

Université Mohamed Boudiaf - M'sila

FACULTÉ DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Numéro de série :

Numéro d'inscription :

Thèse

Présentée pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ème} cycle (LMD)

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biodiversité Santé et Environnement

THEME

Étude de certaines activités biologiques des extraits et des huiles essentielles de *Pulicaria arabica* (L.) Cass., *Cotula coronopifolia* L. et *Nolletia chrysocomoides* Desf. espèces de la flore spontanée d'une région à climat semi aride.

Présenté Par

SASSOUI Ammar

Soutenue le : 10/11/ 2022

Devant le jury composé de :

<u>Nom & Prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Etablissement</u>	<u>Qualité</u>
BENDIF Hamdi	MCA	Univ. de M'sila	Président
SARRI Madani	Pr.	Univ. de M'sila	Encadreur
HENDEL Noui	MCA	Univ. de M'sila	Co-encadreur
BOUDJELAL Amel	Pr.	Univ. de M'sila	Examineur
AKKAL Salah	Pr.	Univ. Constantine1	Examineur
LAOUER Hocine	Pr.	Univ. de Sétif1	Examineur

Année Universitaire : **2021/2022**

ملخص

تمت دراسة ثلاثة أنواع نباتية من ثلاثة بيئات حيوية في منطقة المسيلة كجزء من ترمين نباتات الحضنة و هي: *Nolletia chrysocomoides* Desf. و *Cotula Coronopifolia* L. ، *Pulicaria arabica* (L.) Cass. الهدف من الدراسة هو التقييم المخبري للنشاطية المضادات للأكسدة وللميكروبات وللحشرات لكل من المستخلصات والزيوت الأساسية لهذه النباتات. تم تحضير المستخلصات باستخدام مذيبات عضوية مختلفة القطبية. تم استخلاص الزيوت العطرية بالتقطير المائي وكانت المردود 0.1 و 0.4 و 0.2% لكل من *C. coronopifolia* و *P. arabica* و *N. chrysocomoides* على التوالي. تم فحص التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية بواسطة CG/SM. تم تحديد ما مجموعه 35 مكوناً طياراً لزيوت *P. arabica*، على رأسها (23.9%) *epi-α-cadinol* ، *δ-cadinene* (21.1%) و *α-cadinol* (19.8%). من بين 18 مركبا حددت في زيت *C. coronopifolia*، وجد أن أكثرها كماً المركبان 1-Pentadecene و (55.31%) (و Neryl isovalerate (12.74%). أخيراً، بالنسبة لزيوت *N. chrysocomoides*، كان هناك إجمالي 25 مكوناً طياراً، مع المكونات الرئيسية (25.86%) *α-cadinol* ، *δ-cadinene* (25.6%) و *epi-α-cadinol* (22.73%) *muurolol*. تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة للزيوت والمستخلصات باستخدام اختبارات DPPH وتبييض البيتا كاروتين / حمض اللينوليك. تم تقدير النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت والمستخلصات نوعياً في المختبر ضد 8 سلالات بكتيرية بواسطة تقنية قرص الانتشار في الأجار وكمياً عن طريق تحديد قيم MIC و CMB. بالإضافة إلى ذلك، تم تقدير النشاط المضاد للفطريات للزيوت والمستخلصات من خلال نسبة تثبيط النمو الميسيلي للفطريات على الوسط الصلب. تم اختبار نشاط المبيد للحشرات لزيوت *C. Coronopifolia* و *N. chrysocomoides* ضد *Tetranychus urticae*، وتم تقييم نفس النشاط لزيوت *P. arabica* ضد *Culex quinquefasciatus* و *Musca domestica* و *Spodoptera littoralis*.

الكلمات المفتاحية: *Pulicaria arabica* ، *Cotula coronopifolia* ، *Nolletia chrysocomoides*، زيوت أساسية، GC-MS، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد للحشرات، مسيلة.

RÉSUMÉ

Dans le cadre de la valorisation de la flore du Hodna, trois espèces de trois biotopes de la région de M'sila ont fait l'objet de cette étude : *Pulicaria arabica* (L.) Cass., *Cotula coronopifolia* L., *Nolletia chrysocomoides* Desf. Le but ciblé était l'évaluation *in vitro* des activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide des différents extraits et huiles essentielles de ces plantes. Les extraits ont été préparés par l'emploi de solvants organiques de polarité déférente ; les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation et les rendements étaient de 0,1%, 0,4 et 0,2% pour *C. coronopifolia*, *P. arabica* et *N. chrysocomoides* respectivement. La composition chimique des HE a été faite par CG/SM. Au total, 35 composants volatils ont été identifiés pour l'HE de *P. arabica*, dont les constituants majeurs étaient l'*épi- α -cadinol* (23,9%), le *δ -cadinène* (21,1%) et le *α -cadinol* (19,8%). Pour *C. coronopifolia*, 18 composés d'HE ont été identifiés dont les composants majeurs sont : le 1-Pentadecene (55,31%) et le Neryl isovalerate (12,74%). En fin, pour l'HE de *N. chrysocomoides*, un total de 25 composants volatils avec les majeurs composants étaient le *α -cadinol* (25,86%), *δ -cadinène* (25,6%), *épi- α -cadinol* et *épi- α -muurolol* (22,73%). L'activité antioxydante des HEs et des différents extraits a été évaluée par le test du DPPH et celui du blanchiment du β -carotène/acide linoléique. L'activité antimicrobienne des HEs et des extraits a été estimée *in vitro* qualitativement contre 8 souches bactériennes par la technique des disques de diffusion sur gélose et quantitativement par la détermination de la CMI et CMB. En outre, l'activité antifongique des HEs et des extraits, estimée par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures testées sur milieu solide. L'activité insecticide des HEs obtenues de *C. coronopifolia* et *N. chrysocomoides* a été testée contre *Tetranychus urticae* et pour l'HE de *P. arabica* a été évaluée contre *Culex quinquefasciatus*, *Musca domestica* et *Spodoptera littoralis*

