95
13	Jijel	36° 48' 49" N, 5° 46' 58" E	10
14	Bibans	36° 11' 05" N, 4° 26' 58" E	698
15	Bouira	36° 22' 59" N, 3° 53' 02" E	735

2- Méthodes

2-1- Extraction des huiles essentielles

Les parties aériennes de la plante destinées à l'hydrodistillation, sont séchées puis découpées grossièrement. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger. Cette technique est basée sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

L'appareil se compose d'un ballon qui sert comme un récipient pour le matériel végétal, porté sur un chauffe-ballon électrique. Ce ballon est surmonté par une colonne verticale terminée par une ouverture, un réfrigérant menant d'une voie d'admission et deux voies d'évacuation d'eau. Un robinet et une ouverture pour permettre le maintien du niveau de liquide dans le dispositif (**Figure 9**).



Figure 9 : Montage d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger

L'opération consiste à introduire 300g de matériel végétal séché (coupé en petits morceaux) dans un ballon, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée (3 litres). Le mélange est porté à ébullition, les vapeurs chargées d'huile essentielles passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation des gouttelettes d'huile qui s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition. L'huile ainsi obtenue est récupérée et séchée avec du Sulfate de Sodium anhydre et conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4 à 5°C).

2-1-1- Le rendement en huile essentielle

Le rendement en huile a été estimé par rapport à la masse de matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \left(\frac{\text{Masse de l'huile (g)}}{\text{Masse de matière végétale (g)}} \right) * 100$$

2-2-Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chimique a été réalisée au Laboratoire de chimie des Hétérocycles et des Glucides à l'École d'ingénieurs SIGMA Clermont-Ferrand (France). La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la méthode de dosage et d'identification utilisée dans l'étude des huiles essentielles.

Les échantillons sont analysés sur deux colonnes capillaires de polarité différente, afin d'avoir une meilleure précision possible dans l'identification des constituants. L'identification des constituants volatiles des huiles essentielles est réalisée au moyen de la CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et la détermination quantitative a été faite sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG/FID). Le chromatographe Hewlett-Packard HP 7890 couplé à un spectromètre de masse HP 5975. Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Colonne : DB5 : 30m x 0,25mm, épaisseur de film : 0,25m
- Gaz vecteur : Hélium 1mL/min
- Energie d'ionisation : 70eV

- Température de l'injecteur : 250°C
- Température du détecteur : 280°C
- Programmation du four : 50°C pendant 5min, 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C
- Injecteur mode split 1 : 100
- Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme
- CPG/FID : Chromatographe Hewlett-Packard HP 6890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Dans les conditions de programmation de température constantes au CPG, le temps de rétention d'un composé reste également constant. Mais, en pratique, les conditions d'analyse varient beaucoup et, pour cette raison, le temps de rétention seul ne serait fiable. Avec l'introduction du système des indices de Kovats, l'identification des différents composés des huiles essentielles est devenue plus pratique. Le calcul des indices de Kovats se fait en utilisant les temps de rétention corrigés des deux alcanes qui encadrent le composé inconnu. Ces indices expriment la rétention d'un produit comparé à son homologue hydrocarbure linéaire, examiné dans les mêmes conditions de température. L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs spectres de masse et de leurs KI (Indice de Kovats) avec ceux des bases de données d'Adams et celle établie par le laboratoire d'accueil en France.

La chromatographie en phase gazeuse autorise le couplage de toute une série de détecteurs différents qui permettent d'avoir une vision multiple d'un seul produit (**Lucaccioni *et al.*, 1993**). Le développement important de la spectrométrie de masse (SM) dans l'identification des constituants des huiles essentielles est rendue possible grâce au couplage de la CPG directement à la SM. Lors du couplage, la CPG permet, dans un premier niveau, de séparer et d'isoler chacun des constituants du mélange qui est injecté séparément dans la chambre d'ionisation de la SM (deuxième niveau). Grâce à cette innovation importante, la SM est devenue la technique la plus sensible pour obtenir des données importantes sur la structure de composés organiques inconnus.

Lors de ce travail, la CPG Hewlett-Packard HP 7890 est connectée au MS HP-5975 à une chambre d'ionisation fonctionnant à 70 eV. Une banque de spectre de masse informatisée est couplée à ce système pour une caractérisation préliminaire.

L'identification des composés a été réalisée par calcul des indices de rétention (RI) ou Indices de Kovats (KI) et ont été comparés avec ceux des spectres de masse dans les banques de données, d'Adams (2007); de Mc Laffert et Stauffer (1994) et du laboratoire LEXVA de Clermont-Ferrand.

2-2-1 Indices de KOVATS

L'indice de rétention (ou indice de Kovats) a été calculé par comparaison des temps de rétention (TR) avec ceux d'une série d'alcane permettant un étalonnage du chromatogramme. Un mélange d'alcane de C5 à C22 a été injecté en CPG dans les mêmes conditions opératoires que celles des huiles essentielles. L'indice de rétention linéaire est défini par la formule suivante :

$$IR = 100n + (TR_A - TR_{Cn}) / (TR_{Cn+1} - TR_{Cn}) \times 100$$

Où :

- IR : Indice de rétention
- A : composé inconnu,
- TR_A : temps de rétention du composé inconnu
- TR_{C_n} : temps de rétention de l'hydrocarbure à n atomes de carbone précédant immédiatement le composé ;
- TR_{C_{n+1}} : temps de rétention de l'hydrocarbure à n+1 atomes de carbone suivant immédiatement le composé.

Cet indice expérimental est comparé à ceux de la littérature ainsi qu'à ceux des banques de données du laboratoire pour confirmation.

2-3- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

2-3-1-Méthode de diffusion

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, elle consiste à déposer un disque stérile de papier filtre imbibé d'huile essentielle sur un tapis microbien. Après un certain temps de contact entre l'huile et le microorganisme cible.

L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition (**Figure 10**).

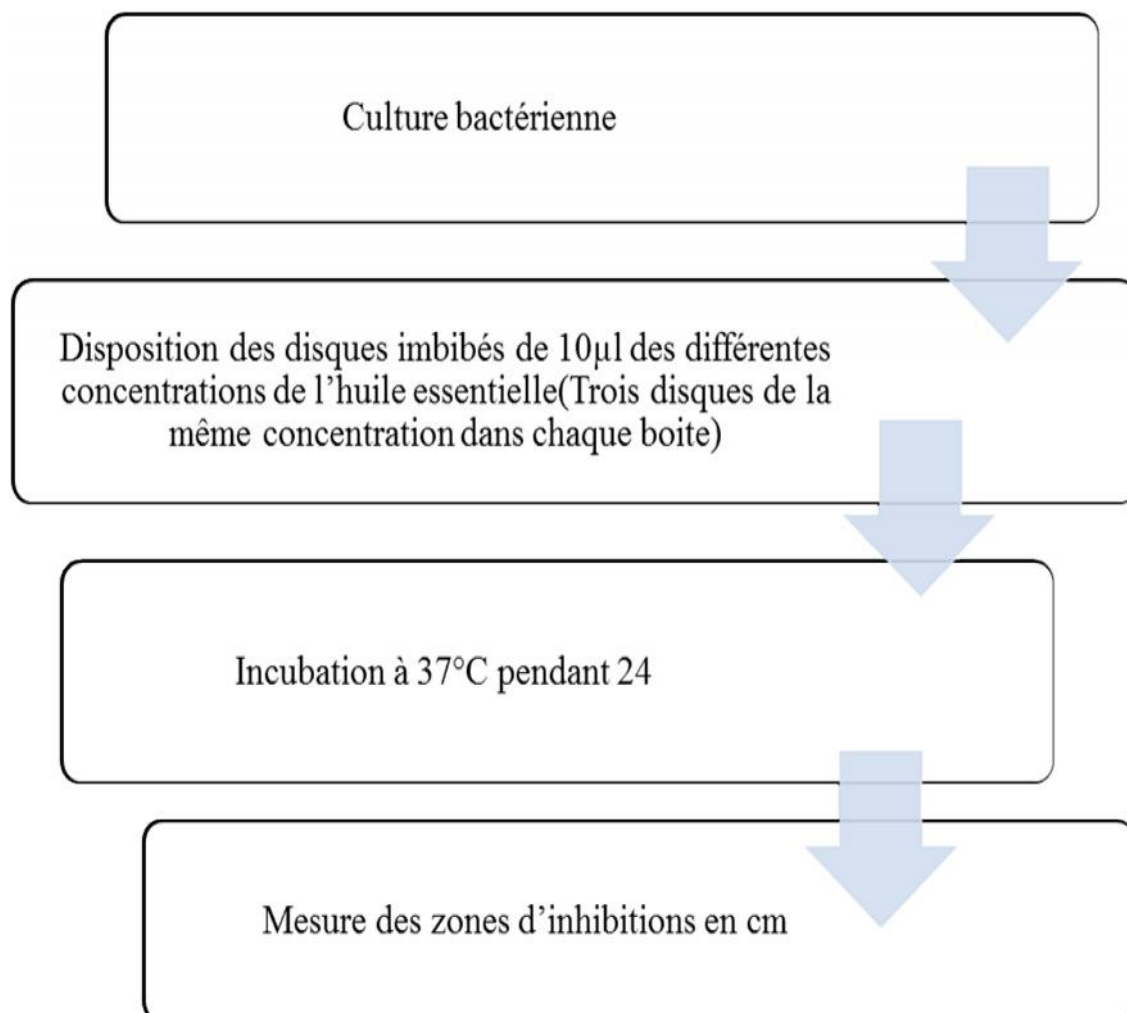


Figure 10 : Les étapes de réalisation du test d'activité antibactérienne

2-3-2- Préparation des milieux de culture

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, la gélose Mueller Hinton (MH) a été utilisée. En effet il s'agit d'un milieu non sélectif et qui contient des ions favorisant une bonne diffusion des antibiotiques. La gélose de MH stérile a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre, l'épaisseur de la gélose doit être de 4mm au minimum, répartie puis séchées pendant 30 min à une température ambiante avant l'emploi.

Avant solidification de la gélose, les boîtes ont été disposées sur une surface plane afin d'assurer une bonne uniformisation de la surface.

2-3-3- Aromatogramme

Technique de l'antibioaromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques (**Dayal et Purohit, 1971**). Dans cette méthode, on utilise des disques d'antibiogramme à partir de 5mm, imprégnés de l'huile essentielle et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm. La dilution des HE se fait toujours dans du diméthyle sulfoxyde (DMSO). Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose. D'après **Ponce (2004)** et **Moreira (2005)**, le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) renseigne sur la sensibilité d'une bactérie donnée :

Souche résistante si DZI < 8mm

Souche sensible si DZI = 9-14 mm

Souche très sensible si DZI = 15-19 mm

Souche extrêmement sensible si DZI > 20 mm

Les activités antibactériennes des huiles essentielles d'*Inula viscosa* ont été testées sur quinze souches bactériennes ; six souches à grams positif : *Staphylococcus aureus* ATTC 2592, *Listeria innocua* CLIP74915, *Listeria monocytogenes* ATTC 11778, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis*, et neuf souches à gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATTC 700603, *Escherichia coli* ATTC 25922, *Proteus mirabilis* ATTC 35659, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia Liquefaciens*, ESBL/BLSE, *Acetobacter* et *Salmonella enterica*

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné. Leur croissance est réalisée à 37°C en milieu nutritive sur gélose Mueller Hinton. La gentamicine (GN), a été utilisée comme un témoin positif. Les espèces bactériennes proviennent de laboratoire de microbiologie de

bloque de recherche de l'Université Ferhat Abas, de l'Institut Pasteur de M'Sila et du laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Sétif Abdenour Sâadana.

2-3-4- Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes ont été revivifiées dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures. Puis chaque souche a été repiquée en stries sur gélose MH pré-coulés après incubation de 18-24 heures à 37 °C ces cultures vont servir à la préparation de l'inoculum.

2-3-5- Préparation de l'inoculum bactérien

Les bactéries à tester ont étéensemencées sur des boîtes de Pétri contenant des milieux nutritive gélose Mueller Hinton appropriés aux souches bactériennes utilisées puis incubées à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Après ce temps d'incubation, des colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis émulsionnées dans un tube contenant deux ml d'eau physiologique en agitant au vortex. La densité de l'inoculum est ajustée à 0,08 à 0,1 sur le spectrophotomètre UV-visible (ce qui correspond à la concentration de 10^8 cellules/ml).

2-3-6. Ensemencement

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage. L'écouvillon est introduit dans la suspension bactérienne préalablement préparée puis essoré contre les parois du tube. L'ensemencement se fait ensuite par des stries serrées en couvrant toute la surface de la gélose. Les boîtes de gélose ainsiensemencées sont laissées pendant 15 mn à la température du laboratoire.

2-3-7. Préparation des disques

L'aromatogramme consiste à déposer des disques de papiers chromatographe de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés à la surface de la géloseensemencée après avoir été chargé de 10 µl d'huile essentielle diluée dans du DMSO aux rapports suivants 1, 1/2 et 1/3 (v/v). D'autres disques, chargés de 10 µl de DMSO sont utilisés comme témoins négatifs en plus du disque de l'antibiotique comme

témoin positif (**Rahal, 2005**). Afin de garantir des conditions expérimentales comparables, chaque trois dépôts d'huile essentielle de concentration similaire ont été placés dans la même boîte, le test est répété deux fois pour avoir des résultats fiables. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Enfin, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et documentés.

2-4- Evaluation de l'activité antioxydants des huiles essentielles

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le Picnogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\bullet$) et superoxydes ($\text{O}\bullet$) (**Burda et Oleszek, 2001; Antolovich et al., 2002; Bartosz, 2003**). L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Inula viscosa* a été faite par le test de piégeage des radicaux libres par la méthode au DPPH (2,2-diphényle -1- picrylhydrazyle).

2-4-1- Piégeage du radical DPPH

Cette méthode est largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits végétaux. Elle vise à mesurer la capacité de l'huile à piéger le radical relativement stable, 1,1Diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). Le piégeage des radicaux libres de DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet foncé au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H (diphényle-picrylhydrazine) (**Brand-Williams et al., 1995**) (**figure 11**). La mesure de l'activité anti radicalaire des extraits de plantes a été effectuée par le test au (DPPH) selon la méthode de (**Archana et al., 2005**).

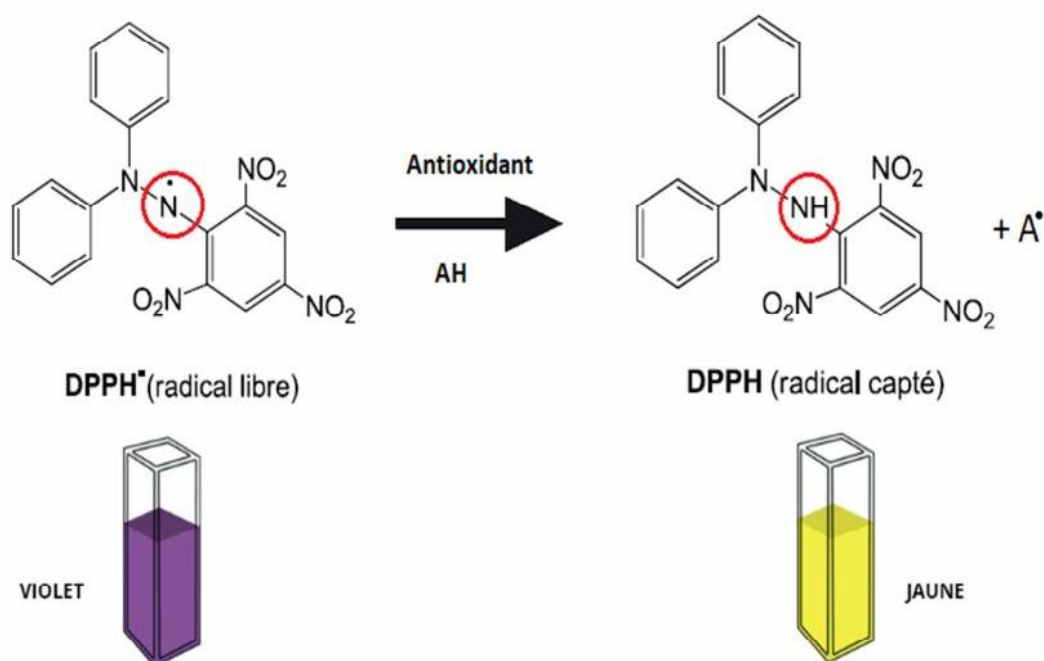


Figure 11 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.

A partir de la solution mère d'huile essentielle, des dilutions successives d'un rapport d'un demi ont été préparées dans du méthanol. Puis à chaque concentration, un volume de solution méthanolique de DPPH a été ajouté. Les mélanges ont été agités au vortex et incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Le contrôle négatif contient uniquement la solution de DPPH et le contrôle positif est le BHT (Butylate Hydroxy Toluène) qui a été aussi préparé selon la même méthode avec des mêmes concentrations pour la comparaison. L'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test. L'activité antioxydants est estimée en pourcentage d'inhibition ou pourcentage d'activité antioxydants, selon la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{(ABS_{control} - ABStest)}{ABS_{control}} * 100$$

Avec :

I % : Le pourcentage d'inhibition

ABS_{control} : Absorbance du témoin

ABS_{test} : Absorbance de l'échantillon

La valeur de la concentration inhibitrice CI_{50} représente la dose de l'huile essentielle qui neutralise 50% des radicaux de DPPH. La CI_{50} est utilisée comme une estimation de l'activité antioxydante par le DPPH, elle a été estimée par extrapolation en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition (I %) en fonction des concentrations (C).

✓ Préparation de la solution de DPPH

Le 1,1-Diphényle -2- picrylhydrazyle (DPPH) est solubilisé dans du méthanol absolu à raison de 4mg dans 100 ml de méthanol, ce qui est équivalent à 0,004 %.

✓ Solutions d'huiles essentielles

L'activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH est décrite selon le protocole d'**Archana et al. (2005)**. 100µl de l'échantillon à tester a été ajouté à 2,9 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004 %). Cette solution est dite solution mère, elle subira ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations de l'ordre de microgramme par ml.

2-5- Méthode caryologique

L'étude caryologique est réalisée sur les méristèmes racinaires prélevés sur des graines germées (**Figure 12**), dont l'analyse cellulaire révélerait le plus grand nombre de mitoses possibles. Cette technique d'écrasement ou squash passe par plusieurs étapes.

2-5-1. Prétraitement

Le but des cultures est de permettre le prélèvement des pointes de racine dont l'analyse cellulaire révélerait le plus grand nombre de mitose possibles. Les semences sont mises à germer sur du papier filtre saturé d'eau distillée dans des boîtes de pétri, à une température de 27°C. Après germination des graines, les racines sont prélevées quand elles auront 1cm de long ou dès l'apparition des poils absorbants.

Le prétraitement consiste à prélever des pointes de racines avec les zones méristématiques et les mettre dans une solution antimitotique saturée. La solution antimitotique choisie est la colchicine à une concentration de 0,05%.

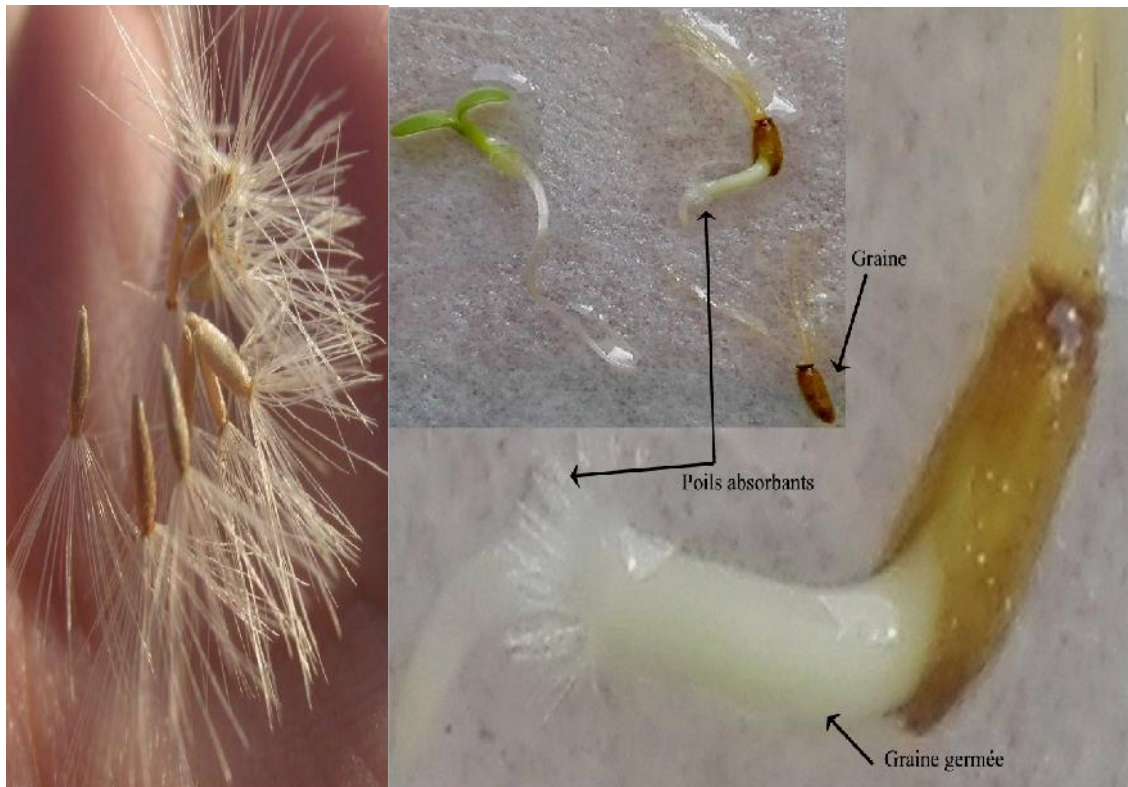


Figure 12 : Germination des graines d'*Inula viscosa*.

La colchicine est de loin la substance qui présente le moins de danger, parmi d'autres substances antimitotiques. Cette solution inhibe la formation du fuseau achromatique et retardent la division du centromère, ce qui entraînera l'éparpillement des chromosomes dans les cellules. Les pointes de racines sont immergées dans la colchicine à 0,05% pendant 1h 30 mn, à température ambiante et à l'obscurité.

2-5-2- Fixation

Le but de la fixation est d'empêcher toute activité cellulaire ultérieure en tuant les cellules sans les altérer. De plus, la fixation améliore le contraste entre les chromosomes et le fond cytoplasmique (**Jahier et al., 1992**).

Dans cette étude, nous avons utilisé le fixateur de **Farmer et Moore (1905)**, c'est un mélange d'éthanol pure et d'acide acétique glacial (3v : 1v). Le fixateur assure en même temps la fixation des chromosomes et un mordantage de la préparation. La fixation peut être suivie d'un traitement de maturation appropriée.

Les racines sont maintenues dans le fixateur au moins 24 h à une température de -4°C. Si les préparations ne sont pas utilisées au bout de 48 h, elles doivent être conservées en augmentant le volume d'alcool jusqu'à (9v : 1v).

2-5-3- Maturation

La maturation facilite l'écrasement des pièces et la répartition de la préparation en couches unicellulaires lors des colorations par écrasement (Squash). Pour les racines destinées à être colorées par l'orcéine acétique, la maturation se fait dans l'acide acétique à 45 % pendant 10 à 15 minutes et à température ambiante.

2-5-4- Coloration et Technique d'écrasement (Squash)

Le colorant utilisé est l'orcéine acétique, qui a l'avantage de ne pas colorer les nucléoles, ni les membranes nucléaires, ni le cytoplasme ; seuls les chromosomes en mitose prennent la coloration et ils n'ont pas tendance à se "sur-colorer".

2-5-5- Préparation de l'orcéine acétique

Dissoudre 2,2 g d'orcéine dans 100 ml d'acide acétique pur cristallisable à chaud ; faire bouillir doucement pendant 5 minutes, laisser refroidir et filtrer (Solution I). Conserver à l'abri de la lumière. Au moment de l'emploi, on prend 4,5 ml d'orcéine acétique (solution I), on y ajoute 5,5 ml d'eau distillée (Solution II). Pour la coloration on prend 9 ml de la solution II et on ajoute 1ml d'HCL normal (Solution III), le montage se fait dans la solution II (**Jahier et al., 1992**).

2-5-6- Coloration et écrasement des racines

La coloration des chromosomes améliore leur visibilité et facilite la séparation des cellules. Elle est réalisée en plaçant les pointes des racines dans des verres de montre en pyrex contenant de l'orcéine acétique (solution III préparée au moment de l'emploi).

On chauffe sur bec bunsen jusqu'à émission de vapeurs blanches, puis on isole le méristème racinaire sous la loupe et on le place sur une lame. Le montage se fait dans une goutte d'orcéine acétique (solution II), puis on recouvre la préparation avec une lamelle.

L'écrasement est fait par pression des méristèmes racinaires avec le pouce (squash) perpendiculairement à la lamelle et en faisant attention de ne pas déplacer la lamelle latéralement. Les préparations sont lutées avec de la dissolution pour vélo et conservées au réfrigérateur jusqu'au moment de l'observation.

2-5-7- Observation et photographie

Les observations sont faites à l'aide d'un microscope de recherche Axioscope 40, avec les objectifs : 10X, 40X et 100X HI.

Le comptage des chromosomes est fait sur les plaques métaphasiques les mieux étalées puis photographiées à l'aide d'une caméra Kappa X10 reliée au microscope.

2-5-8- Montage et conservation des préparations

Monter un objet en préparation microscopique, consiste à enfermer cet objet, entre lame et lamelle, dans un liquide réfringent spécial appelé euparal qui sert à la fois de milieu d'observation et de conservation. Ce milieu doit posséder des qualités optiques et chimiques qui assurent à la fois la visibilité parfaite de tous les détails et la conservation indéfinie de l'objet (**Conger et Fairchild, 1953**).

