

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIODIVERSITE ET
PHYSIOLOGIE VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par: BOUACHERINE Souaad

BOUDRAA Fatiha

Intitulé

Pouvoir antigerminatif des huiles essentielles
et d'extrait méthanolique de la plante
aromatique *Citrus limon* L. sur quelques plantes

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Hadji Abbes	Université de M'Sila	Président.
Dr. Smaili Tahar	Université de M'Sila	Rapporteur.
Dr. Belkassam Abdelwahab	Université de M'Sila	Examineur.

Année universitaire: 2017 / 2018

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions **Dieu**, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience d'achever ce petit travail.

Tout d'abord un grand merci à **Dr Smaili T.**, Professeur au Département des Sciences de la Nature et de la Vie à la Faculté des Sciences de l'université Mohamed Boudiaf de M'sila, pour m'avoir donné la chance d'effectuer ce mémoire. Merci pour l'encadrement, votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien. J'ai l'honneur de vous exprimer mes très profondes reconnaissances et mes sentiments les plus sincères.

Nous remercions **Dr Hadji A.**, Maitre des conférences à l'université de M'sila, d'avoir accepté d'être la présidente du jury.

Nous remercions **Dr Belkassam A.**, Maitre des conférences à l'université de M'sila, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions **les ingénieurs** de laboratoire de SNV. et de biochimie et microbiologie de l'université Mohamed Boudiaf de M'sila pour l'aide et soutien à tout la durée de ce travail.

Nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance vont à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire nous remercions toute personne de près et de loin.

Sommaire

Remerciement	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des photos	
Liste des abréviations	
Introduction générale	

Partie bibliographique

Chapitre I : Etude botanique

1. La famille de Rutacée.....	03
1.1. Description de la famille Rutacée.....	03
1.2. Distribution géographique des agrumes.....	04
1.2.1. En monde.....	04
1.2.2. En Algérie.....	04
2. Le genre Citrus.....	05
2.1. Généralité.....	05
2.2. Position systématique.....	06
3. L'espèce de <i>Citrus limon</i> L.....	07
3.1. Généralité.....	07
3.2. Description de l'espèce de <i>Citrus limon</i> L.....	07
3.4. L'huile essentielle de citron.....	08
3.5. Composition chimique et valeur nutritive du citron.....	09
3.6. Usage de citron.....	09

Chapitre II : Les huiles essentielles

1. Métabolisme secondaire	11
1.1. Généralité sur les huiles essentielles.....	11
1.2. Définition des huiles essentielles.....	11
1.3. Répartition et localisation des huiles essentielles	12
1.4. Rôle écologique des huiles essentielles	12
1.4. Rôle physiologique des huiles essentielles.....	12
1.6. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles.....	13
1.7. Composition chimique des huiles essentielles.....	13
1.7.1. Terpénoides.....	14
1.8. Fonction des huiles essentielles.....	16
1.9. Conservations des huiles essentielles.....	16

1.10. Domaines d'application.....	16
1.11. Identification des composés chimiques.....	18
1.12. Méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	18
1.12.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	19
1.12.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).....	19
1.13. Les méthodes d'extraction.....	19
1.13.1. L'hydrodistillation.....	19

Chapitre III : Activités biologiques

1. Activité biologique.....	21
1.1. L'allélopathie.....	21
1.1.1. Définition de l'allélopathie.....	21
1.1.2. Allélopathie et compétition.....	22
1.1.3. Application de l'allélopathie.....	23
1.1.4. Voies de libération des composés allélopathiques.....	23

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal.....	25
1.1. Plantes utilisées pour l'extraction.....	25
2. Extraction des substances bioactives.....	26
2.1. Extraction des huiles essentielle.....	26
2.1.1. Description du dispositif d'extraction.....	26
2.1.2. Conservation de l'huile obtenue.....	27
2.1.3. Calcul du rendement.....	27
2.2. Préparation de l'extrait méthanolique de <i>Citrus limon</i> L.....	28
3. Analyses chromatographiques.....	29
3.1. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM).....	29
3.1.1. Méthode.....	29
3.1.2. Calcul du Rapport frontal (Rf).....	30
4. Pouvoir allélopathique.....	31
4.1. Les graines testées de l'effet allélopathique.....	31
4.2. Comment préparer les trois concentrations d'HEs ?.....	31
4.3. Les tests de germination.....	32
4.4. Les tests préliminaires de germination.....	32
4.5. Les tests finaux de germination.....	33
4.6. Suivre de germination et notation.....	34

4.7. Mesures des longueurs des racines et des parties aériennes.....	35
4.8. Détermination des pourcentages de germination.....	35

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Résultats.....	36
1.1. Rendement des huiles essentielles.....	36
1.2. Analyse chromatographique.....	38
1.2.1. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM).....	38
1.3. Activité allélopathique.....	39
1.3.1. Les finaux de germination.....	39
1.3.2. Mesures des longueurs des racines et des parties aériennes.....	40
1.3.3. Détermination des pourcentages de germination.....	41
1.3.4. Pourcentage d'inhibition de germination.....	42
1.3.5. Pourcentage d'inhibition de longueur de racines (LR).....	44
1.3.6. Pourcentage d'inhibition de longueur de partie aérienne (LPA).....	46

Conclusion

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

المخلص

Abstract

Liste des figures

Figure 01: Principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde.....	04
Figure 02: Répartition des agrumes en Algérie (ITAFV, 2012.....	05
Figure 03: L'arbre de <i>C. limon</i> L.....	06
Figure 04: Exemples des quelques monoterpènes.....	14
Figure 05: Exemples des quelques sesquiterpènes.....	15
Figure 06: Exemples des composés aromatiques.....	15
Figure 07: Schéma du l'appareil d'hydrodistillation.....	20
Figure 08: Localisation de région Magra wilaya de M'sila.....	25
Figure 09: Rendement d'HE obtenu par hydrodistillation des feuilles et des écorces de la plante <i>C.limon</i> L.....	37
Figure 10: Pourcentage de germination maximal rapporté pour les graines d' <i>Avena sterilis</i> L. traités par l'HE de <i>Citrus limon</i> L. à différentes concentrations.....	41
Figure 11: Pourcentage de germination maximal rapporté pour les graines d' <i>Hordeum vulgare</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	41
Figure 12: Pourcentage de germination rapporté pour les graines de <i>Triticum aestivum</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	42
Figure 13: Pourcentage d'inhibition rapporté pour les graines d' <i>Avena sterilis</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	43
Figure 14: Pourcentage d'inhibition rapporté pour les graines d' <i>Hordeum vulgare</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	43
Figure 15: Pourcentage d'inhibition rapporté pour les graines de <i>Triticum aestivum</i> L. traités par les deux l'HE à différentes concentrations.....	44
Figure 16: Pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) maximal rapporté pour les graines d' <i>Avena sterilis</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	45
Figure 17: Pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) maximal rapporté pour les graines d' <i>Hordeum vulgare</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	45
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) maximal rapporté pour les graines de <i>Triticum aestivum</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	46
Figure 19: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) maximal rapporté pour les graines d' <i>Avena sterilis</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	47
Figure 20: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) maximal rapporté pour les graines d' <i>Hordeum vulgare</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations.....	47
Figure 21: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) maximal rapporté pour les graines de <i>Triticum aestivum</i> L. traités par l'HE à différentes concentrations...	48

Liste des photos

Photo 01: L'arbre de <i>C.limon</i> L.....	26
Photo 04: L'appareil de Clevenger.....	27
Photo 03: L'appareil de rotavapeur.....	28
Photo 04: L'appareil d'UV.....	30
Photo 05: Teste de germination d' <i>Avena sterilis</i> L. avec trois concentrations d'HE de <i>C. limon</i> L.....	33
Photo 06: Teste de germination d' <i>Hordeum vulgare</i> L. avec HE de <i>C. limon</i> L.....	34
Photo 07: Teste de germination de <i>Triticum aestivum</i> L. avec EM de <i>C. limon</i> L.....	34
Photo 08: Les plaques de CCM sans l'UV d'HE des feuilles (F) et des écorces (E) de <i>C. limon</i> L.....	38
Photo 09: Les plaques de CCM avec l'UV d'HE des feuilles (F) et des écorces (E) de <i>C. limon</i> L.....	38
Photo 10: Test de germination d' <i>Avena sterilis</i> L. (témoin).....	39
Photo 11: Test de germination d' <i>Avena sterilis</i> L. avec l'HE de <i>C. limon</i> L. (C ₁).....	39
Photo 12: Mesure de la longueur de la racine et la partie aérienne d'une plantule d' <i>Hordeum vulgare</i> L.....	40
Photo 13: Mesure de la longueur de la racine et la partie aérienne d'une plantule <i>Triticum aestivum</i> L.....	40

Liste des tableaux

Tableau 01: Les grains économique qui testé par l'HE_s de *Citrus limon L*.....31

Tableau 02: Les grains économique qui testé par l'EM de *Citrus limon L*.....31

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

C° : Degré Celsius.

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

C. *limon* L. : *Citrus limon* L.

C : Concentration .

G: Gramme.

H: Heure.

HE: Huile essentielle.

EM: Extrait méthanolique.

IG: Inhibition de la germination.

ILPA: Inhibition de la longueur de la partie aérienne.

ILR: Inhibition de la longueur de la partie racinaire.

LPA: Longueur de la partie aérienne.

LR: Longueur de la racine.

PG: Pourcentage de germination.

UV: Ultra Viole.

Introduction

Générale

Introduction générale

Le nom Agrume est donné aux arbres appartenant à la famille des Rutacées et au genre botanique *Citrus*. Cette appellation d'origine italienne, désigne les fruits comestibles et par extension les arbres qui les portent. A cette catégorie d'arbre appartiennent les orangers, les mandariniers, les citronniers, les cédratiers et le pamplemoussier (Loussert, 1989).

Praloran, (1971) souligne que les agrumes appartiennent à la famille des Rutacées, d'origine de la Chine, Inde et Indonésie, la période de floraison est entre mars et juillet. Pour ce qui est de la couleur des fleurs est blanche, l'exposition est vers le soleil, le type de sol est un mélange de terreau et de terre de jardin, léger et drainé, l'acidité du sol est neutre à légèrement acide. L'humidité du sol est fraîche, l'utilisation est isolé, bac et verger. La hauteur des arbres est de 500 cm, le type de plante est un arbre fruitier de type agrume, le type de végétation est vivace, le type de feuillage est persistant. Pour ce qui est de la méthode de multiplication est semis au chaud, greffe en fente sur citronnier ou bigaradier en Août ou en Septembre, ou greffe en écusson en Mai ou en Août, généralement il est intéressant de greffer un rameau de 2 ans. La taille est à l'intérieur, pincez les extrémités en mars des rameaux pour limiter le développement.

Kossel, (1891) est le premier à employer le terme de 'métabolite secondaire' qu'il définit alors en ses termes: «..... alors que les métabolites primaires existent dans toutes les cellules végétales capables de se diviser, les métabolites secondaires ne sont présents que de façon 'accidentelle' et ne sont pas essentiels à la vie de la plante ». Kossel a par la suite établi une distinction entre ces deux types de métabolites, toujours valable aujourd'hui. Les métabolites primaires sont des composés de faible poids moléculaire, communs à toutes les plantes. En existe quelques centaines; tels les acides aminés ou les acides nucléiques. En revanche plusieurs dizaines de milliers de métabolites secondaires ont pu être identifiés, et s'avèrent spécifiques d'une famille, voire d'une espèce de plante (Rhodes, 1994).

Les fonctions physiologiques précises des métabolites secondaires sont très discutées. On leur attribue des propriétés d'attraction de pollinisateur, de défense contre des agents pathogènes, des prédateurs ou encore contre des facteurs de contrainte liées à leur environnement direct: UV, température ... (Bell, 1980). Plus récemment, les métabolites secondaires ont été envisagés comme des molécules transductrices de signaux cellulaires.

Ainsi, l'acide salicylique serait le messenger impliqué dans le processus de résistance systémique acquise chez le tabac et le concombre, processus selon lequel une feuille infectée par un agent pathogène transmet un signal moléculaire à la feuille saine qui active, en

réponse, des mécanismes de défense lui permettant de résister à l'infection (Malamy *et al.*, 1990; Métraux *et al.*, 1990).

Les HEs sont des mélanges de composés organiques volatils habituellement obtenus à partir de pièces non ligneuses de la plante grâce à la vapeur ou hydro-distillation (Batish *et al.*, 2008; Burt, 2004).

Quel est le pouvoir antigerminatif de la plante aromatique *Citrus limon* L. sur quelques plantes d'intérêt économique. Dans ce cadre de notre étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des plantes médicinales. Le second chapitre présente les HEs et les troisièmes chapitres de l'activité biologique des HEs. Dans la deuxième partie (pratique), nous avons décrit en détail le matériel végétal, puis l'extraction d'HE / d'EM et l'étude de son activité antigerminative. En fin, présentation de nos résultats et discussions. On termine notre travail avec une conclusion générale de quelques recommandations.

Partie

bibliographique

Chapitre I:

Etude botanique

1. La famille Rutacée

1.1. Description de la famille Rutacée

Les agrumes sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Sapindales et à la famille des Rutacées (sous-famille des Aurantioideæ, tribu des Citreæ, sous-tribu des Citrinæ). Cette famille comprend environ 160 genres et 1900 espèces de plantes (Groppo *et al.* 2008). Le groupe formé par les agrumes vrais comprend six genres sexuellement compatibles qui sont: Citrus, Fortunella, Poncirus, Microcitrus, Eremocitrus et Clymenia (Scora, 1975).

Les agrumes sont des arbres ou arbustes allant de trois à quinze mètres de haut (Chegrani, 2009). Leurs feuilles sont luisantes, simples ou trifoliées, persistantes et présentent généralement un pétiole ailé. Les branches sont souvent munies d'épines plus ou moins grandes. Les fleurs sont hermaphrodites et possèdent généralement cinq pétales blancs (parfois teintés de rose) et 20 à 40 étamines entourant l'ovaire fixé sur un disque nectarifère). Les feuilles et fleurs produisent des essences ayant une odeur caractéristique. Les fruits sont de taille et de forme variables en fonction des variétés d'agrumes. Ils sont composés de trois couches concentriques: deux formant la peau (péricarpe) et un formant la pulpe (endocarpe). La peau est constituée d'une écorce extérieure colorée appelée flavédo, zeste ou épicarpe et d'une couche moyenne blanche et spongieuse appelée albédo ou mésocarpe. Le flavédo peut être vert ou jaune à rouge en fonction de sa composition en flavonoïdes (pigments) et présente des glandes schizolysigènes contenant des essences conférant leur odeur caractéristique aux agrumes. L'albédo est plus ou moins épais selon les espèces; il peut aller de quelques millimètres chez certaines mandarines à plus de cinq centimètres chez certains cédrats ou pamplemousses. Quant à l'endocarpe, il est constitué de différents segments ou carpelles contenant des poils à jus et des pépins et entourés d'une membrane appelée septa (Praloran, 1971).

1.2. Distribution géographique des agrumes

1.2.1. En monde

Les productions d'agrumes proviennent essentiellement des régions méditerranéennes et tropicales. En 1988, la superficie totale plantée en agrumes a été évaluée à plus de 3 millions d'hectares répartie sur une aire très large située approximativement entre les 40° de latitudes Nord et Sud tout autour du Monde (Anonyme, 2004; Polese, 2008). Les agrumes sont donc de nos jours implantés dans toutes les zones du monde où leur production est possible. Les pays producteurs forment une ceinture terrestre entre le 40ème parallèle nord et sud (Figure 1).

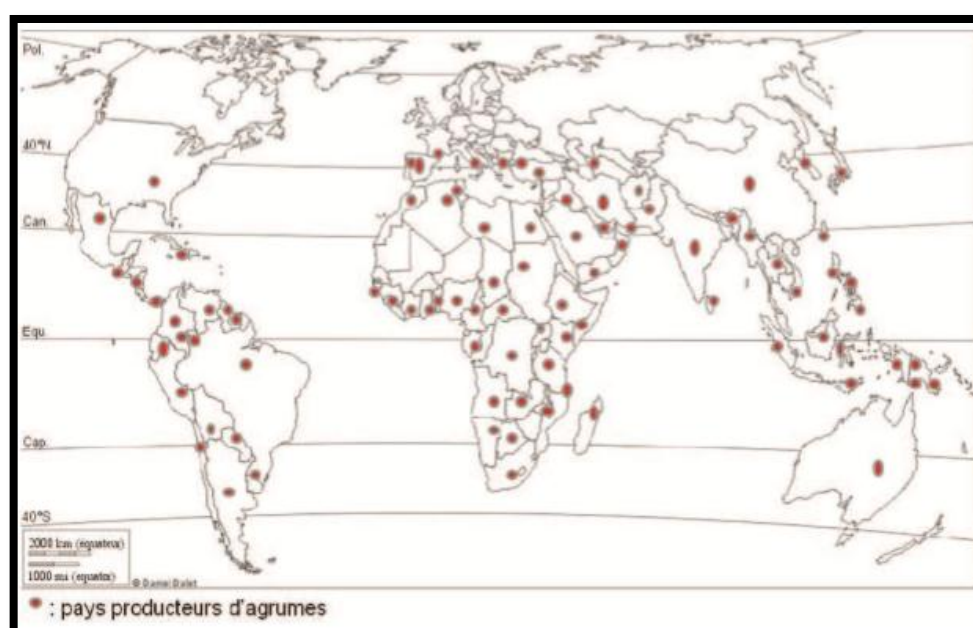


Figure 01: Principaux pays producteurs des agrumes dans le monde (Polese, 2008).

1.2.2. En Algérie

L'Algérie disposait d'une superficie de 45.000 ha en agrumes à l'indépendance. Certes en 2011, la superficie en agrumes s'étalait sur 63.323 ha, Actuellement, seuls 55.000 ha sont productifs sur 63.323 ha. Le centre du pays compte 56% de cette surface d'agrumes, 30% se trouvent à l'est du pays, et 14% à l'Ouest. (Houaoura, 2013), insiste sur les bonnes pratiques utilisées dans les vergers par nos aînés dans le passé.