MOTS-CLES : *Pulicaria arabica*, *Cotula coronopifolia*, *Nolletia chrysocomoides*, huiles essentielles, GC-MS, activité antioxydante, activité antimicrobienne, activité insecticide, M'sila.

ABSTRACT

Three species from three biotopes of the M'sila region were studied as part of the valorization of the Hodna flora: *Pulicaria arabica* (L.) Cass., *Cotula coronopifolia* L., and *Nolletia chrysocomoides* Desf. The targeted goal was the in vitro evaluation of the antioxidant, antimicrobial, and insecticidal activities of the different extracts and essential oils of these plants. The extracts were prepared using organic solvents of different polarities; the essential oils were extracted by hydrodistillation, and the yields were 0,1%, 0,4, and 0,2% for *C. coronopifolia*, *P. arabica*, and *N. chrysocomoides* respectively. The chemical composition of EOs was investigated by CG/SM. A total of 35 volatile components were identified for *P. arabica* EO, of which the major constituents were epi- α -cadinol (23,9%), δ -cadinene (21,1%) and α -cadinol (19,8 %). The two most abundant of the 18 compounds in *C. coronopifolia* EO are 1-Pentadecene (55,31%) and Neryl isovalerate (12,74%). Finally, for *N. chrysocomoides* EO, there were a total of 25 volatile components, with the major components being α -cadinol (25,86%), δ -cadinene (25,6%), epi- α -cadinol and epi- α -muurolol (22,73%). The antioxidant activity of the EOs and extracts was determined using the DPPH and β -carotene/linoleic acid bleaching tests. The antimicrobial activity of the EOs and extracts was estimated in vitro qualitatively against 8 bacterial strains by the agar diffusion disk technique and quantitatively by the determination of the MIC and CMB values. In addition, the antifungal activity of the EOs and extracts was estimated by the mycelial growth inhibition percentage of molds on solid medium. The insecticidal activity of *C. coronopifolia* and *N. chrysocomoides* EOs was tested against *Tetranychus urticae* and the EO of *P. arabica* was evaluated against *Culex quinquefasciatus*, *Musca domestica* and *Spodoptera littoralis*.

KEYWORDS: *Pulicaria arabica*, *Cotula coronopifolia*, *Nolletia chrysocomoides*, essential oils, GC-MS, antioxidant activity, antimicrobial activity, insecticidal activity, M'sila.

REMERCIEMENTS

Avant tout, je souhaite rendre grâce à Allah, le tout puissant, de m'avoir donné la santé, le courage et la patience de mener à bien ce travail.

Puis, au terme de cette aventure scientifique aussi passionnante et avant d'exposer le fruit de cinq années d'efforts, il m'est particulièrement agréable en ces quelques lignes de remercier et d'exprimer ma reconnaissance envers tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation.

J'exprime ma gratitude à Monsieur **Madani SARRI**, Professeur à l'université Mohamed Boudiaf de M'sila et directeur de thèse pour son encadrement, ces conseils pertinents et son aide précieuse tout au long de ce travail.

J'aimerais également remercier Monsieur **Noui HENDEL**, Maître de Conférences à l'Université Mohamed Boudiaf de M'sila, d'avoir co-encadré ma thèse de doctorat.

Un grand Merci à Monsieur **BENDIF Hamdi**, Maître de Conférences à l'Université Mohamed Boudiaf de M'sila, président de jury qui a accepté de consacrer son temps en examinant le manuscrit. J'en suis honorée et je lui exprime ma profonde reconnaissance.

Je remercie Madame **Amel BOUDJELAL**, Professeur à l'Université Mohamed Boudiaf de M'sila, d'avoir acceptée de juger ce travail et de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury.

Je souhaite exprimer également mes remerciements à Monsieur **Salah AKKAL**, Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine¹, qui ma fait le grand honneur de participer à ce travail.

J'aimerais également exprimer ma gratitude à Monsieur **Hocine LAOUER**, à l'Université Ferhat Abbas Sétif¹, pour avoir accepté d'être parmi le jury de ce travail.

Un remerciement spécial s'adresse aux différents laboratoires et leurs personnels :

- Au Professeur **Filippo MAGGI**, chercheur à l'Ecole de Pharmacie, Université de Camerino, Italie.
- Au Professeur **Roman PAVELA**, chercheur à l'Institut de Recherche sur les Cultures, Prague, Tchèque.
- Au Professeur **Giovanni BENELLI**, chercheur au Département d'Agriculture, d'Alimentation et d'Environnement), Université de de Pise, Italie.
- Au Professeur **Maurizio Bruno**, chercheur au Département de Biologie, Chimie et Pharmacie (STEBICEF), Université de Palermo, Italie.
- Au Professeur **Sergio ROSSELI**, chercheur au Département de Agricole, Sciences Alimentaires et Forestières, Université de Palermo, Italie.
- Au doctorant **Natale BADALAMENTI**, chercheur au Département de Biologie, Chimie et Pharmacie (STEBICEF), Université de Palermo, Italie.
- Je n'oublie pas de témoigner toute ma gratitude aux membres de l'équipe de laboratoire de Microbiologie et de Biochimie.