Pour éliminer l'eau et l'acide acétique qui se trouvent dans la préparation, nous enlevons la dissolution pour vélo du pourtour de la lamelle. La préparation est placée en position horizontale, la lamelle vers le bas, dans une toupine dont l'atmosphère est saturée d'acide acétique à 45 % et on attend le décollement de la lamelle. Après le décollement de la lamelle, les deux faces de la lame sont déshydratées à l'alcool 80° puis à l'alcool 100° et enfin à l'alcool butylique. Entre chaque opération on égoutte bien sur du papier filtre et on met une goutte d'Euparal sur la lame. La lamelle est déshydratée de la même façon, puis placée sur la lame. La préparation est essorée doucement entre deux feuilles de papier Joseph. La coloration demeure vive et le milieu reste limpide dans la mesure où l'acide et l'eau sont complètement éliminés.

2-6- Analyse statistique

2-6-1- Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode statistique d'analyse des données (initialement de statistique descriptive) qui consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre les variables aléatoires. Donc le but est de comprendre et de visualiser comment les effets de phénomènes a priori isolés se combinent. Lorsqu'on veut compresser un ensemble de n variables aléatoires, les n premiers axes de l'ACP est un meilleur choix, du point de vue de l'inertie expliquée. Si on décide de ne retenir que les deux premiers axes de l'ACP, on pourra alors projeter notre nuage sur un plan, et le visualiser.

Même si l'ACP est majoritairement utilisé pour visualiser des données, il ne faut pas oublier que c'est aussi un moyen de décarreler les données, les axes qui ne sont utilisés c'est de l'information perdues c'est une classification des données en amas (clusters) corrélés.

2-6-2- Analyses UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means)

L'UPGMA est le nom d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique. Cette méthode permet la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné. C'est la méthode la plus simple de construction d'arbre. A l'origine elle a été développée pour construire les phonogrammes taxonomiques (arbres qui reflètent les similitudes phénotypiques entre unités taxonomiques), mais elle est employée aussi pour construire les arbres phylogénétiques si les taux d'évolution sont approximativement constants parmi les différentes lignées. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel STISTICA 10.

2-6-3- Analyse de variance (ANOVA)

La signification statistique des résultats de l'activité antibactérienne a été analysée par analyse de variance (ANOVA) à trois voies complètement randomisées (populations, doses et bactéries) en utilisant le logiciel statistique (CoStat). Toutes les analyses sont effectuées au niveau de signification de 5% ($P < 0,05$).

CHAPITRE III

RESULTATS

ET

DISCUSSION

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1-Resultats chimiques.

1- 1- Rendement en huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles d'*Inula viscosa* a été réalisée jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante. L'extraction par hydro distillation des parties aériennes d'une durée de 3 heures, a donné un liquide visqueux avec une couleur jaune pâle, et une odeur très agréable. Le rendement moyen en huile essentielle d'*Inula viscosa* est de $0,23 \pm 0,06\%$, quantitativement, il est plutôt faible (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Rendements en huiles essentielles des populations d'*Inula viscosa*

	Localités	Altitude (m)	Rendement %
1	Salah Bey	880	0,25
2	Ain Oulmen	830	0,25
3	Sétif	910	0,19
4	El Baz	900	0,21
5	Ouricia	890	0,28
6	Amoucha	700	0,25
7	Tizi n'Bechar	750	0,34
8	Babor	895	0,29
9	Kherrata	550	0,18
10	Derguina	163	0,19
11	Souk Letnine	199	0,18
12	Bejaia	95	0,29
13	Jijel	10	0,19
14	Bibans	698	0,25
15	Bouira	580	0,11

Le rendement en l'huile essentielle de la population de Tizi n'Bechar est le plus élevé avec un taux de 0,34%, suivi par les populations de Bejaia et d'Ouricia. Le rendement de la population de Bouira est le plus faible avec 0,11%.

Les populations à faible rendement se trouvent à de basses altitudes alors que les rendements élevés se trouvent à des hautes altitudes (**Figure 13**).

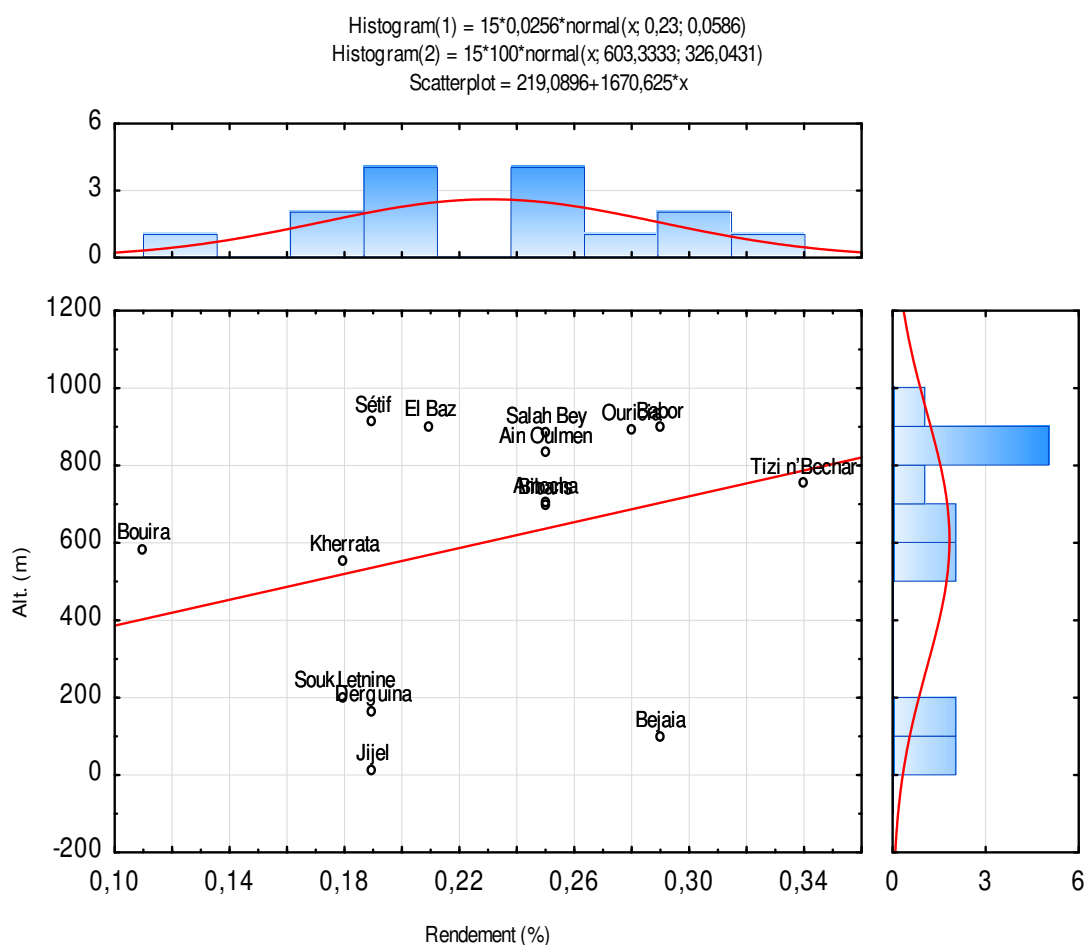


Figure 13 : Rendement en huile essentielle en fonction de l'Altitude.

1-2- Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chimique des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) (**figure 14**). L'identification des composants chimiques de l'huile essentielle est basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la bibliothèque spectrale de masse et ceux décrit par Adams, ainsi que sur la comparaison de leurs indices de rétention. 75 composés chimiques ont été identifiés, représentant $98,06 \pm 2,03\%$ d'huile totale. Les composants identifiés et leurs relatives abondances sont présentés dans l'ordre de leur apparition (**Tableau 6**).

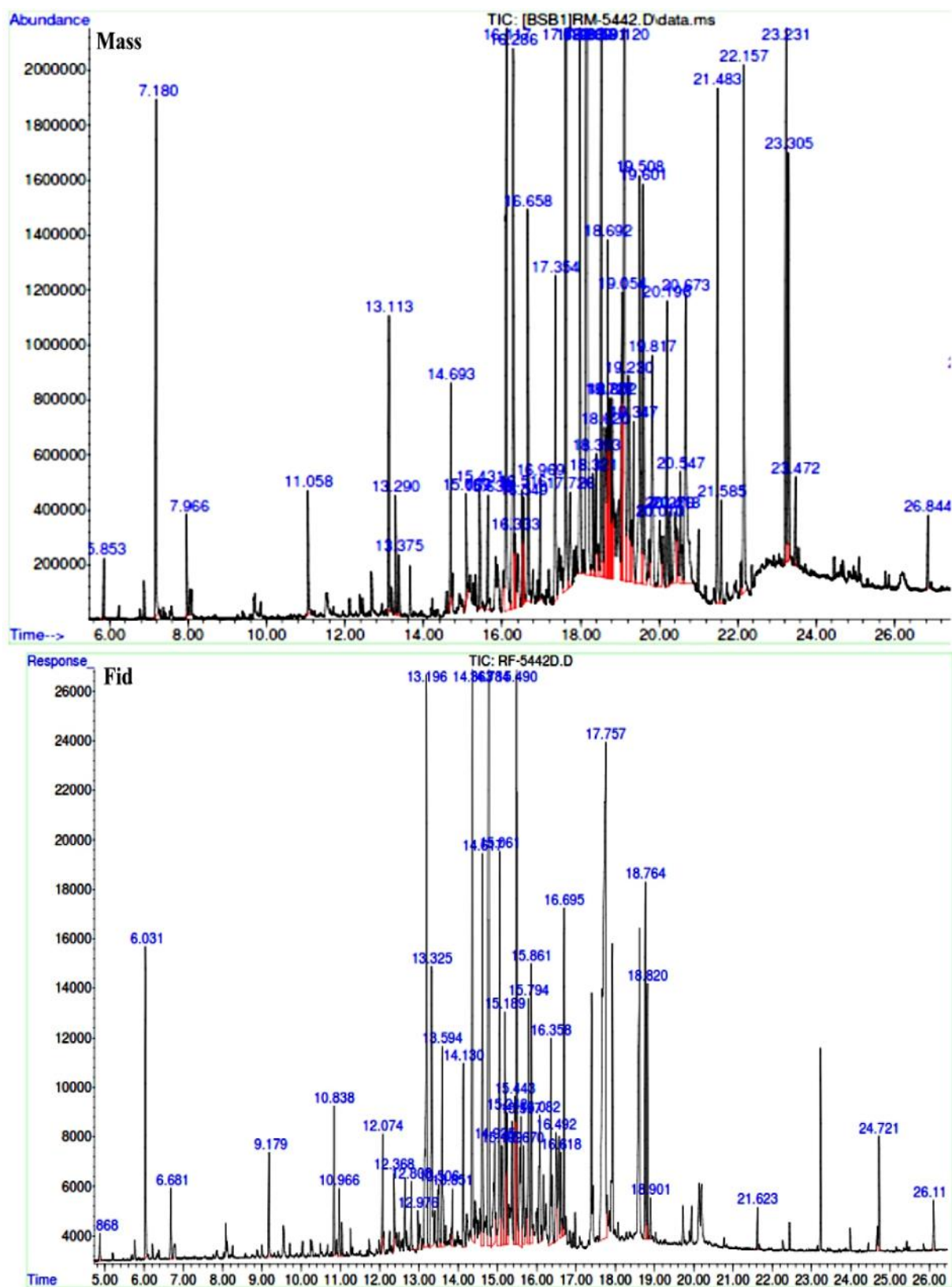


Figure 14: Chromatogramme GC/MS (Mass e
t Fid) d'*I. viscosa* de la population de Sétif

Tableau 6 : Composition chimique des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

Populations		Salah Bey	Ain Oulmen	Sétif	El Baz	Ouricia	Amouchas	Tizin'Bechar	Babors	Kherrata	Derguina	SoukLetnine	Bejaia	Jijel	Bibans	Bouira	Moyenne	SD	SD relatif (RSD)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
Rendement (%)	KI	0.25	0.25	0.19	0.21	0.28	0.25	0.34	0.29	0.18	0.19	0.18	0.29	0.19	0.25	0.11	0.23	0.06	26
Nombre des composées		32	41	38	47	37	31	38	38	35	37	37	43	39	35	43	38	4	11
Total %		99.2	99.4	98.1	99.8	97.6	93.3	98.3	99.4	99	98.5	93.3	99.4	98.2	99	98.4	98.06	2.03	2
pinene	932	0	0.39	1.14	5.72	0.39	0	0	0.3	0	0	0	0.25	0.3	0	0	0.57	1.46	258
Camphene	939	0	0	0	4.73	0	0	0	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0.34	1.22	362
β-pinene	964	0	0	0.38	0.37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.13	264
Pentyl furan-2	990	0	0.63	0	1.08	0.48	0	0	0	0	0.31	0	0	0	0	0	0.17	0.32	195
Cineole dehydro-1,8	977	0.52	3.51	2.65	1.77	0	0	1.1	0.53	0.46	1.56	0.64	2.58	0.81	0.31	0.59	1.14	1.06	93
Cymene-para	1020	0	0.21	0.37	0.74	0.24	0	0	0	0	0	0.25	0.51	0.73	0	0	0.20	0.27	133
γ-terpinene	1058	0.22	1.03	0	0.57	0	0	0	0.54	0	0	0	0	0	0	0	0.16	0.31	198
Linalool	1087	0	0.46	0.53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.07	0.17	265
Nonanal-n	1092	0	0	0.92	0	0	0	0.59	0	0	0.52	0.19	0	0	0	0	0.15	0.29	196
Camphor	1141	0	0.85	0	3.34	0	0	0	0.39	0	0	0	0.79	0	7.58	0.77	0.91	2.04	223
Mentholiso	1179	0	0	0	0	0	0.13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.01	0.03	387
α-terpineol	1186	0	0.34	0.91	1.58	0.22	0.4	0	0	0.92	0	0.26	0	0.23	1.09	0.38	0.42	0.48	115
Decanal-n	1201	0.26	0.35	0.49	0.62	0	0	0	0.24	0	0.32	0.5	0	0	0.26	0	0.20	0.22	108
Bornylacetate	1284	0	0	0	0.42	0	0	0	0.82	0	0	0	1.01	0.62	1.51	0.42	0.32	0.48	149
γ-terpinene-7-al	1290	0.22	0.16	0.23	0	0	0	0.34	0	0	0.29	0.14	0	0.37	0	0	0.12	0.14	121
Menthylacetate	1294	0.23	0.45	1.52	1.1	0	0	0	0.15	0.86	1.69	0.2	0.77	0.21	0.74	0	0.53	0.56	107
α-copaene	1374	0	0	0.39	0.48	0.12	0	0.19	0.16	0.28	0.38	0.21	0.65	0.14	0.28	0.35	0.24	0.19	77
Methyl eugenol	1403	0	0	0	0.53	0	0.16	0.39	0.22	0	0	0.16	0.56	0	0.63	0.22	0.19	0.23	120
Caryophyllene-Z	1408	0.16	0.58	0	0.85	0	0.43	0.27	0.37	0	0.23	0.2	0.49	0.36	0.41	0.29	0.31	0.23	75
Caryophyllene-E	1417	0.39	0	1.41	0	0.67	0	0.34	0.36	0.37	0.38	0.56	0.3	0.19	0.34	0.37	0.38	0.34	91
Nerylacetone	1434	0.2	0	0	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0.16	0.39	0.22	0.12	0.22	189
Geranylacetone	1379	0	0	4.6	0.22	0	2.97	3.34	0.43	0	8.25	0	3.4	1.09	1.81	0.36	1.76	2.37	135
Croweacin	1457	0	0	0.5	0	0.35	0.26	0.43	0	0.22	0.39	0.14	0	0	0	0	0.15	0.19	123

Populations	KI	Salah Bey	Ain Oulmen	Sétif	El Baz	Ouricia	Amouchas	Tizin'Bechar	Babors	Kherrata	Derguina	SoukLetnine	Bejaia	Ujjel	Bibans	Bouira	Moyenne	SD	SD relatif (RSD)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
α-ionone isomethyl-E	1478	0	1.45	4.36	3.28	8.86	5.7	5.61	3.35	3.34	4.59	0	4.4	2.8	3.2	4.83	3.72	2.26	61
γ-ionone isomethyl	1480	0.26	0.96	0	1.89	3.78	0	0.1	2.01	1.79	0.53	0.35	2.88	0	0	2.44	1.13	1.24	109
β-selinene	1489	0.57	0.5	0	0	0.2	1.74	0	0.7	0.55	0	0	1.75	0	0.25	0.17	0.43	0.59	137
Calamenene-10-11epoxy	1491	0	0	0	0.39	0	0.23	0	0	0	0	0.65	0	0.52	0	0.77	0.17	0.27	161
α-selinene	1498	1.81	1.24	0.97	0.45	0.68	0.42	0.75	0.99	0.26	1.12	1.64	0.8	1.85	0	0.48	0.90	0.56	62
Δ3-cadinene	1522	0.15	0.28	0	0.4	0.1	0	0.35	0.31	0	0	0.27	0.43	0	0.56	0.94	0.25	0.27	105
Nerolidol-Z	1531	0	4.77	2.67	17.3	0	0	0.64	9.74	0.91	0.94	0	6.15	5.47	14.4	3.9	4.46	5.46	122
Nerolidol-E	1561	0	0	0.39	0	4.05	3.68	21.2	0	24.7	9.68	0	0	0	0	0	4.24	8.07	190
α-copaen-11-ol	1539	0	0.39	0	0.97	1.47	0	0	1.08	0	0	0	1.45	1.1	0.93	2.97	0.69	0.86	124
Longipinanol	1567	0	0	0	0	0.33	1.02	0	0.31	0	0	0.52	1.69	0.74	1.81	0.22	0.44	0.62	139
Sesquisabinene hydrate	1577	0	0	0	0	0	0	0.31	0	0.87	0	0	0	0	0	0	0.08	0.23	296
Caryophyllene oxide	1582	3.01	3	8.58	10.7	2.84	5.62	3.75	4.79	2.18	2.32	0.9	10.9	4.54	4.65	5.8	4.91	3.03	62
Fokienol	1596	0	2.86	6.03	5.08	8.02	6.04	8.97	5.28	7.65	13.8	0.75	3.83	8.41	5.74	7.8	6.01	3.43	57
Ledol	1602	1.28	1.14	1.01	1.79	0	0	2.21	2.75	0	0.98	1.18	2.89	0	1.32	1.53	1.21	0.95	79
HumuleneEpoxide II	1608	0	0	0	0	0.55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0.14	387
Cubenol-1-epi	1627	0.74	0.59	1.97	0.78	4.17	0	3.35	0.9	0.89	3.1	0	3.14	0	4.49	0.76	1.66	1.57	95
Caryophylla-4(12)8(13)dien_5-α-ol	1639	0	0	3.52	2.99	3.46	3.22	0.63	0	2.53	2.14	1.13	1.43	0	3.24	0	1.62	1.45	90
α-cadinol-epi	1638	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.11	0	0.45	0	0.10	0.30	290
Aromadreneepoxide-allo	1639	0	0	0	0.91	0.34	0	0	5.33	2.3	0	0.4	0.84	0.49	0.33	7.1	1.20	2.15	179
Himachalol	1652	1.96	2.09	2.22	1.33	0.54	2.24	0.78	1.29	1.04	2.98	0.71	2.46	3.85	1.67	4.43	1.97	1.13	57
Himachalol-allo	1652	0	1.29	0	0.88	0	0	0	1.02	0	0	0	2.31	4.7	0	2.55	0.85	1.38	162
Intermedeol-neo	1658	9.04	6.57	4.28	3.07	6.37	3.01	2.8	8.68	3.34	4.6	8.8	6.72	3.17	3.21	2.69	5.09	2.38	47
α-santalol-Z	1674	0	0	1.55	0	0	0	1.07	0	0	1.3	0	0	0	0	0	0.26	0.55	210
Cedranol-5-neo	1684	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.46	0	0	0.03	0.12	387
α-bisabolol	1685	0.18	0.2	0	0	0.58	1.57	0.65	0.41	0	1.2	0	0	0.98	0	0	0.38	0.51	133
Germacra-4(15)5(10,14) trien-1-α-ol	1685	0	0	0	0	0	1.99	0.79	0	0	0	2.67	0	0	0	0	0.36	0.83	229

Populations	KI	Salah Bey	Ain Oulmen	Sétif	El Baz	Ouricia	Amouchas	Tizin'Bechar	Babors	Kherrata	Derguina	Souk Lemine	Bejaia	Jijel	Bibans	Bouira	Moyenne	SD	SD relatif (RSD)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
Acorenone-B	1697	0.66	0	0	0.33	0	2.69	0	0	0	0	0.22	0	0	0	0	0.26	0.70	268
Farnesol (2Z, 6Z)	1698	0	0.4	0.44	1.36	0	0	0	0	0.95	0	0	1.34	0	0	0	0.30	0.50	168
Amorpha-4,9-dien-14-al	1704	1.02	0	2.23	1.54	0	0	1.46	0	1.29	1.87	0	1.76	1.12	0	0.6	0.86	0.82	95
Thujopsenal	1708	2.05	2.82	1.65	0.76	0.51	1.47	1.23	1.64	0.79	0.56	3.65	2.09	1.98	0	1.74	1.53	0.95	62
Farnesol (2Z, 6E)	1722	0	0.41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.36	0	1.67	5.69	0.68	1.56	231
α -sinensal	1755	0	0	0	0	0.94	0	0	0	0	1.73	0	0	0	0	0	0.18	0.49	277
β -costal	1766	0.87	1.45	1.32	0.81	1.17	0	1.37	0.77	1.37	0	0.9	1.43	0.72	1	1.35	0.97	0.47	49
β-acoradienol	1762	0	0	5.95	0	0	0.56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.43	1.53	353
γ -curcumen-15-al	1766	0	0	1.98	1.2	0.72	2	0.8	0.51	1.7	0.64	0	0.66	1.92	0.33	0.9	0.89	0.72	81
α-costol	1773	1.02	3.99	3.23	0.79	1.15	4.5	1.15	1.74	3.06	1.96	7.94	2.57	1.26	1.37	2.36	2.54	1.87	74
α-muurolene 14-oxy	1767	0	0	3.86	0	3	0.41	2.17	0	0.23	0	2.55	0	1.83	0	0	0.94	1.35	144
Isovalencenol-E	1793	0	0	0	1.28	0	0	0	0	0	0	0	1.83	1.85	0	0.3	0.35	0.69	197
Phenylethylacetate	1254	0	0	0	0	0.77	0.27	0	0	1.85	0	0	0	0	0	0	0.19	0.50	261
Eicosane-1	1987	2.01	2.11	0	1.13	0	0	0	3.85	0	0	0	2.78	0.28	0.46	1.14	0.92	1.23	134
Manooloxide	1987	0	1.53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0	0	0	0.12	0.40	325
Canellal	2045	0	0	0	0	0	6.53	0	0	1.19	0	0	0	0	0	0	0.51	1.69	329
Polygodial	2016	58.7	42.9	3.56	5	11.4	4.31	4.24	31.1	8.66	2.81	26.9	14.2	33.9	31.1	18.3	19.8	16.9	86
Phytol	1942	6.46	0.97	17.6	7.09	24.3	28.9	22.6	5.56	18.7	18.6	21.6	0	8.08	1.01	3.12	12.3	9.77	79
Linoleicacid	2132	0	0.24	0.42	0	1.25	0	0.43	0	0	2.98	3.23	0	0	0	2.54	0.74	1.18	160
Retene	2214	1.57	4.04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.31	0	0	3.73	0.64	1.38	214
Tricosane	2300	0.34	0.26	0	0	0.29	0	1.2	0	0.36	1.21	0.34	0	0.18	0	0.29	0.30	0.40	133
Tetracosane	2400	0.23	1.34	0	0.67	0	0	0	0	0	0	0	0.87	0.48	0.34	0.22	0.28	0.41	147
Hexacosane	2600	0.7	0	0	0	1.03	0	0	0.49	0.5	0.91	0.61	0	0.32	0	0.93	0.37	0.40	108
Heptacosane	2700	2.04	0	1.74	0	1.86	0.52	0.53	0	1.93	0.32	0.28	0	0	0	1.43	0.71	0.83	117
Untriacontane	3100	0.37	0.62	0.85	0.35	0.51	0.27	0.24	0	1.06	1.39	1.64	0.4	0	0.23	0.44	0.56	0.48	86

Les composants majoritaires de cette huile sont, le polygodial ($19,8 \pm 16,97\%$), le phytol ($12,3 \pm 9,77\%$), le fokienol ($6,01 \pm 3,43\%$); l'intermedeol néo ($5,09 \pm 2,38\%$); le caryophyllène oxide ($4,91 \pm 3,03\%$); le nerolidol-Z ($4,46 \pm 5,46\%$); le nerolidol-E ($4,24 \pm 8,07\%$) et l' α -ionone isométhyl-E ($3,72 \pm 2,26\%$)

L' α -pinene et le camphene sont présents dans la population d'El Bez avec des taux importants (7,58 et 3,34%). Le cinéole déhydro-1,8 est présent dans la population d'Ain Oulmen avec un taux appréciable (3,51%). Les populations de Derguina, Setif, Bejaia et Tizi n'Bechar s'isolent avec des taux élevés de Geranyl acétone, alors que la population d'Ouricia s'isole avec un taux élevé d' α -ionone isomethyl-E (8,86%). Les populations des Bibans, Babor, Bejaia, Jijel et Ain Oulmen s'isolent par des taux élevés de Nérolidol-Z, par contre les populations de Kherrata, Tizi n'Bechar et Derguina contiennent des taux élevés de Nérolidol-E.

Le Caryophyllene oxide est présent dans les populations de Bejaia et Sétif avec des taux de 10,9 et 8,58%. Le β -acoradieenol n'est présent que dans la population de Sétif avec un taux de 5,95%.

Les populations des Bibans, Ouricia, Derguina, Bejaia et Tizi n'Bechar s'individualisent par la présence du cubenol-1-épi.

Le Caryophylla-4(12) -8(13) dien-5- α -ol n'est présent que dans les populations de Sétif, Ouricia, Bibans et Amochas avec des taux moyens. L'Aromadrene époxyde-allo est présent dans les populations de Bouira et Babors avec des valeurs de (7,01, 5,33%). Le Himachalol n'est présent que dans la population de Bouira avec un taux de (4,43%). Le Polygodial et le Phytol sont les composants majoritaires présents dans toutes les populations, par contre le phytol est absent de la population de Bejaia.