Les principales wilayas agrumicoles sont: Blida (15809 ha), Chlef (5777 ha), Alger (5065ha), Relizane (4417 ha), Mascara (4232 ha), Mostaganem (4079 ha), Tipasa (3725 ha). En fin juillet 2011, il a été créé le premier Club des agrumiculteurs en Algérie à Tipasa (Anonyme, 2013).

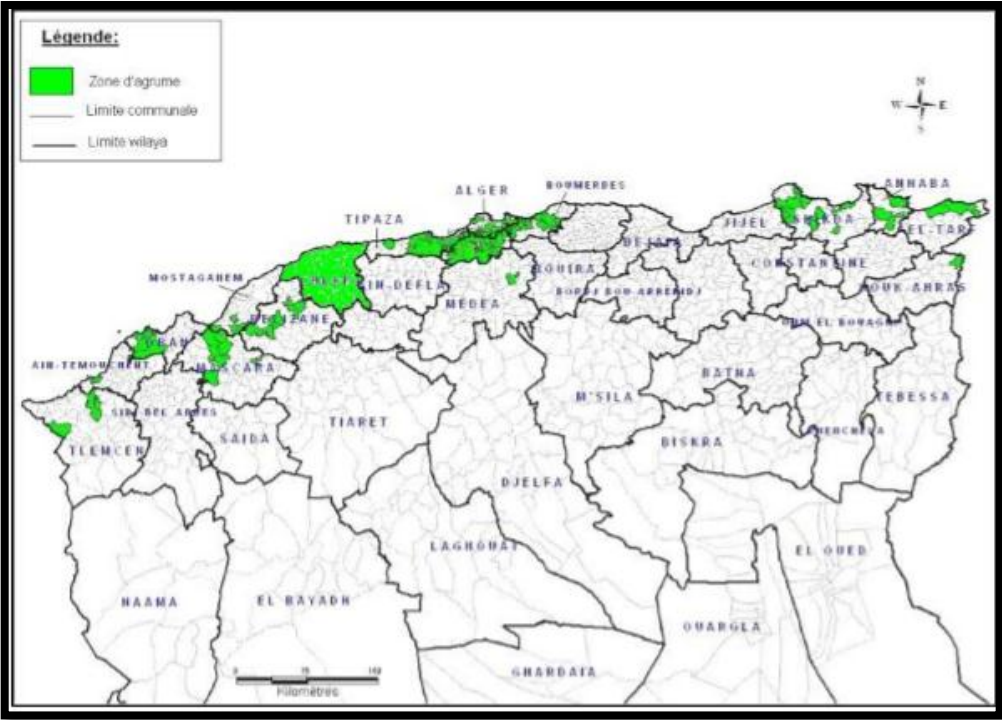


Figure 02: Répartition des agrumes en Algérie (ITAFV, 2012).

2. Le genre Citrus

2.1. Généralité

Le Citrus est un genre de plantes des pays chauds de la famille des Rutacées, regroupant des arbres et arbustes, dont plusieurs espèces sont cultivées pour leurs fruits. Parmi les espèces du genre Citrus, nous trouvons le citronnier, le lime, l'oranger amer, le mandarinier, le clémentinier, le pamplemoussier,...

Tous les fruits des Citrus cultivés ont presque la même structure, ils sont composés essentiellement de deux parties morphologiques: le péricarpe et l'endocarpe (pulpe) (Terol *et al.*, 2010).

- le péricarpe est nommé aussi l'écorce, il est composé du zeste (épicarpe ou Flavédo), partie la plus externe de ce péricarpe, de couleur orangée ou jaune,

Contenant de nombreuses poches sécrétrices de type schizolysigènes, riche en huile essentielle (Chavanne, 2011; Faucon, 2015).

Un mésocarpe (ou albédo) de couleur blanche, de texture souvent cotonneuse ou spongieuse, de nature cellulosique, d'épaisseur variable, est la partie la plus Intérieure du péricarpe (Janati *et al.*, 2012; Faucon, 2015)

- La partie interne, l'endocarpe ou pulpe constituée de la pulpe, est divisée en Segments (carpelle) où se concentre le jus (avec ou sans pépins selon les variétés) et ont une enveloppe radiale épaisse (ou endocarpe). Cette partie, riche en sucres solubles, renferme des quantités significatives de vitamine C, de pectine, de fibres, de différents acides organiques et de sel de potassium, qui donnent au fruit son acidité caractéristique.



Figure 03: L'arbre de *Citrus limon* L.

2.2. Position systématique

La classification des agrumes est selon Adjdir et Bensnoussi, (2009) comme suite:

- **Règne:** Végétale
- **Embranchement:** Spermaphyte
- **Sous embranchement:** Angiospermes
- **Classe:** Eudicotes
- **Sous classe:** Archichlomydeae
- **Ordre:** Geniales (Rutales)
- **Famille:** Rutaceae
- **Sous famille:** Aurantoideae
- **Tribu:** Citreae
- **Sous tribu:** Citrineae
- **Genre:** Citrus
- **Especie :** *Citrus limon* L.

Praloran, (1971) souligne que la classification systématique des agrumes et des genres voisins est un problème que les spécialistes s'accordent à qualifier de complexe. Des

divergences se manifestent entre les opinions de Swingle, Tanaka, Hume, Hodgson et Chapot en matière.

3. L'espèce de *Citrus limon* L.

3.1. Généralité

Citrus limon L. est un arbuste originaire du sud-est asiatique, cultivé sur le littoral de la Méditerranée et dans toutes les régions du globe à climat semi-tropical (Dubois, 2006; Debuigine et Couplan, 2008). Les fruits sont de forme ovale, avec un mamelon plus au moins apparent à leurs extrémités. La peau fine est colorée en jaune à maturité du fruit; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences. La pulpe, de coloration jaune ou verdâtre, est généralement riche en acide citrique, ce qu'il lui donne sa saveur acide (Blancke, 2001).

Cette plante est l'une des agrumes les plus vigoureuses, de croissance rapide, elle produit de nombreuses branches et fructifie abondamment, et la fructification de l'hiver est plus importante (de 60 à 70% de production annuelle de l'arbre) (Dubois, 2006). Les principales variétés méditerranéennes cultivées de citronnier sont «Verna », «Eureka », «Lisbonne », «Monachello », «Interdonato » et «Lunaris » (Blancke, 2001).

3.2. Description de l'espèce de *Citrus limon* L.

Citrus limon L. à peau plus ou moins épaisse. La variété la plus cultivée en Europe est le Verna. On trouve aussi l'Eureka, en provenance des États-Unis mais cultivé également en France, et le Santa Teresa. Le citron vert *Citrus aurantifolia* n'est pas un citron jaune cueilli avant maturité, mais une espèce à part entière, que l'on appelle aussi la lime (Christine, 2011).

Swingle, (1948) signale que le genre *Citrus* contient plusieurs caractéristiques comme:

- C'est un arbre de petite taille dont les jeunes rameaux deviennent très rapidement cylindriques, épineux (épine simple à l'aisselle des fruits), mais dont les branches âgées sont fréquemment inermes;
- Ce même auteur souligne que les feuilles des folioles habituellement minces, non coriaces dont les veines principales sont peu nombreuses et le réseau de veines secondaires ne ressort pas sur le limbe ;
- Le pétiole est en général plus ou moins ailé et articulé avec le limbe à pétiole non ailé ou simplement marginé et non articulé avec le limbe. Pour ce qui est des fleurs ils

apparaissent à l'aisselle des feuilles, elles sont solitaires ou en petites grappes corymbiformes, parfaites ou mâles par avortement plus ou moins complet du pistil;

- Le calice est en forme de coupe, a 4 ou 5 sépales, droite et abondamment pourvus de glandes;
- Les étamines sont en nombre généralement de quatre fois supérieurs à celui des pétales et parfois jusqu'à 6 à 10 fois plus nombreuses;
- Le disque nectarifère est petit;
- L'ovaire est sub-globuleux et bien distinct du style mince, ou tronqué, fusiforme ou sub cylindrique passant progressivement à un style d'épaisseur voisine de celle de la partie Supérieure de l'ovaire; il comporte 8 à 18 loges (généralement 10 à 14) avec 4 à 8 ovules par loge, en deux rangs parallèles;
- Le style, cylindrique, se termine brusquement en un stigmate sub-globuleux ou en sphère aplatie;
- Pour ce qui est des fruits ils sont formés de segments contenant les graines placé dans l'angle intérieur, le reste de l'espace est rempli de poils vésiculaire pédonculés, fusiforme, composé de grosses cellules à contenu très aqueux;
- Les segments sont entourés d'un endocarpe blanc à l'extérieure duquel est une écorce à très nombreux glandes à essence, devenant jaune ou rouge à maturité;
- Enfin pour ce qui est des graines ils sont obovales aplatie, plus ou moins anguleuses;
- Elles contiennent un ou plusieurs embryons blanc ou vert.

Esclapon, (1975) dit que la classification des espèces est basée sur les caractères botaniques propres à ces diverses espèces, dont les trois principaux genres de la sous-famille des Aurantioidées (Poncirus, Citrus et Fortunella) ont été rattachés aux groupes.

Nom vernaculaire

Citrus limon L. est connu sous le nom vernaculaire: Le citron.

3.4. L'huile essentielle de citron

De façon générale, on peut dire que l'essence de citron est composée de 92 à 93% de terpènes dont le d-limonène est le plus abondant. Le parfum est surtout déterminé par les éléments oxygénés dont le citral ou le géraniol $C_{10}H_{16}O$ à raison de 3 à 5% et le citronellal $C_{10}H_{18}O$. Le développement des techniques modernes d'analyses a permis de déceler dans l'essence de citron plus de 341 composés volatils. Des différences significatives peuvent être appréciées lors de l'examen comparatif d'essences d'origines diverses, soit en ce qui concerne

les concentrations relatives de certains composants, soit aussi par la présence de certains composés spécifiques (Ferhat, 2010).

3.5. Composition chimique et valeur nutritive du citron

Comme les autres agrumes, le citron est un fruit très juteux renfermant 90% d'eau, fortement acide (PH inférieur à 3). L'acidité est due essentiellement à l'acide citrique accompagné de faibles quantités d'acides malique, Caféique et férulique Le citron est un fruit remarquable par sa haute teneur en vitamine C et d'un large éventail de vitamines du groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes (naringosides, hésperidosides). La teneur de ce fruit en glucides est faible mais les fibres (cellulose, hémicelluloses et pectines) représentent 2,1% du poids total. La teneur en protéines ne dépasse pas 1g/100g. Diverses substances minérales ont été identifiées dans le citron. Le potassium est le minéral le plus abondant (Valnet, 2001).

Constituants chimiques d'HE de peau de citron: 90 % D-limonène (monoterpène cyclique) 0,4 %, bêtapinène (11,58 %), gammaterpinène (9,28 %), sabinène (1,83 %), alphapinène (1,75 % 3 à 5 %) citronellal, alphaterpinéol, linalyl-acétate, acétate de géranyl, coumarine et autres constituants mineurs (Goetz, 2014).

L'essence de *Citrus limon* L. est composée de 92% à 93% de terpènes dont le d-limonène est le plus abondant (Iserin et al., 2001; Ferhat et al., 2010), de sesquiterpènes, d'aldéhydes (dont le citral est le plus dominant) et d'esters (Iserin et al., 2001).

L'analyse montre que les monoterpènes représentent de loin les composés majeurs de ces huiles essentielles avec des teneurs comprises entre (89,8 et 99,08) %. Le limonène est en général le composé le plus abondant avec des teneurs variant de (23,54 à 86,6) %.

Composition chimique fonctionnelle des huiles essentielles La *C. limon* L. (var. Eurêka): Sesquiterpènes hydrocarbonés 0,99%, δ -élémane 0,06%, β -caryophyllène 0,23%, α -bergamotène 0,17%, Bicyclogermacrène 0,24%, β -bisabolène 0,29% (Pierre et al., 2002).

3.6. Usage de citron

Le citron présente une large utilisation grâce à sa composition:

- Usage culinaire: le citron pelé ou finement gratté donne sa propre saveur qui est très prisée en cuisine et en pâtisserie, le jus du citron permet de fabriquer des boissons rafraîchissantes;

- En cosmétologie, le citron est utilisé pour resserrer les pores, il passe pour éclaircir la peau, résorber les comédons et s'utilise en masque antirides ou pour donner de l'éclat aux cheveux. Il entre aussi dans la composition de nombreux parfums (Bousbia, 2011);
- De plus, le citron contient des flavonoïdes, en particulier de flavanone qui montre des activités bénéfiques en tant qu'agents protecteurs contre le cancer et les maladies cardio vasculaires, inflammatoires et allergique (Gil-Izquierdo *et al.*, 2004);
- Le citron est utilisé par les femmes pendant la grossesse pour soulager les nausées et les vomissements (Yavarikia *et al.*, 2014).

Les huiles essentielles se caractérisent par différentes propriétés notamment, antibactériennes, antioxydantes, antifongiques, antivirales, anti-scorbut, antiallergiques, neuro-protecteurs, anticonvulsifs, sédatifs, anti-nociceptifs et anti-inflammatoires. Elles sont largement utilisées comme agent aromatisant dans les aliments, les boissons et les confiseries et comme parfum. C'est en effet un fruit, qui consommé plusieurs fois par jour, sous différentes formes, purifie votre organisme et le délivre des impuretés qu'il a accumulées.

C'est un très bon brûle graisses, et donc une manière très efficace de perdre du poids et de régénérer votre corps. Il permet à votre organisme d'éliminer toutes les toxines qui l'encombrent (Lahlou, 2004; Sharopov *et al.*, 2015).

Chapitre II:

Les huiles essentielles

1. Métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, dont plus de 200000 molécules ont été identifiées. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoides (Amas, 1997).

Ces métabolites secondaires ont des fonctions très importants pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimique, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes, comme ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance), Certains assurent une protection contre les radiations solaires et d'autre encore facilitent la dispersion du pollen et des graines (Jeaun *et al.*, 2005).

Les métabolites secondaires sont aussi très exploités par l'Homme dans les différents domaines: dans le domaine culinaires comme colorants et arômes, dans le domaine agricole comme herbicides et dans le domaine médicinale comme antibiotiques, antioxydant, drogues... (Bruneton, 1993 ; Krief, 2003).

1.1. Généralité sur les huiles essentielles

La norme AFNOR NF T 75-006 (1998) In Bruneton, (1993) a donné comme définition d'huile essentielle: « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

1.2. Définition d'huile essentielle

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés (Bruneton, 1993; Kalemba et Kunicka, 2003). Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, « l'huile essentielle désigne le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, soit par distillation « sèche ». Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000). Cette définition détermine les huiles essentielles au sens strict. Mais, de ce fait, elle écarte les produits obtenus en employant d'autres procédés d'extraction, comme l'utilisation de solvants non aqueux ou l'enfleurage (Bruneton, 1999).

Il est important de distinguer huile essentielle et essence. Cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée. En revanche, une huile essentielle est le résultat d'extraction de l'essence, autrement dit, l'essence distillée (Carette, 2000). Et contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, l'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale (Anton et Lobstein, 2005).

1.3. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont rencontrées dans diverses familles botaniques, elles sont largement répandues dans le monde végétal et se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles (Richter, 1993).

Actuellement, on compte environ 800,000 espèces végétales et parmi elles, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence, c'est-à-dire les plantes aromatiques (Balz, 1986). Ces essences se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante, dans une même plante, ces huiles peuvent exister à la fois dans différents organes, où la composition chimique peut varier d'un organe à un autre. Ces essences aromatiques sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (Bruneton, 1999).

1.4. Rôle écologique des huiles essentielles

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteurs de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs (Ceccherlli *et al.*, 1990).

1.5. Rôle physiologique des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai *et al.*, 2003).

Il y a beaucoup de spéculations au sujet du « rôle » d'huiles essentielles des plantes. Certainement plusieurs effets apparents « utiles » ont été décrits: protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme conservateur de l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979).

Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (Capo *et al.*, 1990).

1.6. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

- Ce sont des liquides rarement visqueux (myrrhe) ou cristallisés à température ambiante (camphre) ;
- Elles sont volatiles, ce qui les oppose aux huiles grasses (huile de noisette, huile d'avocat, huile d'olive, etc...). Cette volatilité leur confère leur caractère odorant et est à la base d'un de leur mode d'obtention à partir du végétal (l'entraînement à la vapeur d'eau) ;
- Elles sont pour la plupart, plus légères que l'eau et non miscibles, très peu solubles, pour la plupart insolubles dans l'eau ;
- Elles sont actives sur la lumière polarisée et ont un indice de réfraction élevé ;
- Elles sont totalement solubles dans les huiles grasses, particulièrement solubles dans les alcools à titres élevés et les solvants organiques ;
- Elles ne sont que très rarement colorées (Bouderdara, 2013).

1.7. Composition chimique des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles est généralement très complexe, à la fois par la diversité considérable de leurs structures, et par le nombre élevé de constituants présents (Abid, 2008).

On peut déterminer la composition des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse (CPG), c'est la technique la plus utilisée, car elle permet de faire une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile.

Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (Bachelot *et al.*, 2005). Comme on peut utiliser une méthode spectroscopique, dite résonance magnétique nucléaire du carbone-13 (RMN C 13) (Bekhechi, 2008).

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant divers facteurs:

L'environnement, le génotype, origine géographique, le lieu et la période de récolte, la partie de la plante étudiée, l'âge de la plante, le séchage, lieu de séchage, la température et durée de séchage, les parasites, les virus et mauvaises herbes (Smallfield, 2001; Merghache *et al.*, 2009; Merghache *et al.*, 2009; Atik Bekkara *et al.*, 2007).

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants:

1.7.1. Terpénoides

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils: mono-et sesquiterpènes.

- **monoterpène**

Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités (isopréniques).