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

PUBLICATIONS ET POSTERS

Certaines parties du présent travail ont été présentés sous forme de plusieurs posters et de deux publications scientifiques.

Publications

Sassoui Ammar, Hendel Noui, Sarri Djamel, Sarri Madani, Filippo Maggi, Maurizio Bruno, Donato Romano, Angelo Canale, Roman Pavela, Giovanni Benelli (2020). Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides?, *Environ Sci Pollut Res*, 27:26594-26604, <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09064-w>.

A. Sassoui, D. Sarri, N. Hendel, M. Sarri (2022). Traditional uses, phytochemical and biological activities of *Pulicaria arabica* (L.) Cass., *Journal of EcoAgri Tourism*, 18(1), 30-35. [1_2022.pdf \(rosita.ro\)](#)

Posters

Sassoui Ammar, Hendel Noui, Sarri Madani (2019). Antioxydant activity of the methanolic and ethanolic extracts of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. (Asteraceae) from the M'sila region. *1^{er} Séminaire National de l'Apport des Biotechnologies sur la Protection de l'Environnement (SNBPE19)*, Université Mohamed Boudiaf M'sila, 15-16 Décembre 2019, M'sila (Algérie).

Sassoui Ammar, Sarri Madani, Hendel Noui (2020). Phytochemical study of some organics extracts of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. wild in M'sila region. *1^{ère} journée Nationale : Analyse de cycle de vie, éco-conception, éco-éducation, éco-énovation au service du développement durable*, Association Nationale, Eco-conception, Analyse de Cycle de Vie et Développement Durable (ANEADD) affiliée au Réseau des Clubs UNESCO en Algérie en partenariat avec le Conservatoire National des Formations à l'Environnement (CNFE), 11 Février 2020, Boumèrdes (Algérie).

Sassoui Ammar, Sarri Madani, Hendel Noui (2021). Antibacterial activity of some extracts from *Pulicaria arabica* (L.) Cass. (Asteraceae) from the M'sila region. *Séminaire National 'webinaire' Bio-ressources : Nutrition, Santé et Environnement*, Université Mohamed Boudiaf M'sila, 17-18 Mai 2019, M'sila (Algérie).

Sassoui Ammar, Hendel Noui, Sarri Madani (2021). Evaluation of antioxydant activity of some extract of *Cotula coronopifolia* L. *International Seminar on Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development)*, Université Mohamed Boudiaf M'sila, 28-29 Avril 2021, M'sila (Algérie).

Sassoui Ammar, Sarri Madani, Hendel Noui (2021). Evaluation of antiradical libre DPPH of organic extract of *Cotula coronopifolia* wild in M'sila region. *Séminaire National 'webinaire': Ressources végétales, Produits Naturels et Santé (RVPNS21)*, Université Saad Dahlab Blida1, 9-11 Juin 2021, Blida (Algérie).

Sassoui Ammar, Hendel Noui, Sarri Madani (2022). Phytochemical study of some organics extracts of *Cotula coronopifolia* wild in M'sila region. *Conférence nationale 'webinaire': protection des plantes et préservation des milieux naturels (CNPPPMNS22)*, Université Mohamed Boudiaf de M'sila, 16-17 Mai 2022, M'sila (Algérie).

DEDICACES

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail,

A mes très chers parents : source de ma joie et secret de ma force, ils étaient et ils vont rester toujours le modèle, grâce à eux je suis ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leur amour, sacrifices et leur soutien tout le long de ma vie.

A tous mes très chers frères

A tous mes très chères sœurs

A toute ma famille, proche ou loin et à toute mes amies.

A tous qui m'ont enseigné

A tous mes chers amis et mes collègues

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux qui n'ont pas été cités amicalement