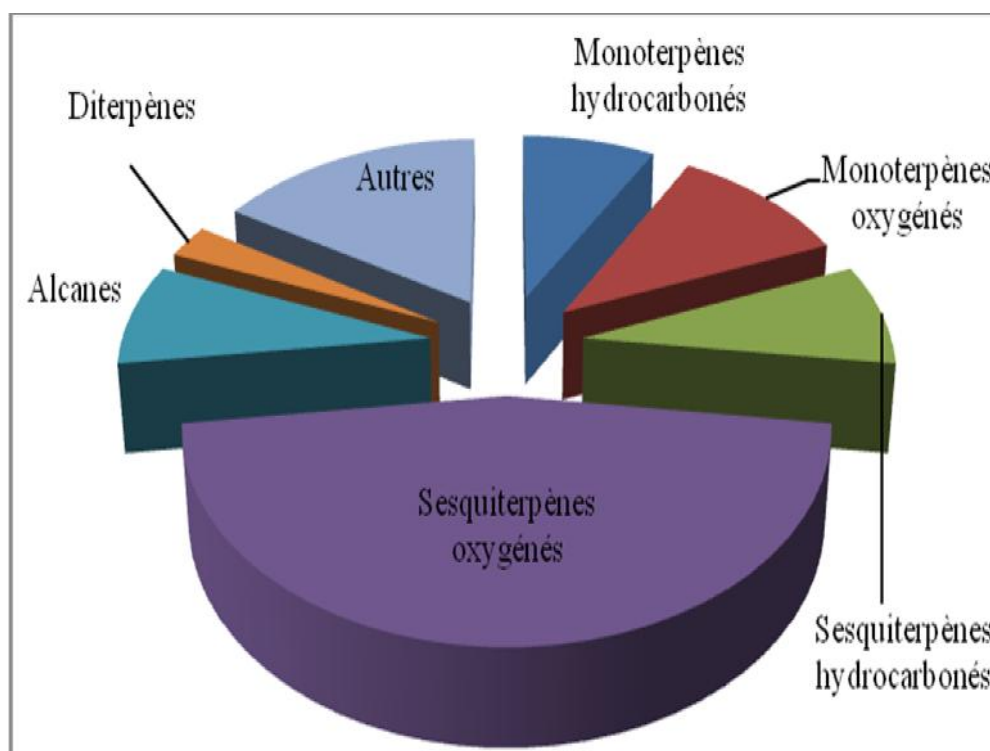
La classe chimique Sesquiterpènes oxygénés est la plus représentée dans les huiles essentielles d'*I. viscosa* (45,95%) (**Tableau 7**). Les composées les plus abondants dans cette classe sont le polygodial, l'intermédeol-neo, le nérolidol-Z et le fokienol.

Tableau 7: Classes chimiques d'*Inula viscosa*.

Classes chimiques	Nombre de composés	Pourcentage (%)
Monoterpènes hydrocarbonés	6	8,1
Monoterpènes oxygénés	8	10,81
Sesquiterpènes hydrocarbonés	6	8,1
Sesquiterpènes oxygénés	34	45,94
Alcanes	6	8,10
Diterpènes	2	0,27
Autres	12	16,21

Les classes chimiques (Monoterpènes hydrocarbonés, Sesquiterpènes hydrocarbonés et les alcanes) sont représentées par les mêmes taux (8,10%) (**Figure 15**).

Les monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés ne représentent que 18,91%, dans l'huile essentielle d'*Inula viscosa*. Les produits les plus abondants sont, le 1,8 cinéole déhydro, le camphor, le menthol-iso, le decanal-n et l' α -terpinéol. Les diterpènes sont faiblement représentés avec un taux de 0,27%, représentés par deux composants, le phytol et le manool oxide.

**Figure 15 :** Classes chimiques de l'huile d'*Inula viscosa*.

1-3- Analyses statistiques

1-3-1- Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'étude des 15 populations d'*Inula viscosa* montre très peu de différences de concentrations totales en huiles essentielles. Pour comparer les profils en composés chimiques nous avons considéré chaque composé comme une variable quantitative à expliquer (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Composants de l'huile utilisés dans les analyses statistiques

C	Composés	Code	Composés
V1	α -pinene	V15	Aromadrene Epoxide allo
V2	Camphene	V16	Himachalol
V3	Cineole dehydro-1,8	V17	Himachalol-allo
V4	Camphor	V18	Intermedeol-neo
V5	Geranyl acetone	V19	Thujopsenal
V6	α -ionone isomethyl-E	V20	Farnesol (2Z, 6E)
V7	γ -ionone isomethyl	V21	α -costol
V8	Nerolidol-Z	V22	α -muurolene 14-oxy
V9	Nerolidol-E	V23	Eicosane-1
V10	oxide Caryophyllene	V24	Polygodial
V11	Fokienol	V25	Phytol
V12	Ledol	V26	Acide linoleic
V13	Cubenol 1-epi	V27	Retene
V14	Caryophylla-4(12),8(13)-dien5- α -oL		

1-3-1-1- Etude des variables

a- Matrice des corrélations

L'examen de la matrice fait apparaître des coefficients de corrélation moyens, 57,97% des variables sont significativement corrélées (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Matrice de corrélation des composants des huiles *d'Inula viscosa* Cor $\geq 0,32$ Corrélation significative Cor $> 0,46$
Corrélation hautement significative

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27
V1	1,0																										
V2	1,0	1,0																									
V3	0,3	0,2	1,0																								
V4	0,3	0,3	-0,1	1,0																							
V5	-0,1	-0,2	0,3	-0,1	1,0																						
V6	0,0	-0,1	-0,2	-0,1	0,3	1,0																					
V7	0,2	0,2	0,0	-0,1	-0,3	0,5	1,0																				
V8	0,6	0,7	0,2	0,8	-0,2	-0,1	0,1	1,0																			
V9	-0,2	-0,2	-0,2	-0,3	0,2	0,3	0,0	-0,4	1,0																		
V10	0,6	0,5	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2	0,6	-0,4	1,0																	
V11	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	0,6	0,6	0,1	-0,1	0,5	-0,1	1,0																
V12	0,2	0,2	0,4	0,2	0,1	-0,2	0,2	0,4	-0,2	0,4	-0,2	1,0															
V13	-0,1	-0,2	0,0	0,4	0,4	0,6	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2	1,0														
V14	0,3	0,2	-0,1	0,3	0,3	0,5	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	-0,4	0,4	1,0													
V15	-0,1	0,0	-0,2	0,0	-0,3	0,1	0,5	0,2	-0,1	0,1	0,1	0,3	-0,2	-0,4	1,0												
V16	-0,1	-0,2	0,2	-0,1	0,3	0,0	-0,1	0,0	-0,3	0,2	0,3	-0,1	-0,2	-0,3	0,3	1,0											
V17	0,0	0,0	0,2	-0,1	-0,2	-0,1	0,1	0,2	-0,3	0,3	0,1	0,1	-0,3	-0,5	0,3	0,7	1,0										
V18	-0,2	-0,2	0,1	-0,3	-0,3	-0,4	0,2	-0,2	-0,4	-0,3	-0,6	0,3	-0,1	-0,4	0,0	-0,3	-0,2	1,0									
V19	-0,2	-0,2	0,3	-0,5	-0,3	-0,6	-0,2	-0,3	-0,4	-0,1	-0,6	0,2	-0,6	-0,6	0,0	0,1	0,3	0,6	1,0								
V20	-0,2	-0,1	0,0	0,2	-0,1	0,1	0,4	0,1	-0,2	0,3	0,0	0,3	0,1	-0,2	0,7	0,6	0,4	-0,2	0,0	1,0							
V21	-0,3	-0,3	0,1	-0,3	-0,1	-0,4	-0,2	-0,4	-0,1	-0,3	-0,4	-0,2	-0,4	0,0	-0,1	-0,1	-0,2	0,3	0,7	-0,1	1,0						
V22	-0,1	-0,2	0,0	-0,3	0,1	0,3	-0,1	-0,4	0,0	-0,1	0,1	-0,3	0,1	0,3	-0,3	-0,3	-0,1	0,0	0,2	-0,3	0,2	1,0					
V23	0,1	0,1	0,3	0,0	-0,3	-0,3	0,4	0,4	-0,4	0,3	-0,4	0,7	-0,2	-0,5	0,4	0,1	0,3	0,6	0,3	0,2	-0,2	-0,5	1,0				
V24	-0,3	-0,2	0,0	0,1	-0,5	-0,7	-0,2	0,1	-0,5	-0,3	-0,6	0,1	-0,3	-0,6	0,0	0,1	0,2	0,6	0,4	0,0	0,0	-0,3	0,5	1,0			
V25	-0,2	-0,2	-0,4	-0,5	0,3	0,4	-0,2	-0,6	0,5	-0,4	0,3	-0,5	0,0	0,5	-0,3	-0,4	-0,5	-0,2	-0,1	-0,5	0,3	0,6	-0,7	-0,6	1,0		
V26	-0,2	-0,2	-0,1	-0,2	0,2	0,0	0,1	-0,4	0,0	-0,4	0,2	-0,1	0,0	-0,1	0,2	0,2	-0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	-0,3	-0,2	0,3	1,0	
V27	-0,1	-0,1	0,3	-0,1	-0,3	-0,2	0,1	-0,1	-0,3	-0,1	-0,2	0,1	-0,3	-0,5	0,4	0,4	0,3	0,1	0,4	0,6	0,1	-0,3	0,3	0,4	-0,5	0,1	1,0

Les composants chimiques identifiés dans l'huile essentielle des 15 populations montrent une variabilité inter populations (**Figure 16**).

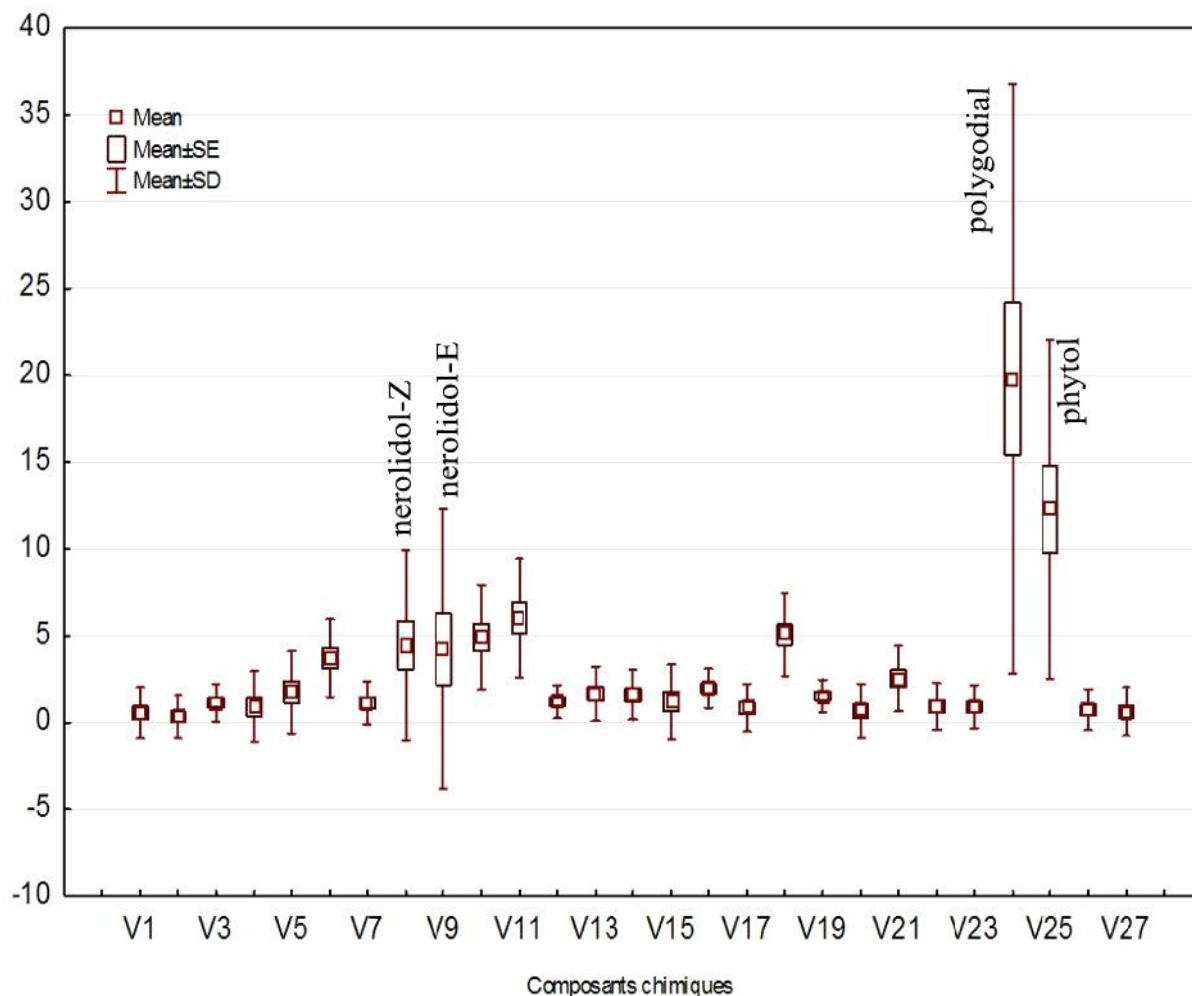


Figure 16 : Variabilité des composants des huiles essentielles d'*Inula viscosa*.

Les huiles essentielles d'*Inula viscosa* présentent des différences significatives dans la composition chimique. Le polygodial avec une moyenne de $19,8 \pm 16,9\%$ est le composant qui présente la plus grande variation chez cette espèce, suivi du phytol avec $12,3 \pm 9,77\%$, ainsi que les composants nérolidol-E et le nérolidol-Z.

Les valeurs propres représentent la variance des composants de l'huile sur les axes sont moyennes, 23,40% pour le premier axe, 18,46% pour l'axe 2 et 12,48% pour l'axe trois, donnant ainsi une bonne contribution à la variance totale. L'ensemble de l'information expliquée par les trois premiers axes issus de l'ACP est de 54.34%.

b- Cercle des corrélations

La représentation du plan formé par les deux premiers axes principaux plan 1x2 (**Figure 17**) montre que l'ensemble des composants de l'huile essentielle contribuent fortement à la formation de l'axe 1.

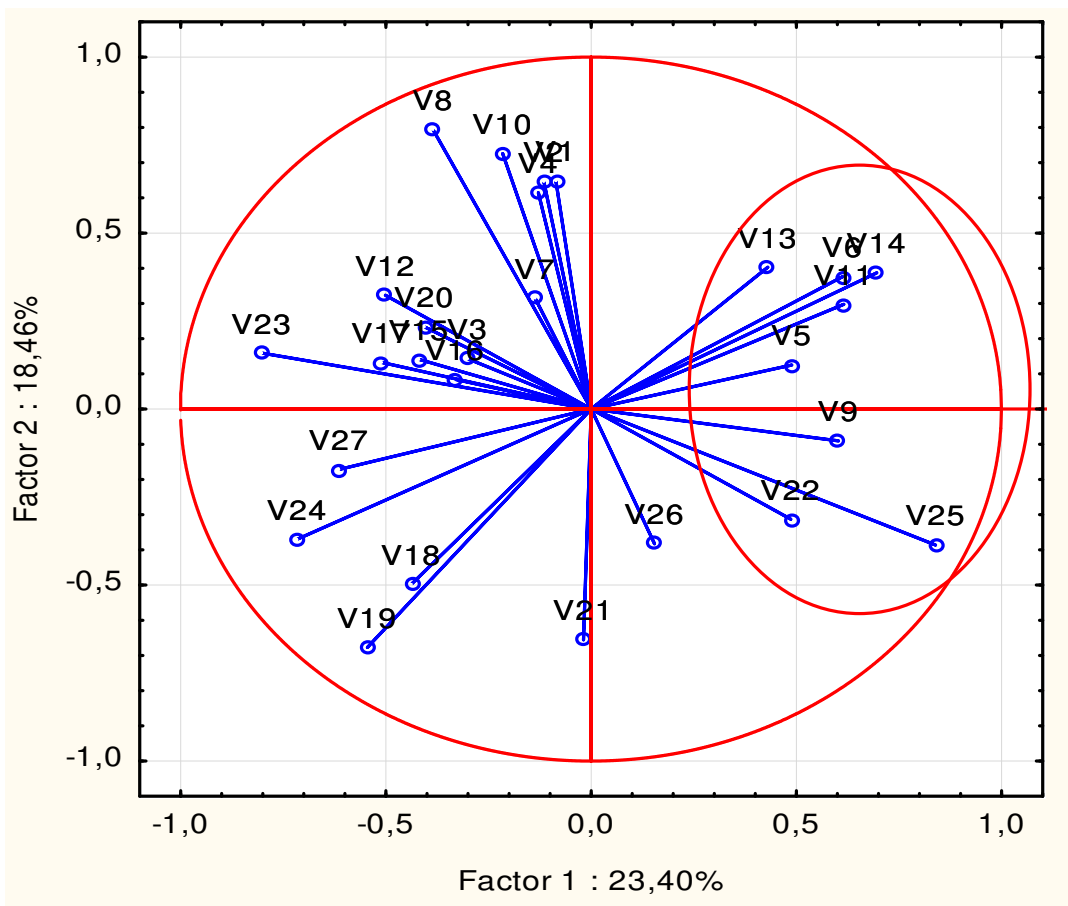


Figure 17 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2)

La partie positive de l'axe 1 est expliquée par le groupe de variables : (V5) geranyl acétone (cor. 0,49), (V6) α -ionone isométhyl-E (cor. 0,61), (V9) nérolidol-E (cor. 0,60), (V11) fokienol (cor. 0,61), (v13) cubenol-1-épi (cor. 0,43), (v14) caryophylla-4(12)-8(13)-dien-5- α -ol (cor. 0,69), (v22) α -murolène-14-oxy (cor. 0,48), et le (v25) phytol (cor. 0,83). La partie négative de l'axe 1 est expliquée par les composés : (V3) 1,8-cinéole déhydro (cor. -0,30), (V12) ledol (cor. -0,50), (V17) himachalol-allo (cor. 0,51), (V23) eicosane-1 (cor. -0,80), (V24) polygodial (cor. -0,71) et le (V27) rétène (cor. -0,61).

Les composants (V1) α -pinene (cor. 0,65), (V2) camphene (cor. 0,64), (V4) camphor (cor. 0,61), (V7) γ -ionone isomethyl (cor. 0,31), (v8) nérolidol-Z (cor. 0,79) et le (V10) oxide de caryophyllene (cor. 0,72) expliquent la partie positive de l'axe 2, alors que sa partie négative est expliquée par le (V18) intermédéol-néo (cor. -0,49), (V19) thujopsenal (cor. -0,67), (v21) α -costol cor. 0,65) et le (V26) acide linoléique (cor. -0,38).

Les variables (V15) aromadrène époxyde allo (cor. 0,55), (V16) himachalol (cor. 0,71) et le (V20) farnésol (2Z, 6E) (cor. 0,70) expliquent la partie positive de l'axe 3 (**Figure 18**).

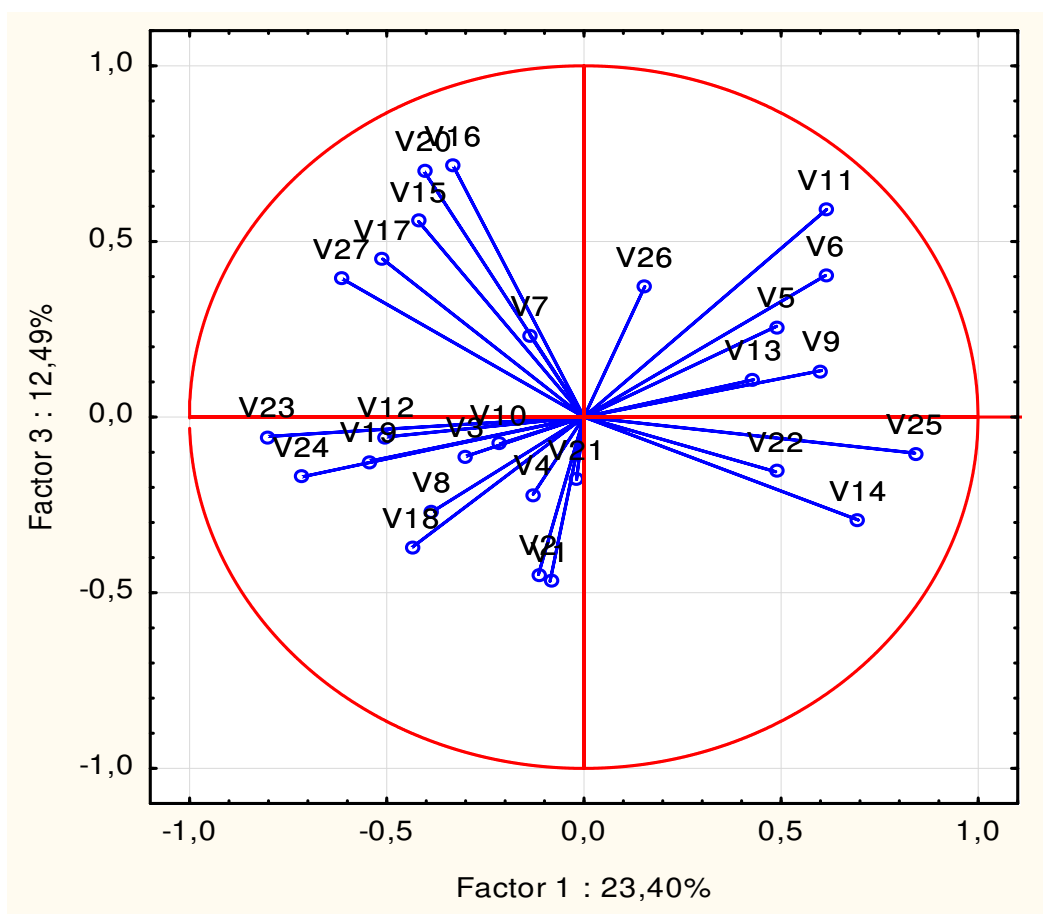


Figure 18 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x3)

1-3-1-2-Etude des populations

La superposition du plan (1x2) des variables au plan (1x2) des populations montre que les populations se répartissent sur les trois premiers axes (**Figure 19**). Les populations de Sétif, Derguina, Ouricia, Amouchas, Kherrata et Tizi n'Bechar, localisées sur la partie positive de l'axe 1 :

Sont caractérisées par le geranyl acétone, l' α -ionone isométhyl-E, le nérolidol-E, le fokienol, le cubenol-1-épi, le caryophylla-4(12)-8(13)-dien-5- α -ol, l' α muurolène-14-oxy et le phytol. Alors que les populations de Salah Bey, Ain Oulmen, Babor et Bejaia, localisées sur la partie négative de l'axe 1, se caractérisent par le 1,8-cinéole déhydro, le ledol, le himachalol-allo, l'eicosane, le polygodial et le rétène.

L'axe 2 oppose trois populations, sur sa partie positive on retrouve les populations des Bibans et El-Bez, qui se caractérisent par l' α -pinène, le camphène, le camphor, le γ -ionone isométhyl, le nérolidol-Z et l'oxyde de caryophyllène, alors que sur la partie négative se trouve la population de Souk Letnine qui est caractérisée par l'intermédeol-néo, le thujopsenal, l' α -costol et l'acide linolénic.

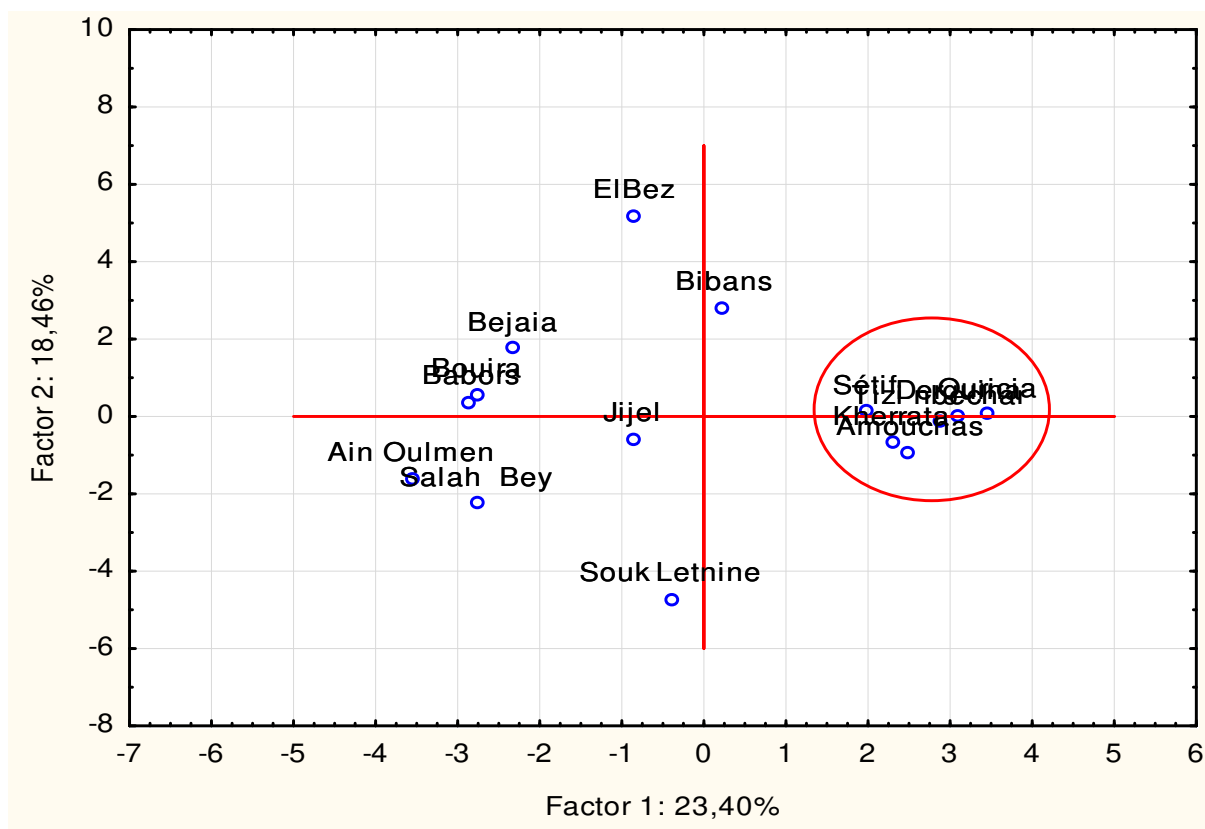


Figure 19: Projection des populations d'*Inula viscosa*, sur le plan (1-2).