Ils peuvent être acyclique (myrcène, ocimène), monocyclique (α et γ -terpinène, p-Cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrud ...). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules: alcools (géraniol, α -terpinéol, bornéol, trans-trans-farnésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone, β -vetivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéole) (Bruneton, 1999).

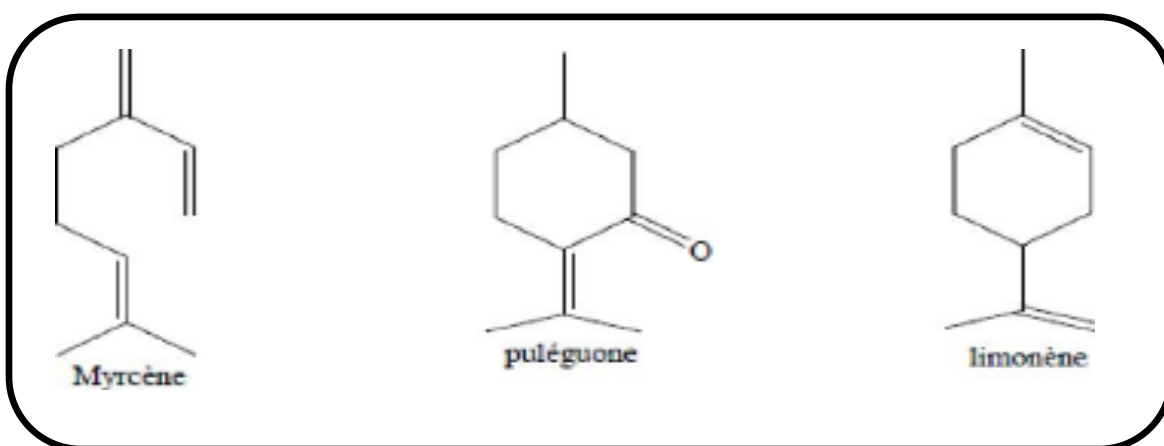


Figure 04: Exemples des quelques monoterpènes (Bruneton, 1999).

- **Les sesquiterpènes**

Un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles.

Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autre en fin attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs antinutritifs (Bruneton, 1999).

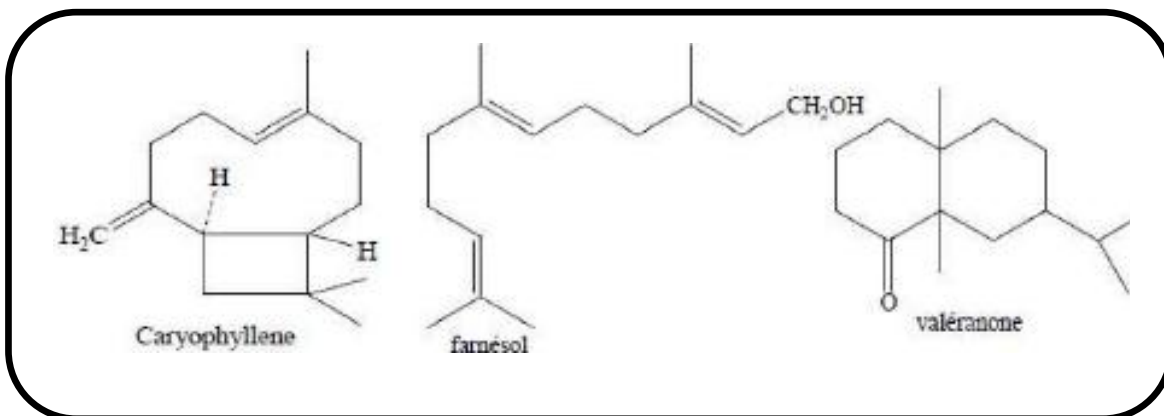


Figure 05: Exemples des quelques sesquiterpènes (Bruneton, 1999).

- **Les composés aromatiques**

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles-et des propénylphénols, parfois des aldéhydes.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C_6-C_1) comme la vanilline ou comme l'anthranilate de méthyle. (Bekhechi et Abdelouahid, 2014).

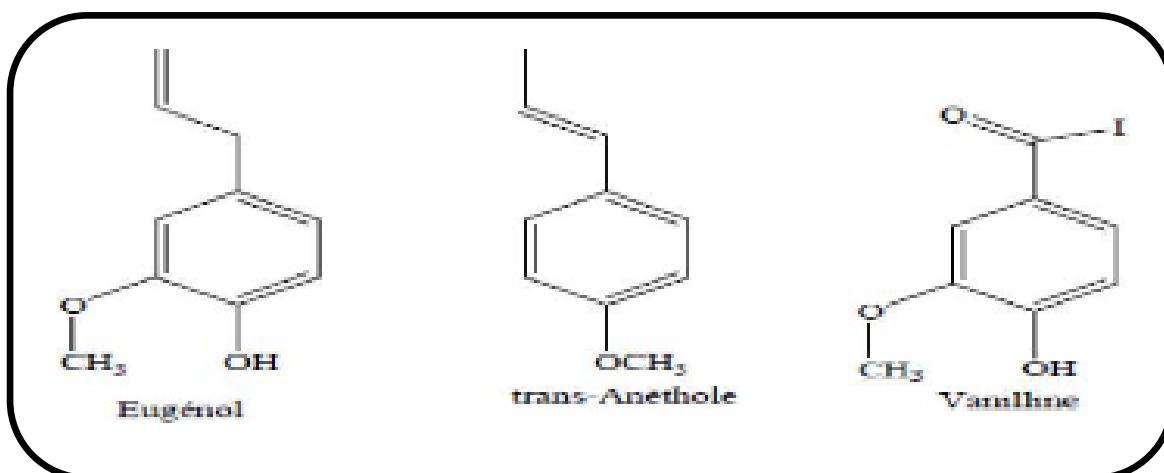


Figure 06: Exemples des composés aromatiques (Bruneton, 1999).

1.8. Fonction des huiles essentielles

Le rôle des HE_s n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation.

D'autres, la considère comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques. D'autre part, elles conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertique (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

1.9. Conservations des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances très délicates, et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples: photoisomérisation, photocyclisation, coupure oxydative de propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène) Ces dégradation peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et la chaleur (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

1.10. Domaines d'application

Il existe une grande variété des huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles essentielles qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes, mais aussi, les différentes utilisations possibles et leur coût de production (Grysole, 2005; Fillatre, 2011). Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers domestiques ou industriels (Aburjai et Natsheh, 2003).

Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture (Fillatre, 2011).

- **Santé: pharmacie et aromathérapie**

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps, notamment en Asie où ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques et aromathérapiques. En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (Bruneton, 1999). De même, elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique, en particulier dans le milieu hospitalier (Edris, 2007).

De nombreux produits tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique étant donné la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau (principalement due aux terpènes). Ces produits sont généralement destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires (Razafindrakoto, 1988; Dethier, 1996; Edris, 2007).

Si les huiles essentielles trouvent des applications importantes dans la médecine dite conventionnelle ou scientifique, leurs bienfaits constituent la base d'un autre domaine de la santé qui se rapproche plus de la médecine traditionnelle: l'aromathérapie (Fillatre, 2011). Cette dernière correspond à l'utilisation des odeurs et des substances volatiles pour soigner, atténuer ou prévenir les infections et les indispositions internes uniquement par le moyen d'inhalation (Buchbauer et Jirovetz, 1994) ou encore, à l'utilisation des huiles essentielles pour traiter certaines maladies externes par leur application sur la peau au travers de massages (Tisserand et Balacs, 1995). La synergie des différents constituants des huiles essentielles détermine leur effet équilibrant. C'est ainsi que certaines huiles peuvent avoir des actions paradoxales comme par exemple, l'huile essentielle de lavande qui peut avoir un effet à la fois relaxant et stimulant (Werner, 2002).

- **Agro-alimentaire**

Les huiles essentielles sont utilisées en industrie agroalimentaire comme arômes et épices alimentaires pour les boissons gazeuses ou alcooliques, les condiments, les confiseries, les produits laitiers, les produits carnés, les produits de boulangerie mais également pour la

nutrition animale (Bruneton, 1999). Les plus couramment utilisées sont celles de: menthe, vanille, poivre, basilic, gingembre, eucalyptus... (Mapoli, 2003).

- **Agriculture**

La volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse dans l'agriculture moderne en faveur de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, s'est affirmée ces dernières années. Concernant les pesticides, l'un des projets de loi vise à réduire la consommation en produits phytosanitaires de 50% en dix ans, l'échéance étant 2018 (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2008). Dans ce contexte environnemental, les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (Isman, 2000; Dayan *et al.*, 2009). Les modes d'application sont très variés soit par fumigation, attractif ajouté aux pièges à phéromones, répulsif ou par contact (Regnault et Hamraoui, 1995). Outre leurs activités biologiques, les huiles essentielles présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles. Parmi celles-ci, on peut citer:

- leur prix faible et approvisionnement assurés par une production mondiale importante pour de nombreuses huiles essentielles;
- leurs multiples modes et sites d'action sur les insectes;
- leur faible toxicité pour les mammifères (à quelques rares exceptions près);
- leur faible persistance dans l'environnement due à leur volatilité (temps de demi-vie en extérieur < 24 heures sur les surfaces, dans les sols ou l'eau) (Isman *et al.*, 2010).

1.11. Identification des composés chimiques

Les constituants de chacune de nos huiles essentielles ont été identifiés en utilisant le logiciel ThermoXcalibur 1.2 en corrélant leurs spectres de masse respectifs avec ceux des bibliothèques (NIST08, Wiley 8ème édition, Adams (Adams, 2001) et Mass Finder. Les indices de rétention ont été déterminés selon (vanden et Kratz, 1963).

1.12. Méthodes d'analyse des huiles essentielles

L'analyse et l'identification de la composition chimique des huiles essentielles des deux espèces étudiées ont été effectuées par des techniques chromatographiques. La chromatographie en phase gazeuse (CPG), nous a permis de séparer et de quantifier les composés.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) nous a permis quant à elle, à l'aide des banques de données spectrales, de déterminer les composés.

1.12.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les analyses ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse de type Trace GC ThermoQuest équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'une colonne capillaire SE-52 (5% de phényle; 95% de diméthylpolysiloxane) de 50 m de longueur, 0.25 mm de diamètre interne et 1.0 μm d'épaisseur de film. La température du four a été programmée à 60°C pendant 1 min puis à 250°C, à raison d'une montée de 3°C/min. Les températures de l'injecteur (split/splitless) et du détecteur ont été fixées à 230°C et 250°C, respectivement. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1.5 ml/min. Le volume d'échantillon d'huile essentielle injecté par le mode split est de 0.1 μl à un rapport de division de 1/100.

1.12.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

Les analyses ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse de type Trace GC ThermoQuest muni d'une colonne capillaire SE-52 de (50 m x 0.25 mm) et 1.0 μm d'épaisseur de film, couplé à un spectromètre de masse de type ThermoQuest Automass Solo quadripolaire. Les températures de la source ionique et de l'interface ont été réglées respectivement à 230°C et 250°C. Le four a été programmé de 60°C à 250°C, à raison d'une montée de 3°C/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 230°C et 250°C, respectivement. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1.5 ml/min. 0.1 μl d'échantillon d'huile essentielle est injecté par le mode split à un rapport de division de 1/100. Les spectres de masse ont été obtenus par un impact électronique (IE) de 70 eV, un balayage sur une gamme de masse allant de 40 à 500 unités avec une vitesse de 0.5 sec et un filament de 300 μA .

1.13. Les méthodes d'extraction

1.13.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien. En effet il fut importé en Europe par les Arabes entre le VIII^{ème} et le X^{ème} siècle mais le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens dès le IV^{ème} siècle après J.C. Il est aussi le plus utilisé, le plus rentable et celui convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique (Coassini et Delben, 1998). Elle est la distillation d'un mélange

hétérogène d'eau et d'un liquide organique. Son principe est basé sur celui de la distillation des mélange binaires ou partiellement miscibles. Quelque soit la nature du liquide organique. Le mélange a une température d'ébullition inférieure à 100 C^0 . Les hydrodistillations sont souvent utilisées pour récupérer des huile essentielles. L'essence est entraînée par la vapeur sous la forme d'un hétéroazéotrope (Bourguet et Augé, 2008).

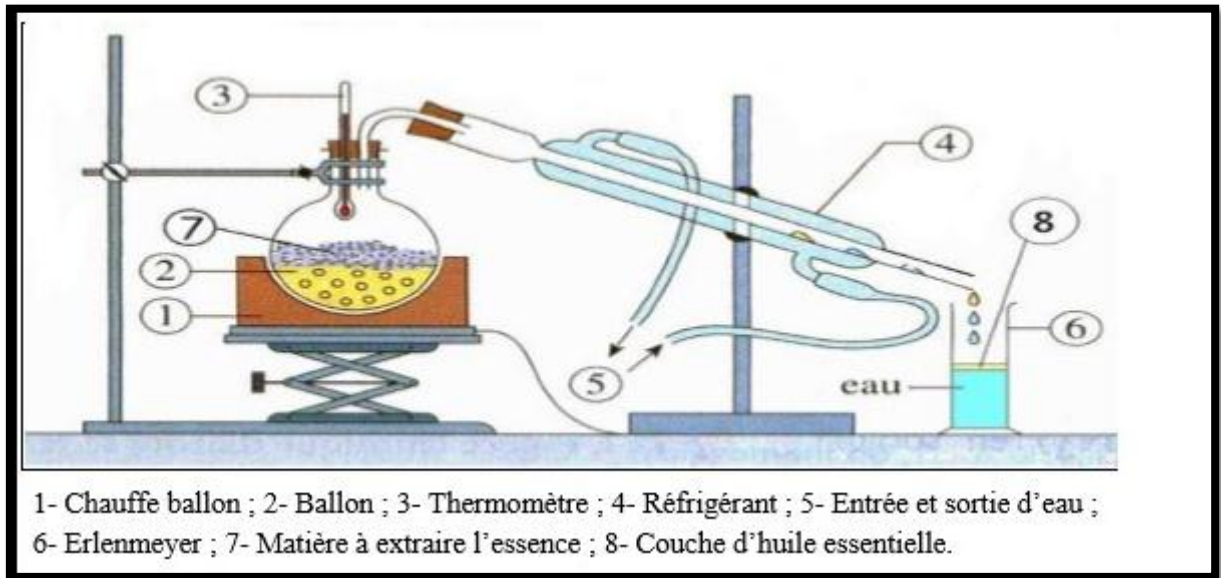


Figure 07: Schéma du l'appareil d'hydrodistillatio (Bourguet et Augé, 2008).

Chapitre III:

Activités biologiques

1. Activités biologiques

Les molécules de synthèse chimique utilisées dans la vie courante ne répondent plus aux exigences des habitants de la planète qui cherchent des produits plus sains, plus efficaces et moins dangereux pour eux et leur environnement. Les antibiotiques, comme exemple, ont joué un rôle capital dans l'éradication de plusieurs maladies contagieuses graves au cours du 20e siècle, mais la résistance bactérienne est devenue un sérieux problème, jusqu'au point où les antibiotiques de 3e génération sont devenus dans plusieurs cas inefficaces. C'est dans un communiqué publié le 30 Avril 2014 que l'OMS tire la sonnette d'alarme contre la résistance aux antibiotiques. S'ils perdaient toute efficacité, des infections facilement prises en charge redeviendraient mortelles! Le monde s'achemine vers une ère post-antibiotiques, où des infections courantes et des blessures mineures pourraient à nouveau tuer! (Fukuda, 2014) de même que la résistance a touché la molécule de choix antipaludique, l'artémisinine (Groupe d'Experts, 2011) et d'autres antimicrobiens, il faut noter que la journée mondiale de la santé de l'année 2011 avait comme thème: «Résistance aux antimicrobiens – pas d'action aujourd'hui, pas de guérison demain» (O.M.S., 2014).

1.1. L'allélopathie

Le mot allélopathie, du grec allélon, l'un l'autre et pathos, maladie, est apparu en 1937 dans le dernier livre (en allemand) écrit juste avant la mort du botaniste Autrichien Hans Molisch (1856-1937), spécialiste de la photosynthèse. Le terme resta ignoré pendant plusieurs décennies, jusqu'à ce que, au début des années 1960, l'écologue américain Elroy Léon Rice (1917-2000) l'utilise à nouveau pour expliquer la rapide disparition des herbes pionnières dans les champs abandonnés en Oklahoma (Willis, 2007).

1.1.1. Définition de l'allélopathie

L'allélopathie est tout effet direct ou indirect, positif (stimulation) ou négatif (inhibition), d'une plante (micro-organismes inclus) sur une autre par le biais de composés biochimiques (métabolites secondaires) libérés dans l'environnement (atmosphère et sol) (Gallet et Pellissier, 2002) et par conséquent elle désigne l'ensemble des interactions biochimiques existant entre une plante et un autre organisme (végétal, champignon ou microorganisme). Bien que ce terme soit le plus couramment utilisé pour décrire les interactions chimiques entre deux plantes, il a également été utilisé pour décrire les communications chimiques entre microbe-microbe, plante-microbe et plante-insecte ou plante-herbivore (Weir *et al.*, 2004).

1.1.2. L'Allélopathie et compétition

Schoener, (1983) divise la compétition en catégories selon les mécanismes par lesquels s'exprime. L'une des catégories est la compétition chimique (par la production de toxines qui agissent à distance); ce mécanisme est appelé l'allélopathie. Plusieurs travaux notoires ont étudiés les processus de cette interaction dont les travaux de Whittaker et Feeny, (1971); Harborne, (1982); Rice, (1984); Putnam et Tang, (1986); Gopal et Goel, (1993); Seigler, (1996).

L'exposition des plantes sensibles aux allélochimiques peut affecter leur germination, leur croissance et leur développement. En effet, la germination des graines est alors retardée ou le développement des plantes est inhibé. Les variations morphologiques sont observées le plus souvent aux premiers stades de développement: des effets sur l'allongement de la tigelle et de la radicule (coléoptile et coléorhiz des poacées). Ces variations peuvent être observées aux stades post-levés sur le développement des pousses et des racines (Kruse *et al.*, 2000).