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Usages traditionnels de <i>P. arabica</i> (L.) Cass	10
Tableau 2 : Caractéristiques de la récolte des espèces étudiées	18
Tableau 3: Influence des doses sublétales des huiles essentielles de <i>N. chrysocomoides</i> et <i>C. coronopifolia</i> sur l'inhibition de la ponte et de l'éclosion des œufs <i>T. urticae</i>	30
Tableau 4 : Caractères organoleptiques et le rendement en extraits organiques de <i>P. arabica</i>	31
Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>P. arabica</i>	32
Tableau 6: Principaux composants chimiques de <i>P. arabica</i>	34
Tableau 7. Les valeurs IC ₅₀ (µg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de <i>P. arabica</i> et du standard BHT dans le test de DPPH (*les valeurs IC ₅₀ de l'HE sont en µl/ml)	35
Tableau 8 : Les valeurs IC ₅₀ (mg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de <i>P. arabica</i> et du standard BHT dans le test du blanchiment de β-carotène (*les valeurs IC ₅₀ de l'HE sont en µg/ml)	36
Tableau 9: Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (15µl/disque) et EM, EE, EC (30µl/puit) de <i>P. arabica</i>	37
Tableau 10 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de <i>P. arabica</i>	37
Tableau 11 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) et levuricide de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de <i>P. arabica</i>	38
Tableau 12. Efficacité insecticide des huiles essentielles (HEs) de <i>P. arabica</i> , sur les larves de <i>Culex quinquefasciatus</i> , <i>Spodoptera littoralis</i> , et les adultes de <i>Musca domestica</i>	40
Tableau 13 : Caractères organoleptiques et le rendement en extraits organiques de <i>C. coronopifolia</i>	41
Tableau 14: Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>C. coronopifolia</i>	43
Tableau 15 : Les valeurs IC ₅₀ (µg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de <i>C. coronopifolia</i> et du standard BHT dans le test de DPPH (*les valeurs IC ₅₀ de l'HE sont en µl/ml)	44
Tableau 16 : Les valeurs IC ₅₀ (mg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE des <i>C. coronopifolia</i> et du standard BHT dans le test du blanchiment de β-carotène (*les valeurs IC ₅₀ de l'HE sont en µg/ml)	45
Tableau 17 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (15µl/disque) et EM, EE, EC (30µl/puit) de <i>C. coronopifolia</i>	46
Tableau 18 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de <i>C. coronopifolia</i>	46
Tableau 19 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) et levuricide de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de <i>C. coronopifolia</i>	47
Tableau 20 : Toxicité d'huile essentielle de <i>C. coronopifolia</i> sur la femelle <i>T. urticae</i>	49
Tableau 21 : Influence des doses sublétales d'huile essentielle de <i>C. coronopifolia</i> sur l'inhibition de la ponte et de l'éclosion des œufs <i>T. urticae</i>	49
Tableau 22 : Caractères organoleptiques et le rendement des extraits organiques	50
Tableau 23 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Nolletia chrysocomoides</i>	51
Tableau 24 : Les valeurs IC ₅₀ (µg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de <i>N. chrysocomoides</i> et du standard BHT dans le test de DPPH (*les valeurs IC ₅₀ de l'HE sont en µl/ml)	52

Tableau 25 : Les valeurs IC ₅₀ (mg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de <i>N. chrysocomoides</i> et du standard BHT dans le test du blanchiment de β -carotène (*les valeurs IC ₅₀ de l'HE sont en µl/ml)	53
Tableau 26 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (10µl/disque) et EM, EE, EC (30µl/puit) de <i>N. chrysocomoides</i>	53
Tableau 27 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE et des extraits EM et EE de <i>N. chrysocomoides</i> .	54
Tableau 28 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) et levuricide de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de <i>N. chrysocomoides</i>	55
Tableau 29 : Toxicité d'huile essentielle de <i>N. chrysocomoides</i> sur la femelle <i>T. urticae</i>	57
Tableau 30 : Influence des doses sublétales d'huile essentielle de <i>N. chrysocomoides</i> sur l'inhibition de la ponte et de l'éclosion des œufs <i>T. urticae</i>	57

LISTE DES FIGURES

Figure 1: <i>Pulicaria arabica</i> (L.) Cass.	09
Figure 2 : Répartition dans le monde de <i>P. arabica</i> (L.) Cass.	10
Figure 3 : <i>Cotula coronopifolia</i> L.	12
Figure 4 : Répartition dans le monde de <i>C. coronopifolia</i> L.	13
Figure 5 : <i>Nolletia chrysocomoides</i>	15
Figure 6 : Répartition dans le monde de <i>N. chrysocomoides</i> (Desf.) Cass.	16
Figure 7 : les teneurs en TPT ($\mu\text{gEAG/mg}$) et en TFT ($\mu\text{gEQ/mg}$) des extraits EM, EE, EC et HE de <i>P. arabica</i> .	32
Figure 8 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Alt. alternata</i> , <i>P. expansum</i> , <i>C. herbarum</i> provoqué par l'HE et (EM, EE et EC) de <i>P. arabica</i> .	39
Figure 9 : les teneurs en TPT ($\mu\text{gEAG/mg}$) et en TFT ($\mu\text{gEQ/mg}$) des extraits EM, EE, EC et HE de <i>C. coronopifolia</i> .	42
Figure 10 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Alt. alternata</i> , <i>P. expansum</i> , <i>C. herbarum</i> provoqué par l'HE et (EM, EE et EC) de <i>C. coronopifolia</i>	48
Figure 11 : Teneurs en TPT et en TFT des extraits EM, EE et HE de <i>N. chrysocomoides</i>	51
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Alt. alternata</i> , <i>P. expansum</i> , <i>C. herbarum</i> provoqué par l'HE et les extraits EM, EE et EC de <i>N. chrysocomoides</i> .	56