Les populations de Jijel et Bouira sont caractérisées par l'aromadène époxyde-allo, l'himachalol et le farnésol-(2Z, 6E). Elles sont localisées sur la partie positive de l'axe 3 (**Figure 20**).

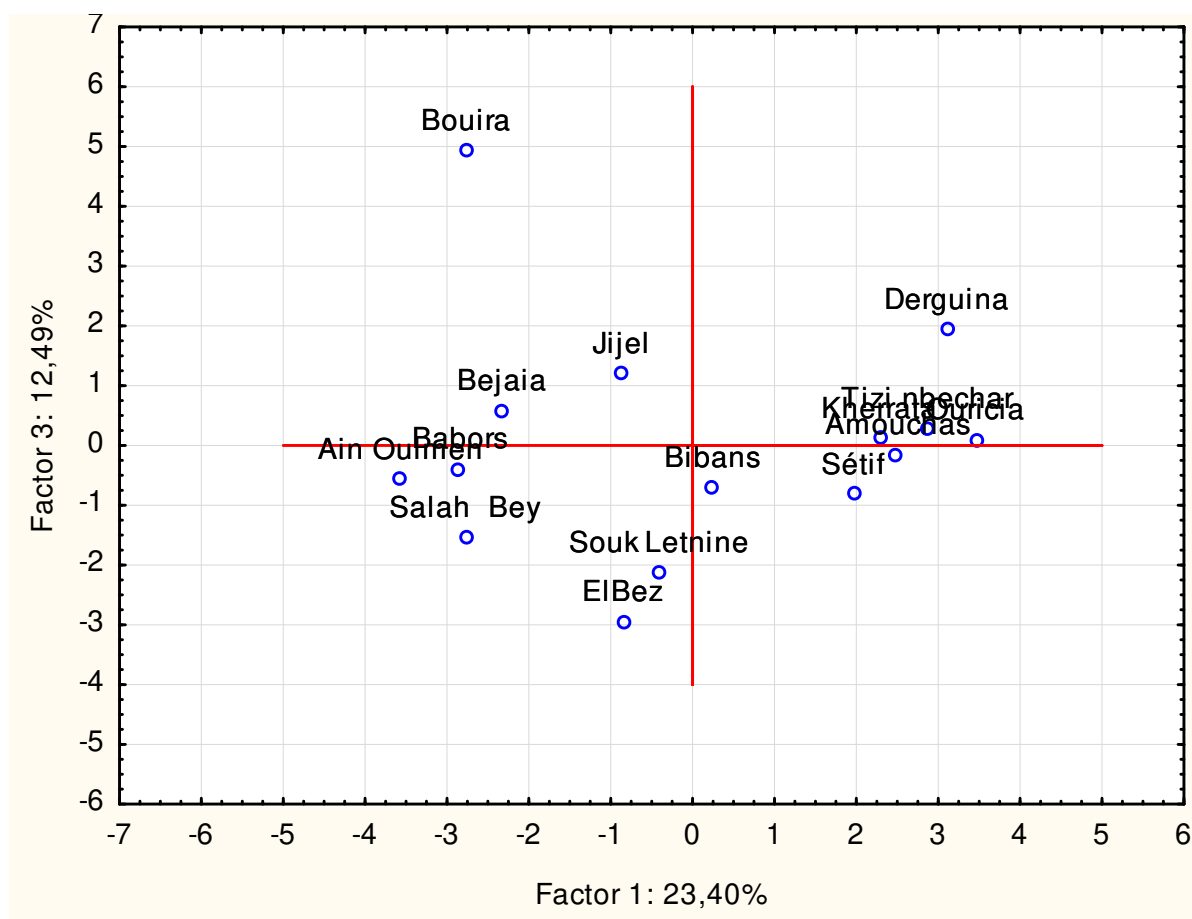


Figure 20 : Projection des populations d'*Inula viscosa*, sur le plan (1-3).

Les populations d'*Inula viscosa* montrent très peu de différence dans les concentrations totales d'huiles essentielles. La projection spatiale en trois dimensions des 15 populations basée sur les trois axes principaux de l'ACP (**Figure 21**), montre que les populations de Salah Bey, Ain Oulmen, Souk Letnine, Bibans et Tizi n'Bechar sont distinctement séparées, mais le reste des populations ne sont pas clairement délimitées et leur séparation en groupes homogènes est moins nette.

1-3-2- Analyse des clusters (UPGMA)

L'analyse des clusters UPGMA basée sur la distance du linkage, confirme les résultats de l'ACP et sépare les populations d'*Inula viscosa* en deux clades distincts (**Figure 22**). Le premier clade s'individualise par la population de Salah Bey, l'huile de cette population se caractérise par un taux élevé de polygodial et d'importantes concentrations de phytol et d'intermédeol-néo. Le deuxième clade est subdivisé en deux groupes.

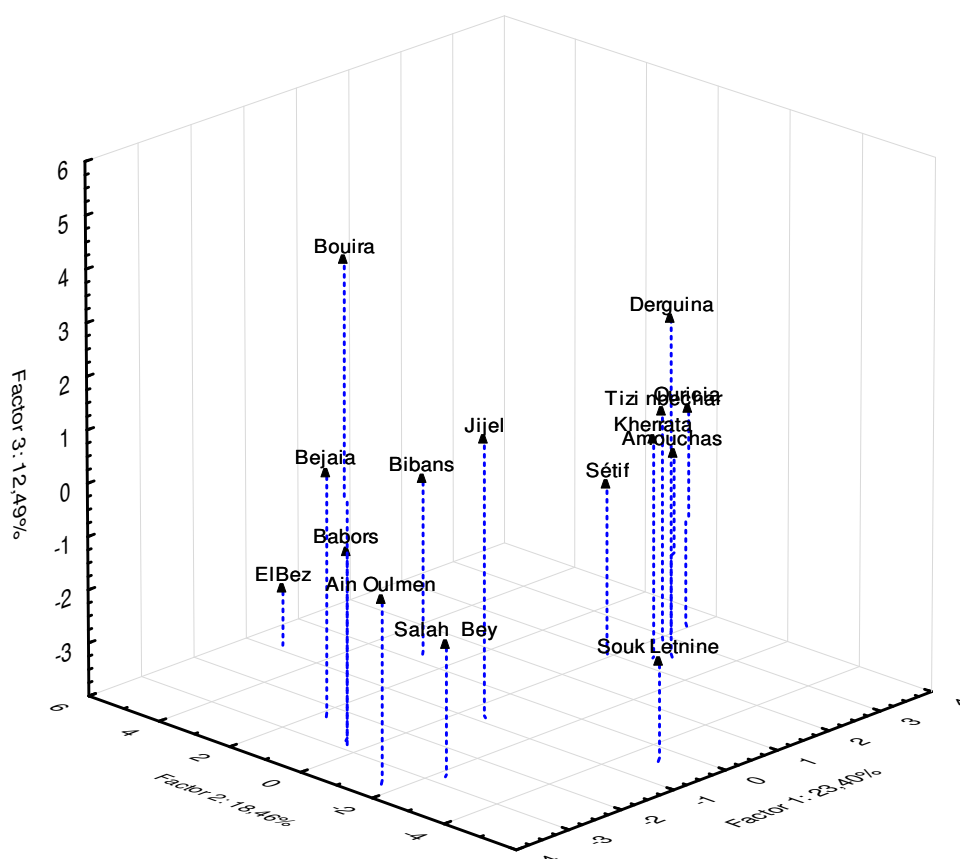


Figure 21: Projection spatiale des populations d'*Inula viscosa*

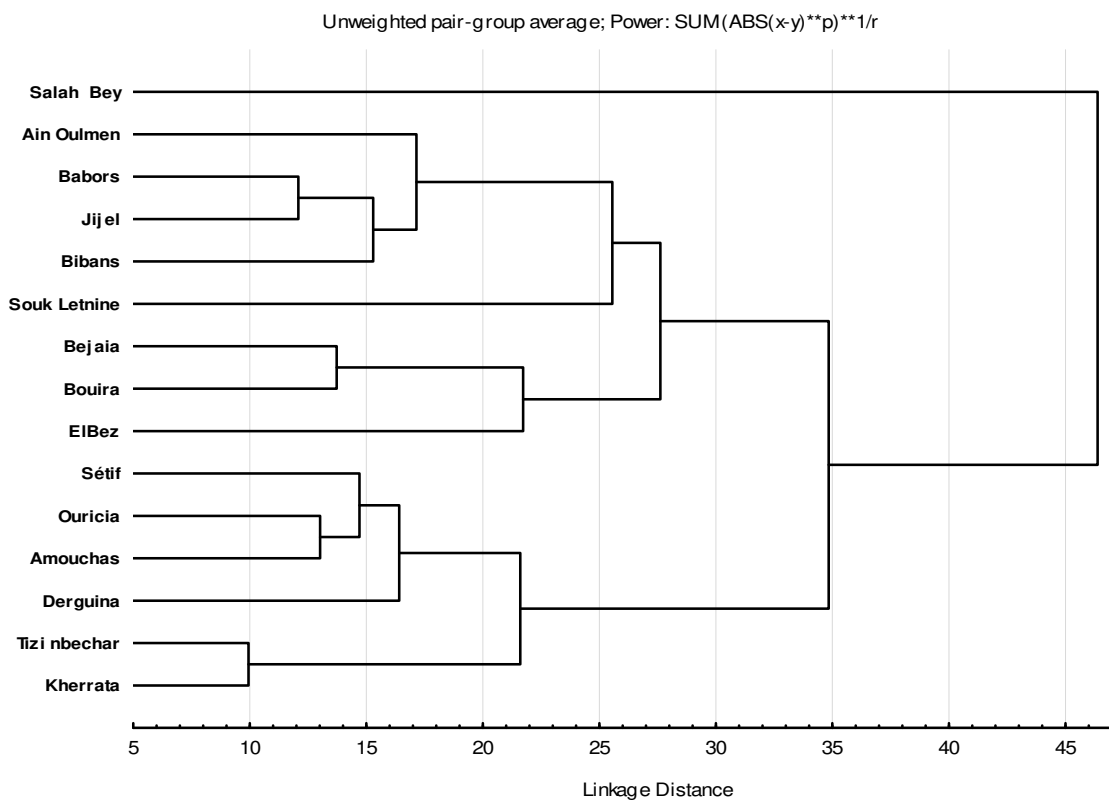


Figure 22 : UPGMA cluster des 15 populations d'*Inula viscosa*.

Le premier groupe contient deux sous-branches ; la première sous-branche regroupe les populations d'Ain Oulmen, Babor, Jijel et Bibans, elles sont caractérisées par des taux élevés de fokiéno, polygodial et nérolidol-Z. La deuxième sous branche rassemble les populations de Bejaia, Bouira, Souk Letnine et d'El Bez ; les huiles de ces populations se caractérisent par des concentrations importantes d'oxide caryophyllene, polygodial, d'ionone isométhyl-E, du nérolidol-Z et d'intermédo-né.

Les populations de Sétif, Ouricia, Derguina et Amouchas, forment un groupe, qui se caractérise par la présence du fokiéno, phytol, intermédo-né, geranyl acétone et du nérolidol-E. Alors que les populations de Tizi n'Bechar et Kherrata forment un deuxième sous-groupe avec une huile qui se caractérise par un taux élevé de nérolidol-Z, et d'importantes concentrations de phytol et de fokiéno.

Sur la base des résultats chimiques et leurs interprétations statistiques les populations étudiées d'*Inula viscosa* peuvent être séparées en plusieurs chemotypes (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Chemotypes des populations d'*Inula. Viscosa*

Chemotypes	Populations
Polygodial – Intermédo néo – Phytol	Salah Bey
Polygodial -Nérolidol-Z -Fokienol	Ain Oulemen, Babor, Jijel, Biban, Bejaia, Bouira, El-baz, Souk Letnine
Fokienol – Phytol – Nérolidol-E	Sétif, Derguina, Ouricia, Amouchas, Tizi n'Bechar, Kherrata

1-4- Discussion

Le rendement moyen en huiles essentielles d'*Inula viscosa* obtenu est de 0,23%. Nos résultats sont conformes à ceux de **Nawel et al. (2014)**, **Perez Alonso et Negueruela (1996)** qui ont constaté que le rendement en huiles des échantillons d'Algérie et de la Turquie était de 0,22%. Le rendement en huiles essentielles d'*I. viscosa* obtenue à Sidi Rezine (Algérie) été de 0,34% (**Madani et al., 2014**).

Dans la même région, **Haoui et al. (2015)** ont trouvé un rendement de 0,45%. Le rendement obtenu à partir des parties aériennes d'*I. viscosa* de Jordanie été faible (0,05%) (**Mahmoud et al., 2010; Al Quadah et al., 2010**).

Le rendement obtenu des échantillons de Syrie (0,09%) été très faible (**Nasser et al., 2014**).

Alors que **Hwija et al. (2018)** sur des échantillons de Syrie ont trouvé un rendement de 0,67%. Les rendements obtenus de différentes régions d'Italie varient entre 0,35 et 0,37% (**De Laurentis et al., 2002**).

Ces variations de rendement en huile essentielle peuvent être attribuées à plusieurs facteurs dont l'origine géographiques, l'espèce, l'altitude et la période de récolte ainsi au temps de séchage et aux techniques d'extraction des huiles essentielles (**Masotti et al., 2003; Curado et al., 2006; Zheljazkov et al., 2013**), l'effet des techniques d'extraction (**Glisic et al., 2007**) ainsi que la physiologie de la plante (**Thiem et al., 2011**). L'analyse chromatographique des huiles essentielles d'*Inula viscosa* a révélé que le polygodial est le principal composant de l'huile avec une moyenne de $19,8 \pm 16,9\%$. Le phytol composant dominants dans les populations de Jijel et Sétif avec une moyenne de $12,3 \pm 9,77\%$, est peu représenté dans la population d'Alger (**Haoui et al., 2011**).

Le caryophyllène oxyde est présent en quantité significative en Algérie (**Haoui et al., 2015, 2018**), en France (**Blanc et al., 2006**) et en Tunisie (**Jazia et al., 2018; Nawres et al., 2019; Ibrahim et al., 2019**), en Italie (**De Laurentis et al., 2002**), alors que ce composant est présent dans les populations de Bejaia et Sétif avec des taux importants (10,9 et 8,58%), et dans les populations de Bouira, Amochas, Babors, Bibans, Jijel, Tizi n'Bechar, Salah Bey et Ain Oulmen avec des taux faibles.

La composition chimique des huiles essentielles d'*I. viscosa* dans cette étude est différente de celle qui a été analysée auparavant, d'Ain Elbey et Hama Bouziane (Algérie) (**Boudouda et al., 2012**). Ces populations sont caractérisées par la présence de β -caryophyllène, d'intermediol néo et d'acide isocostique, alors que ce dernier composé est absent des huiles de nos populations. Le fokienol, composant

majeur des populations jordaniennes (**Al-Qudah, 2010**), est présent avec des concentrations importantes dans nos huiles ($6,01 \pm 3,43\%$).

Le fokienol et le nérolédol étaient également détectée dans les huiles essentielles d'*I. viscosa* en Espagne (**Camacho et al., 2000**), en France (**Mahmoudi et al., 2016**), en Algérie (**Madani et al., 2014**), en Jordan (**Al-Qudah, 2010**), et dans les populations de Turquie (**Haoui et al., 2011**).

Plusieurs facteurs sont responsables de cette variabilité de la composition chimique des huiles essentielles des populations de la même espèce. Parmi ces facteurs : les conditions environnementales (climat, nature du sol, etc.), les conditions de récolte et conservation (période de récolte, séchage et broyage, etc.) et les conditions opératoires d'extraction (temps, température, rapport liquide / solide, etc.). Ces facteurs influencent le cycle végétatif de la plante et contribuent à la diversité chimique de ses composés volatils (**Nawres et al., 2019**).

2- Résultats antibacterienne

2-1- Activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

L'étude *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'*Inula viscosa* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton) (**Figure 23**), montre que les huiles essentielles et ses différentes dilutions présentent une activité inhibitrice forte contre toutes les bactéries testées avec des diamètres d'inhibition variant entre 8 et 40 mm (**Tableau 11**).

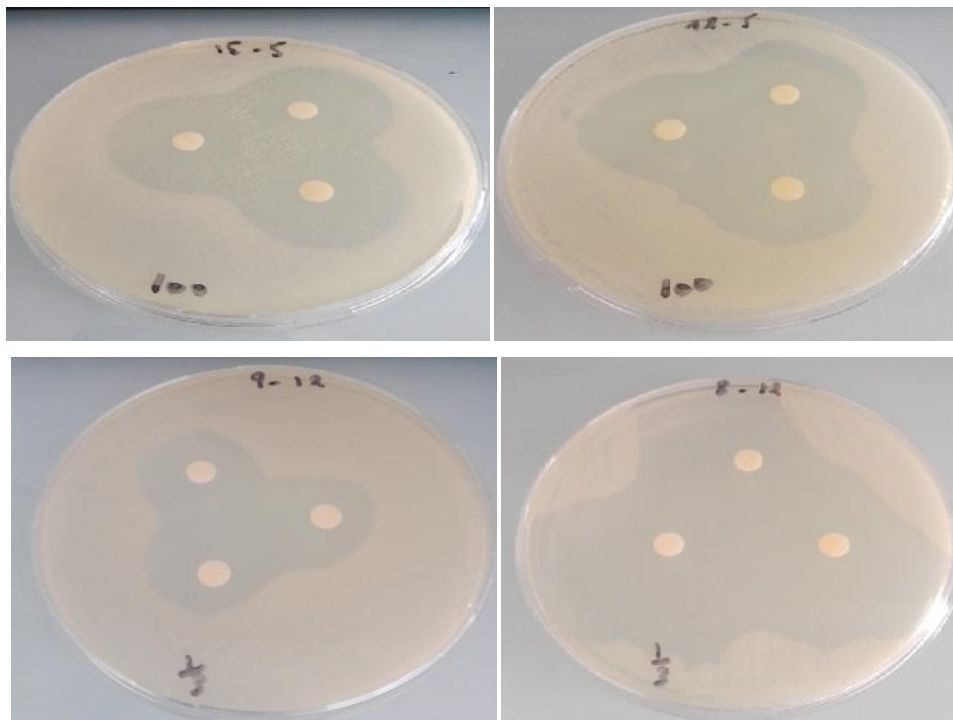


Figure 23 : Méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé solide

Les espèces bactériennes *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *ESBL* et *Salmonella enterica* sont extrêmement sensibles à l'huile essentielle de toutes les populations testées. Les bactéries *ESBL/BLSE*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis* sont sensibles à l'huile essentielle d'*Inula viscosa*.

Alors que les souches *Enterobacter cloacae*, *Acetobacter sp*, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia liquefaciens* sont moins sensibles à l'huile essentielle de cette espèce.

Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles d'*I. viscosa*

	Dilution	SoukLetenine	Bibans	Saleh Bey	Bouira	Jilel	Begaia	Ain Olmene	Setif	El Bez	Kherrata	Ouricia	Babors	Amoucha	Derguina	Tizin'Bechar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	10.3±0.6	11.3±1.2	10±0	13.3±1.2	10.7±1.2	12±1	22.3±0.6	22±1.7	10.3±0.6	15.7±0.6	13±0	22.3±0.6	14.3±1.2	13±2	10.3±0.6
	½	12.3±0.6	12.3±0.6	12±1.7	11.7±0.6	11.3±1.2	11.3±1.2	15±1	14.7±0.6	12.3±1.2	12.3±0.6	10±0	16±1	12.3±0.6	10.7±1.2	12.3±1.2
	1/3	11±1.7	10.7±1.2	10±0	11.7±1.2	11±1	11.7±1.2	13±1.7	13.7±0.6	12±1	10.3±0.6	10±0	12.7±1.2	10±0	12.3±0.6	12±1
	GEN	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1	31.9±0.1
<i>K. pneumoniae</i>	1	30±0	25±0	22±0	20.3±0.6	20±0	20±0	30±0	25±0	22.7±0.6	23.7±1.5	28±0	28±0	23.3±1.5	23.7±1.2	21.7±2.9
	½	20.6±1.2	20.7±1.2	18±0	16.7±0.6	19.7±0.6	25±0	12±0	20.7±1.2	15±0	16±0	17.3±0.6	15.3±0.6	15±0	15±0	13.7±0.6
	1/3	15±0.	16.7±1.2	14±0	13.3±0.6	16.7±1.2	20±0	18±0	15±0	18.3±2.9	15±0	15±0	12.7±1.2	20±0	20±0	13.3±0.6
	GEN	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9 ±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1
<i>Escherichia coli</i>	1	15±0	13.3±4.2	13±0	11.3±0.6	10.3±0.6	10.7±1.2	17.7±2.5	14.3±1.2	14.3±1.2	10.3±0.6	13±1.7	13±1.7	19.3±1.2	11.7±1.2	14.3±0.6
	½	13.3±2.9	12±1.7	11.3±1.2	11.7±1.5	14.3±1.2	10±0	14.3±1.2	11.3±1.2	13.3±1.5	10±0	11±0	10.7±0.6	13.7±1.5	10±0	10.7±0.6
	1/3	14.3±1.2	11.3±1.2	10±0	12±1.7	10.7±1.2	10.3±0.6	13.7±1.5	10.7±0.6	11.7±0.6	10.3±0.6	10.30.6	10±0	10.7±1.2	8.7±1.2	10±0
	GEN	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1
<i>Bacillus cereus</i>	1	10.7±1.2	15.7±1.2	13±0	11.3±0.6	10±0	15±0	12.7±0.6	11.7±0.6	15.3±1.5	12.7±0.6	20±0	10.3±0.6	10.7±0.6	13±0	15±0
	½	10.7±0.6	10±0	10±0	11±1	10±0	10±0	10±0	10±0	10±0	10.3±0.6	11±0	10±0	10±0	10±0	10.3±0.6
	1/3	10.7±1.2	10.7±1.2	11±0	10.7±0.6	8±0	8.7±1.2	10±0	10±0	11±0	9.3±0.6	10±0	10.7±0.6	10.6±0.6	11.3±0.6	10±0
	GEN	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.9±0.1	22.0±0.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	15.7±1.2	30±0	29.3±1.2	30±0	30±0	28.7±1.2	30±0	32.7±1.2	32.7±0.6	29.3±1.2	29.3±1.2	29.3±1.2	29.3±1.2	30±0	30±0
	½	14.3±1.2	25.3±0.6	21.7±2.9	27±1.7	28.7±1.2	28±0	28±0	28.7±1.2	27.3±1.2	18.7±1.2	26±1.7	26±1.7	26±1.7	28±0	28±0
	1/3	13.3±0.6	22±2	24.7±0.6	25±0	28±0	25.7±1.2	28±0	24.3±1.2	25.3±0.6	15±0	24.7±0.6	22.7±1.2	19.3±1.2	26.7±1.2	19.3±1.2
	GEN	29.9±1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1	29.9±0.1
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)	1	28±0	13.3±0.6	19.3±1.2	19.7±0.6	16.7±1.5	15±1.7	14±1	23.7±1.2	19.3±1.2	19.3±1.2	20.3±0.6	18.7±1.2	13.3±0.6	16.3±1.2	19.3±1.2
	½	25.3±0.6	20±0	18.7±2.3	17.7±2.5	16.3±1.5	13.7±1.5	11.3±1.5	17.7±2.3	12.3±1.2	13.7±1.2	15.3±2.5	17±1	13±0	14.7±1.5	13±1.7
	1/3	20.7±1.2	15±0	15±0	16.7±2.9	14.3±1.2	17.3±2.5	16±1	17.7±0.6	14.3±1.2	12±0	16.7±1.5	11±1	12.7±0.6	10.3±0.6	12±0
	GEN	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	36.2±2.3	34.9±0.1
<i>ESBL</i>	1	12.3±0.6	10.7±1.2	10.3±0.6	11±1	13±0	13.7±1.2	15.7±0.6	20±0	20±0	17.3±1.2	19.3±1.2	18.3±1.2	15. ±0	10±0	17.3±1.2
	½	10.7±0.6	11.3±1.2	10±0	10±0	11±0	12.3±0.6	13±1.7	14.7±1.5	14.7±1.5	12.7±0.6	12.7±0.58	10±0	12.7±1.2	11.7±2.9	12.7±0.6
	1/3	9.7±0.6	10.3±0.6	10±0	10.7±0.6	11±1	13.3±1.2	11±0	12.7±1.2	12.7±1.2	11.7±0.6	12.3±0.58	11±1	10.7±0.6	11±0	11.7±0.6
	GEN	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.9±0.1	39.90±0.1	39.9±0.1