Les plantes présentes dans une parcelle cultivée interfèrent entre elles de différentes manières. Traditionnellement, cette interférence est attribuée principalement à des effets de compétition pour les ressources de l'environnement telles que l'eau, la lumière ou les substances nutritives (Delabays, 2005). Dans ce même contexte (Delabays, 2004; Rizvi, 1991) soulignent que les phénomènes de concurrence entre végétaux se composent d'une part de la compétition pour les ressources du milieu et d'autre part de l'allélopathie.

Le phénomène de l'allélopathie a été souvent considéré comme une part de la compétition ou complètement ignorée. Actuellement, ces deux mécanismes sont bien différenciés et sont généralement regroupés sous le terme d'interférences négatives. Les effets de ces interactions dépendent des facteurs physiques environnementaux et de la combinaison entre la compétition pour les ressources, les composés allélopathiques émis dans l'environnement et les facteurs de facilitation (Delabays, 2004).

1.1.3. L'application de l'allélopathie

En situation naturelle, il semble que l'allélopathie contribue à la répartition spatiale des espèces et à l'organisation des successions végétales. Les phénomènes allélopathiques trouvent également de nombreuses applications dans le domaine de l'agriculture:

- **Concurrence des mauvaises herbes sur la culture:** les propriétés allélopathiques ont été mises en évidence pour plus de 90 espèces de mauvaises herbes;
- **Lutte contre les mauvaises herbes:**
- On envisage la sélection de variétés ayant un pouvoir allélopathique, par exemple pour le riz; des substances allélopathiques peuvent servir à l'élaboration d'herbicides, comme la Cynméthylène développé par Shell à partir de Cinéol (composé terpénique de l'eucalyptus) pour le désherbage des cultures de soja, d'arachide et de cotonnier;
- **Gestion des rotations culturales:**

On observe des effets d'une culture sur la suivante, soit à cause de phénomènes d'auto toxicité (le sorgho ou le riz pluvial peut subir un effet dépressif s'il est implanté après un précédent de la même culture, avec de fortes variations variétales), soit à travers des successions nettoyantes (dans le cas de la culture de tournesol); les associations de cultures peuvent être perturbées par des substances allélopathiques (par exemple, leur action sur la fixation de l'azote peut gêner l'établissement des légumineuses dans les prairies);

- **Itinéraires techniques:**

La présence de résidus de récolte constitue, actuellement, un problème qui prend de l'importance avec le développement des techniques de travail minimum. L'enfouissement des résidus de récolte permet de diluer les composés allélopathiques libérés par leur décomposition et de limiter leurs effets sur la culture suivante. Les phénomènes d'allélopathie sont pris en compte dans la gestion des plantes de couverture (Cirad, 2003).

1.1.4. Voies de libération des composés allélopathiques

Tous les organes végétaux contiennent des quantités variables de substances potentiellement allélopathiques qui sont libérées dans l'environnement par des voies diverses, actives ou passives: volatilisation, exsudation racinaire, lessivage ou décomposition des résidus végétaux incluant les racines. La libération de substances toxiques volatiles par les plantes est un phénomène écologiquement plus important dans les milieux arides ou semi-arides. Les substances émises par cette voie sont le plus souvent des mono terpènes simples (Bertin *et al.*, 2003).

On appelle exsudats racinaires toutes les substances organiques solubles et insolubles libérées dans le sol par les racines saines ou lésées. L'exsudation racinaire présente un intérêt

particulier pour les phénomènes allélopathiques parce qu'il s'agit d'une voie de libération directe des toxines dans la rhizosphère, pouvant ainsi potentiellement influencer la composition de la flore microbienne (Bertin *et al.*, 2003).

Le lessivage de tissus végétaux, principalement de feuilles, par la pluie, le brouillard ou la neige conduit à la dissolution et au transport de constituants solubles vers le sol. La grande majorité des substances allélopathiques peut être lessivée, y compris les terpènes, les alcaloïdes et les substances phénoliques (Tukey, 1970).

Dans les situations naturelles, il est difficile de différencier l'importance relative de ces aspects. Ce phénomène d'allélopathie a été décrit chez les espèces de la famille des Astéracées (Rice, 1984).

Partie

Expérimentale

Chapitre I:

Matériel et méthodes

Pour étude la composition chimique et l'activité anti-germinative d'huile essentielle et l'extrait aqueuse de plante *C. limon L.*, on réalise les expériences dans laboratoire pédagogique de biologie, Université Mohamed Boudiaf de Msila pendant la période allant de février 2018 à fin mai 2018.

1. Matériel végétal

1.1. Plantes utilisées pour l'extraction

Nous avons prélevés les feuilles de *C. limon L.* de la région Magra wilaya de M'sila; La commune de Magra est située À 300 km d'Alger dans le nord-est du bassin d'El-Hodna. Elle est distante de à 55 km de wilaya M'Sila, de 75 km de wilaya Setif, de 37 km de commune Barika et de 120 km de wilaya Batna. Sa superficie est de 66 234 km². La région de Magra est limitrophe des communes suivantes: Berhoum, Dehahna, Aïn Khadra, Belaiba et Resfa.

Nous avons récoltés l'échantillon en fin février 2018, pour utilise ce partie à l'extraction des HE_s à travers la méthode hydrodistillation de type clevenger.

Le citronnier est un petit arbre épineux à feuilles persistantes, atteignant 3 à 6 m de hauteur, à cime étalée et peu dense, au feuillage vert claire.

Ainsi, on acheté les fruits de marché de M'sila pour utilisé les écorces à l'extraction des HE_s, Le fruit est de forme ovale, la peau fine est colorée en jaune à maturité du fruit.



Figure 08: Localisation de région Magra wilaya de M'sila.



Photo 01: L'arbre de *C. limon* L.

2. Extraction des substances bioactives

2.1. Extraction des huiles essentielles

2.1.1. Description du dispositif d'extraction

L'extraction d'HE à été effectuée par hydrodistillation, il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée.

La matière végétale est immergée directement dans un ballon remplie d'eau, seules les parties aériennes fraîche (feuilles, écorces), placé sur une source de chaleur (chauffe-ballon), le tout est en suite porté à l'ébullition.

D'abord, on nettoyé l'appareil de Clevenger à l'acétone puis rincé à l'aux distillé afin d'éliminé les poussières et les graisses probablement présentés dans l'appareil afin d'éviter toute contamination d'HE au cours de l'extraction.

Ensuite, on employé 150g des matériels végétales (feuilles, l'écorces) ont été coupés en petits morceaux et introduits dans le ballon de 1000 ml et mixés avec 500ml d'eau distillée. L'ensemble est hydrodistillé pondant 3 heures. L'extraction par hydrodistillation a été répétée deux fois pour les feuilles et les écorces.

En fin, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter et l'HE se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.



Photo02: L'appareil de Clevenger.

2.1.2. Conservation de l'huile essentielle obtenue

Conservation des HE_s exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela que nous avons conservées à une température voisine de 4 °C, dans un tube en verre brun fermé hermétiquement pour les préserver de l'air et de la lumière.

2.1.3. Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR., (1986), le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$\text{RHE} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE: Rendement en HE en %.

M': Masse d'HE en gramme.

M: Masse de la plante en gramme.

2.2. Préparation de l'extrait méthanolique de *Citrus limon* L.

Nous avons séchés les échantillons en été étalées dans une chambre aérée. Lorsque les feuilles sont complètement sèches, nous avons séparé les feuilles de *C. limon* L. des tiges.

Nous avons éliminé aussi les feuilles qui portent des signes d'attaques par les ravageurs ou les microorganismes, et nous avons initialement coupé les feuilles en petits morceaux. Le broyat des feuilles constitue le matériel végétal final que nous avons utilisé pour la préparation des extraits aqueux.

Les feuilles de *C. limon* L. (30g) est mise à macérer pendant 24h à température ambiante, dans un mélange méthanol- eau (80/20, V/V), le tout par la suite est filtré sur papier filtre. Nous avons utilisés l'appareil rotavapeur pour éliminés le solvant.



Photo03 : L'appareil de rotavapeur.

3. Analyses chromatographiques

3.1. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases. La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (Antonot, 1998).

3.1.1. Méthode

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques de silice déposées sur feuille d'aluminium ce qui constitue la phase stationnaire. Sur les plaques préparées, on dépose une petite goutte de chaque d'HE diluée et les plaques sont ensuite introduites dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par la phase mobile, qui peut être généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée. Le système de solvant utilisé est:

Système 01: n-Hexane-Dichloro-méthane (4: 0.5, v : v).

Révélation: la visualisation des plaques est faite par la méthode Physiques (sous une lampe UV par la longueur d'onde: 365nm).



Photo 04: L'appareil d'UV.

3.1.2. Calcul du Rapport frontal (Rf)

Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant divisé par la distance parcourue par le solvant.

$$R_f = d / D$$

d: Distance parcourue par le constituant.

D: Distance parcourue par le front du solvant.

4. Pouvoir anti-germinative

4.1. Les graines testées de l'effet anti-germinative

On collecte quelques grains à intérêts économique pour étude l'influence d'HE (tableau 02) et l'extrait méthanolique (tableau 03) de *C. limon* L. (activité anti-germinative).

Tableau 01: les grains économique qui testé par l'HE de *C. limon* L.

l'Espèce	Nom scientifique	La famille
Blé dur waha	<i>Triticum durum</i> L.	Poacées
Blé dur MBB	<i>Triticum durum</i> L.	Poacées
Blé tendre	<i>Triticum aestivum</i> L.	Poacées
L'orge	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Poacées
L'avoine	<i>Avena sterilis</i> L.	Poacées
Carotte	<i>Daucus carota</i> L.	Apiacées
Piment	<i>Capsicum annuum</i> L.	Solanacées
Aricot	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fabacées
Lentille	<i>Lens culinaris</i> L.	Fabacées
Salade	<i>Lactuca sativa</i> L.	Astéracées
L'Oignon	<i>Allium cepa</i> L.	Liliacées

Tableau 02: les grains économique qui testé par l'EM de *C. limon* L.

l'Espèce	Nom scientifique	La famille
Blé tendre	<i>Triticum aestivum</i> L.	Poacées
L'orge	<i>Hordeum vulgare</i> L.	Poacées

4.2. Comment préparer les trois concentrations des substances bioactive ?

➤ L'huile essentielle

Nous avons préparés les concentrations d'HE dans l'hôte à la température ambiante de laboratoire

- première concentration (C₁)100%: nous avons utilisés l'HE nette;
- deuxième concentration (C₂)50%: la même quantité d'HE et d'éther;

- troisième concentration (C₃) 25%: une quantité d'HE et la double d'éther.

➤ **L'extrait méthanolique**

Nous avons préparés les concentrations à la température de laboratoire

- première concentration (C₁) 100%: nous avons utilisés l'EM nette;
- deuxième concentration (C₂) 50%: la même quantité d'EM et l'eau distillée;
- troisième concentration (C₃) 25%: une quantité d'EM et la double d'eau distillée.

4.3. Les tests de germination

Nous stérilisons le paillasse avec Pic benzène et l'eau de javel, et utilisons des boites de pétri en plastique stérile pour chaque ESP adventice, on pose dans chaque boite un disque de papier filtre standard d'un diamètre égale à celui de ces boites. Chaque boite de pétri apporte une étiquette à leur couverture.

4.4. Les tests préliminaires de germination

Toutes les graines des espèces adventices récoltées sont soumises à ces testes, pour obtenir des taux maximums de germination avec température ambiante de laboratoire.

Nous avons employé 4 boites de Pétri pour chaque ESP:

- **1^{er} boite:** disque de papier filtre + 10grains +5ml d'eau distillé (témoin);
- **2^{ème} boite:** disque de papier filtre + 10grains + 5ml d'eau distillé + 1ml d'HE /d'EM (C₁);
- **3^{ème} boite:** disque de papier filtre + 10grains + 5ml d'eau distillé + 1ml d'HE /d'EM (C₂);
- **4^{ème} boite:** disque de papier filtre + 10grains +5ml d'eau distillé +1ml d'HE/d'EM (C₃).

Suivie la germination des grains chaque jour à la même heure avec ajoutassions 5ml d'eau distillé et 1ml d'EM /d'HE, et note toutes les grains qui germent (l'apparaître la partie racinaire et aérienne).

Après 8 jour nos avons remarque aussi que les parties racinaire et aérienne de certaines plantules puis mesuré les longueurs. Selon Malcolm *et al.*, (2003) la vitesse et la durée de germination des graines ne changent pas significativement à des températures ambiantes (de 15 à 25 °C). Toutefois, à 10 °C les graines à une germination lente.

Pour les grains qui présentent un taux de germination inférieur 50%, il y a influence des grains est germent en faible par rapport le témoin comme: d'*Avena sterilis* L.

4.5. Les tests finaux de germination

Afin d'évaluer le pouvoir allélopathique d'extrait de plante *C. limon* L., nous avons employé 4 boîtes de pétri de chaque ESP.

- pour le témoin, nous avons utilisé une seule boîte de pétri (3 répétitions) pour l'eau distillée;
- pour trois concentrations des HE_s de *C. limon* L., on utilise 3 boîtes de pétri (3 répétitions de chaque concentration), la même pour l'EM.

A l'aide d'une pipette graduée nous avons introduit au départ 5 ml de l'eau distillée considéré dans chaque boîtes de Pétri testé et le témoin (nous utilisons des poids de trois concentration pour l'huile en les bouchons qui couvrent de papier d'aluminium). Dans chaque boîte de Pétri nous avons déposé 10 graines (Photo 05). Les boîtes sont recouvertes immédiatement. Nous avons choisie des graines saines (sans anomalies) et qui ont presque la même taille.

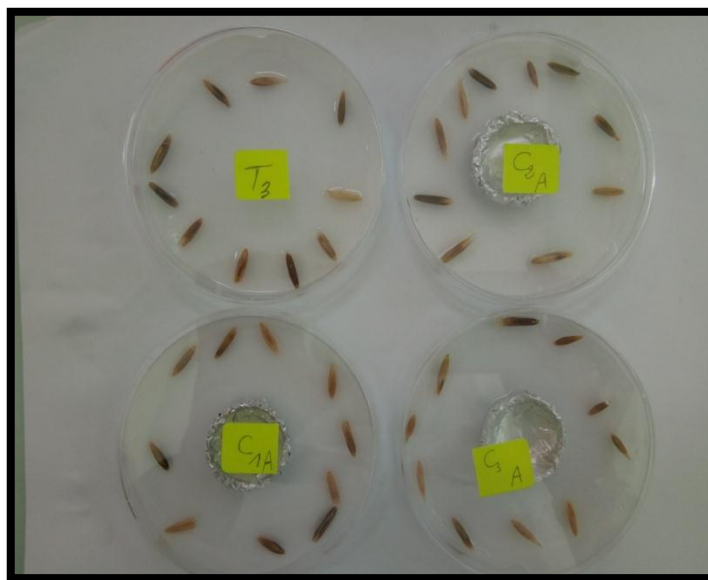


Photo 05: Teste de germination d'*Avena sterilis* L. avec trois concentrations d'HE de *C. limon* L.

4.6. Suivre de germination et notation

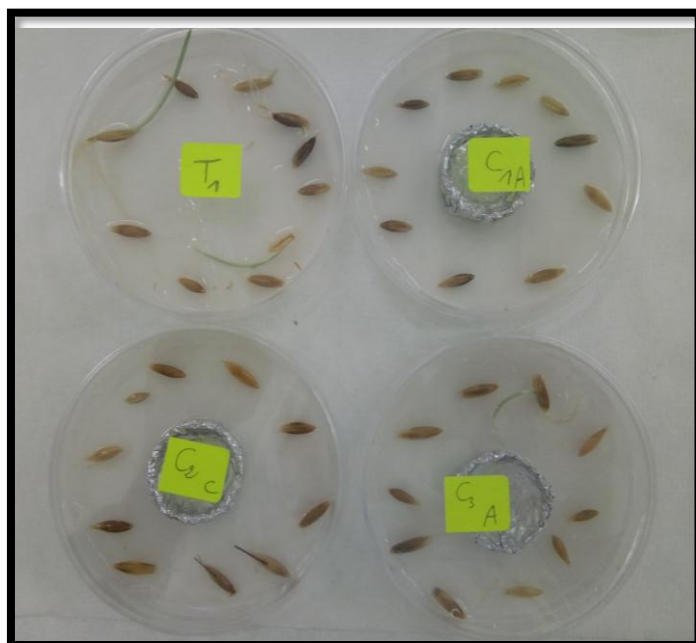


Photo 06: Teste de germination de *Hordeum vulgare* L. avec HE de *C. limon* L.

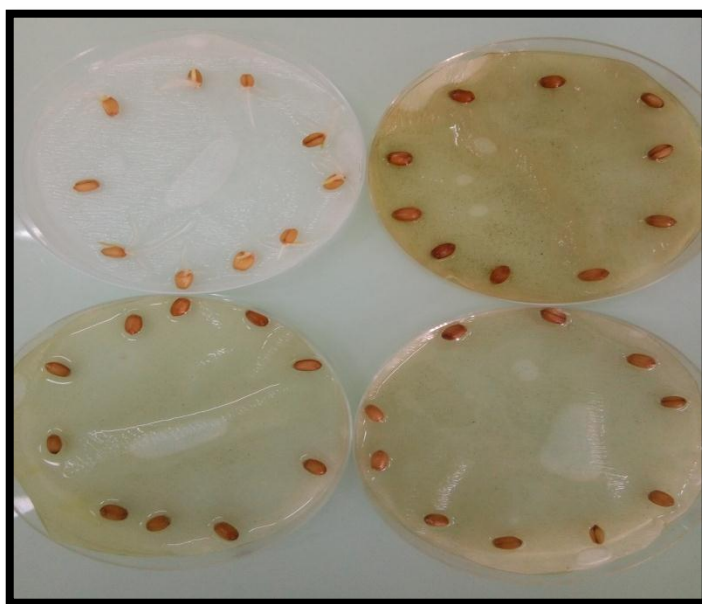


Photo 07: Teste de germination de *Triticum aestivum* L. avec EM de *C. limon* L.