LISTE D'ABREVIATIONS

A.F.N.O.R.	: Association Française de NORmalisation
AA	: Acide ascorbique
AAI	: Activité antiradicalaire
ATCC	: American Type Culture Collection
BHT	: Hydroxytoluène Buthylé
CMB	: Concentration Bactéricide Minimale
CMI	: Concentration minimale inhibitrices
CPG	: Chromatographie en Phase Gazeuse
CcEM	: Extrait méthanolique de <i>Cotula coronopifolia</i>
CcEE	: Extrait éthanolique de <i>Cotula coronopifolia</i>
CcEC	: Extrait chloroformique de <i>Cotula coronopifolia</i>
DMSO	: Diméthyl sulfoxyde.
DPPH	: 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
EC	: Extraits chloroformique
EE	: Extraits éthanolique
EM	: Extraits méthanolique
FC	: Folin-ciocalteu
FID	: Détecteur par Ionisation de Flamme
GN	: Gélose nutritive
HEs	: Huiles essentielles
MH	: Mueller Hinton
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MS	: Spectrométrie de Masse
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PDA	: Potato Dextrose Agar
TFT	: Teneurs en Flavonoïdes Totaux
TPT	: Teneurs en Polyphénols Totaux
UICN	: Union Internationale pour la Conservation de la Nature

SOMMAIRE

ملخص	
RÉSUMÉ	
ABSTRACT	
REMERCIEMENTS	
DEDICACES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE D'ABREVIATIONS	

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	
CHAPITRE I. Aperçu bibliographique	03
1. Plantes médicinales	03
2. Huiles essentielles (HEs)	03
3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	03
4. Composés phénoliques	04
5. Activité antioxydante	04
6. Activité antimicrobienne	06
7. Activité antifongique	07
8. Activité insecticide	08
CHAPITRE II. Présentation des espèces étudiées	09
1. <i>Pulicaria arabica</i> (L.) Cass.	09
1.1 Présentation	09
1.2 Description botanique	09
1.3 Distribution et écologie	10
1.4 Utilisations traditionnelles	10
1.5 Données pharmacologiques et phytochimiques	11
2. <i>Cotula coronopifolia</i> L.	12
2.1 Présentation	12
2.2 Description botanique	12
2.3 Distribution et écologie	13
2.4 Utilisations traditionnelles	13
2.5 Données pharmacologiques et phytochimiques	13
3. <i>Nolletia chrysocomoides</i> Desf.	15
3.1 Présentation	15
3.2 Description botanique	15
3.3 Distribution et écologie	16
3.4 Utilisations traditionnelles	16
3.5 Données pharmacologiques et phytochimiques	16

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE III : Matériels et méthodes	17
1. Récolte des espèces	17
2. Dosage des composés phénoliques	18
3. Extraction et calcul du rendement	19
4. Composition chimique des huiles essentielles	20
5. Evaluation de l'activité antioxydante	21
6. Evaluation de l'activité antibactérienne	23
7. Evaluation de l'activité antifongique	26
8. Evaluation de l'activité insecticide	28
9. Analyses statistiques	30
CHAPITRE IV : Resultats et discussions de <i>Pulicaria arabica</i>	31
1. Rendement en huile essentielle	31
2. Rendement en extraits	31
3. Dosage des composés polyphénoliques	31
4. Composition chimique de l'huile essentielle	32
5. Résultats de l'activité antioxydante	35
6. Résultats de l'activité antibactérienne	36
7. Résultats de l'activité antifongique	38
8. Résultats de l'activité insecticide	39
CHAPITRE V : Resultats et discussions de <i>Cotula coronopifolia</i>	41
1. Rendement en huile essentielle	41
2. Rendement en extraits	41
3. Dosage des composés polyphénoliques	41
4. Composition chimique de l'huile essentielle	42
5. Résultats de l'activité antioxydante	44
6. Résultats de l'activité antibactérienne	45
7. Résultats de l'activité antifongique	47
8. Résultats de l'activité insecticide	48
CHAPITRE VI : Resultats et discussions de <i>Nolletia chrysocomoides</i>	50
1. Rendement en huile essentielle	50
2. Rendement en extraits	50
3. Dosage des composés polyphénoliques	50
4. Composition chimique de l'huile essentielle	51
5. Résultats de l'activité antioxydante	52
6. Résultats de l'activité antibactérienne	53
7. Résultats de l'activité antifongique	55
8. Résultats de l'activité insecticide	56
CONCLUSION	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	60
ANNEXES	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La phytothérapie et l'utilisation des plantes comme médicaments, est une pratique très ancienne qui a récemment gagné en popularité auprès de la population générale. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (Marc, 2001).

L'utilisation des plantes pour la guérison vient principalement de la prise de conscience des patients et de leur désir profond de revenir à des produits naturels et efficaces ; Ils possèdent de nouvelles propriétés pharmacologiques grâce à de nouveaux principes actifs et de quelques activités biologiques pour traiter de nombreuses affections à la fois. Dans ce contexte, l'utilisation de composés naturels à activité antimicrobienne et antioxydante présente un large éventail d'activités biologiques et pharmacologiques et sont considérés comme ayant des effets bénéfiques en santé et nutrition (Gautam *et al.*, 2014). Cette utilisation demande une confirmation scientifique et des recherches approfondies qui doivent être menées. En Algérie, comme dans tous les pays du monde, plus de 20 000 plantes aromatiques médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle (Meissner, 2004).

Les industries cosmétiques, pharmaceutiques et agricoles s'intéressent de plus en plus aux produits naturels, car ces industries se concentrent sur l'utilisation de molécules naturelles dans leurs produits. Sachant que dans le domaine pharmaceutique, 60% à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle, et près de 25% des prescriptions sont à base de plantes. De même, selon l'OMS (2008), plus de 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour traiter plusieurs maladies (Pierangeli *et al.*, 2009).