<i>Listeria monocytogenes</i>	1	20±0	12.3±2.5	11.7±2.9	14.3±1.2	21±1.7	10±0	11±1	10.7±1.2	12.7±0.6	11.3±0.6	10.7±1.2	11.33±0.6	10±0	10±0	11.3±0.6
	½	17.7±2.5	11±1.7	10±0	12±1	13.3±1.5	10±0	10.7±0.6	10.3±0.6	11.3±1.2	10.3±0.6	10±0	10.3±0.6	10.3±0.6	10±0	10.7±1.2
	1/3	15±0	10±0	10±0	10±0	10±0	10±0	10.3±0.6	10.7±1.2	10±0	10±0	12.3±1.2	12±1.7	10±0	8.7±1.2	10±0
	GEN	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1	34.9±0.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	13.3±0.6	17.7±0.6	17.7±1.2	20±0	25±0	12±0	19.3±1.2	20.3±0.6	16.3±1.2	18.7±1.2	20.7±1.2	18.7±1.2	16±1.7	13.3±0.6	18±0
	½	10±0	12.3±0.6	15.7±1.2	11.7±0.6	11.7±1.5	11.3±0.6	10±0	11.6±0.6	10±0	12±0	15±0	11.3±0.6	12.7±0.6	11±0	10±0
	1/3	10±0	11±1	11±1	11.3±1.2	10±0	10±0	10±0	11±0	12.7±0.6	10.3±0.6	12±0	10.7±0.6	11±0	10±0	10±0
	GEN	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1	12.9±0.1
<i>Salmonella enterica</i>	1	25±0	29.3±1.2	30±0	25±0	30±0	30±0	30±0	30±0	30±0	30±0	29.3±1.2	25±0	15±0	30±0	27.3±1.2
	½	15.3±1.5	26±1.7	25±0	15±0	30±0	28.7±1.2	28.7±1.2	27±1.7	21.3±1.2	22±0	25±0	15.7±1.2	13.7±1.5	24.3±1.2	25.3±0.6
	1/3	15±0	26±1.7	27.7±2.5	17.3±2.1	28±0	28±0	30±2	26±1.7	25±0	25±0	23.7±1.2	15±0	11.3±1.2	11±1.7	25±0
	GEN	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1	26.9±0.1
<i>Acetobacter</i> sp.	1	15.3±0.6	12.3±2.1	11±0	10.3±0.6	15±0	10±0	13.7±0.6	10±0	11±0	11.7±0.6	13±0	12.3±0.6	10±0	11.3±1.2	13.3±0.6
	½	12.7±0.6	10±0	10.3±0.6	11±0	12±0	10.7±0.6	10±0	10.3±0.6	10±0	11.3±0.6	10±0	10±0	10±0	14±0	12.7±0.6
	1/3	11±0	8±0	10.7±0.6	11±1	10.7±0.6	8±0	10±0	10.7±0.6	10±0	11±0	10±0	10±0	10±0	10.7±0.6	10±0
	GEN	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.9±0.1	24.8±0.2
<i>Proteus mirabilis</i>	1	10±0	12.3±0.6	11.3±0.6	10±0	11.3±1.2	10±0	13.3±1.2	12.7±1.2	10.7±1.2	16±1.7	10±0	10.7±1.2	16±0	16.7±1.2	14.7±0.6
	½	12.7±0.6	12.3±2.5	10.7±1.2	14.3±1.2	12.3±1.5	17.7±0.6	15±0	15.7±1.2	13±1.7	14.3±1.2	14.7±0.6	13.3±1.2	12±2	13.3±1.5	13±1.7
	1/3	13±1	13.7±0.6	10.3±0.6	13±1.7	12.7±1.2	14±1	17.7±0.6	13.3±0.6	16±1	12±2.7	12.7±1.2	14.3±1.2	13.3±1.5	12±2	14±1
	GEN	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	27.9±0.1	28.5±0.4
<i>Serratia marcescens</i>	1	15±0	11.3±1.2	11.3±1.2	13±0	10.7±1.2	12±0	11.7±1.5	10.3±0.6	15.7±1.2	11.3±1.2	12±0	11.7±0.6	13.7±1.5	15±0	13±0
	½	10±0	10±0	10±0	10.7±1.2	10±0	11±1	10±0	10±0	10±0	10.3±0.6	10.3±0.6	10.7±0.6	10.7±1.2	10.7±1.2	11.7±1.5
	1/3	10.7±1.2	8.3±0.6	8±0	10.3±0.6	10±0	9.3±1.2	10±0	10.3±0.6	11±1	10.8±0.6	10±0	10±0	12±0	10±0	10.7±1.2
	GEN	23.9±0.1	27.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	23.9±0.1	24.5±0.5
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	11.3±1.2	11.3±1.2	10.7±1.2	13.3±0.6	13.3±1.2	13±0	12±1	14±1	13.3±1.2	12.3±0.6	12±0	15±0	13.3±1.2	16.7±1.5	10±0
	½	10.7±0.6	10±0	10.3±0.6	12.7±0.6	12±0	11±1	11.3±1.2	10±0	12.3±0.6	10±0	10±0	13±0	12.3±0.6	15±0	8±0
	1/3	10.7±1.2	10.7±1.2	10±0	11.3±1.2	10.7±0.6	10.3±0.6	11±0	12.3±0.6	10.7±1.2	10.7±0.6	11.3±1.2	13±0	10±0	11.3±1.2	8±0
	GEN	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1	17.9±0.1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	20±0	15±5	16.7±2.9	18.3±2.9	10±0	25±0	14.3±0.6	14.3±1.2	16.3±1.5	13.7±1.2	19.3±1.2	13.7±1.2	17.3±1.2	10.3±0.	15.7±1.2
	½	18.7±1.2	10.3±0.6	11.7±0.6	10±0	14.7±0.6	16.7±2.9	11±0	13.7±1.2	10±0	12.7±0.6	12.3±1.2	11±1	11.7±1.5	12.7±0.	11.3±0.6
	1/3	11.7±2.9	10±0	10.7±1.2	10±0	10.3±0.6	110	10±0	10.3±0.6	8±0	10.7±0.6	10±0	11.3±1.2	10.3±0.6	8.7±1.2	10.3±0.6
	GEN	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.90.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1	19.9±0.1

La croissance des souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus* (résistant à la méticilline) et (ESBL ou BLSE) sont fortement inhibées par l'huile essentielle d'*I viscosa*. La sensibilité la plus élevée est celle constatée chez *Staphylococcus aureus* avec une moyenne de zone d'inhibition de $26,84 \pm 0.05$ mm. (**Figure 24**).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est proportionnelle à la concentration des huiles, plus les extraits sont concentrés meilleure est leur activité antibactérienne.

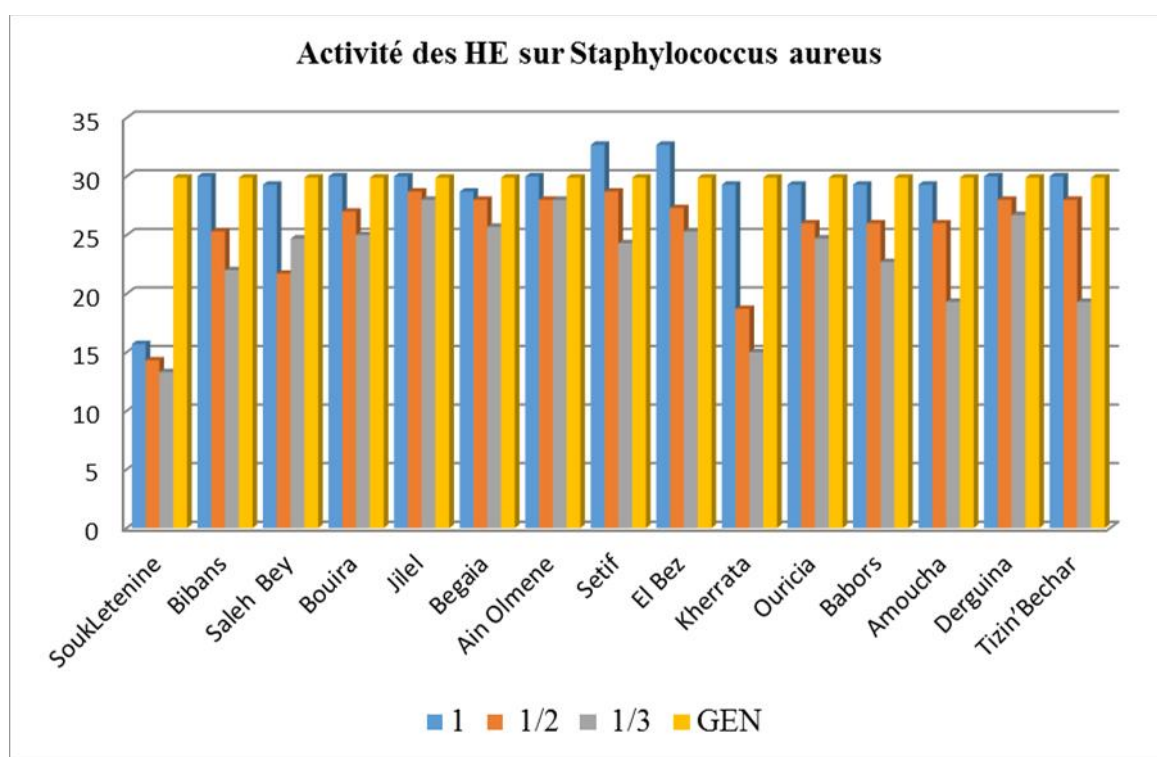


Figure 24 : Pourcentages d'inhibition de *Staphylococcus aureus*.

2-2- Analyse de la variance (ANOVA) de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*

L'analyse statistique des résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne par l'analyse de la variance montre que les populations, les doses et les souches bactériennes, ainsi que leurs interactions, sont très significatifs ($P < 0,001$) (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Effets et interactions des huiles essentielles *d'Inula. Viscosa*.

Sources	df	F	P
Effets			
Population	15	45	.000 ***
Dilution	3	41147	.000 ***
Bactérie	15	4269	.000 ***
Interaction			
Population * dilution	42	20	.000 ***
Population * Bactéries	196	45	.000 ***
Dilution * Bactéries	42	1216	.000 ***
Population * Dilution * Bactéries	588	16	.000 ***

Toutes les huiles ont montré un effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries testées. L'analyse statistique de l'efficacité des huiles essentielles *d'Inula viscosa*, a montré que les huiles les plus efficaces de cette espèce sont celles collectées des stations de Sétif et d'Ain Oulmen, avec des diamètres d'inhibition de 18,72 et 18,55 mm, respectivement.

Par contre, l'activité antibactérienne de l'huile la moins efficace est celle de la population d'Amoucha avec un diamètre d'inhibition de 17,53 mm (**Tableau 13**).

Tableau 13 : Efficacité des huiles essentielles des populations *d'I. viscosa*

Rang	Populations	Zone moyenne d'inhibition (mm)	n	Groupes significatifs		
1	Setif	18.72	180	a		
2	Ain Oulmen	18.55	180	a		
3	Ouricia	18.30	180	b		
4	Jijel	18.21	180	b		
5	El Bez	18.15	180	b		
6	Bejaia	18.14	180	b		
7	Souk Letnine	17.92	180		C	
8	Bibans	17.83	180		cd	
9	Babor	17.70	180			de
10	Tizin'Bechar	17.64	180			ef
11	Bouira	17.59	180			ef
12	Derguina	17.54	180			ef
13	Salah Bey	17.53	180			ef
14	Kherrata	17.51	180			f
15	Amoucha	17.19	180			g

LSD 0.05 = 0.17943458234

Les huiles essentielles des populations de Souk Letnine, Bibans, Babor, Tizi n'Bechar, Bouira, Derguina, Salah Bey et Kherrata, présentent une activité antibactérienne modérée (**Figure 25**)

Le test de sensibilité aux antibiotiques a montré que l'activité de l'antibiotique standard (Gentamycine) est la plus importante. Elle a montré une inhibition de la croissance avec une moyenne de 27,80 mm, très supérieure à celles des huiles et de leurs dilutions (**Tableau 14**). L'huile pure a montré l'effet le plus élevé avec un diamètre de 16,74 mm par rapport aux huiles diluées.

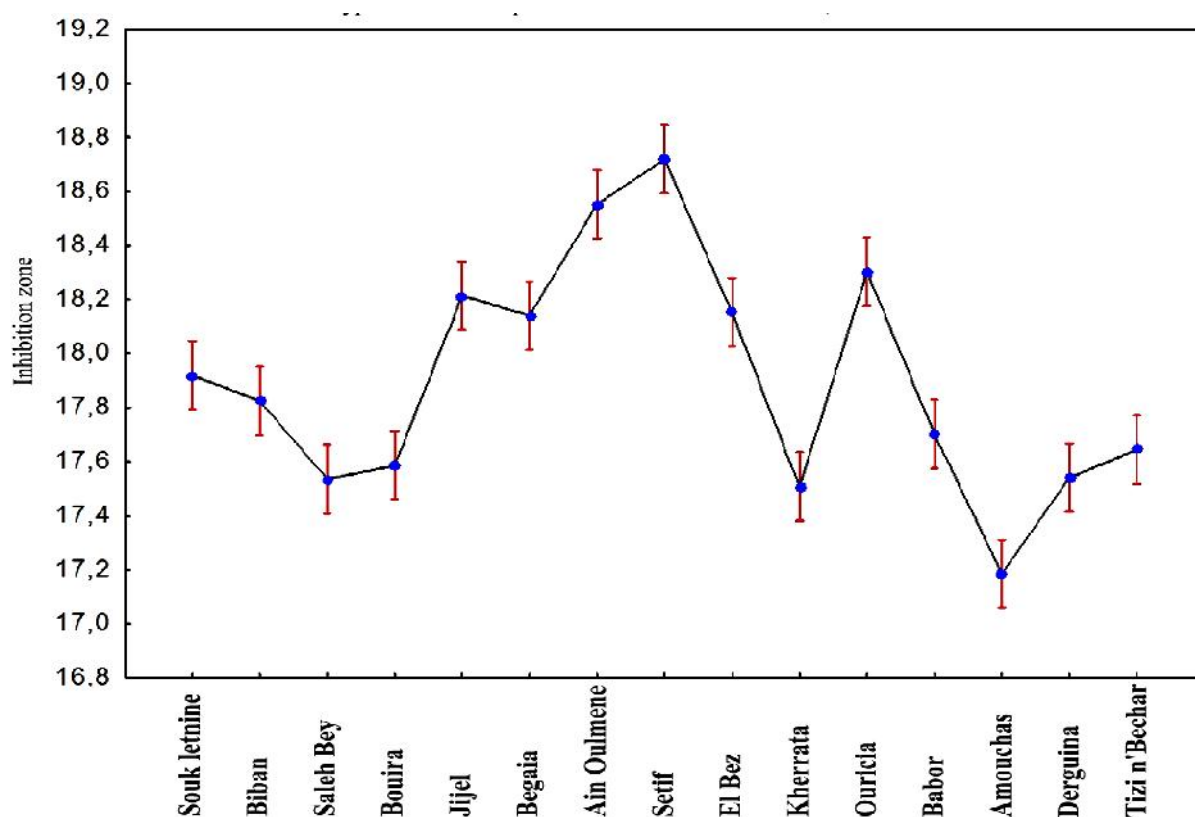


Figure 25. Diamètres des zones d'inhibition des huiles d'*I. viscosa*.

Tableau 14 : Effet des dilutions sur la zone inhibitrice des bactéries testées

Rang	Niveau de dilution	Moyenne Zone d'inhibition (mm)	N	Groupes significatifs
1	Gentamicin	27.80	675	a
2	1/1	16.74	675	b
3	1/2	13.99	675	c
4	1/3	13.08	675	d

LSD 0.05 = 0.09265961989

Les résultats de l'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*I. viscosa* indiquent que les huiles de cette espèce présentent une activité significative contre toutes les souches bactériennes testées (**Tableau 15**). La sensibilité la plus élevée est celle attribuée à la bactérie *Staphylococcus aureus* avec une moyenne de zone d'inhibition de 26,84 mm. Tandis que la moyenne du diamètre de la zone d'inhibition la plus basse est enregistrée contre *Bacillus cereus* (14,11 mm).

Tableau 15 : Groupes de sensibilité des bactéries testées aux huiles d'*Inula viscosa*

Rang	Bactéries	Moy.	N	Groupes significatifs	S*
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	26.84	180	a	+++
2	<i>E. enterica</i>	24.94	180	b	+++
3	<i>K. pneumoniae</i>	21.43	180	c	+++
4	SARM	21.04	180	d	+++
5	ESBL/BLSE	19.54	180	E	++
6	<i>Escherichia coli</i>	19.04	180	f	++
7	<i>P. aeruginosa</i>	17.47	180	G	++
8	<i>Listeria monocytogenes</i>	17.31	180	G	++
9	<i>Proteus mirabilis</i>	16.85	180	h	++
10	<i>Enterobacter cloacae</i>	14.67	180	i	+
11	<i>Acetobacter</i>	14.51	180	i	+
12	<i>S. mercescens</i>	14.32	180	j	+
13	<i>Bacillus cereus</i>	14.11	180	k	+
14	<i>E. fecalis</i>	13.30	180	l	+
15	<i>Serratia liquefaciens</i>	13.18	180	l	+

LSD 0.05 = 0,1794 ; * S = Sensibilité (+++ extrêmement sensible, ++ très sensible et + sensible)

2-3- Test de désirabilité

Le profil de désirabilité des huiles essentielles d'*I. viscosa* contre les bactéries testées avait une valeur de prédiction de 0,28584, ce qui est considéré comme une valeur faible. L'huile de la population de Souk Letnine possède la valeur de prédiction la plus élevée (**Figure 26**), donc c'est l'huile la plus désirée dans les tests. Les dilutions des huiles utilisées dans cette étude ont des valeurs de prédiction faibles comparées aux valeurs de la gentamicine. Le test de désirabilité montre que les espèces bactériennes sont sensibles aux huiles d'*Inula viscosa*, et la bactérie *Staphylococcus aureus* est la plus sensible.

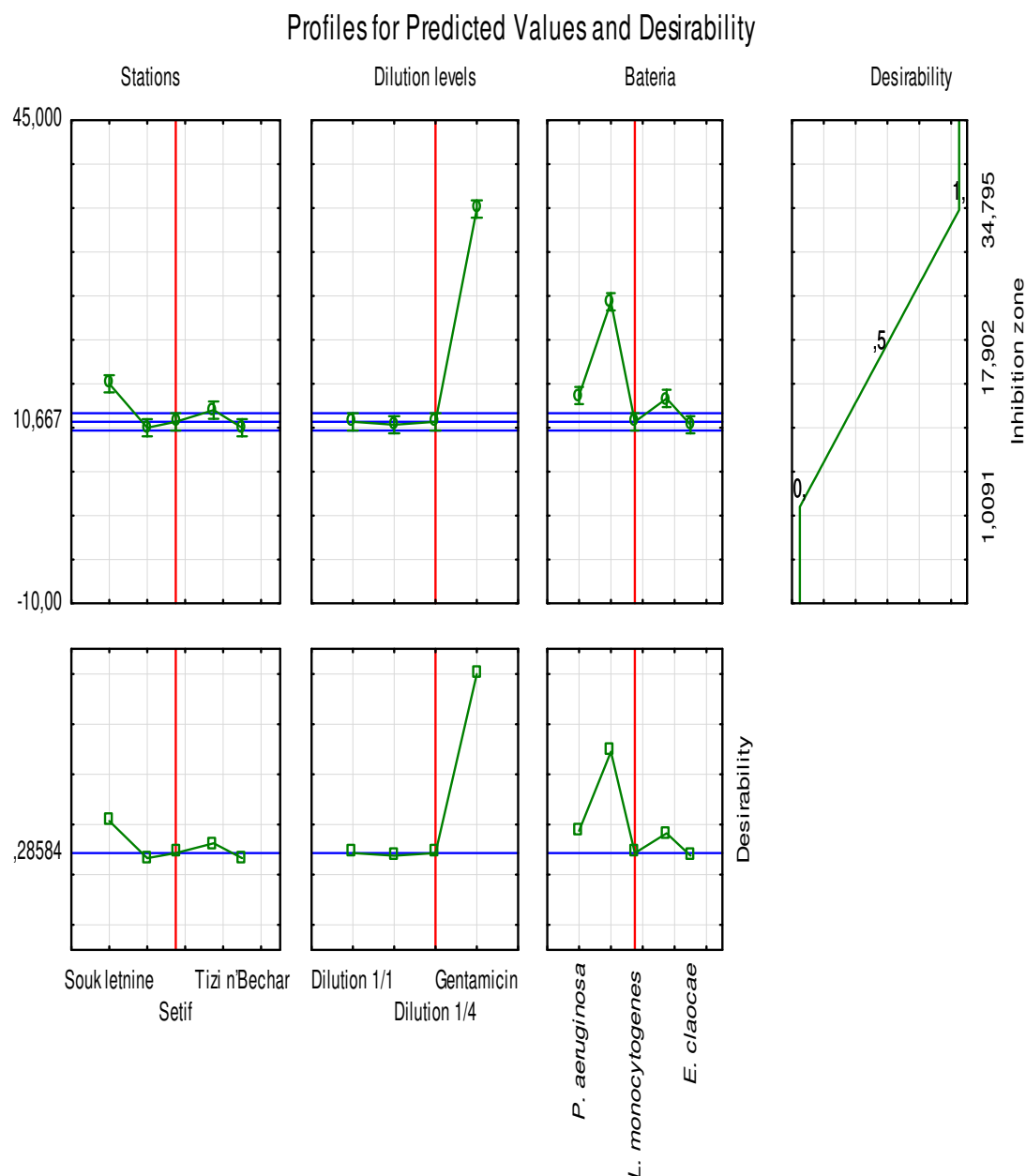


Figure 26. Test de désirabilité des huiles essentielles d'*I. viscosa*

2-4- Discussion

Les résultats bactériologiques obtenus dans notre travail, sont similaires à ceux trouvés dans la littérature. L'huile essentielle d'*Inula viscosa* est active contre les souches : *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Side Larbi *et al.*, 2016).

Les résultats trouvés par **Chebouti Mezio (2016)**, **Vieira et al. (2017)**, **Salim et al. (2017)** et **Rhimi et al. (2017)** ont montré que les souches bactériennes : *Enterobacter sp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, sont sensibles à l'huile essentielle d'*Inula viscosa*.

Les extraits et les huiles essentielles d'*Inula viscosa* ont montré une activité antibactérienne importante (**Nawres et al., 2019**; **Karygianni et al., 2019**; **Chebouti, 2016**). **Hajji et al. (2010)** ont montré que la présence de monoterpènes oxygénés, des hydrocarbures monoterpéniques et des aldéhydes dans les huiles essentielles ont la capacité d'inhiber le processus de la respiration et la circulation des ions et par conséquent la destruction de la cellule bactérienne. De ce fait l'activité antibactérienne des huiles des différentes populations peut être due à la présence des monoterpènes ainsi qu'à l'effet d'interaction entre les différents constituants de l'huile. Il est aussi connu que les souches bactériennes n'ont pas la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien. Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de configuration des enzymes de la membrane, une perturbation chimiosmotique et une fuite d'ions (**Carson et al., 2002**; **Bel Hadj et al., 2010**).

La plus grande hypersensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des huiles essentielles par rapport aux autres espèces bactériennes testées s'expliquerait par une meilleure perméabilité d'un ou des composé(s) actif (s). Ce comportement n'est pas surprenant car les souches de *Bacillus cereus* possèdent une résistance intrinsèque à une large gamme de biocides, associée à la nature de sa membrane externe. Cette barrière a une capacité de synthétiser et sécréter des agrégats structurés appelés bio films ou matrice composés de polysaccharides. Ces bio films forment une barrière physique contre l'entrée d'agents antimicrobiens et elle secrète aussi un complexe enzymatique extracellulaire qui peuvent dégrader les huiles essentielles (**Maoz et al., 2000**).

3- Activité antioxydant

3-1- Evaluation de l'activité antioxydant

L'activité antioxydant des huiles essentielles d'*Inula viscosa* est évaluée par la mesure des absorbances à différentes concentrations. La comparaison et la validation des résultats sont effectués avec un contrôle positif utilisant le BHT (ButylHydroxy Toluene) (**Tableau 16**).