4.7. Mesures des longueurs des racines et des parties aériennes

Après avoir déterminé le nombre des graines qui ont germés dans chaque boîte, nous avons mesuré les longueurs de la partie racinaire (LR) et la partie aérienne (LPA). La plus longue des racines primaires alors qu'elle représente la longueur de la radicule ou la longueur de la racine principale des dicotylédones. La LPA correspond la première feuille. La LPA correspond pour les espèces dicotylédones à la longueur de la tigelle ou la tigelle plus les feuilles dicotylédonnaires ou encore la tigelle plus les premières feuilles.

4.8. Détermination des pourcentages de germination

Le pourcentage de germination des graines pour chaque boîte de Pétri est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{PG \%} = \text{nombre des graines qui ont germé} \times 100 / 10$$

Pour comparer les effets des trois espèces allélopathiques sur chaque espèce, nous avons convertie les pourcentages de germination et les mesures des LR et LPA en pourcentages d'inhibition. Les conversions sont effectuées selon la formule utilisée par (Benmeddour, 2009):

$$\% \text{ I} = [(\text{Témoin} - \text{Extrait}) / \text{Témoin}] \times 100$$

% I: le pourcentage d'inhibition par rapport au témoin.

Témoin: la moyenne des 4 répétitions du témoin.

Extrait: le pourcentage de germination ou la longueur de la LR ou la LPA de chaque boîte traitée par l'extrait aqueux. (Ou de chaque boîte traitée par l'HE).

Le % I de chaque variable (la germination, la longueur de la racine et la longueur de la partie aérienne) est calculé séparément, tel que:

% IG: Le pourcentage d'inhibition de germination (G).

% ILR: Le pourcentage d'inhibitions de la longueur de la racine (LR).

% ILPA: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de la partie aérienne (LPA).

Chapitre II:

Résultat et discussion

1. Résultats

1.1. Rendement des huiles essentielles

La première quantification à faire est celle du rendement en l'HE obtenue par la technique d'hydrodistillation. Ce rendement est calculé à partir du poids de l'HE par rapport au poids de la masse végétale utilisée dans l'hydrodistillation, soit:

$$\text{RHE} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE: Rendement en HE en %.

M': Masse d'HE en gramme.

M:Masse de la plante en gramme.

Pour le *C. limon* L.

- **Les Feuilles**

Le poids de matière végétale 150g, et le poids d'HE après l'extraction par l'hydrodistillation 0.4493 g.

$$\text{R\%} = 0.4493 / 150 \times 100 = 0.30 \%$$

- **Les écorces**

Le poids de matière végétale sec 150g, et le poids d'HE après l'extraction par l'hydrodistillation 0.833 g.

$$\text{R\%} = 0.833 / 150 \times 100 = 0,55\%$$

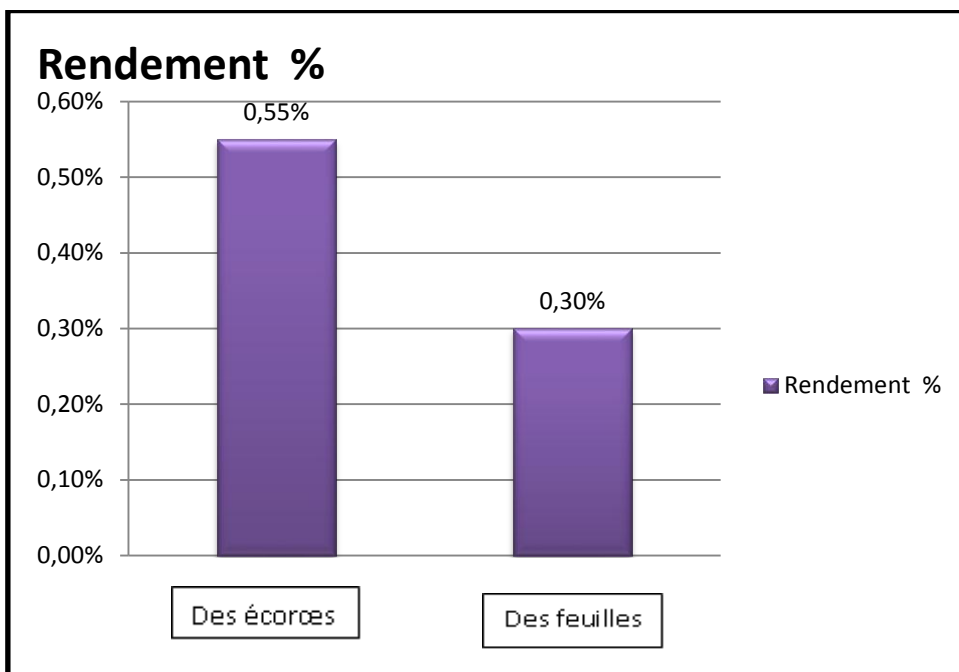


Figure 09: Rendement d'HE obtenue par hydrodistillation des feuilles et des écorces de la plante *C. limon L.*

1.2. Analyse chromatographique

1.2.1. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM)

Nous avons réalisés CCM (système 01) de l'extrait des feuilles et des écorces de la plante *C. limon* L. ont permis d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots. Nous avons observés avec l'appareil d'UV (à 366nm) deux taches (deux compositions c_1 , c_2) pour les deux extraits.

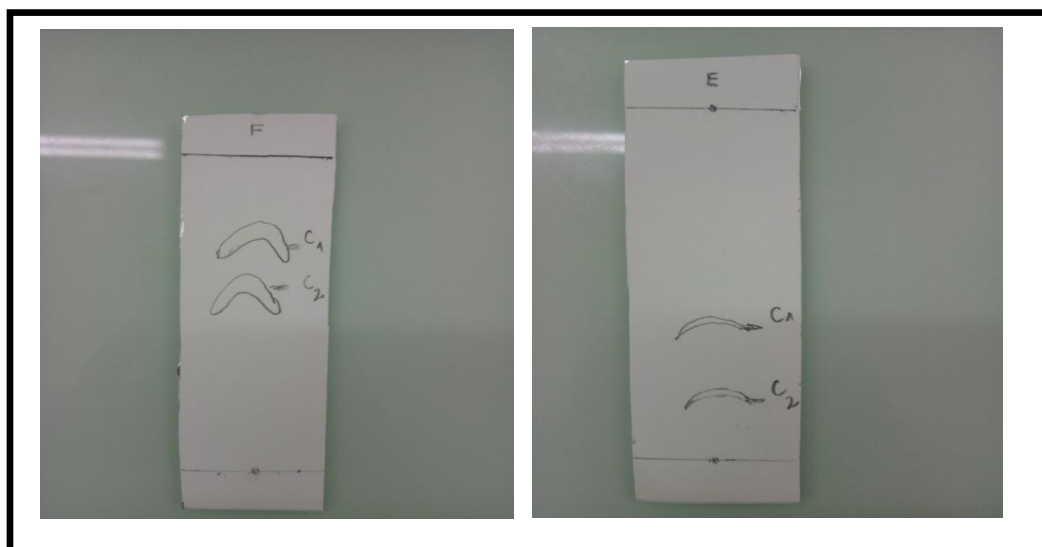


Photo 08: les plaques de CCM sans l'UV d'HE des feuilles (F) et des écorces (E) de

***C. limon* L.**

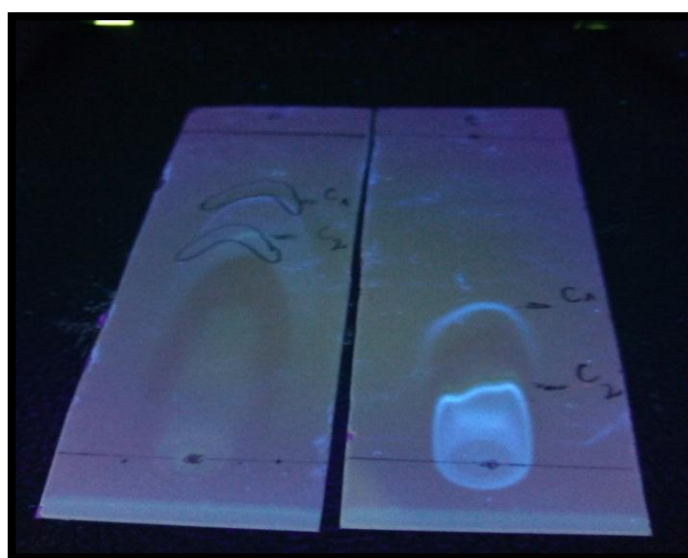


Photo 09: les plaques de CCM avec l'UV d'HE des feuilles (F) et des écorces (E) de

***C. limon* L.**

1.3. Activité antigerminative

1.3.1. Les finaux de germination

Après 8 jours d'incubation, l'expérience est arrêtée et le pourcentage de germination de chaque espèce et dans chaque boîte est déterminée.



Photo 10: Test de germination d'*Avena sterilis* L. (Témoin).



Photo 11: Test de germination d' d'*Avena sterilis* L. avec l'HE de *C. limon* L. (C₁).

1.3.2 Mesures des longueurs des racines et des parties aériennes

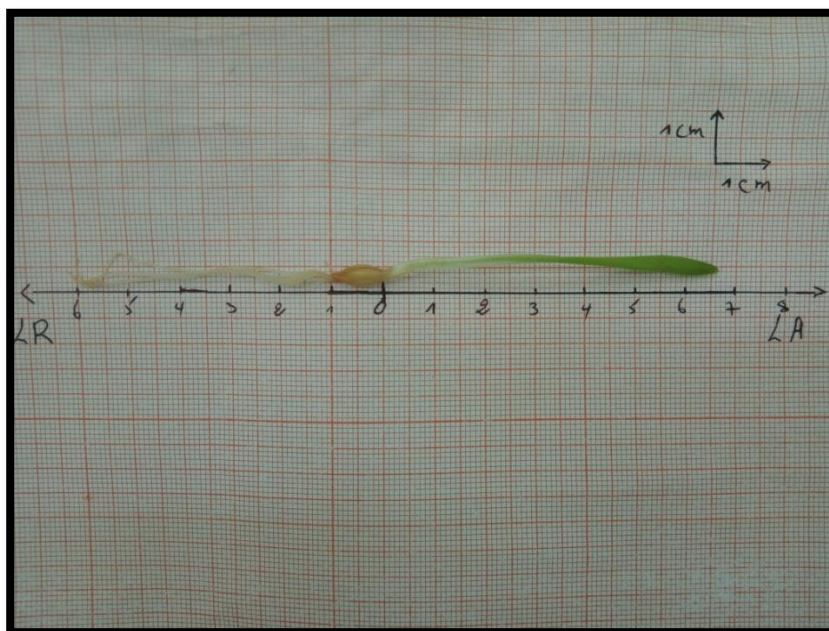


Photo 12: Mesure de la longueur de la racine et la partie aérienne d'une plantule d'*Hordeum vulgare* L.

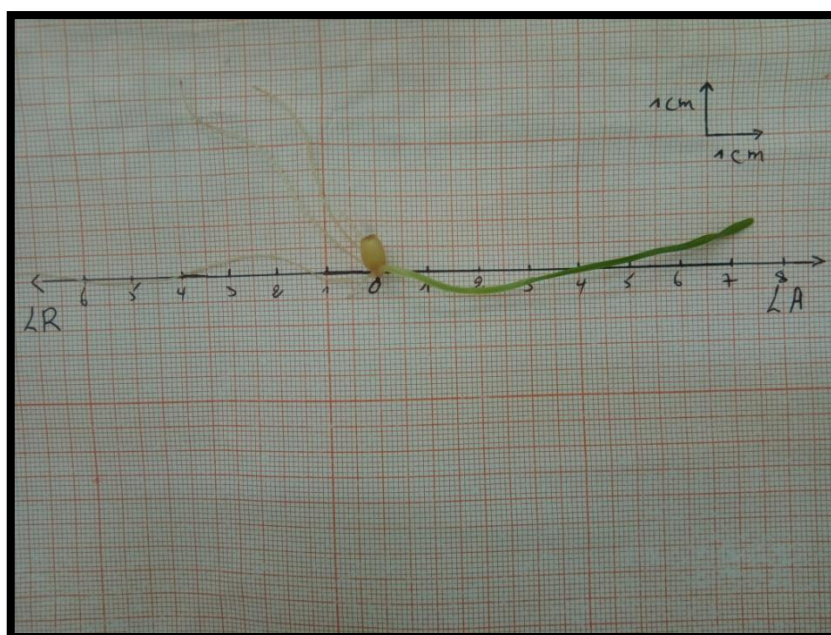


Photo 13: Mesure de la longueur de la racine et la partie aérienne d'une plantule *Triticum aestivum* L.

1.3.3. Détermination des pourcentages de germination

Le Pourcentage de germination exprime le nombre des graines germées par rapport au nombre total des graines semées. Les figures 11; 12; 13 illustrent les variabilités dans le pourcentage de germination des graines de trois plantes testées à différentes concentrations d'HE et d'EM de *C. limon* L. et des graines témoins.

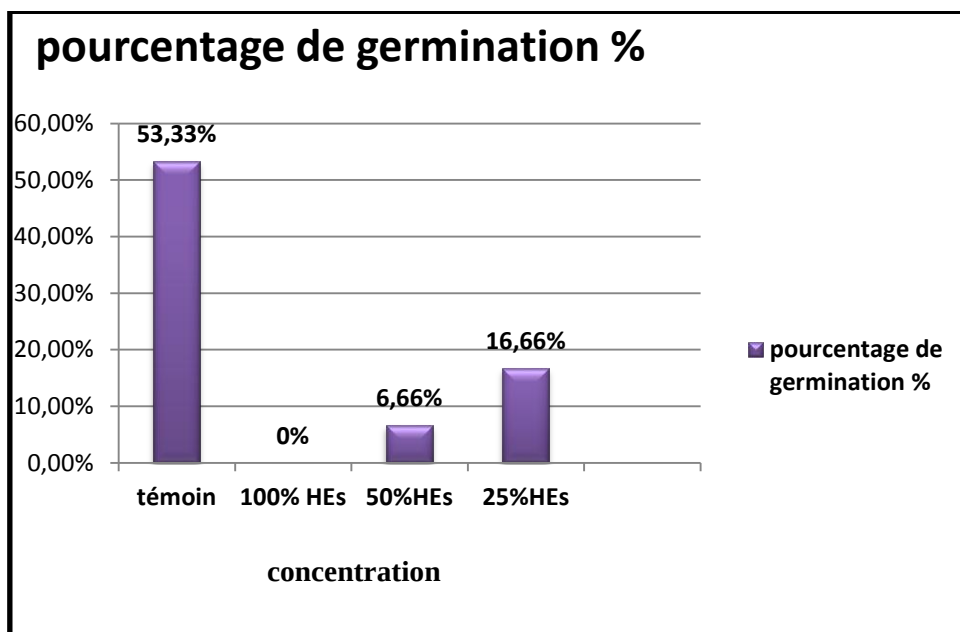


Figure 10: Pourcentage de germination maximal rapporté pour les graines d'*Avena sterilis* L. traités par l'HE de *C. limon* L. à différentes concentrations.

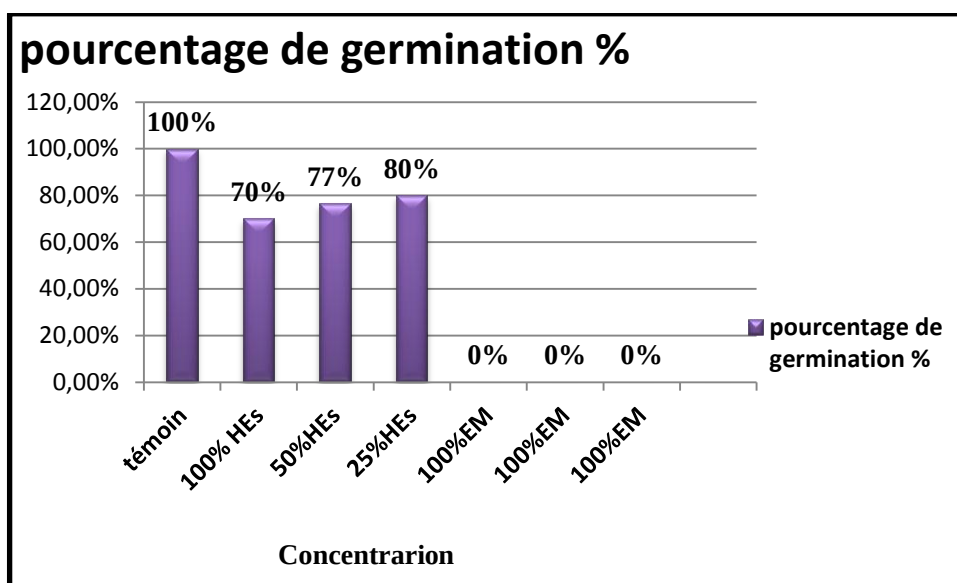


Figure 11: Pourcentage de germination maximal rapporté pour les graines d'*Hordeum vulgare* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

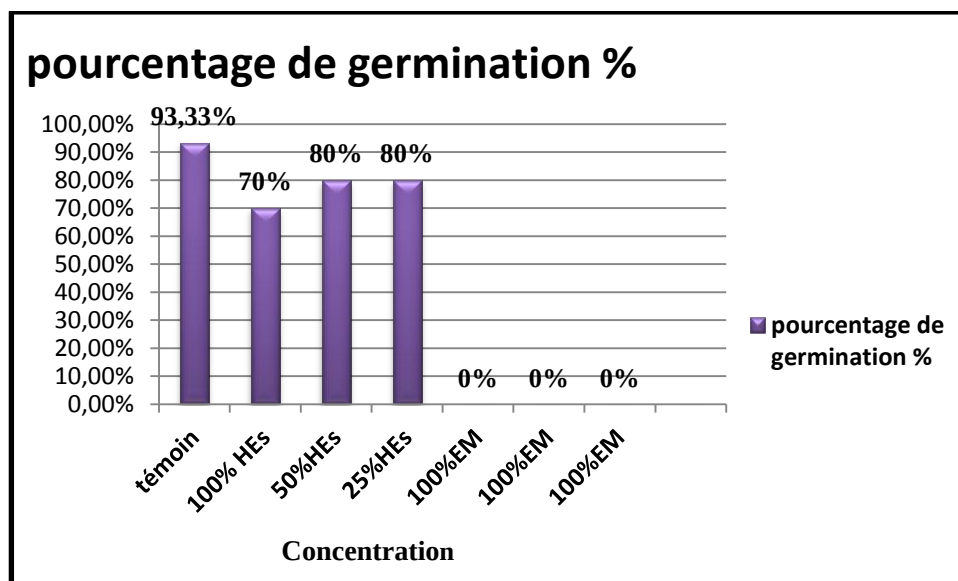


Figure12: Pourcentage de germination rapporté pour les graines de *Triticum aestivum* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

Au vu des résultats des figures 11; 12; 13 il ressort un effet inhibiteur de la germination d'HE de *Citrus limon* L. sur les espèces testées. Au niveau de différentes boîtes traitées par l'HE provoque une diminution du pourcentage de germination des graines à différentes concentration. Pour l'HE le pourcentage de germination est maximum dans la concentration (C3) cela indique que il ya un faible effet inhibitrice sur les graines. Par rapport les concentrations (C1), (C2) est minimum cela indique que il ya un effet inhibitrice important sur les espèces d'*Avena st  rilis* L.; et il ya un faible effet inhibitrice sur les graines de *Triticum aestivum* L., d'*Hordeum vulgare* L.