L'Algérie, par sa position géographique, présente une large gamme d'étages climatiques induisant une biodiversité avec une avalanche de beaucoup de plantes utilisées comme herbes, alimentation naturelle et à des fins thérapeutiques. Cela est principalement dû à sa vaste géographie. Les laboratoires pharmaceutiques de ce pays, mais aussi les médecins et les pharmaciens cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées et cultivées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi que les principes actifs sont étudiées depuis des dizaines d'années (Hendel *et al.*, 2012).

On s'intéresse de plus en plus à l'importance des plantes médicinales et des pratiques traditionnelles dans la résolution des problèmes de santé mondiaux. En raison de cette prise de conscience, le commerce international des plantes médicinales connaît une croissance

exponentielle et de nombreux pays ont assimilé les pratiques médicales traditionnelles comme faisant partie intégrante de leur culture (Boudjelal *et al.*, 2020).

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de trois espèces spontanées de la famille Astéraceae d'une région à climat semi aride de différents biotopes : *Pulicaria arabica*, *Cotula coronopifolia* et *Nolletia chrysocomoides*. Cette étude est axée sur la caractérisation de leurs huiles essentielles et extraits ainsi que leurs activités biologiques.

Le présent manuscrit est présenté en deux parties : la première partie renferme deux chapitres, le premier chapitre traite un aperçu bibliographique et le deuxième chapitre présente la monographie des trois espèces étudiées. La deuxième partie est subdivisée en quatre chapitres dont le premier est consacré à la méthodologie suivie dans cette étude, et les trois autres chapitres englobent l'ensemble des résultats et discussions de chaque plante séparément *Pulicaria arabica*, *Cotula coronopifolia* et *Nolletia chrysocomoides* respectivement. Enfin une conclusion générale.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

1. Plantes médicinales

Selon Sofowara (2010), toutes les plantes qui contiennent un ou plusieurs composés pouvant être utilisés à des fins thérapeutiques ou qui servent de précurseurs dans la synthèse de médicaments utiles sont considérées comme des plantes médicinales. Le groupe de l'OMS qui a élaboré cette définition affirme qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les éléments et les propriétés thérapeutiques ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales.

2. Huiles essentielles (HEs)

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin Suisse PARASCELSUS Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (Burt, 2004). Les huiles volatiles ou essences aromatiques végétales sont nommées huiles essentielles, car elles renferment la « Quintaessentia », la fragrance de la plante (Lamarti *et al.*, 1994). Elles sont des substances volatiles, huileuses, odorantes, de nature hydrophobe et totalement solubles dans les alcools. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras et uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles. Liquides à la température ambiante, de consistance huileuse, leur densité est inférieure à celle de l'eau, à l'exception de quelques cas (sassafras, cannelle et girofle), insolubles dans l'eau, et elles doivent être conservées à l'abri de la lumière et de l'air (Duval, 2012). L'association française de normalisation (AFNOR NF T-75-006) a défini l'huile essentielle comme étant : « 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'épicerpe des *Citrus*, soit par distillation « sèche », elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000). Les HE ont une variété d'utilisation, et dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des propriétés différentes. Les propriétés médicinales des HE sont beaucoup, mais chacune possède ses caractéristiques particulières (Nicole, 1996).

3. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Le principe de cette méthode consiste à transporter la substance à analyser par un gaz vecteur (phase mobile). Les composés séparés par chromatographie seront décomposés en ions de masse variable au niveau du spectromètre de masse, où leur séparation dépendra de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec un ou plusieurs de

référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et de référence, soit suffisant et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert *et al.*, 1997 ; Bruneton, 1999).

Afin d'identifier et/ou de quantifier avec précision une variété de composés, l'approche chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse combine séparation et identification (les capacités de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse). La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide du CPG et leur identification par spectrométrie de masse. (Longevialle, 1981 ; Lafferty et Michnowicz, 1992 ; Constantin, 1996 ; De Hoffmann *et al.*, 1999). Le processus d'identification est ensuite complété en comparant les indices de rétention (IR) et les données spectrales (spectres de masse) des constituants individuels à ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques de spectres électroniques qui ont été développées au laboratoire ou à des fins commerciales (Lafferty et Stauffer, 1994 ; Joulain et König, 1998 ; NIST, 1999 ; Adams, 2001).

4. Composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols représentent une famille de molécules largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (feuilles, tiges, racines, fleurs, pollens, graines fruits, et bois) ; et ils jouent un rôle important dans de nombreux processus physiologiques, notamment la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la maturité des fruits et germination des grains (Boizot et Charpentier, 2006). Les composés phénoliques peuvent servir de marqueurs d'identification pour les plantes, leur permettant de résister à une variété d'agressions d'organismes pathogènes. Ils contribuent de manière significative à la capacité des plantes à tolérer une variété de stress, et ces composés sont cruciaux pour l'équilibre et l'adaptation de la plante à son environnement naturel (Macheix *et al.*, 2005).

5. Activité antioxydante

Ainsi à l'instar de beaucoup de fruits et légumes qui peuvent offrir une protection contre certaines maladies chroniques causées par le stress oxydatif, les plantes également ont suscitées une attention considérable au cours de ces dernières années à travers un nombre croissant de travaux qui confirment leurs propriétés antioxydantes et incitent à leur utilisation dans la consommation humaine. Ces antioxydants de sources naturelles peuvent remplacer

éventuellement les antioxydants synthétiques dont la toxicité et les effets cancérigènes semblent limités (Sun *et al.*, 2009).

- Antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui peuvent atténuer les dommages causés par les radicaux libres en les neutralisant ou en les réduisant. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant, selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (Assmann *et al.*, 2019). Les antioxydants peuvent être introduit dans le système biologique exogène par l'alimentation (par exemple, vitamine C, caraténoïdes et vitamine E), et également être produits de manière endogène (par exemple, la superoxyde dismutase (SOD) et glutathion réduit (GSH)) (Amber *et al.*, 2013 ; Ighodaro et Akinloye, 2017).

Les antioxydants fonctionnent principalement pour équilibrer les radicaux libres générés pendant les processus métaboliques, y compris au cours des processus impliqués dans la protection de l'intestin contre les blessures et l'inflammation (Nwosu *et al.*, 2016). On peut dire que les antioxydants agissent sur le système de défense en trois manières principales :

a) par l'inhibition de leur effet délétère, mise à disposition de petites molécules qui ont la capacité à piéger les radicaux libres ;

b) mécanismes spécifiques de correction des dommages de l'ADN induits par les ROS dommages (Ofor *et al.*, 2016) ;

c) par la séquestration des protéines avec les métaux de transition empêchant leur disponibilité pour la réaction avec les radicaux libres.

Les plantes médicinales sont considérées comme une source importante de nouvelles molécules à fort potentiel antioxydant (Moualek, 2016). On se rend compte de plus en plus que les végétaux présentent un potentiel anti radicalaire qui leur permet de jouer un rôle bénéfique en termes d'action préventive très importante pour la santé animale et humaine (Sabu et Kattan, 2002).

- Stress oxydatif

Le stress oxydatif, aussi appelé stress oxydant, se définit comme un déséquilibre du système oxydants-antioxydants au profit des oxydants. Il est lié à une modification du statut oxydatif intracellulaire (Boyd *et al.*, 2003). Les espèces oxygénées réactives oxydent lentement les molécules biologiques. Plutôt, il existe un système de défense appelé anti oxydatif. Ce réseau

d'antioxydants, enzymatiques ou non, permet à notre corps de se défendre contre les substances réactives oxygénées (Koen, 2004). L'importance d'un système anti oxydatif efficace est illustrée par la corrélation entre le stress oxydatif et certaines maladies, y compris du diabète, des maladies cardio-vasculaires et les cancers non insulino dépendant (Koen, 2004).

- Radicaux libres

Le terme "radicaux libres" désigne des molécules ou des fragments de molécules qui contiennent des électrons libres. Les électrons inutilisés présents fournissent à un radical libre un degré significatif de réactivité (Valko *et al.*, 2006).

La capacité d'introduire de l'énergie en oxydant la matière organique fait de l'oxygène, ce dernier est un composant nécessaire pour les organismes multicellulaires. Mais une partie de cet oxygène est convertie par nos cellules en substances toxiques appelées radicaux libres (Hubert, 1998). Le terme collectif pour les radicaux libres et leurs précurseurs est connu sous le nom d'espèces réactives à l'oxygène (Favier, 2003). Puisqu'ils sont bénéfiques pour l'organisme à dose raisonnable, divers processus physiologiques produisent des radicaux libres.

*** Présentation du test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)**

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable qui agit en se combinant avec d'autres radicaux libres. Ce composé a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité des composés phénoliques. Il s'agit d'un test largement utilisé car il est simple et relativement reproductible (Brand-Williams, 1995).

**** Décoloration β -carotène**

La capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composés organiques volatils et la formation conjuguée d'hydroperoxyde de diène avec l'oxydation de l'acide linoléique (Tepe *et al.*, 2005).

6. Activité antibactérienne

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires visibles au microscope (de 0,5 μm à 1 μm de largeur et de 0,5 μm à 8 μm de longueur) qui appartiennent au règne des protistes. Elles sont présentes un peu partout dans les différents milieux ; l'air, les sols, l'eau et la peau. Elles peuvent survivre de façon indépendante, se nourrir et se multiplier comme elles sont dotées d'un grand pouvoir d'adaptation (Nicklin *et al.*, 2000), la plupart des bactéries se nourrissent de déchets organiques en décomposition, ce sont les saprophytes ou les mangeurs de déchets. La majorité des bactéries présentes naturellement chez l'homme ne causent pas d'effets néfastes à la

santé. Certaines sont même essentielles autant à l'organisme humain qu'à l'environnement, comme les bactéries présentes dans les intestins qui aident à la digestion. D'autres cependant sont bel et bien de véritables agents pathogènes qui provoquent toujours une maladie. Ces pathogènes sont à la base de beaucoup d'infections bien connues telles que les otites, la plupart des formes de méningite et de pneumonie, des abcès, quelques formes de diarrhée, la tuberculose, le typhus, la dysenterie, le choléra, la diphtérie... etc (Nicklin *et al.*, 2000).

L'être humain est toujours en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997).