Tableau 16 : Pourcentages d'inhibition des huiles essentielles d'*Inula viscosa*

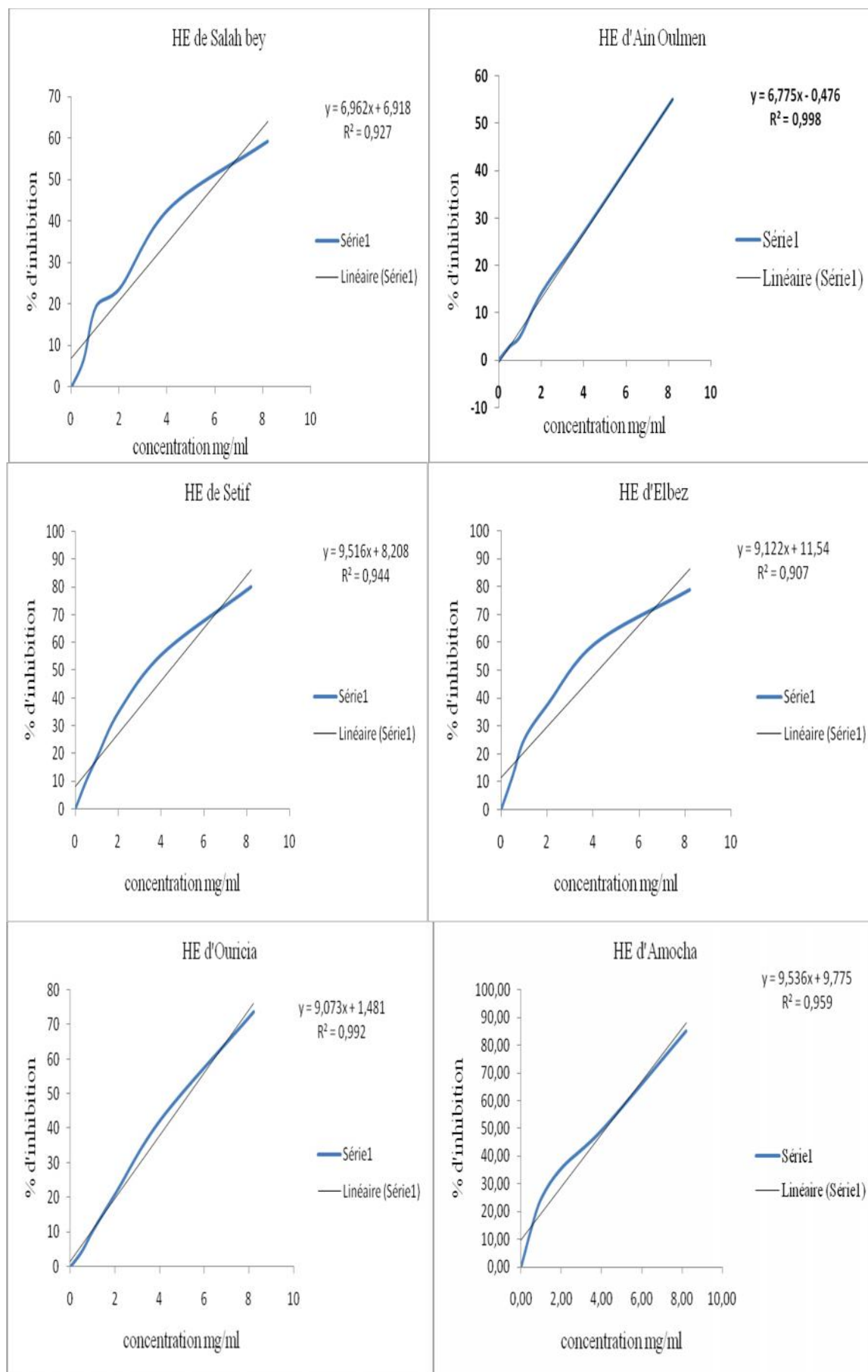
Stations	Rep.	A1	A2	A3	Blanc	I%1	I%2	I%3	I%	SD
Salah Bey	1	0,42	0,44	0,40	1,03	59,2	57,4	60,9	59,2	1,75
	2	0,61	0,58	0,56	1,03	40,5	43,5	45,3	43,1	2,45
	3	0,77	0,80	0,83	1,03	25,0	21,9	19,2	22,1	2,92
	4	0,78	0,83	0,77	1,03	23,9	19,6	25,0	22,8	2,86
	5	0,98	0,96	0,95	1,03	5,3	7,2	7,4	6,6	1,13
Ain Oulmen	1	0,48	0,47	0,45	1,03	53,9	54,8	56,3	55,0	1,23
	2	0,78	0,75	0,71	1,03	24,7	27,2	30,8	27,5	3,07
	3	0,88	0,90	0,86	1,03	14,6	12,3	16,3	14,4	2,00
	4	0,94	0,99	1,01	1,03	8,6	3,9	2,2	4,9	3,33
	5	1,00	1,00	1,00	1,03	3,3	3,1	2,8	3,1	0,24
Sétif	1	0,22	0,17	0,26	1,07	79,7	84,2	76,2	80,0	3,97
	2	0,46	0,47	0,47	1,07	57,0	55,8	55,8	56,2	0,70
	3	0,73	0,71	0,65	1,07	32,4	34,1	39,6	35,4	3,75
	4	0,88	0,88	0,86	1,07	18,2	18,4	19,9	18,8	0,92
	5	0,97	0,97	0,95	1,07	9,9	9,2	11,5	10,2	1,15
El Baz	1	0,24	0,19	0,26	1,07	78,1	82,1	76,2	78,8	3,00
	2	0,45	0,44	0,41	1,07	58,3	59,1	61,6	59,7	1,71
	3	0,69	0,66	0,64	1,07	35,5	38,2	40,4	38,1	2,47
	4	0,81	0,82	0,78	1,07	24,9	24,0	27,6	25,5	1,85
	5	0,91	0,95	0,97	1,07	15,3	11,8	9,8	12,3	2,78
Ouricia	1	0,29	0,28	0,28	1,07	72,9	73,5	74,4	73,6	0,75
	2	0,60	0,61	0,63	1,07	44,1	43,5	41,5	43,0	1,37
	3	0,84	0,85	0,83	1,07	21,3	20,6	22,6	21,5	1,04
	4	0,97	0,98	0,93	1,07	9,9	8,7	13,3	10,6	2,42
	5	1,03	1,03	1,02	1,07	4,2	4,0	5,1	4,4	0,60
Amoucha	1	0,15	0,17	0,17	1,09	86,0	84,8	84,7	85,2	0,75
	2	0,53	0,55	0,55	1,09	51,4	49,8	49,1	50,1	1,17
	3	0,69	0,71	0,69	1,09	36,4	35,1	36,6	36,0	0,80
	4	0,83	0,82	0,79	1,09	24,0	24,3	27,0	25,1	1,68
	5	0,95	0,94	0,92	1,09	12,7	13,5	15,7	14,0	1,57
Tizi n'Bechar	1	0,22	0,17	0,26	1,07	79,7	84,2	76,2	80,0	3,97
	2	0,46	0,47	0,47	1,07	57,0	55,8	55,8	56,2	0,70
	3	0,73	0,71	0,65	1,07	32,4	34,1	39,6	35,4	3,75
	4	0,88	0,88	0,86	1,07	18,2	18,4	19,9	18,8	0,92
	5	0,97	0,97	0,95	1,07	9,9	9,2	11,5	10,2	1,15

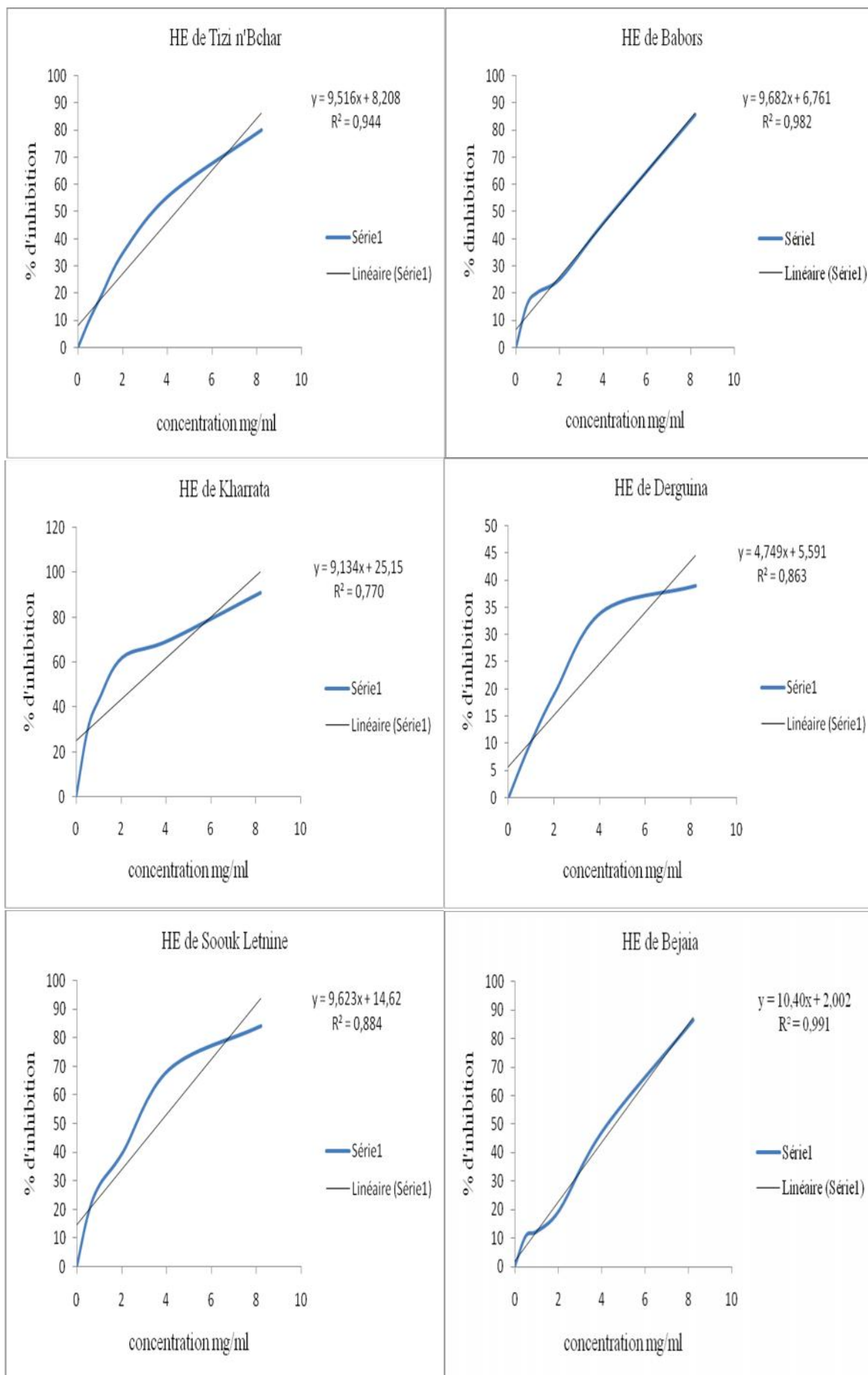
Babors	1	0,15	0,17	0,13	1,03	85,4	83,7	87,7	85,6	2,00
	2	0,55	0,57	0,53	1,03	46,6	44,9	49,0	46,8	2,10
	3	0,76	0,77	0,77	1,03	26,4	25,0	25,4	25,6	0,70
	4	0,80	0,86	0,80	1,03	22,7	16,3	22,8	20,6	3,73
	5	0,86	0,87	0,87	1,03	16,5	15,5	15,7	15,9	0,51
Kherrata	1	0,10	0,09	0,09	1,03	90,7	91,1	91,1	90,9	0,22
	2	0,31	0,33	0,30	1,03	70,4	67,8	70,9	69,7	1,67
	3	0,43	0,43	0,32	1,03	58,7	58,7	68,9	62,1	5,89
	4	0,60	0,59	0,56	1,03	42,2	42,5	45,9	43,6	2,05
	5	0,68	0,74	0,75	1,03	33,8	28,4	27,5	29,9	3,40
Derguina	1	0,60	0,65	0,64	1,03	41,9	36,9	38,4	39,1	2,60
	2	0,70	0,69	0,64	1,03	31,7	33,2	38,0	34,3	3,25
	3	0,84	0,82	0,82	1,03	18,3	20,2	20,1	19,5	1,09
	4	0,92	0,92	0,93	1,03	10,7	11,1	10,2	10,6	0,44
	5	0,99	0,97	0,96	1,03	4,0	6,1	6,6	5,6	1,40
Souk Letnine	1	0,20	0,15	0,15	1,07	81,0	86,0	85,8	84,3	2,85
	2	0,36	0,32	0,32	1,07	66,5	70,4	70,2	69,0	2,15
	3	0,63	0,65	0,65	1,07	41,4	39,4	39,5	40,1	1,10
	4	0,79	0,75	0,74	1,07	26,0	29,7	30,8	28,8	2,50
	5	0,87	0,89	0,87	1,07	19,4	17,4	19,0	18,6	1,04
Bejaia	1	0,14	0,16	0,15	1,09	87,6	85,7	85,8	86,4	1,07
	2	0,58	0,57	0,55	1,09	47,2	48,1	49,4	48,2	1,16
	3	0,90	0,84	0,88	1,09	17,2	22,6	19,5	19,8	2,72
	4	0,94	0,98	0,96	1,09	14,1	10,4	11,7	12,0	1,87
	5	0,96	0,99	0,95	1,09	11,9	8,6	12,7	11,1	2,15
Jijel	1	0,26	0,26	0,20	1,03	75,0	75,1	80,4	76,8	3,08
	2	0,68	0,65	0,68	1,03	34,4	36,7	34,2	35,1	1,41
	3	0,79	0,83	0,77	1,03	23,3	19,4	25,1	22,6	2,92
	4	0,92	0,92	0,93	1,03	10,5	10,4	9,5	10,1	0,54
	5	0,92	0,96	0,91	1,03	10,7	7,1	12,0	9,9	2,56
Biban	1	0,15	0,11	0,11	1,07	86,0	89,6	89,4	88,3	1,99
	2	0,28	0,29	0,25	1,07	74,4	72,8	76,8	74,7	2,02
	3	0,49	0,47	0,51	1,07	54,1	55,8	52,4	54,1	1,72
	4	0,66	0,72	0,68	1,07	38,8	33,1	36,3	36,0	2,85
	5	0,84	0,81	0,82	1,07	22,0	24,6	24,0	23,5	1,37
Bouira	1	0,47	0,53	0,62	1,09	56,5	51,4	43,4	50,4	6,62
	2	0,67	0,66	0,68	1,09	38,7	39,2	37,7	38,5	0,75
	3	0,83	0,85	0,86	1,09	23,3	22,1	20,9	22,1	1,24
	4	0,93	0,94	0,94	1,09	14,6	13,7	13,5	13,9	0,59
	5	0,98	1,00	1,00	1,09	9,6	8,5	8,1	8,7	0,75
BHT	1	0,08	0,08	0,08	1,01	91,8	92,6	92,6	92,3	0,46
	2	0,09	0,09	0,09	1,01	90,7	91,0	91,2	91,0	0,25
	3	0,13	0,14	0,13	1,01	87,0	86,6	86,9	86,9	0,21
	4	0,23	0,27	0,26	1,01	77,4	73,1	74,6	75,0	2,21
	5	0,53	0,51	0,50	1,01	47,2	50,0	50,6	49,3	1,83

La décoloration du radical DPPH est en fonction de différente concentration.

Les résultats de l'activité antioxydantes sont présentés, avec la molécule de

référence BHT, par les courbes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations. Une régression linéaire ($y = a \pm b$) a été appliquée pour obtenir la valeur IC50 (Concentration inhibitrice de 50 %) aussi appelée EC50 (Efficient concentration 50) (**figure 27**). $IC50 = (50-b)/a$, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Cette valeur est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante.





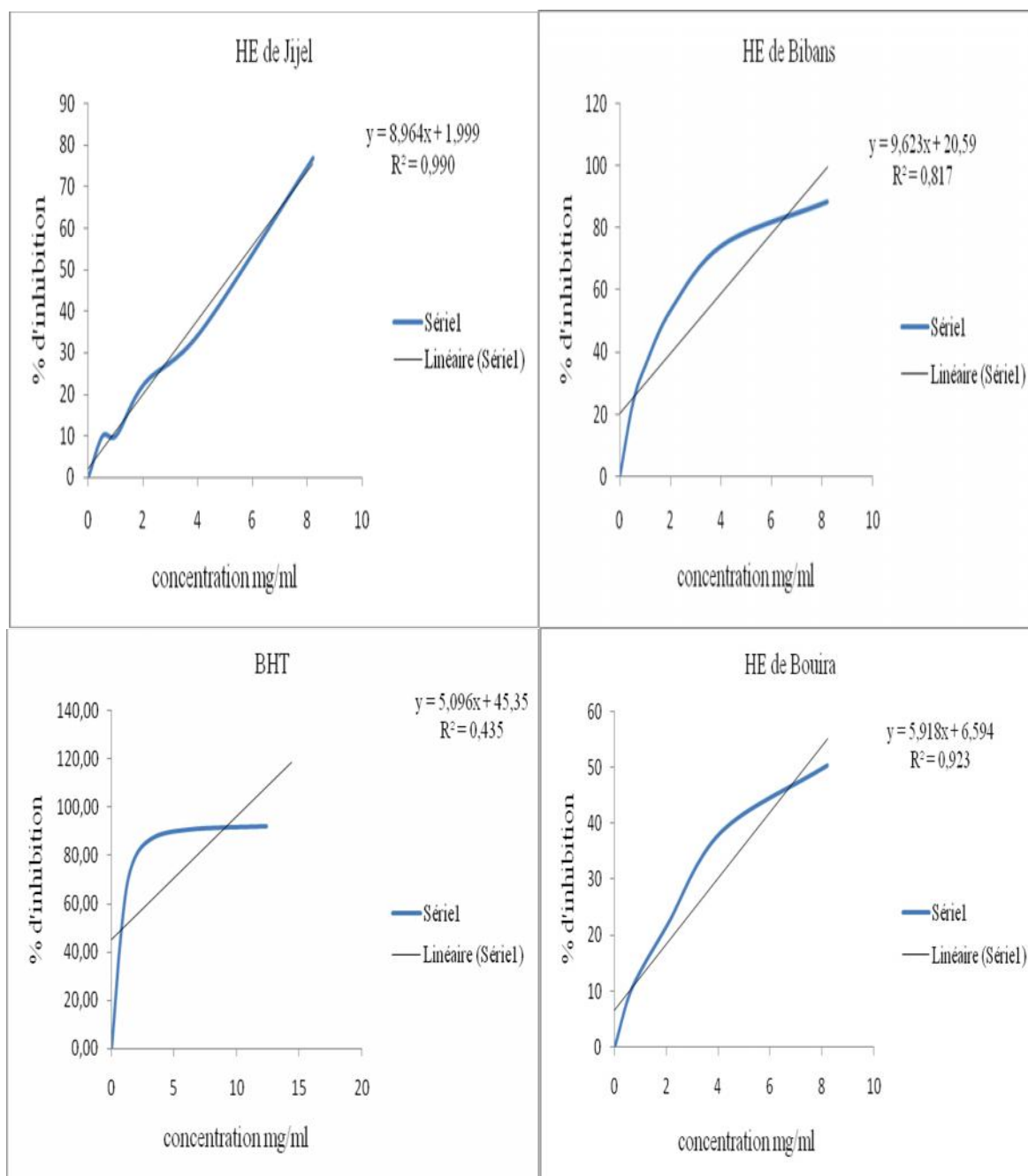


Figure 27: Activités antioxydants des huiles essentielles d'*I viscosa*, comparée à celle de la référence BHT

L'huile essentielle d'*Inula viscosa* pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) jaune-coloré avec un IC_{50} de $2,72 \pm 0,14$ à $9,35 \pm 0,48$ mg/ml montrant une activité antioxydante plus faible que celle de la référence BHT avec IC_{50} ($0,91 \pm 0,06$ mg/ml). Les valeurs des IC_{50} (**Tableau 17**) montrent que les huiles essentielles de Kherrata, Bibans et Souk Letnine sont les plus actives avec des IC_{50} ($2,72 \pm 0,14$; $3,05 \pm 0,06$ et $3,67 \pm 0,14$ mg/ml) les plus basses, ces valeurs sont très supérieures à celles de référence BHT ($0,91 \pm 0,06$).

Tableau 17 : Les valeurs des activités antioxydantes des les huiles d'*Inula viscosa*.

Populations	IC50 (mg/ml)
Salah Bey	$6,19 \pm 0,21$
Ain Oulmen	$7,46 \pm 0,29$
Setif	$4,39 \pm 0,10$
El Baz	$4,21 \pm 0,08$
Ouricia	$5,34 \pm 0,03$
Amoucha	$4,22 \pm 0,04$
Tizi n'Bechar	$4,39 \pm 0,10$
Babors	$4,46 \pm 0,16$
Kherrata	$2,72 \pm 0,14$
Derguina	$9,35 \pm 0,48$
Souk Letnine	$3,67 \pm 0,14$
Bejaia	$4,61 \pm 0,02$
Jijel	$5,35 \pm 0,18$
Bibans	$3,05 \pm 0,06$
Bouira	$7,33 \pm 0,82$
BHT	$0,91 \pm 0,06$

3-2- Analyse de la variance (ANOVA) de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*

L'analyse statistique des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par l'analyse de la variance montre que les populations et les doses sont très significatifs ($P < 0,05$) (**Tableau 18**).

Tableau 18 : Effets et interactions des huiles essentielles d'*Inula. Viscosa*.

Sources	Df	F	P
Effets			
Population	15	5	.000 ***
Dilution	5	330	.000 ***

Les huiles des populations testées ont montré un effet inhibiteur faible.

L'analyse statistique de l'efficacité des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les radicaux libres de DPPH, a montré que les huiles les plus efficaces de cette espèce sont celles collectées de la station de Kherrata, qui présente le pourcentage d'inhibition moyen le plus élevé (69,06%), suivi des huiles des populations des Bibans, Souk Letnine, El Bez et Amoucha. Les huiles essentielles d'Amoucha, Tizi n'Bechar, Setif, Bejaia, Bouira, Ouricia, SalahBay et Babor présentent des pourcentages supérieurs à 50%, mais ces valeurs restent faibles en les comparants avec celle du BHT (78,92) (**Tableau 19**).

Tableau 19. Efficacité des huiles essentielles d'*Inula viscosa* contre les radicaux libres de DPPH

Rang	Populations	Concentration moyenne d'inhibition (%)	n	Groupes significatifs									
1	Kherrata	69.06	30	a									
2	Bibans	67,1	30		ab								
3	Souk Letnine	63,53	30			abc							
4	El Bez	60,88	30				cd						
5	Amouchas	60,48	30				cd						
6	Tizin'Bechar	59,5	30					Cde					
7	Setif	59,5	30					Cde					
8	Babor	58,9	30					Cde					
9	Bejaia	57,19	30						cdef				
10	Jijel	54,9	30							defg			
11	Salah Bey	54,8	30							defg			
12	Ouricia	54,76	30							defg			
13	Bouira	52,81	30								efg		
14	Derguina	50,35	30									Fg	
15	Ain Oulmen	49.93	30										g
LSD 0.05 = 0.1794													

Les huiles essentielles testées, présentant une activité antioxydante modérée, sont celles des populations de Kherrata, Bibans, Souk Letnine et El Bez (**Figure 28**).

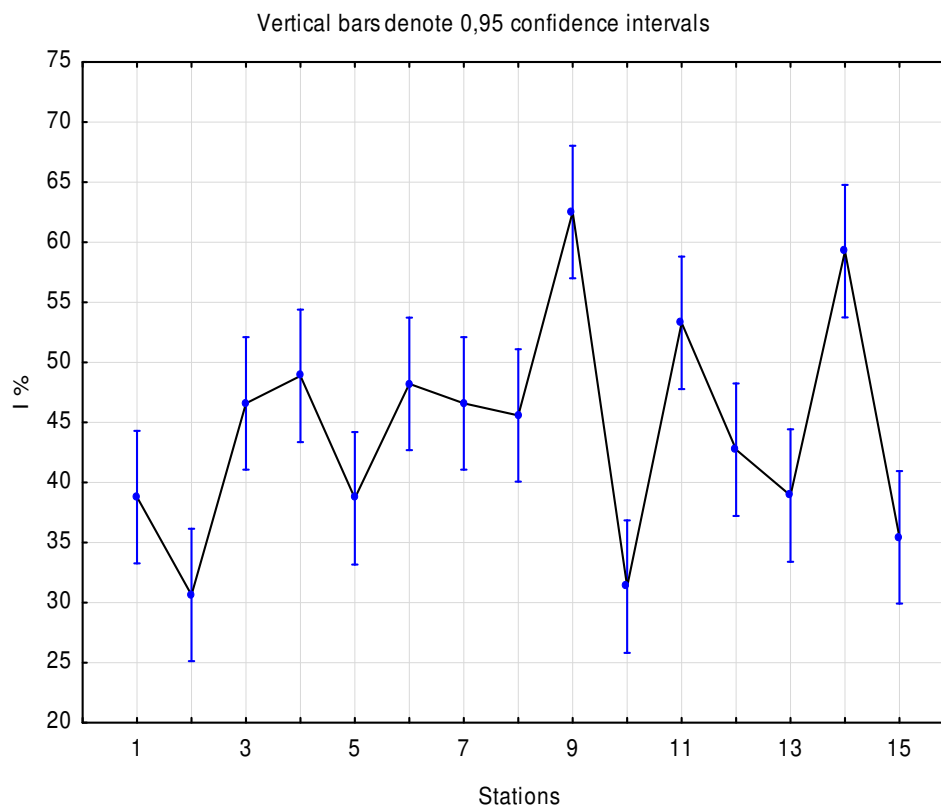


Figure 28. Pourcentages d'inhibition des huiles des populations *d'Inula viscosa*.

Le test de sensibilité a montré que l'activité du BHT est la plus élevée, avec un pourcentage d'inhibition de (78,89 %), dépassant le pouvoir d'inhibition des huiles et de leurs dilutions (**Tableau 20**).

Le test de sensibilité a montré que l'activité du BHT est la plus élevée, avec un pourcentage d'inhibition de (78,89 %), dépassant le pouvoir d'inhibition des huiles et de leurs dilutions (**Tableau 20**).

Tableau 21 : Effet des dilutions sur le pourcentage d'inhibition de DPPH.

Rang	Dilution	Concentration moyenne d'inhibition (%)	N	Groupes significatifs
1	BHT	78.92	225	a
2	D1	74.23	45	b
3	D2	50.14	45	c
4	D3	31.25	45	d
5	D4	20.15	45	E
6	D5	12.27	45	F

LSD 0.05 = 0.0927

L'huile pure a montré l'effet le plus élevé avec un pourcentage de 74,23 % par rapport aux huiles diluées. L'effet antioxydant des huiles essentielles est dose-dépendant, l'augmentation de la concentration des huiles *d'I viscosa* a augmentée le pourcentage d'inhibition (**Figure 29**).