L'EM de *C. limon* L. présente une forte inhibition du pourcentage de germination de *Triticum aestivum* L., d'*Hordeum vulgare* L. pour les trois concentrations.

1.3.4. Pourcentage d'inhibition de germination

Pourcentage d'inhibition, explique la capacité d'une substance ou préparation à inhiber la germination des graines. Il est évalué en calculant le rapport de nombre de graines témoins moins le nombre de graines testés par rapport au nombre totale des graines témoins. Les figures 14; 15; 16 illustrent les variabilités dans le pourcentage de germination des graines de trois plantes testées à différentes concentrations d'HE et d'EM et des graines témoins.

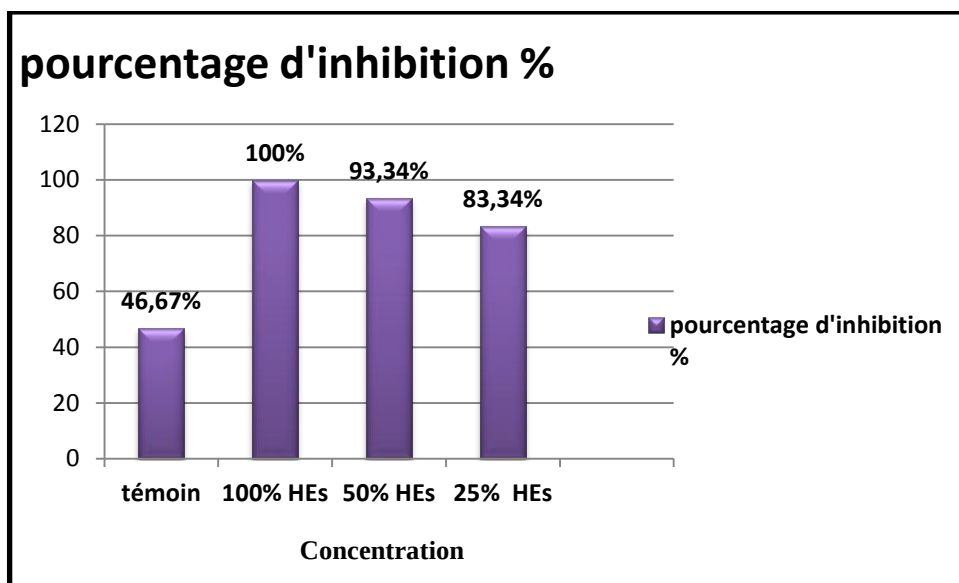


Figure 13: Pourcentage d'inhibition rapporté pour les graines d'*Avena sterilis* L. traités par l'HE à différentes concentrations.

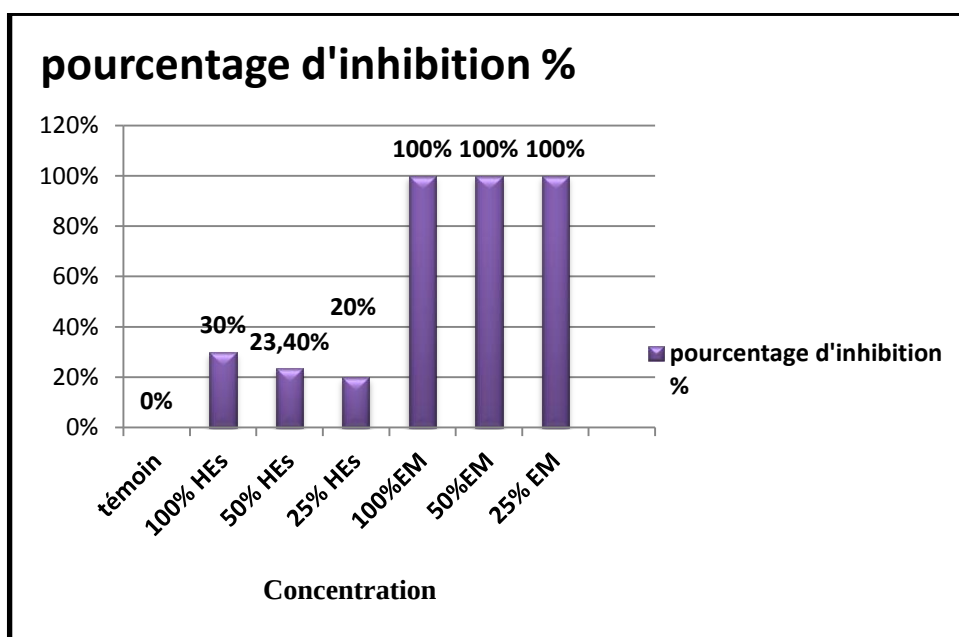


Figure 14: Pourcentage d'inhibition rapporté pour les graines d'*Hordeum vulgare* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

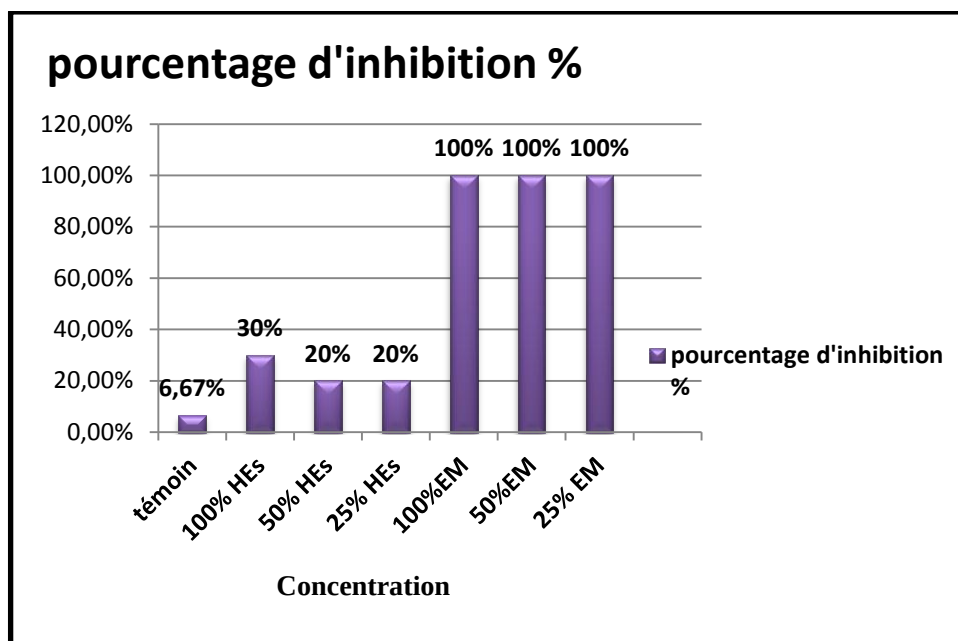


Figure15: Pourcentage d'inhibition rapporté pour les graines de *Triticum aestivum* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

Il est noté un pourcentage d'inhibition 100 % pour les graines d'*Avena sterilis* traitées par l'HE à concentration (C_1), Pour les concentrations (C_2 ; C_3) d'HES est presque la même chose.

Le pourcentage d'inhibition pour les graines *Triticum aestivum* L.; d'*Hordeum vulgare* L. traités par l'HE est faible effet.

L'EM de *C. limon* L. présente un pourcentage d'inhibition 100% de *Triticum aestivum* L.; d'*Hordeum vulgare* L. pour les trois concentrations.

1.3.5. Pourcentage d'inhibition de longueur des racines (LR)

Le pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) explique la capacité d'une substance ou préparation à inhiber la croissance de longueur des racines (LR). Il est évalué en calculant le rapport de la moyenne de la longueur des racines (LR) témoins moins la moyenne de la longueur des racines (LR) testés par rapport à la moyenne de la longueur des racines (LR) témoins. Les figures 17; 18; 19 illustrent les variabilités dans le pourcentage d'inhibition des LR des plantes testées au niveau de différentes boîtes traitées par d'HE et d'EM.

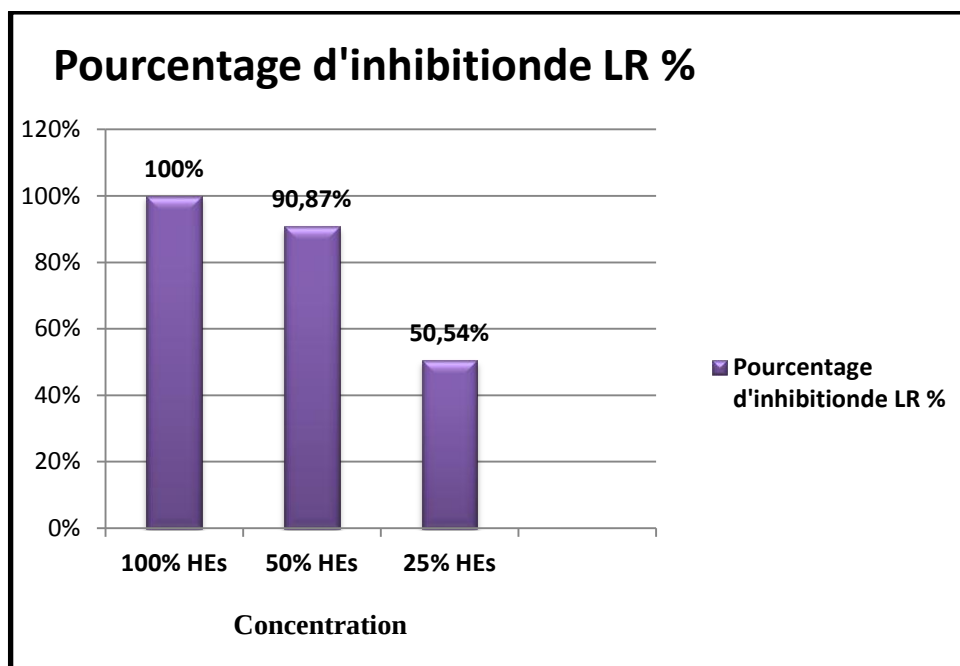


Figure 16: Pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) maximal rapporté pour les graines d'*Avena sterilis* L. traités par l'HE à différentes concentrations.

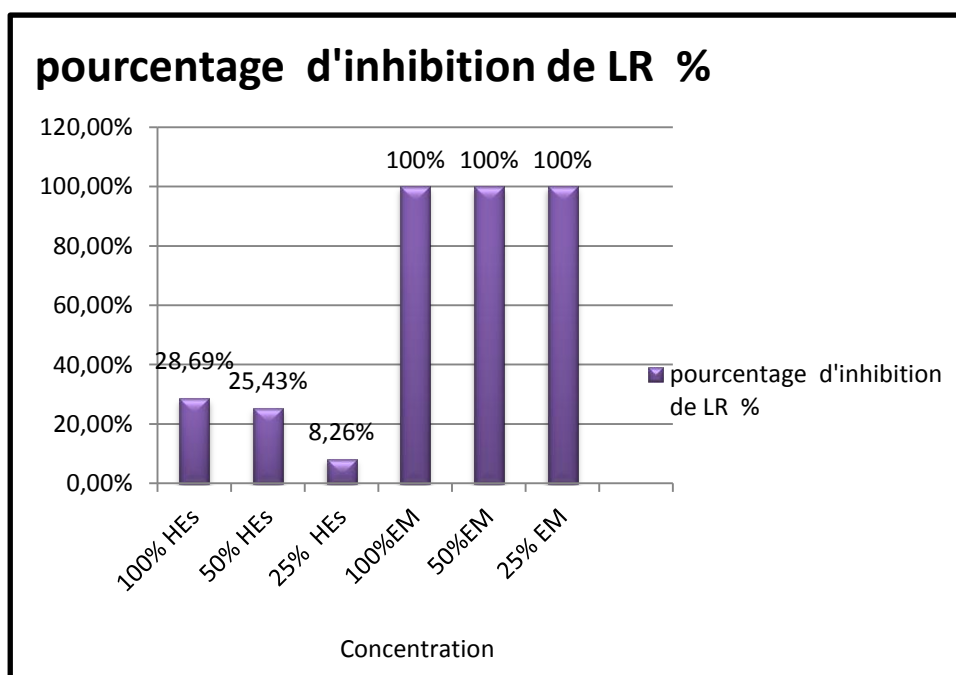


Figure 17: Pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) maximal rapporté pour les graines d'*Hordeum vulgare* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

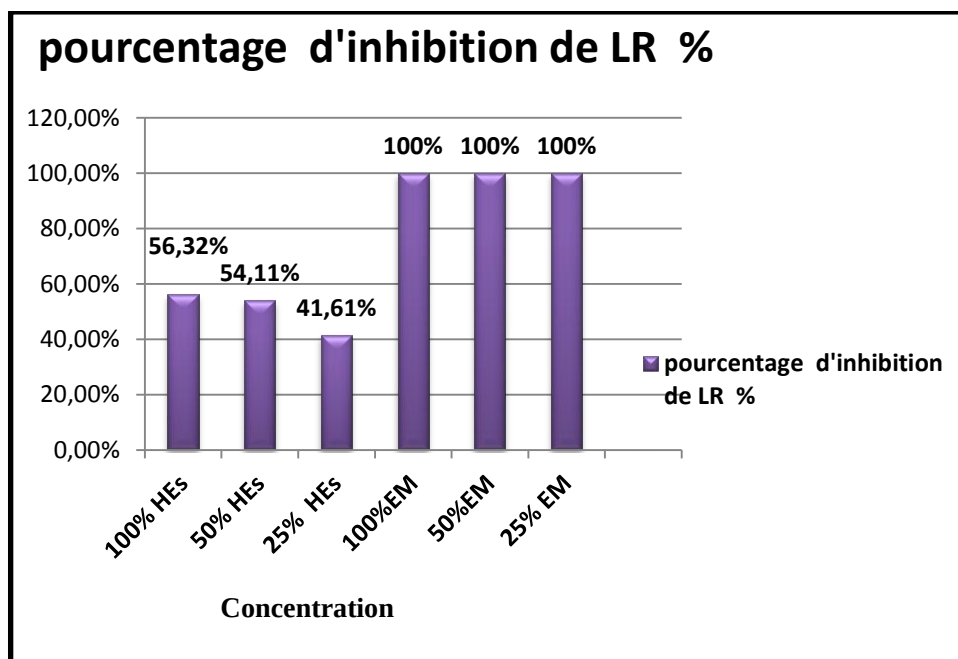


Figure 18: Pourcentage d'inhibition de la longueur des racines (LR) maximal rapporté pour les graines de *Triticum aestivum* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

Les concentrations C_1 ; C_2 d'HE présentent une forte inhibition de la croissance de la longueur des racines (RL) des grains d'*Avena sterilis* et faible inhibition pour C_3 .

On remarque aussi pour les grains de *Triticum aestivum* L. d'*Hordeum vulgare* L. faible effet inhibiteur des concentrations (C_1 ; C_2 ; et C_3) d'HE, et pour l'EM de *C. limon* L. présente un pourcentage d'inhibition de la croissance de la longueur des racines (LR) 100% pour les trois concentrations.

1.3.6. Pourcentage d'inhibition de longueur de partie aérienne (LPA)

Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) explique la capacité d'une substance ou préparation à inhiber la croissance de longueur de partie aérienne (LPA). Il est évalué en calculant le rapport de la moyenne de la longueur de partie aérienne (LPA) témoins moins la moyenne de la longueur de partie aérienne (LPA) testés par rapport au moyenne de la longueur de partie aérienne (LPA) témoins. Les figures 20; 21; 22 illustrent les variabilités dans le pourcentage d'inhibition des LR des plantes testées au niveau des différentes boîtes traitées par d'HE et d'EM.