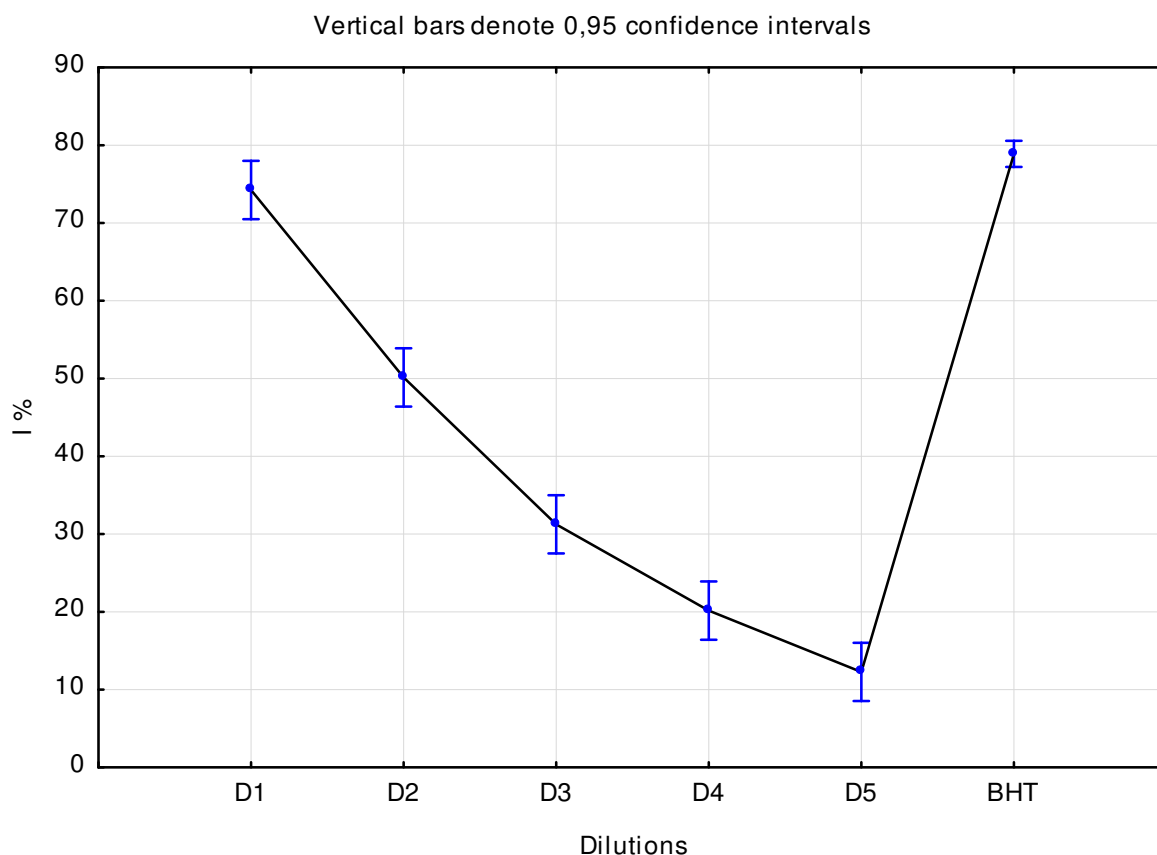


Figure 29. Pourcentage d'inhibition des huiles et leur dilution d'*Inula viscosa*.

3-3- Test de désirabilité

Le profil de désirabilité des huiles essentielles *d'Inula viscosa* contre les radicaux libres de DPPH avait une valeur de prédiction de 0,183, ce qui est considéré comme une valeur faible. L'huile de la population de Kherrata possède la valeur de prédiction la plus élevée (**Figure 30**), donc c'est l'huile la plus désirée dans les tests antioxydants. Les dilutions des huiles utilisées dans cette étude ont des valeurs de prédiction faibles comparées aux valeurs de la référence BHT.

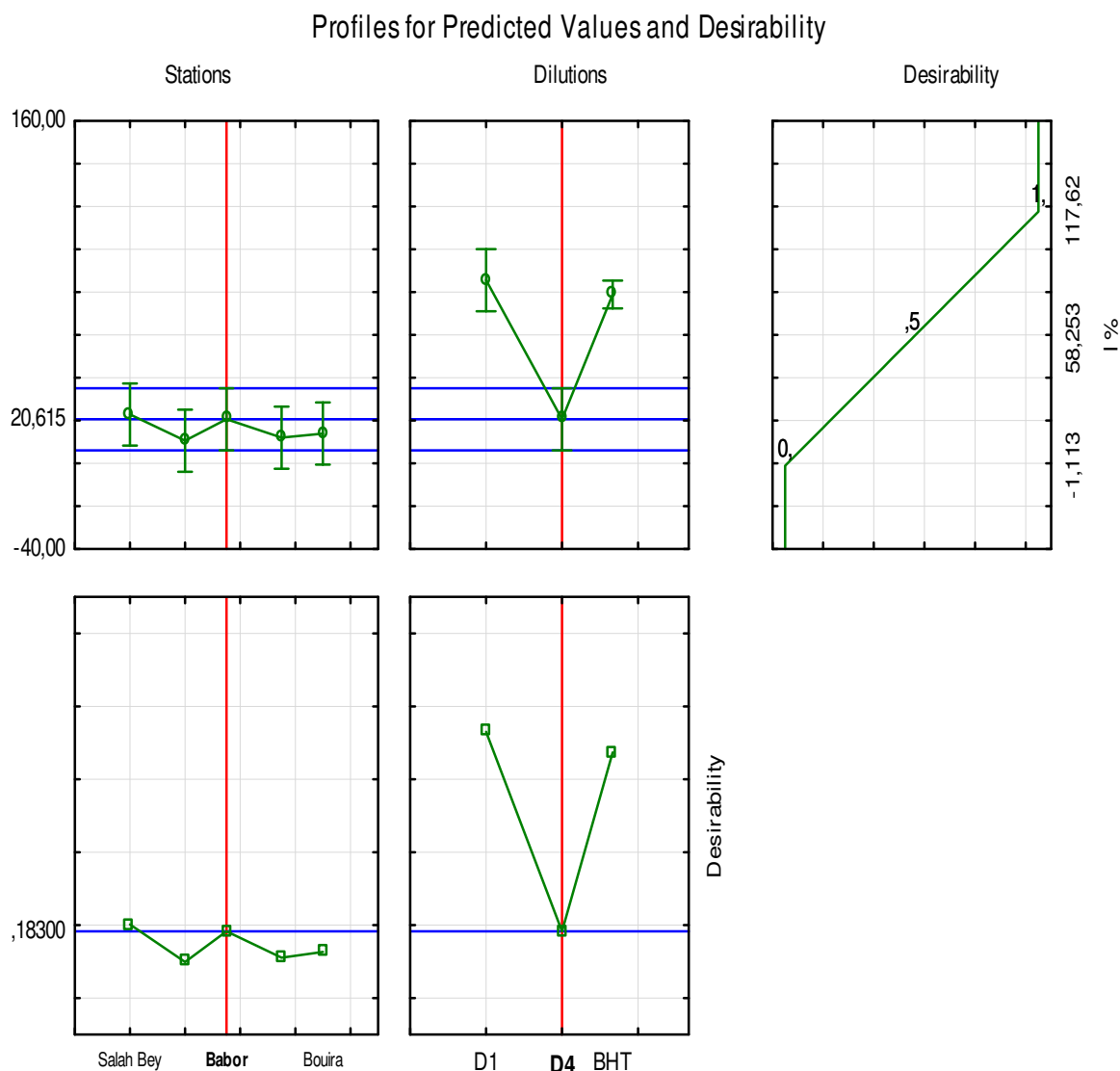


Figure 30. Test de désirabilité des huiles essentielles d'*I. viscosa*.

Des travaux sur l'activité antioxydant des huiles essentielles, montrent que ces propriétés sont en relation avec leur composition chimique. Il est difficile d'attribuer ces activités à un seul composé, il est toutefois important de signaler que ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des huiles essentielles qui sont responsables de cette activité antioxydant, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Popovici *et al.*, 2009; Bartosz, 2003).

La faible activité antioxydante est attribuée aux monoterpènes hydrocarbonés qui sont incapable de donner l'atome d'hydrogène au radical DPPH et faiblement soluble dans le milieu réactionnel qui utilise le méthanol ou l'éthanol comme solvant (**Andrade et al., 2013**)

Des études antérieures ont révélé que l'activité antioxydant des huiles essentielles peut être attribuée aux activités synergiques des composés insaturés multiformes tels que le limonène et l' α -pinène (**Zheng et al., 2013; Wang et al., 2014**), ce qui peut expliquer l'activité anti radicalaire élevée de certaines huiles.

Nos huiles des populations *d'Inula viscosa* montrent un effet antioxydant important, des résultats similaires ont été obtenues sur la même espèce (**Gökbulut et al., 2013; Chahmi et al., 2015; Mahmoudi et al., 2016**). La propriété antioxydante d'*I. viscosa* a été signalé et plusieurs antioxydants polyphénoliques ont été identifiés (**Zhou et al., 2006; Danino et al., 2009; Babu et al., 2013; Saleem et al., 2013; Jazia et al., 20018; Erva et al., 2019**).

4- Résultats Caryologique

Le dénombrement chromosomique a été réalisé sur les méristèmes racinaires des graines de l'espèce *Inula viscosa* en appliquant la technique du squash. L'observation microscopique des plaques métaphasiques d'*Inula viscosa* a montré un nombre chromosomique diploïde à $2n = 2x = 18$ avec un nombre de base à $x = 9$ (figure 31).

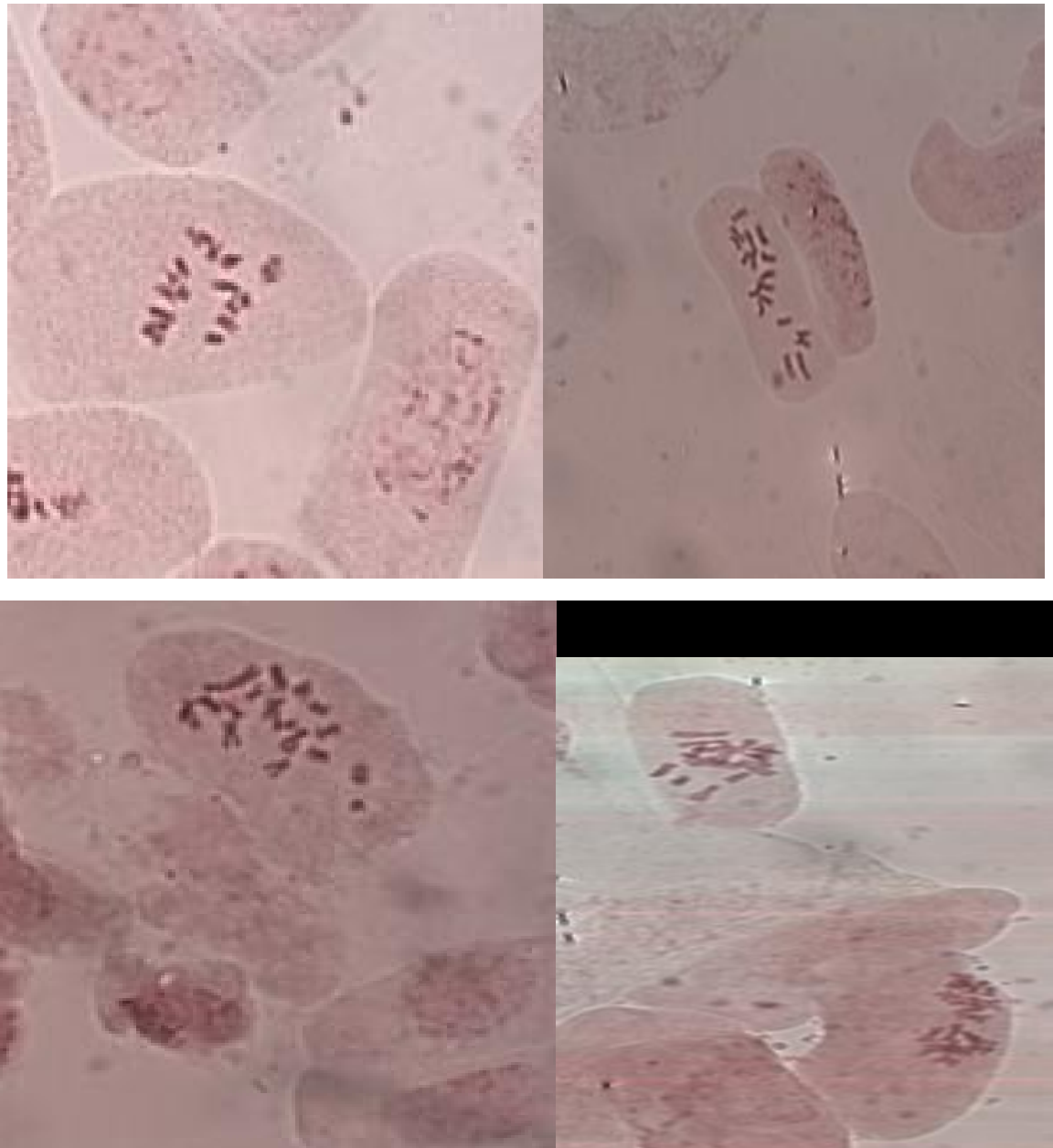


Figure 31 : Plaque métaphasique des cellules méristimatiques racinaires de l'espèce d'*Inula viscosa* $2n = 2x = 18$.

Les mêmes résultats caryologique à nombre chromosomique diploïde ($2n = 2x = 18$) ont été obtenus en réalisant le dénombrement chromosomique des espèces *Inula crithmoide*, *I. graveolens*, *I. maritima*) (**Semple et Watanabe, 2009**). **Antonino, (1933)**.

Le résultat de $2n = 18$, obtenu pour l'espèce *Inula viscosa*, est semblable avec ceux de la littérature. Les résultats de cette espèce *Inula viscosa* d'Espagne et de Portugal, montrent le même nombre diploïdes ($2n = 2x = 18$). (**Fernandes et Queiros. 1971; Ortega et al., 2004**). Le même résultat chromosomique est obtenu pour *Inula viscosa* d'Italie (**Antonino, 1933; Brullo et al., 2004**). Et en France (**Javeid, 1973**).

CONCLUSION

Conclusion

Le travail que nous avons entrepris s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles (université ferhat abbas setif 1). Cette recherche porte sur l'étude phytochimique et activités biologiques d'*Inula viscosa* de l'Est Algérien.

Les huiles essentielles extraites de quinze populations d'*Inula viscosa* par l'hydrodistillation, ont données un rendement faible de $0,23 \pm 0,06\%$. Cette variabilité en rendement peut être due principalement à plusieurs facteurs, dont l'origine géographiques, l'altitude et la période de récolte ainsi au temps de séchage.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Inula viscosa* a été réalisée par GC/SM. Soixante-quinze composés chimiques terpéniques ont été identifiés dans l'huile essentielle d'*Inula viscosa*. Les principaux composants de ces huiles essentielles sont le polygodial, le phytol, le fokienol et l'intermedeol néo.

Les huiles essentielles étudiées ont montré des activités antibactériennes forte sur les souches testées. Les huiles essentielles d'*Inula viscosa* testées par la méthode du DPPH et celle du pouvoir réducteur ont montré des activités antioxydantes faibles.

Le dénombrement chromosomique porté sur l'espèce *Inula viscosa* Algérien nous a permet de déterminer un nombre chromosomique diploïde à $2n = 2x = 18$ avec un nombre chromosomique de base $x = 9$.

Les huiles essentielles d'*Inula viscosa* sont douées d'activités biologiques. Ces résultats peuvent êtres approfondis ultérieurement en testant d'autres activités biologiques (insecticide, antiparasitaire, anticancéreuse...) et l'étude de la cytotoxicité

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- Abou Jawdah Y., Sobh H., Salameh A., (2002). Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3208–3213.
- Afemei M., Tudose C and Vochita G., (2012). Cytogenetic studies regarding two species of *Inula*: *Inula spiraeifolia* L. and *Inula hirta* L. *An. St. Univ. Iasi, Sect. Genet. Biol. Molec.* 13 : 21–28.
- AFSSAPS., (2008). Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.
- Aissa I., Znati M., Zardi Bergaoui A., Flamini G., Ascrizzi R., Ben Jannet H., (2019). GC and GC–MS integrated analyses and in vitro antibacterial, anticholinesterase, anti–tyrosinase, and anti–5–lipoxygenase potential of *Inula viscosa* root fractionated essential oil. *South African Journal of Botany*. 125: 386 – 392. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.019>.
- Akkawi M., Abbasi I., Jaber S., Aburemeleh Q., Naseredin A., Lutgen P., (2014). Investigation of traditional Palestinian medicinal plant *Inula viscosa* as potential anti–malarial agent. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 5(5): 156–162.
- Al Dissi N.M., Salhab k.S., A1Hajj H.A., (2001). Effect of *Inula viscose* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 117–121.
- Al Quadah M.A., Al Jaber H.I., Mayyas A.S., Abu Orabi S.T., Abuzarga M.H., (2010). Chemical compositions of essential oil from the Jordanian Medicinal plant *Dittrichia viscosa*. *Jordan J. Chemistry*. 5: 343–348.
- Alalan L., AL Shammaa I., Al nouri AS., (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil extracted from Syrian *Inula viscosa* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(12): 861–864.

- Amirouche R., Misset M.T., (2009). Flore spontanée d'Algérie: différenciation écogéographique des espèces et polyploidie. *Cahiers Agricultures*. 18 (6): 474–480.
- Ana M., Seca L., Alice G., Diana C.G., Pinto A., Artur M., Silva S., (2014). The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses, *Journal of Ethnopharmacology*. . *Journal of Ethnopharmacology*. 154: 286 –310.
- Anderberg A.A., (1991). Taxonomy and phylogeny of the tribe *Inuleae* (*Asteraceae*). *Plant Syst. Evol.* 176: 145–177.
- Anjali M., Srivastava A.K., (2012). Karyological studies in twelve accessions of *Carthamus tinctorius*. *Caryologia*. 65 (1): 1–6.
- ANSM., (2017). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles – Disponible sur: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf.
- Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., Donald S., Robards K., (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 127: 183–198.
- Antonino R., (1933). Appunti Sulla Cariologiae Sull'embriologia delle *Inuleae*. *Giornale botanico italiano*. 40(3): 421–425. To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/11263503309437914>
- Archana B., Dasgupta N., (2005). In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem.* 90: 727–733.
- Arnal S.B., Hadji M.F., Peroteau J.F., Ribeyre F., De Billerbeck V.G., (2004). Essential oils in infectious gynaecological disease: a statistical study of 658 cases. *International Journal of Aromatherapy*. 14 (4):192–197.
- Aruoma O.I., (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am OilChem Soc.* 75: 199–212.
- Audigie C.L., Dupon G et Zonsgain F., (1995). Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin. Paris. 44 p.

- Baba A.F., (1991). Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchène et Ad Diwan. 11–159.
- Babu D., Gurumurthy P., Borra S.K, Cherian K.M., (2013). Antioxidant and free radical scavenging activity of *triphala* determined by using different *invitro* models. *J Med Plants Res.* 7: 2898–2905.
- Bakari M., Yusuf H.O., (2018). Utilization of locally available binders for densification of rice husk for biofuel production, Banat's Journal of Biotechnology. 9(19): 47–55.
- Balz R., Dandrieus B., Lartaud P., (1999). The healing power of essential oils. Motilal Banarsidass Publishers Private Limited, Delhi. 203.
- Bartosz G., (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology.* 9: 5–21.
- Baser K.H.C., Buchbauer G., (2009). Handbook of essential oils: science, technology and applications. Boca Raton CRC Press. 1^{ère} Ed. 991.
- Bauer Z., (1964). Cytological and embryological studies in the genus *Inula*. *Acta Biol. Cracov, Bot, Cracovie.* 7: 117–130.
- Bekkara F.A., Benhammou N., Panovska T.K., (2008). Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *Inula viscosa* from the Tlemcen region of Algeria. *Adv Food Sci.* 30: 132–139.
- BelHadj K., Salah F., Amira S., Fathia H., Mohamed M., Zine M., Jean P and Mahjoub., (2010). Activités antivirale et antioxydante in vitro d'huiles essentielles de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmans. & Link de Tunisie, *Acta Botanica Gallica.* 157(3): 433–444.
- Belsito E.L, Carbone C., Di Gioia M.L., Leggio A., Liguori A., Perri F., and Viscomi M.C., (2007). Comparison of the volatile constituents in cold-pressed bergamot oil and a volatile oil isolated by vacuum distillation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55(19): 7847–7851.
- Blanc M.C, Bradesi P., Goncalves M.J., (2006). Essential oil of *Dittrichia viscosa* spp: analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *Flavour Fragr J.* 21: 324–32.

- Boudouda B.h., (2014). Etude phytochimique et biologique des espèces *Biscutellaraphanifolia*, *Zillamacroptera*, *Inula graveolens* et *Inula viscosa*, thèse Doctorat troisième cycle (LMD). Université de Constantine 1.
- Boudouda H.B., Benmerache A., Chibani S et al., (2012). Antibacterial activity and chemical composition of essential oils of *Inula viscosa* L. Ait. (*Asteraceae*) from Constantine, Algeria. *Der Pharm Lett.* 4: 1878–1882.
- Boukhatem M.N., (2018). Plantes Aromatique et Médicinale : le Géranium Odorant. Description Botanique. Composition Chimique et Vertus Thérapeutiques. Editions Universitaires Européennes. ISBN: 6202277475.
- Boukhatem M., ferhat A et Kameli A., (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Revue agrobiologia.* 9(2): 1653–1659.
- Brand W.W., Cuvelier M.E., Berset C., (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel–Wissenschaft & Technol.* 28: 25–30.
- Bretagnolle F., Felber F., Calame F.G., Küpfer Ph., (1998). La polyploïdie chez les plantes. *Botanica Helvetica.* 108: 5–37.
- Brullo S., Campo G., Colombo P., Salmeri C., Venora G., (2004). Morfologia, cariologia e anatomia fogliare nel genere *Dittrichia* Greuter (*Asteraceae*). *Inform. Bot. Ital.* 36: 489–496.
- Bruneton J., (2016). Pharmacognosie Phytochimie, plantes médicinales 5^{ème} édition. Lavoisier. Paris, France.
- Bruneton J., (1999). Huiles essentielles. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition Tec & Doc, 3^{ème} édition, Lavoisier. Paris, France. 484–540.
- Burda S., Oleszek W., (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 49 (6): 2774–2779.
- Burt S., (2004). *Essential oils*: their antibacterial properties and potential applications in food a review. *International journal of food microbiology.* 94: 223–253.

- Camacho A., Fernández A., C Fernández., Altarejos J., R Laurent., (2000). Composition of the essential oil of *Dittrichia viscosa* L. W. Greuter, Riv. Ital. EPPOS. 29: 3–8.
- Carson C.F., Mee B.J and Riley T.V., (2002). 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. 46: 1914–1920.
- Chahmi N., Anissi J., Jennan S., Farah A., Sendide K., Hassouni M.E., (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. Asian Pac J Trop Biomed. 5 (3): 228–233.
- Chebouti M., (2016). Contribution to Study of the Antimicrobial Activity of *Inula viscosa* Harvested in Boumerdes (Algeria). Journal of Advances in Chemical Engg. & Biological Sciences (IJACEBS). 3 (1): 159–162.
- Chehregani A and Mehanfar N., (2008). New chromosome counts in the tribe Anthemideae (*Asteraceae*) from Iran. Cytologia. 73: 189–196.
- Chehregani A., and Hajisadeghian S., (2009) New chromosome counts in some species of *Asteraceae* from Iran. Nord. J. Bot. 27: 247–250.
- Chemat F., (2009). Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, ISBN: 978–81–905771–3–7.
- Chepinoga V., Gnutikov A., Enushchenko I.V., Rosbakh S.A., (2009). IAPT/IOPB chromosome data 8. Taxon. 58: 1281–1282.
- Chizzola R., (2010). Composition of the Essential Oil from *Daucus carota* ssp. *Carota* Growing Wild in Vienna. J Essent oil Bear Pl (JEOBP). 13(1): 12–19.
- Conger A.D., Fairchild L., (1953). A quick freeze method for making smears lides permanent. Stain Technology. 28 (6): 281–283.
- Curado M.A., Oliveira C.B.A., Jesus J.G., Santos S.C., Seraphin J.C and Ferri P.H., (2006). Environmental factors influence on chemical polymorphism of the essential oils of *Lychnophora ericoides*. Phytotherapy. 67: 2363–2369.

- Danino O., Gottlieb H.E., Grossman S., Bergman M., (2009). Antioxidant activity of 1, 3 dicaffeoylquinic acid isolated from *Inula viscosa*. *Food Res Int.* 4: 1273–1280.
- Dayal B., Purohit R.M., (1971). Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *The flavor industry.* 2: 484–485.
- De Angelis L.M., (2001). Brain tumors. *The New England Journal of Medicine.* 344 (2): 114–123.
- De Laurenlis N., Losacco V., Milillo M.A., Lai O., (2002). Chemical investigation of volatile constituents of *Inula viscosa* L. Aiton (*Asteraceae*) from different areas of Apulia southern Italy. *Delpinoa.* 44: 115–119.
- De Laurentis N., Milillo M.A., (2002). Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (*Asteraceae*) by Apulian region. *Parassitologia.* 44: 153–156.
- De silva T., (1997). Industrial utilization of medicinal plants in developing countries. *Bodeker and health care*, vol. 11 FAO, Rome. Italy. 38–48.
- Delaquis P.J.; Stanich K.; Girard B.; Mazza G., (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74: 101–109.
- Desjobert J.M., Bianchini A., Tommy P., Costa J et Bernardini A.F., (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis.* 25 (6): 1316.
- Dlilali B., Ahmed H., Zouaoui B., Fatima S., Karima OY., (2017). Kinetic of batch production of lactic acid from carob pods syrup, *Banat's Journal of Biotechnology.* 8 (15): 57–65.
- Dorman H., Deans S.G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol.* 88: 308–316.
- Edris A.E., (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res.* 21: 308–323.
- El Rhaffari L., Zaid A., (2004). *Pratique de la phytothérapie dans le Sud- Est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée renouvelée.*

- Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes. 293-318.
- Erva O., Fatma P.K., Arzu B.Y., Isa Tas., Muhsine Zeynep Yavuz., ArzuUcarTurker., (2019). Promising medicinal plant *Inula viscosa* L. Antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles Progress in Nutrition. Vol. 21, N. 3: 652 – 661 DOI: 10.23751/pn.v21i3.7186.
- Esra M., Özlem Ç., Ahmet D., Bekir D and Zeynep T.,(2015). New Karyotypes in Some Species of Asteraceae from Turkey. The Japan Mendel Society *Cytologia*. 80(2): 237–248.
- Farhat A., (2010). Vapo–diffusion assistée par micro ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d’Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
- Ferhat M.A., Boukhatem M.N., Hazzit M., Chemat F., (2016). Rapid extraction of volatile compounds from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 8 (3): 753–781.
- Figueredo G., (2007). Étude chimique et statistique de la composition d’huiles essentielles *d’origans (Lamiaceae)* cultivés issus de graines d’origine méditerranéenne. Thèse pour le diplôme de docteur d’université (chimie organique). Université Blaise Pascal Clermont Ferrand II.
- Florence M., (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse Doctorat d’état en pharmacie. Université de lorraine faculté de pharmacie.
- Gavahian M., Chu Y.H., (2018). Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 50: 34–41.
- Glisic S.B., Misic D.R., Stamenic M.D., Zizovic I.T, Asanin R.M and Skala D.U., (2007). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Food Chem*. 105 (1): 346–352.

- Gökbulut A., Özhan O., Satilmis B., Batçioğlu K., Günel S., Sarer E., (2013). Antioxidant and antimicrobial activities, and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey, *Nat Prod Comm.* 8(4): 475–478.
- Gomes P.B., Mata V.G, Rodrigues A.E., (2007). Production of *rose geranium* oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids.* 41(1): 50–60.
- Graphodatsky A.S., Trifonov V.A., Stanyon R., (2011). The genome diversity and karyotype evolution of mammals. *Molecular Cytogenetics.* 4: 22.
- Guenther E., (1950). *The Essential Oils*; van Nostrand Co., Inc.: New York. USA.
- Guignard J.L. 2001. *Botanique, Systématique moléculaire*. Ed: MASSON. Pp 209–262.
- Guimaraes A.K.V., Camarão A.P., Filho J., (2010). Botanical composition of diet selected by cattle in cultivated pastures and consorted with legumes, established with and without burning of secondary vegetation. *Agrarian.* 2 (6): 125–133.
- Hajji M., Masmoudi O., Souissi N., Triki Y., Kammoun S and Nasri M., (2010). Chemical composition, angiotensin I–converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Periploca laevigata* root barks. *Food Chemistry.* 121 (3): 724–731.
- Haoui I., Derrichea R., Madania L., Oukalib Z., (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry.* 8 (4): 587–590.
- Haoui I.E., Derriche R., Madani L., Z Oukali., (2016). Extraction of Essential Oil from *Inula viscosa* (L.) Leaves: Composition, Antifungal Activity and Kinetic Data', *J. Essent. Oil–Bear. Plants.* 19: 108–118.
- Hariri A., Ouis N., Bouhadi D., Benatouche Z., (2018). Characterization of the quality of the steamed yoghurts enriched by date's flesh and date powder variety H'loua, *Banat's Journal of Biotechnology.* 9 (17): 31–39.
- Hassan S.A., Soleimani T., (2016). Improvement of *Artemis* in production by different biotic elicitors in *Artemisia annua* by elicitation–infiltration method, *Banat's Journal of Biotechnology.* 7 (13): 82–94.

- Hellali N., Mahammed M.H., Ramdane F., Talli A., (2016). Antimicrobial and antioxidant activities of *Cytopogonschoen anthus* (L.) spreng essential oil, growing in Illizi – Algeria. *Journal of medicinal plant research*.10: 188–194.
- Hernandez V., Recio M.C, Manez S., Prieto J.M., Giner R.M. et Ríos J.L., (2001). A mechanistic approach to the *In vivo* anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa*. *Planta Medica*. 67: 726–731.
- Himshikha G., Raghbir C., Rohit K and Vijay K., (2017). A profile of chromosome counts, male meiosis and pollen fertility in 45 species of Asteraceae from Parvati Valley in Kullu district, Himachal Pradesh. *Caryologia International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics* Vol. 70(2): 128–140.
- Howard L., (2017). Tomato leaf (non datée, Dartmouth college, Hanover, États-Unis). Photographie en microscopie électronique à balayage. In Ripple Electron Microscope Facility. Disponible sur [http://remf.dartmouth.edu/images/Tomato Leaf SEM/tomato leaf sem catalog.html](http://remf.dartmouth.edu/images/Tomato%20Leaf%20SEM/tomato%20leaf%20sem%20catalog.html).
- Hubert R., (1992). *Epices et aromates*. Edition Tec & Doc. Lavoisier, France.
- Hwija E, Yaseer M, Mohannad H. 2018. Chemical Composition of Essential Oils Extracted From Leaves of Taion Plant (*Inula viscosa* L.) From Two Different Regions of Lattakia Syria. *International Journal of Novel Research in Physics Chemistry & Mathematics*. 5 (1): 24–31.
- Ibrahim A., Vijaykumar D., Nimbarte., Roberta A., Afifa Z., Mansour Z., Guido F., and Hichem BJ., (2019). Isocostic Acid, a Promising Bioactive Agent from the Essential Oil of *Inula viscosa* (L.): Insights from Drug Likeness Properties, Molecular Docking and SAR Analysis. *Chem. Biodiversity*. 16: e1800648.
- Inouye S., (2003). Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). *International journal of Aromatherapy*. Vol. 45: 22–35.
- Jahan S., Chowdhury S.F., Mitu S.A., Shahriar M., Bhuiyan M.A., (2015) Genomic DNA extraction methods: a comparative case study with gram-negative organisms, *Banat's Journal of Biotechnology*. 6(11): 61–68.

- Jahier J., Chevre A.M., Eber F., Delourme R et Tanguy A.M., (1992). Technique de cytogénétique végétale. INRA, Paris. 181.
- Jasim R.K., (2016). Isolation and molecular characterisation xylanase produced by sporolactobacilli, Banat's Journal of Biotechnology. 7 (14): 30–37.
- Javeid G.N & Naqsh A.R., (1973). Flora of the University Campus, Kashmir. Part, I. Journal of Science, University of Kashmir, Yol. 1, Nos. 1–2.
- Joan V., Teresa G., Sònia G., María S., (2005). Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and *Inuleae* (Asteraceae). Botanical Journal of the Linnean Society. 148: 77–85.
- Kalemba D., Kunicka A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. 10: 813–829.
- Karande P., Mitragotri S., (2009). *Enhancement of transdermal drug delivery via synergistic action of chemicals*. Biochimica and biophysica acta. 1788 (11): 2362–2373.
- Karygianni L., Cecere M., Skaltsounis A.L et al., (2014). High–level antimicrobial efficacy of representative Mediterranean natural plant extracts against oral microorganisms. Biomed Res Int. 1–8. 839019.
- Kattouf J., Belmoukhtar M., Harnafi H., Mekhfi H., Ziyyat A., Aziz M., Bnouham M., Legssyer A., (2009). Effet anti hypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*. Phytothérapie 7: 309–312.
- Keefover R.K., Thompson J.D., Linhart Y.B., (2009). Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. Flavour and fragrance journal. 24: 117–122.
- Keita R.M., (2002). Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de 14 plantes utilisées dans le traitement des I.S.T. Thèse de pharmacie, Bamako. 130.
- Khandelwal K., (2008). Practical pharmacognosy. Pragati Books.
- Kheyer N., dahia meridian., kamel belhamel., (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la region de Bejaia. Algerian journal of natural products. 2: 18–26.

- Kokubugata G., Matsumoto Sadamu., (1999). A cytotaxonomic study of two species of *Inula* (Asteraceae) by fluorescent in situ hybridization using ribosomal DNA probe Acta Phytotax. Geobot. 50: 27–33.
- Kokubugata G., Koyama H., (1999). A cytotaxonomical study of two species of *Inula* (Asteraceae) by fluorescence in situ hybridization using ribosomal DNA probe. APG. 50: 27–33.
- Kumar A., Shukla R., Singh P., Prasad C.S., Dubey N.K., (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 9: 575–580.
- Lardry J.M et Haberkorn V., (2007). Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation, Kinesi therapy Reviews. 61: 18–23.
- Laura G., Gaspare C., Maurizio Z., Marta R., Wen S., Giuliano B., Virginia L., (2019). Exploring *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter phytochemical diversity to explain its antimicrobial, nematocidal and insecticidal activity. Phytochem Rev <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09607-1>. Springer Nature B.V.
- Laura P., Rose V., Bandeira R., Federico P., Elisabetta M et Luisa P., (2019). Chemical composition of essential oil from plants of abandoned mining site of Elba island Natural Product Research. 33 (1): 143–147.
- Laurent J., (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université paulsabatie Toulouse faculté des sciences pharmaceutiques thèse. 3: 2090.
- Lewis K., Ausubel F.M., (2006). Prospects for plant derived antibacterials. National Biotechnology. 24: 1504–1507.
- Lucaccioni F., Denayer R et Tilquin B., (1993). Pour une analyse des huiles essentielles. Chimie Nouvelle – vol. 11 (43): 09–93.
- Lucchesi M.E., (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option: Chimie), Faculté des Sciences et Technologies. Université de la Réunion. France.

- Lucchesi M.E., Chemat F & Smadja J., (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*. 1043 (2): 323–327.
- Madani L., Ratiba D., Imad E.H., (2014). Essential oil of Algerian *Inula viscosa* leaves, TEO. 17 (1): 164–168.
- Mahmoud A., Al Qudah., Hala I., Al Jaber., Abdulraouf S., Mayyas Sultan T., Abu Orabi., and Musa H Abu Zarga., (2010). Chemical Compositions of the Essential Oil from the Jordanian Medicinal Plant *Dittrichia Viscosa*. *Jordan Journal of Chemistry* Vol. 5 (4): 343–348.
- Mahmoudi H., Hosni K., Zaouali W., Amri I., Zargouni H., Hamida N.B., Kaddour R., Hamrouni L., Nasri MB., Ouerghi Z., (2016). Comprehensive phytochemical analysis, antioxidant and antifungal activities of *Inula viscosa* Aiton leaves. *J Food Saf.* 36 (1): 77–88.
- Mànez S., Recio M.C., Gil I., Gomez C., Giner R., Waterman P.G et Rios J.L., (1999). A glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. *Journal of Natural Products*. 62 (4): 601–604.
- Maoz M., Neeman I., (2000). Effect of *Inula viscosa* extract on chitin synthesis in dermatophytes and *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*. 71: 479–482.
- Marie C.B., Pascale B., Maria G., Ligia S., and Joseph C., (2006). Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *Flavour Fragr. J.* 21 (2): 324–332.
- Marinova D.H., Ivanova I., Zhekova E.D., (2018). Evaluation of Romanian alfalfa varieties under the agro-environmental conditions in northern Bulgaria, *Banat's Journal of Biotechnology*. 9 (19): 56–64.
- Marongiu B., Piras A., Pani F., Porcedda S., Ballero M., (2003). Extraction separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂. *FlavourFragr. J.* 18 (6): 505–509.
- Masango P., (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*. 13(8): 833–839.

- Masotti V., Juteau F., Bessière J.M and Viano J, (2003). Seasonal and Phenological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and its Biological Activities. J Agric Food Chem. 51 (24): 7115–7121.
- Meryem Ö., Özlem Ç., (2013). *Inula tuzgoluensis* (Asteraceae), a new species from Central Anatolia, Turkey. Turkish Journal of Botany. 37: 825 – 835.
- Middleitch B.S., (1979). Practical Mass Spectrometry, A contemporary introduction. Plenum Press, New York. 387.
- Miguel M.G., (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A Short Review. Molecules. 15: 9252–9287.
- Milner J.A., (2001). A historical perspective on garlic and cancer. J Nutr. 131: 1027–1031.
- Mizianty M., Frey L., Mirek Z., (1981). Contribution to the knowledge in the chromosome numbers of Polish vascular plants. Fragm. Florist. Geobot. Pol. 27: 19–29.
- Mohti H.M., Taviano F., Cacciola F., Dugo P., Mondello L., Marino A., Crisafi G., Benameur Q., Zaid A & N Miceli., (2019). *Inula viscosa* L. Aiton leaves and flower buds: Effect of extraction solvent/technique on their antioxidant ability, antimicrobial properties and phenolic profile. Natural product research [https://doi.org/ 10.1080/ 14786419. 1569659](https://doi.org/10.1080/14786419.1569659).
- Moreira M.R., Ponce A.G., del Val C.E., Roura S.I., (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogène. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 38: 565–570.
- Mourey A.; Canillac N., (2002). Anti *Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. Food Control. 13: 289–292.
- Muhammad A., Shafaq N, Ghufrana S., Zahid M., Muhammad Z., (2019). Chapter 1 Essential Oils. Springer Nature Switzerland AG. (ed.), Essential Oil Research, https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1. 4–17.
- Nasser M., Housheh S., Kourini A and Maala N., (2014). Chemical composition of essential oil from leaves and flowers of *Inula viscosa* L. in alqadmous region,

- Syria. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research IJPSR, 2014; Vol. 5(12): 5177–5182. ISSN: 0975–8232; P-ISSN: 2320–5148.
- Nassu R.T., Gonc L.A.G., Pereira A., De Silva M.A.A et Beserra F.J., (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*. 63: 43–49.
- Nawel K., Dahia M., Kamel B., (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia, *Algerian Journal of Natural Products*. 2 (1): 18–26.
- Nawres G., Amal D., Danilo F., Saoussen H., Alessandra P., Sonia D., (2019). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from flowers, leaves and aerial parts of Tunisian *Dittrichia viscosa*. *Journal of Essential Oil Research*. 31 (6): 582 – 589.
- Omezzine F.; Daami R.; Rinez A.; Ladhari A.; Haouala R., (2011). In vitro assessment of *Inula* spp. Organic extracts for their antifungal activity against some pathogenic and antagonistic fungi. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5: 3527–3531.
- OMS. Organisation Mondiale De La Santé., (2003). Traditional Medicine. Fact sheet No. 134.
- OMS. Organisation Mondiale De La Santé., (2011). The world medicines situation traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva. Available at: http://www.who.int/medicines/areas/policy/world_medicines_situation/WMS_ch18_wTraditional_Med.pdf (Accessed on: 11/01/2013).
- Opova M and Sekovski Z., (1989). Chromosome atlas of some Macedonian angiosperms. V. Godishen Zbornik Biologija Prirodno–Matematichki Fakultetna Univerzitetot Kiril i Metodij: 353–365.
- Oskay M., Oskay D., Kalyoncu F., (2009). Activity of some plant extracts against multi–drug resistant human pathogens. *Iranian J Pharm Res.* 8: 293–300.
- Ouis N., Hariri A., (2017). Phytochemical analysis and antioxidant activity of the flavonoids extracts from pods of *Ceratonia siliqua L.* *Banat's Journal of Biotechnology*. 8(16): 93–104.

- Palá P., Perez M.J., Velasco A., Varade J., Villa A., Sanz J and Brophy J.J., (2005). Analysis of the Essential Oil Composition from the Different Parts of *Eryngium glaciale* Boiss. From Spain. J Chromatogr A. 1094 (1–2): 179–182.
- Panero J.L., Freire S.E., Espinar L.A., Crozier B.S., Barboza G.E & Cantero J.J., 2014. Resolution of deep nodes yields an improved backbone phylogeny and a new basal lineage to study early evolution of *Asteraceae*. Molecular Phylogenetics and Evolution. 80: 43–53.
- Paolini J., (2005). Caractérisation des huiles essentielles par cpg/ir, cpg/sm (ie et ic) et rmn du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux *asteraceae* endemiques de corse: *eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *doronicum corsicum*. Thèse de doctorat.
- Papajani V., Haloci E., Goci E., Shkreli R., Manfredini S., (2015). Evaluation of antifungal activity of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* essential oil before and after inclusion in β -cyclodextrine. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 7 (5): 270–273.
- Parolin P., Scotta M.I and Bresch C., (2014). Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant: a review. Phytol-Int. J. Exp. Bot. 83: 251 – 262.
- Parolin P, Scotta M I and Bresch C. 2013. Notes on the phenology of *Dittrichia viscosa*. J. Mediterr. Ecol. 12: 27–35.
- Parthasarathy V.A., Chempakam B., Zachariah T.J., (2008). Chemistry of spices. Édition CABI, Londres, Royaume-Uni.
- Pauli A., (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. Int J Aromather. 11: 126–133.
- Pavone P., Terrasi C.M and Zizza A., (1981). In: Chromosome number reports LXXII. Taxon. 30: 695–696.
- Pawan K., Puneet K., Vijay K., (2015). Chromosome counts, chromosomal pairing, and pollen fertility in thirty-eight species of *Asteraceae* from Pangri Valley in District Chamba of Himachal Pradesh (India). Braz. J. Bot DOI 10.1007/s40415-015-0182-6.
- Pereira C.G., Meireles M.A.A., (2010). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. Food and Bioprocess Technology. 3 (3): 340–372.

- Perez A.M.J., Velasco. A., (1996). Composition of the Volatile Oil from the Aerial Parts of *Inula viscosa* (L) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*. 11: 349–351.
- Peruzzi L and Eroglu H.E., (2013). Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure? *Comparative Cytogenetics*. 7: 1–9.
- Peterson A., Machmudah S., Roy B.C., Goto M., Sasaki M & Hirose T., (2006). Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*. 81 (2): 167–172.
- Pharmacopée Européenne., (2007). Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.
- Philippe J., (2020). Cytotaxonomie De La Flore Francilienne. Isbn : 978 2 737 120 40 4. Institut Paris Region.
- Platzer N., (2002). Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Dossier. Vol TA1. 1092.
- Ponce M.A., Scervino J.M., Erra Balsells R., Ocampo J.A., Godeas A.M., (2004). Flavonoids from shoots, roots and roots exudates of *Brassica alba*. *Phytochemistry*. 65(23): 3131–3134.
- Popovici C., Saykova I et Tylkowski B., (2009). Evaluation de l'activitéantioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel*. 4: 25–39.
- Probatova N.S and Sokolovskaya A.P., (1990). Chromosome numbers in some representatives of the families Asclepiadaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Chenopodiaceae, Lamiaceae, Oleaceae, Onagraceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Urticaceae from the Soviet Far East. *Bot. Z.* 75: 1619–1622.
- Quézel P et Santa S., (1962–1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1–2 Ed. CNRS, Paris. 1170.
- Rahal K., (2005). Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème Ed, Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rahman A., Choudhary M.L., Hayat S., Khan A.M., Ahmad A and Malik S., (1999). Spatozoate and Varninasterol from the Brown Alga *Spatoglossumvariable*. *Phytochem.* 52 (3): 495–499.
- Raut J.S and Karuppayil S.M., (2014). Astatus review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products.* 62: 250–264.
- Raynaud J., (2006). Prescription et conseil en Aromatherapie. Editions TEC & DOC EM inter. Lavoisier.
- Rhimi W., Issam B.S and Claudia C., (2017). Chemical Composition, Antibacterial and Antifungal Activities of Crude *Dittrichia viscosa* L. Greuter Leaf Extracts. *Molecules.* 22: 942. Doi:10.3390/ molecules22070942.
- Robin D., (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie, thèse en vue d’obtenir le diplôme d’état de docteur en pharmacie. Université d’Aix Marseille Faculté de Pharmacie 27 bd Jean Moulin–CS 30064–13385 Marseille cedex 05 France.
- Rouessac F and Rouessac A., (2000). Chemical analysis, modern instrumental methods and techniques (English Edition). John Wiley and Sons. Ltd. New York. 445.
- Sabu M and Kattan R., (2002). Antidiabetic activity of medicinal plants and. its relationship with their antioxidant property. *Journal of Ethnopharmacology.* 81: 155–60.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., (2005). Comparative evaluation of essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry.* 91: 621–632.
- Saidi A., Eghbalnegad Y., Hajibarat Z., (2017). Study of genetic diversity in local rose varieties (*Rosa* spp.) using molecular markers, *Banat's Journal of Biotechnology.* 8 (16): 148–157.
- Saleem M.T.; Chetty M.C.; Kavimani S., (2013). Putative Antioxidant Property of Sesame Oil in an Oxidative Stress Model of Myocardial Injury. *Journal of Cardiovascular Disease Research.* (4): 177–181. DOI: 10.1016/j.jcdr.2013.07.001.

- Salim H., Rimawi W.H, Mjahed A., (2017). Analysis of extracts from Palestinian *Inula viscosa* for their phenolic, flavonoid and lipid contents, antioxidant and antibacterial activity. J Chem Biochem. 5: 12 – 23.
- Schwedt G., (1993). Méthodes d'analyse. Ed. Flammarion. ISBN 2257101189.
- Semple J.C and Watanabe K., (2009). A review of chromosome numbers in Asteraceae with hypotheses on chromosome base number evolution. In: Funk, V. A. Susanna, A. Stuessy. T. and Bayer. R. (Eds.). Systematics, Evolution, and Biogeography of the Compositae. International Association for Plant Taxonomy, Vienna. 21–32.
- Sevindik E., Mehmet Y.P., (2017). Evaluation of Essential Oil Composition Genus *Dittrichia* L. (Asteraceae) Plants in Aydın/Turkey, Türk Tarımve Doğa Bilimleri Dergisi. 4 (4): 456–460.
- Shweta S., Arun K.P., Arne A.A., (2013). The genus *Inula* (Asteraceae) in India. Rheede Vol. 23 (2): 113 – 127.
- SideLarbi K., Meddah B., TirTouil M.A., et al., (2016). The antibacterial effect of two medicinal plants *Inula viscosa*, *Anacyclus valentines* (Asteraceae) and their synergistic interaction with antibiotic drugs. J Fundam Appl Sci. 8: 244–255.
- Sikkema J., de Bont J.A.M., Poolman B., (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J. Biol. Chem. 269: 8022–8028.
- Siljak Y.S and P.L., (2012). Cytogenetic characterization of endemics: past and future. Plant Biosystems. 146: 694–702.
- Skalinska M., Czapik R and Piotrowicz M., (1959). Further studies in chromosome numbers of Polish *Angiosperms* (Dicotyledons). Acta Soc. Bot. Pol. Pol. Tow. Bot. 28: 487–529.
- Soltis P.S and Soltis D.E., (2012). Polyploidy and Genome Evolution Ed. Springer: 415.
- Stace C.A., (2000). Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. Taxon. 49: 451 – 477.
- Strid A., (1987). Chromosome numbers of Turkish mountain plants. Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh. 44: 351–356.

- Svoboda K.P., Svoboda T.G., Syred A., (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Microscopix Publications. 60.
- Sylvain S., (2011). Études de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de corse et de kumquats. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de corse *discipline* : chimie organique et analytique. Université de corse pascal paoli faculte des sciences et techniques.
- Talib W.H., Mahasneh A.M., (2010). Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules*. 15: 1811–24.
- Thiem B., Kikowska M., Kurowska A and Kalembe D., (2011). Essential Oil Composition of the Different Parts and *In Vitro* Shoot Culture of *Eryngium planum* L. *olecules*.16 (8): 7115–7124.
- Torrell M., Vallès J., Garcia Jacas N., Mozaffarian V., Gabrielian N., (2001). New or rare chromosome counts in the genus *Artemisia* L. (Asteraceae, Anthemideae) from Armenia and Iran. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 135: 51 – 60.
- Trimech I., Weiss E.K., Chedea V.S., Marin D., Detsi A., Ioannou E., Roussis V., Kefalas P., (2014). Evaluation of anti-oxidant and acetylcholinesterase activity and identification of polyphenolics of the invasive weed *Dittrichia viscosa*. *Phytochem*. 25: 421–428.
- Valles J., Garnatje T., Garcia S., Sanz M & Korobkov A.A., (2005). Chromosome numbers in the tribes *Anthemideae* and *Inuleae* (Asteraceae), Kazakhstan. *Botanical Journal of Linnean Society*. 148: 77–85.
- Vallès J., Torrell M., Garcia Jacas N., Kapustina L., (2001b). New or rare chromosome counts in the genera *Artemisia* L. & *Mausolea* Bunge (Asteraceae, Anthemideae) from Uzbekistan. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 135: 391–400.
- Vallès J., Torrell M., Garcia Jacas N., (2001a). New or rare chromosome counts in *Artemisia* L. (Asteraceae, Anthemideae) and related genera from Kazakhstan. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 137: 399–407.

- Vallès J., Garnatje T., Garcia S., Sanz M and Korobkov A.A., (2005). Chromosome numbers in the tribes *Anthemideae* and *Inuleae* (*Asteraceae*). Bot. J. Linn. Soc. 148: 77–85.
- Valnet J., (2000). Aromathérapie. Ed. Maloine S. A. alteration of *saccharomyces cerevisiae*. Phytother. Res. 19 (5): 8–405.
- Véla E & Benhouhou S., (2007). Evaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le bassin méditerranéen (Afrique du nord). – C.R. Biologies. 330: 589–605. Doi : 10.1016/j.crvi.2007.04.006.
- Victoria V., 2017. L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de sante mineurs chez l'adulte a l'officine. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de lille, université de lille 2.
- Vieira M., Bessa L.J., Martins M.R et al., (2017). Chemical composition, antibacterial, antibiofilm and synergistic properties of essential oils from *Eucalyptus globulus* Labill. And seven mediterranean aromatic plants. Chem Biodivers. 14: 1 – 12.
- Wang G.W., Qin J.J., Cheng X.R., Shen Y.H., Shan L., Jin H.Z and Zhang W.D., (2014). *Inula* sesquiterpenoids: structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity. Expert Opinion on Investigation al Drugs. 23 (3): 317–345.
- Wang W., Ben Daniel B.H and Cohen Y., (2004). Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. The American Phytopathological Society. 94(10): 1042–1047.
- Wang Z., Ding L., Li T., Zhou X., Wang L., Zhang H & He H., (2006). Improved solventfreemicrowave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And *Zanthoxy lumbungeoanum* Maxim. Journal of Chromatography A. 1102 (1): 11–17.
- Wei G.J and Ho C.T., (2006). A stable quinone identified in the reaction of carnosol, a major antioxidant in rosemary, with 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. Food Chemistry. 96: 471–476.
- Yukiko S., Goro k., katsuhiko k., Irina T and Pavel k., (2005). Distribution patterns of 45s ribosomal dna sites on somatic chromosomes of three subspecies of

- Inula britannica* (Asteraceae) in Japan and Russia. *Ann Tsukuba bot gard.* 24: 63–69.
- Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A., (2004). Chemical composition and fungicidal activity of commercial oils of *thymus vulgaris* L. *Journal Essential Oil Research.* 16 (1): 69–74.
- Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Astakie T and Jeliazkova E., (2013). Distillation Time Effect of Lavender Essential Oil Yield and Composition. *J Oleo Sci.* 62 (4): 195–199.
- Zheng X., Wang W., Piao H., Xu W., Shi H and Zhao C., (2013). The genus *Gnaphalium* L. (Compositae): phytochemical and pharmacological characteristics. *Molecules* (Basel, Switzerland).18 (7): 8298–8318.
- Zhou K., Yu L., (2006). Total phenolic content and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT–Food SciTechnol.* 39: 1155–1162.