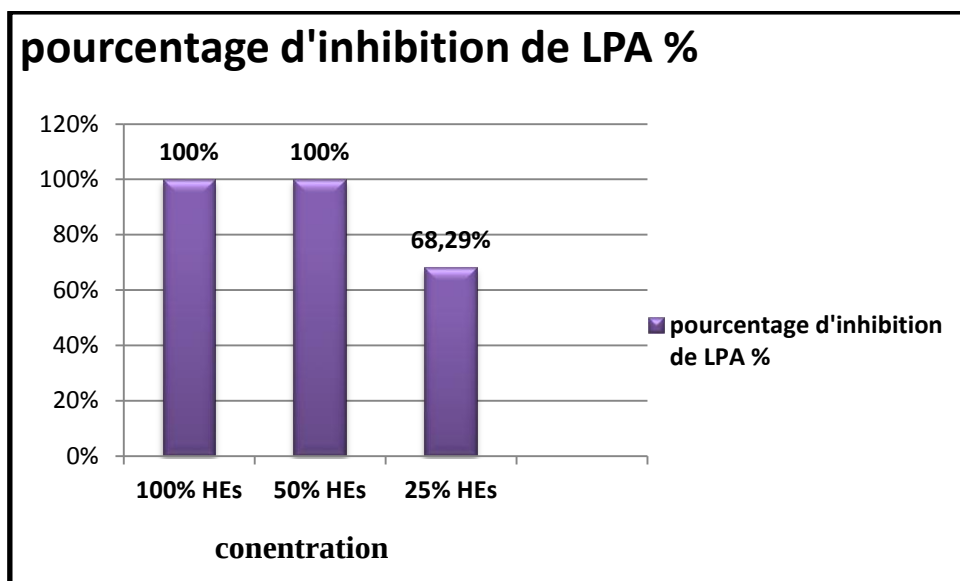


Figure 19: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) maximal rapporté pour les graines d'*Avena sterilis* L. traités par l'HE à différentes concentrations.

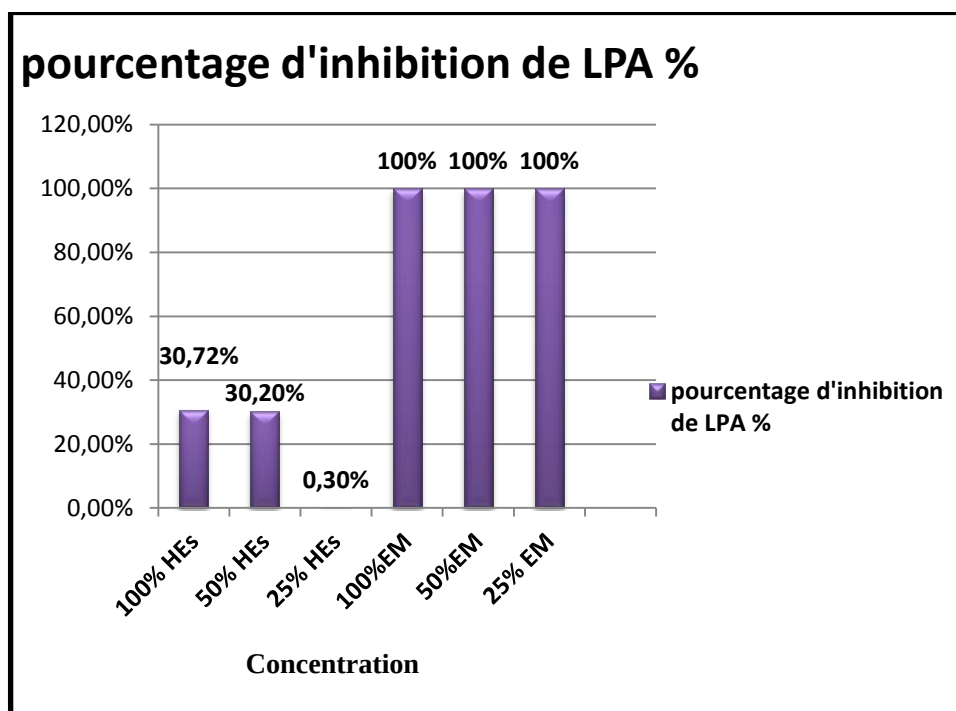


Figure 20: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) maximal rapporté pour les graines d'*Hordeum vulgare* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

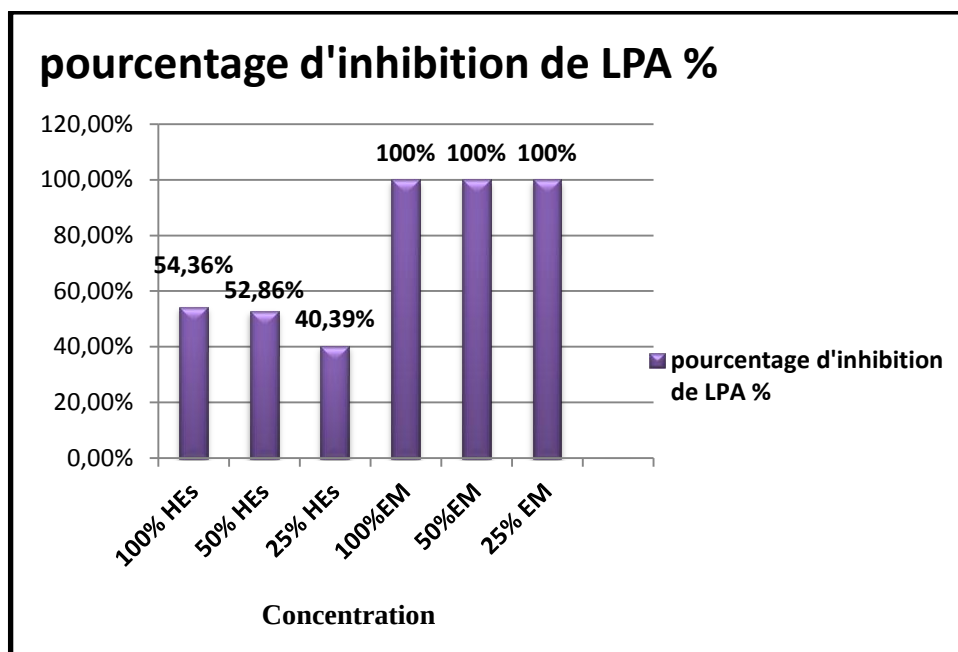


Figure 21: Le pourcentage d'inhibition de la longueur de partie aérienne (LPA) maximal rapporté pour les graines de *Triticum aestivum* L. traités par l'HE et l'EM à différentes concentrations.

L'HE présente une forte inhibition de la croissance de la longueur de partie aérienne (LPA) d'espèce d'*Avena sterilis* L. testées à les concentrations C_1 ; C_2 et presque à la même pour C_3 .

On remarque pour les grains de *Triticum aestivum* L.; d' *Hordeum vulgare* L. une inhibition de concentration C_1 ; C_2 et faible inhibition pour la concentration C_3 , et pour l'EM de *C. limon* L. présente un pourcentage d'inhibition de la croissance de la longueur de la partie aérienne (LPA) 100% pour les trois concentrations.

Dans ce qui suit, nous allons discuter les résultats obtenus relatifs aux pourcentages de la germination des graines des quelques espèces économique des différents lots témoins et traités par l'HE et l'EM de *C. limon* L.

Les résultats de ces travaux nous avons permit d'affirmer la concentration 100% et 50% d'HE, inhibe totalement la germination d'*Avena sterilis* L., et 25% une inhibition partielle a été enregistrée, et les trois concentrations(100%; 50%; 25%), faible inhibition de germination des grains des espèces *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L., les trois concentrations de l'EM inhibe totalement la germination des grains des céréales (*Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.), par contre les HE_s des familles Apiacées et lamiacées.

L'étude Bentayeb et Boudiaf, (2017), l'effet allélopathique des huiles essentielles des plantes médicinales d'*Eucalyptus globulus* et la plante de *Mentha spicata* L. sur la germination de quelques espèces d'intérêt économiques: une variété de blé dur (*Triticum durum* L.), l'orge (*Hordeum vulgare* L.), et l'avoine (*Avena sterilis* L.). Les résultats ont montré que les HEs d'*Eucalyptus globulus* L. et de *Mentha spicata* L. ont un effet inhibiteur sur la germination de la coléoptile et de radicule des espèces testé pour les différentes concentrations (C 1, C 2, C 3, et C 4) étudiées.

L'extrait méthanolique de *Ferula communis* L. ont la possibilité d'empêcher la germination des graines et la croissance des plantules de trois espèces (*Triticum durum* L., *Hordeum vulgare* L., *Lactuca sativa* L.). Dans le cas d'HE de *Ferula communis* L. une inhibition partielle de la germination de *Hordeum vulgare* se produit avec la concentration 50mg. Et aucun effet inhibiteur sur la germination de *Lactuca sativa* L. à la concentration 20mg (Aliarioua et Zard, 2016).

Le phénomène de l'allélopathie est l'interférence chimique d'une ou plusieurs substances d'une espèce végétale avec la germination, la croissance ou le développement d'autres espèces de plantes. L'allélopathie couvre à la fois des effets d'inhibition et de stimulation. Les substances chimiques synthétisées par les plantes allélopathiques et qui sont impliquées dans ce phénomène sont appelées allélochimiques. Lorsque des plantes sensibles sont exposées aux allélochimiques, la germination, la croissance et le développement peuvent être affectés. Toutefois, l'allélopathie ne se manifeste que lorsqu'une quantité suffisante des substances allélopathiques atteint la graine cible, c'est un effet concentration-dépendant. L'activité d'extrait bioactive des feuilles et les écorces de *C. limon* L. sur la germination très faible et retard se produit avec les concentrations C₁; C₂; C₃ par rapport aux graines des lots témoins.

Les taux d'inhibition de la germination des graines de l'espèce adventice et de la céréale par les extraits des plantes Saharienne, suggèrent l'action très sélective des substances extraites par ces plantes. En outre, il existe deux catégories de composés secondaires des plantes: les composés à valeurs quantitatives agissant selon leurs concentrations, on cite les tannins et des composés ayant une activité spécifique à des concentrations relativement faibles. Ces substances ont un effet phytotoxique (Feeny, 1975).

L'effet des extraits apparait sous la forme d'une inhibition dans la majorité des tests que nous avons réalisés. Quelques fois, la réponse de quelques espèces (adventices ou variétés de blé) à l'effet des extraits est différente. Nous avons remarqué une stimulation de la germination et du développement des plantules. Les effets positifs des plantes sur d'autres selon Rice, (1984) sont aussi des effets allélopathiques. D'après nos résultats et selon Mergheme, (1982) in Akroum, (2011), le screening phytochimique réalisé dans notre travail confirme la richesse de *C. limon* L. en flavonoïdes et aussi leur présence sous différentes formes: Flavones, flavonols, qui pouvait être sous forme aglycone, monoglycolysée, bi et triglycolysée.

De ce fait, la capacité d'inhiber la germination des graines, est un processus complexe, plusieurs hypothèses peuvent être posées dont la capacité de certaines molécules qui se trouve dans les extraits à inhiber l'action de l'enzyme amylase ou bien d'occuper leurs sites membranaires, ou bien à l'action mimétique ou antagoniste de ces molécules vis-à-vis des hormones de croissances ou à l'inhibition de leurs actions tissulaire. Certains métabolites secondaires végétales influent la germination ou la croissance des plantes par des mécanismes multiples (Feeny, 1976).

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le choix de la période de récolte, le climat la zone géographique, la génétique de la plante l'organe de la plante utilisé et les degrés de fraîcheur. Ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur le rendement en HE (Vekiari *et al.*, 2002).

L'analyse de la composition chimique des six extraits nous a permis d'identifier au total 76 composés. L'analyse montre que les monoterpènes représentent de loin les composés majeurs de ces huiles essentielles avec des teneurs comprises entre (89,8 et 99,08) %. Le limonène est en général le composé le plus abondant avec des teneurs variant de (23,54 à 86,6%) (Pierre *et al.*, 2000).

Toujours dans le même sens, les auteurs comme (Belletti *et al.* 2004; Rehman *et al.*, 2004) ont démontré que, généralement les HE de *C. limon* L. sont constituées principalement de composés monoterpéniques (avec un pourcentage de 97%). Alors que les autres composés comme Les alcools, les aldéhydes et les esters ne sont représentés que sous forme de trace (avec des teneurs faibles allant de 1,8 à 2,2%).

Généralement. Les phénomènes de régulation de la croissance chez les végétaux supérieurs dont la germination, la croissance racinaire et caulinaires. Sont assurés par les phytohormones.

Les phytohormones, comme toutes les substances oligodynamiques, n'exercent une action positive que dans une certaine gamme de doses, dites doses physiologiques, donc, lorsqu'il s'agit de substance soluble dans une certaine gamme de concentrations, cette gamme varie selon les hormones mais elle est toujours très large, avec entre les seuils d'efficacité et de la toxicité (Heller *et al.*, 2000).

Il est admis que les substances de croissance végétale dont les auxines sont synthétisées dans les apex caulinaires et racinaires et transportées dans l'axe du pousse.

L'allongement des racines est particulièrement sensible à l'auxine (AIA); qui à des très faibles concentrations, provoque la croissance des racines excisées ou intactes, et à des concentrations plus élevées, ils stimulent l'allongement des tiges et en inhibant fortement la croissance des racines (Hopkins, 2003). Les substances allélopathiques agissent sur:

- La division cellulaire: la coumarine inhibe la mitose dans les racines;
- La croissance et synthèse: les composés phénoliques ont une action sur la régulation des hormones de croissance;
- La photosynthèse et respiration: la scopolétine réduit la photosynthèse chez le tournesol et le tabac par fermeture des stomates;
- La perméabilité membranaire: les composés phénoliques accroissent le flux de potassium hors des tissus racinaires;
- L'absorption minérale: l'acide férulique inhibe l'absorption de potassium par les plantes (confusion avec les effets de la compétition).

Un autre composé phénolique, la catéchine inhibe la germination et la croissance de diverses plantes (Raïssac *et al.*, 1998).

Conclusion

Conclusion

Le citronnier est un petit arbre épineux à feuilles persistantes, atteignant 3 à 6 m de hauteur, à cime étalée et peu dense, au feuillage vert clair. Les feuilles composées, unifoliolées, alternées, de formes variables, lancéolées et elliptiques, à bord denticulé, de taille très variable de 5 à 10 cm. Les fleurs sont blanches et odorantes (Clement, 1981). Le fruit est de forme ovale, avec un mamelon plus ou moins apparent à leur extrémité. La peau fine est colorée en jaune à maturité du fruit; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences. La pulpe, de coloration jaune ou verdâtre, est généralement riche en acide citrique, ce qu'il lui donne sa saveur acide (Blancke, 2001).

Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste des plantes économiquement importantes. Elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies. Outre leur utilisation comme remèdes directs, on les emploie aussi dans les industries pharmaceutique, alimentaire, les cosmétiques et les parfums.

Mon travail de mémoire s'est inscrit dans le cadre des travaux de recherche menés par deux laboratoires, le laboratoire de biochimie et le laboratoire de biodiversité et physiologie végétales appliquées aux plantes aromatiques et médicinales (*C. limon* L.). Le premier laboratoire dirige ces efforts pour l'extraction des HE_s, et deuxième laboratoire l'évaluation des activités biologiques (activité allélopathique) des produits naturels, et l'analyse chromatographie sur couche mince (CCM) d'essence HE_s de citronnier.

L'objectif de mon travail a été d'étudier la composition chimique et activité anti germinatif d'HE, d'EM de plante *C. limon* L. sur les grains des espèces à intérêt économique. Rentabilité L'extraction par hydrodistillation de type Clevenger des HE_s de *C. limon* L., a donné des rendements respectifs de 0.30 % des feuilles et 0.55 % des écorces.

Nous avons utilisés les HE_s et les EM_s pour activité anti-germinatif sont appliqués à différentes concentrations (C₁; C₂; C₃). L'étude de l'action de des HE_s et EM_s a fait ressortir leur action sur le pourcentage de germination, le pourcentage de d'inhibition et leur action sur le développement et la croissance des graines (longueur des racines (LR), et longueur partie aérienne(LPA)), des différences dans les pourcentages d'inhibition de la germination des graines traitées par les HE_s et les EM_s à différentes concentrations.

Les plantes et les arbres d'ornement se distinguent des plantes destinées à une production économique, qui sont l'objet de l'agriculture ou de la sylviculture. Ce ne l'empêche pas toutefois qu'une espèce particulière puisse être à la fois l'objet d'une culture économique et appréciée dans un jardin pour ses qualités ornementales. Alors, notre plante *C. limon* L. a un feuillage riche en flavonoïdes et ces derniers ont des vertus thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires. Alors Pourquoi n'envisagerons pas une culture du *C. limon* L. à des fins économiques aussi.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abid L., (2008). Recherche des activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Schinus molle* L. et *Pistacia vera* L. de la région de Tlemcen. Thèse Magister. Univ. Tlemcen, p. 115.

Aburjai T., Natsheh F., (2003). Plants used in cosmetics. *Pytother. Res*, pp. 17, 987-1000.

Adjdjir et Bensnoussi, (2009). Bilan d'une Agrumeraie, cas de la ferme pilote Moussadek Abdelkader (Remchi Wilaya de Tlemcen). Mémoire d'ingénieur, Univ.Tlemcen, p. 81.

AFNOR. (Association Française de Normalisation), (1982). Recueil des normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR, p. 325.

AFNOR., (1986). Recueil des normes françaises "huiles essentielles". AFNOR, Paris, p. 57.

AFNOR., (2000). Recueil des normes françaises "huiles essentielles": Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris.

Ali Arioua A., Zard A., (2016). Pouvoir allélopathique et biologie de *Ferula communis* L.: L'huile essentielle et l'extrait méthanolique. Thèse Magister. Univ. M'sila, p. 65.

Anonyme, (2013). Production des agrumes: Comment augmenter le rendement ?

Antonot E., Marchal R., (1998). Chromatographie. Stage MAFPEN., p. 1.

Anton R., Lobstein A., (2005). Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris.

Atik B., Bousmaha L., Taleb Bendiab S., Boti J. B., Casanova J., (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie et santé*, 7 (1), p. 5-10.

B

Bachelot C., Blaise A., Corbel T., et Leguernic A., (2005). Les huiles essentielles. Licence en biologie, U.C.O Bretagne Nord, p. 27.

Balz R., (1986). Les huiles essentielles et comment les utiliser. Ed. Rodolphe Balz, p. 152.

Batish D., Singh H., Kohli R., Kaur S., (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, pp. 256, 2166–2174 .

- Bekhechi CH., Abdelouahid Dj., (2010). Les huiles essentielles. Alger, p. 47.
- Bekhechi C., (2008). Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG, CPG-SM et RMN 13 C et étude de leur pouvoir antibactérien. Thèse Doctorat. Univ. Tlemcen, p. 205.
- Belaïche P., (1979). Traité de phytothérapie et l'aromatothérapie. Tome I: L'aromatogramme. Ed. maloine S., Paris, p. 204.
- Bell E., (1980). The physiological role(s) of secondary (natural) products. In: The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol 7. Secondary plant products. Conn E. E. (Eds.), Academic Press, p. 1-20.
- Benmedour T., (2009). Etude du pouvoir allélopathique de l'Harmel (*Peganum harmala* L.), le laurier rose (*Nerium oleander* L.), et l'ailante (*Ailanthus altissima*) sur la germination de quelques mauvaises herbes des céréales. Thèse de magister, p. 3.
- Boudiaf A., Bentayeb D., (2017). Pouvoir allélopathique et biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* L. et *Mentha spicata* L. Thèse magister. Univ M'sila, p. 55.
- Bertin C., Yang X., Weston L., (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. Plant soil, p. 256, 67.
- Blancke R., (2001). Guide des fruits et légumes tropicaux. Ed : Eugen Ulmer, Paris, p. 288.
- Bouderdara N., (2013). Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L. Thèse doctorat. Univ. Constantine, p. 86.
- Bourguet E., Augé CH., (2008). Les techniques de laboratoire. paris, p. 51.
- Bousbia N., (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse co-tutelle présentée pour obtenir le grade de docteur en sciences. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, p. 128.
- Brueton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Lavoisier, Paris, pp. 370-388, 1120
- Brunteton J., (1999). Huiles essentielles, dans pharmacologie: phytochimie, plantes médicinales , 2 édition. lavoisier, paris, p. 406-466.

Bruneton J., (1993). *Eléments de phytochimie et de pharmacologie*. 2ème Ed. Lavoisier, Paris, p. 405-426.

Bruneton J., (1993). *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales*. 2ème édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, p. 915.

Buchbauer G., Jirovetz L., (1994). Aromatherapy-Use of fragrances and essential oils as medicaments. *Flavour and Fragrance Journal*, pp. 9, 217-222.

Burt S., (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods- A review. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 94, 223–253.

C

Caillet S., Lacroix M., (2007). Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS- Institut Armand- Frappier, Univ. de Laval, Québec, Canada*, p. 89.

Capo M., Courilleau V., Valette C., (1990). *Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques*, p. 204.

Carette A., (2000). *La lavande et son huile essentielle*. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, p. 100.

Ceccherlli P., Curini M., Marcotullio M., Madruzza G., *Journal of Natural Products*, Cirad, (2003). Inhibition de la germination et de la croissance chez les semences de végétaux. Tortuoside, a new natural coumarin glucoside from *Seseli tortuosum*, pp. 53, 1990, 536.

Chavanne P., (2011). *200 remèdes au citron*. Editions First – Grund, Paris, p. 255.

Chegrani-Conan C., (2009). *Les agrumes: citron, orange, pamplemousse... Anagramme.*, Paris: Anagramme.

Clement J., (1981). *Les agrumes*. Librairie Larousse, Paris, p. 3-37.

Coassini L., Delben S., (1998). Phytochemistry, photoactive furocoumarins in two populations of *Seseli elatum*, pp. 27, 1073.

D

Dayan F., Cantrell C., Duke S., (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, pp. 17, 4022-4034.

Débuigine G., Couplan F., (2008). *Petit Larousse des plantes qui guérissent*. Ed : Larousse, Paris, p. 895.

Delabays N., Mermillod G., (2004). Phénomène d'allélopathie premières observations au champ, *Revue Suisse Agric.* n°34, pp. 213-237, 19.

Dethier M., (1996). Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, p. 182.

Dubois C., (2006). Les arbres fruitiers. Ed: Rustica, Paris, p. 127.

E

Edris A., (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: *A review*. *Phytother. Res.*, pp. 21, 308-323.

F

Faucon M., (2015). *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: Fondements & aide à la prescription*. Édition sang de la terre, Paris, p. 39-455.

Feeny P., (1976). *Plant appetency and chemical defense*. Ed. Plenum Press, New York.

Feeny P., (1976). *Plant appetency and chemical defense*. Ed. Plenum Press, New York.

Ferhat M., Meklati B., Chemat F., (2010). *Citrus d'Algérie: les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions*. Ed. Office des publications universitaires, Alger, p. 157.

Ferhate M., Meklati B., Chemat F., (2010). *Citrus d'Algerie les huiles essentielles et leurs procedes des extractions*, p. 48.

Fillatre Y., (2011). *Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem*. Thèse de doctorat. Univ. d'Angers. France, p. 288.

Fukuda K., (2014). *Premier Rapport de l'OMS sur la Résistance aux Antibiotiques: Une Menace Grave d'Ampleur Mondiale*. Organisation Mondiale de la Santé (www.who.int).

G

Gallet C., Pellissier F., (2002). Interactions Allélopathiques en Milieu Forestier, *Revue Forestière Française*, pp. 6, 567-576.

Gil-Izquierdo A., Riquelme M., Porras, I. et Ferreres F., (2004). Effect of the rootstock and interstock grafted in lemon tree (*Citrus limon* (L.) Burm.). On the flavonoid content of lemon juice. *J. Agric. Food Chem*, p. 324–331.

Goetz P., (2014). *Citrus limon* L. Burm. f. (Rutacées) Citronnier. Enseignement de phytothérapie, Paris XIII, F-9017 Bobigny cedex, France, p. 117.

Groppa M., Pirani J., Salatino M., Blanco S., Kallunki J., (2008). Phylogeny of Rutaceae based on two noncoding regions from cpDNA. *Am. J. Bot.*, pp. 95, 985– 1005.

Groupe d'Experts, (2011). Plan Mondial de Maîtrise de la Résistance à l'Artémisinine (GPARC), Résumé d'Orientation. Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

Grysole J., (2005). La commercialisation des huiles essentielles. In: Huile essentielle: de la plante à la commercialisation: Manuel pratique (coordonné par F.-X Garneau., G.J Collin., Université du Québec à Chicoutimi., Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales), Corporation Laseve. Québec, Canada, p. 1-24.

H

Heller R., Esnault R., Claude L., (2000). Physiologie végétale. Dunod, Paris.

Hopkins, (2003). Physiologie végétale. Edition Boeck. Bruxelles, p. 139-280.

Houaoura, (2013). Production des agrumes: Comment augmenté le rendement ?

I

Iserin P., Masson M., Restellini J., Ybert E., Moulard F., (2001). Encyclopédie des plantes médicinales: identification, préparations, soins. 2ème Ed. Larousse-Bordas pour l'édition originale en langue française Paris, p. 335.

Isman M., Miresmailli S., Machial C., (2010). Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, DOI: 10.1007/s11101-010-9170-4.

Isman M., (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, pp. 19, 603-608.

J

Janati S., Beheshti H., Feizy J., Fahim N., (2012). Chemical composition of lemon (*Citrus limon* L.) and peels its considerations as animal food. GIDA, pp. 37, 267-271.

K

Kalembe D., Kunicka A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem, pp. 10, 813-829.

Kossel H., (1891). Über die chemische Zusammensetzung der Zelle. Arch Physiol Physiol Abt, Arch Anat Physiol, p. 181-186.

Kruse M., Strandberg M., Strandberg B., (2000). Ecological Effects of Allelopathic Plants: a Review. NERI Technical Report No. 315. National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark, p. 66.

L

Lahlou M., (2004). Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. Flavour Fragr. J, pp. 19, 159–165.

Loussert, (1989). Les agrumes arboriculture. Ed. Technique agricoles méditerranéennes, Paris, p. 113.

M

Malamy J., Carr J., Klessig D., Raskin L., (1990). Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Science, pp. 250, 1002-1004.

Malcolm P., Holford P., McGlasson W., Newman S., (2003). Temperature and seed weight affect the germination of peach rootstock seeds and the growth of rootstock seedlings. Scientia Horticulturae, p. 247-256.

Mapoli G., (2003). Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). Mémoire d'études approfondies, Université de Congo, p. 58.

Merghache S., Hamza M., Tabti B., (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. Afrique science, 5(1), p. 67 - 81.

Mergheme, (1982). Akroum, (2011). Techniques of flavonoïdes identification, Ed. Academic Press, p. 6-10.

Métreaux J., Signer H., Ryals J., Ward E., Wyss-Benz M., Gaudin J., Rashdorf K., Shmid E., Blum W., Inverardi B., (1990). Increase in salicylic acid at the time of onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, 250, p. 1004-1006.

O

O.M.S., (2014). Résistance aux antimicrobiens, Centre des Médias, Aide-mémoire, p.194. Organisation Mondiale de la Santé (www.who.int).

Ouamb J., (1988). Valorisation chimique des plantes aromatique du congo: extraction et analyse de huiles essentielles. oximation des aldéhydes naturels, thèse de doctorat d'Etat, université de montpelier, p. 340.

P

Pierre M., Jean K., Fabrice F., Daniel D., François D., Paul H.A.Z., Chantal M., Jean M., (2000). Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. *Article original*, p. 97, 99.

Porter N., (2001). Essential oils and their production. *Crop & Food Research*, p. 39.

R

Rai M., Acharya D., Wadegaonkar P., (2003). Plant derived-antimycotics: potential of Acteraceous plants. In: *Plantb-derived antimycotics: Current trends and future prospects*, Haworth Press, N-York, Londin, Oxford, p. 165-185.

Raïssac M., Marnotte P., Alphonse S., (1998). Interactions entre plantes de couverture, mauvaises herbes et cultures: quelle est l'importance de l'allélopathie. *Agriculture et développement*, p. 17.

Razafindrakoto B., (1988). Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar ; Variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte ; essais de classement chemotaxonomique et propriétés pharmacodynamiques. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, p. 225.

Rebour, (1966). Manuel de culture des Citrus pour le bassin Méditerranéen. Ed. Bailliére et fils, Paris, p. 264.

Regnault-Roger C., Hamraoui A., (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Stored Prod. Res, pp. 31, 291-299.

Rice E., (1984). Allelopathy, 2^{ème} Ed., Academic Press, p. 422, 52.

Richter G., (1993). «Métabolisme des végétaux » Physiologie et biochimie, Presses polytechniques et universitaires. Romandes, p. 292.

Rhodes M., (1994). Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. Plant Mol. Biol., pp. 24, 1-20.

S

Scora R., (1975). On the history and origin of Citrus. Bull Torrey Bot Club, pp. 102, 369–375.

Smallfield B., (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research, pp. 45, 4.

T

Terol J., Soler G., Talon M., Cercos M., (2010). The aconitate hydratase family from Citrus. BMC. Plant Biology, p. 222.

Tisserand R., Balacs T., (1995). Essential oil safety: A guide for health care professionals. Churchill Livingstone edition, London, p. 172.

Tiwari B., Valdramidis V., O'donnell C., Muthukumarappan K., Bourke P., Cullen P., (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. J. Agric. Food. Chem, pp. 57, 5987-6000.

Tukey H., (1970). The leaching of substances from plants. *Annu rev plant physiologic*, p. 305-58.

V

Valnet J., (2001). La santé par les fruits, légumes et les céréales. Ed. Vigot, p. 207-281.

Vanden H., Kratz D., (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. Journal of chromatography, pp. 11, 463-471.

W

Weir T., Park S., Vivanco J., (2004). Biochemical and Physiological Mechanisms Mediated by Allelochemicals, *Current Opinion in Plant Biology*, pp. 7, 472-479.

Werner M., (2002). Les huiles essentielles: réveil du corps et de l'esprit. Edition Vigot, Collection Santé Bien-être, p. 95.

Willis R., (2007). The History of Allelopathy. Springer, pp. 1, 48.

Y

Yahyaoui N., (2005). Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha Spicata* L. sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.

Yavari kia P., Safajou F., Shahnazi M., Nazemiyeh H., (2014). The effect of lemon inhalation aromatherapy on nausea and vomiting of pregnancy: a double-blinded, randomized, controlled clinical trial. *Iran Red Crescent Med J.*, 16 (3).

Annexe

Annexe

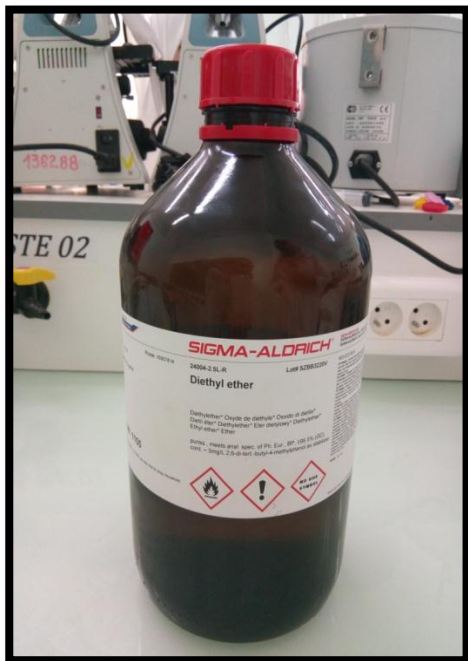


Photo 01: Diethyl-ether

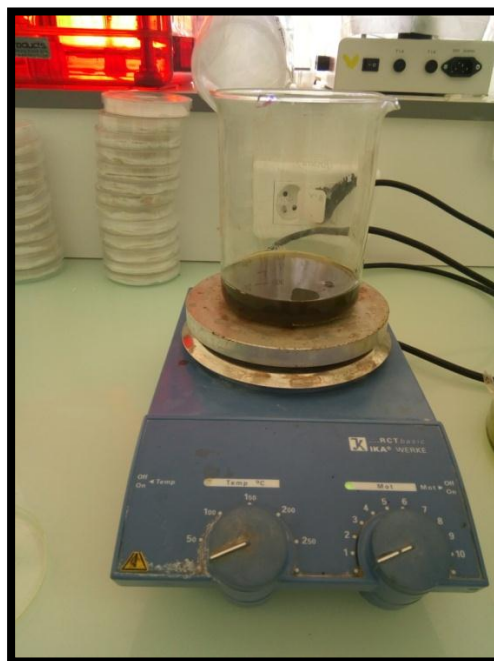


Photo 02: Extrait méthanolique



Photo 03 : Les trois concentrations
d'HE



Photo 04 : L'extraction des écores

Tableau 01 : Suivre et notation la germination des grains testées témoins et traités par l'HE de *Citrus limon* L.

	Nombre des grains germés	Témoins			C ₁			C ₂			C ₃		
L'orge	Dimanche	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lundi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mardi	4	4	3	5	5	5	1	1	5	6	6	6
	Mercredi	10	9	10	7	5	6	5	4	6	6	7	6
	Jeudi	10	10	10	8	8	7	7	6	8	8	8	8
L'avoine	Dimanche	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lundi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mardi	4	3	3	1	1	0	2	2	2	0	2	1
	Mercredi	7	4	5	0	0	0	0	2	0	2	2	1
	Jeudi	7	4	5	0	0	0	0	2	0	2	2	1
Blé tendre	Dimanche	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lundi	6	6	7	6	5	6	5	6	8	3	4	3
	Mardi	9	9	9	7	7	7	5	6	9	6	6	3
	Jeudi	9	10	9	8	9	8	9	6	9	9	9	6

Résumé

Citrus limon L. est l'une des agrumes les plus vigoureuses, de croissance rapide, elle produit de nombreuses branches et fructifie abondamment, et la fructification de l'hiver est plus importante.

Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude la composition chimique et l'activité antigerminative d'huile essentielle et d'extrait méthanolique de plante *C. limon* L. sur quelques plantes d'intérêt économique.

Les résultats de ces travaux nous avons permis d'affirmer la concentration 50% et 100% d'HE, inhibe totalement la germination d'*Avena sterilis* L., et 25% une inhibition partielle a été enregistrée., et les trois concentrations (100%; 50%; 25%), ont une faible inhibition de germination sur les espèces *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.

Les trois concentration de l'extrait méthanolique inhibe totalement la germination sur les céréales (*Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.).

Mots clés : Allélopathie, Inhibition, Iermination, Huile essentielle, Extrait méthnolique, *Citrus limon* L.

المخلص

الليمون هو واحد من الحمضيات الأكثر نشاطا، ينمو بسرعة، و ينتج العديد من الفروع والفواكه بوفرة في فصل الشتاء وفي هذا السياق، يتركز العمل الحالي على دراسة التركيبة الكيميائية ونشاط مكافحة الإنبات (الفعالية الاليلوباتية) للزيوت الاساسية والمستخلص الميثانولي " الليمون " على بعض الانواع النباتية ذات الاهمية الاقتصادية. نتائج هذه الدراسة سمحت لنا بالتأكد أن التركيز 50 % و 100 % من الزيت الأساسي له تأثير مثبط على إنبات و نمو السويقة والجذير ل *Avena sterilis* L., في حين ان التركيز 25% له تثبيط جزئي. والتراكيز الثلاثة (100 % ؛ 50 % ؛ 25 %) لها تثبيط خفيف لإنبات بعض الأنواع من الحبوب *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L. وقد أعاققت التراكيز الثلاثة للمستخلص الميثانولي بالكامل إنبات الحبوب التالية *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L. **الكلمات المفتاحية:** الفعالية الاليلوباتية، انتاش، التثبيط، الزيت الأساسي، المستخلص الميثانولي، الليمون .

Abstract

Citrus Limon L. Is one of the most vigorous citrus, fast growing, it produces many branches and fruits abundantly, and the fruiting of winter is more important.

In this context, the present work focuses on a study the chemical composition and anti-germination activity of plant essential oil C. Limon L. for some economical plants.

The results of this study allowed us to assert the concentration 50% and 100% of HE, totally inhibits the germination of *Avena sterilis* L., and 25% partial inhibition was recorded., and the three concentrations (25%; 50%; 100%), Low inhibition Germination of grains of the species *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.

The three concentrations of méthanolique extract totally inhibited the germination of cereal grains (*Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L.).

Key words: Allelopathy, Inhibition, Germination, Essential oil, Méthnolique extract, *Citrus limon* L.