L'utilisation d'antibiotiques est la pierre angulaire du traitement des maladies bactériennes. L'importance d'orienter la recherche vers la découverte de nouvelles voies qui servent de source d'inspiration pour de nouveaux médicaments à base de plantes tient à la possibilité que la prescription généralisée et parfois inappropriée de ces agents puisse entraîner la sélection de tissus multirésistants (Billing et Sherman, 1998). La composition chimique des extraits de plantes peut être influencée par de multiples facteurs, incluant l'espèce à laquelle appartient la plante prélevée, le matériel végétal (fleurs, feuilles, fruits, rameaux) utilisé pour produire les extraits, ainsi que la technique employée pour réaliser l'extraction. La combinaison de ces divers paramètres semble être une explication aux différences d'activité antibactérienne observées entre les HE (Burt *et al.*, 2004). Dans l'ensemble, le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques dans la cellule bactérienne, qui dépendent du type et de caractéristiques des constituants chimiques présents dans l'huile essentielle (Nazzaro *et al.*, 2013). Les constituants chimiques de l'HE ont une propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (Keita, 2002).

7. Activité antifongique

L'utilisation des HE peut servir de source à de nouveaux médicaments antifongiques, soit sous leur forme pure, soit sous forme de dérivés de leurs composés d'origine pour une optimisation thérapeutique plus sûre et plus efficace (Peralta *et al.*, 2015). Dans les industries

agricoles et alimentaires, les huiles essentielles ou leurs constituants sont souvent utilisés comme agents antifongiques (Zambonelli *et al.*, 2004).

8. Activité insecticide

Les insectes, les rongeurs et les champignons s'attaquent les denrées stockées, ce qui peut causer des pertes importantes en réduisant la quantité et la qualité des produits stockés. Selon la FAO. (2011), les pertes causées par les insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale. De nombreuses études se développent pour isoler ou identifier des substances naturelles extraites de plantes qui ont une activité insecticide répulsive ou opposé vis-à-vis des insectes (Lichtenstein, 1966). De plus, des substances issues de plusieurs espèces florales ont des effets répulsifs, contre certain insectes Coléoptères qui cible les produits entreposés (Hashem *et al.*, 2012).

Nous pensons que ces mécanismes sont particuliers et que les biopesticides à base d'HE peuvent fonctionner comme des outils fragmentaires dans les programmes de gestion de la résistance aux pesticides chez les organismes ravageurs. Ces mécanismes d'action spécifiques permettent à ces biopesticides d'être utilisés seuls et à nouveau sans éventuellement provoquer le développement d'une résistance aux pesticides chez les organismes ravageurs (Chiasson et Beloin, 2007).

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE II

PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES

CHAPITRE II : PRESENTATION DES ESPECES ETUDIEES

1. *Pulicaria arabica* (L.) Cass.

(Famille: Asteraceae)

- **Synonymie** : *Inula arabica* L.

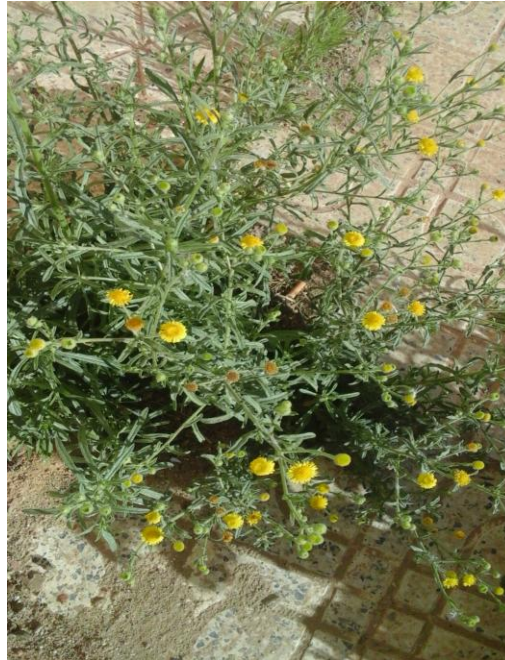


Figure 1: *Pulicaria arabica* (L.) Cass.
(Photo M. Sarri, Campus de l'université – M'sila, 8/06/2018)

- **Nom vernaculaire** : Abu-ain-safra, deithouth (Kew, 2002).

1.1. Présentation

Pulicaria arabica appartient à la famille des Asteraceae, connu sous le nom commun "Dames faux vergerette". La pulicaria abrite les habitats comme les endroits secs, les fossés, les bords des cours d'eau, les réservoirs et les étangs. Il existe 80 espèces du genre *Pulicaria* réparties entre l'Europe, l'Afrique du Nord et l'Asie (Quézel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1983).

1.2. Description botanique

Plante vivace à fleurs jaunes (Figure 1), dressée de 10 à 60 cm, à branches dressées. Inflorescence dichotomique paniculaire. Capitule hétérogame, multiflore, longuement pétiolée, grande ou assez grande, de 10-20 mm de diamètre, à ligules étalées, assez longues, dépassant largement l'involucre et les fleurs du disque tubulaire et hermaphrodite. Réceptacle plat, nu, à épines alvéolées. Involucre (bractées sur quelques rangées, généralement étroites, les externes sont courtes ou foliacées) densément poilues, akènes hispides à aigrette double assez longue, l'externe est court, libre, cupuliforme, constitué d'écailles plus ou moins cornées à l'extrémité

Suite Tableau 1

Usages traditionnels	Références
● utilisé comme lotion pour soigner les maladies de la peau	Meinardus, 1996
● la poudre de la plante est utilisée comme éternuement, par voie nasale, dans le traitement de certaines maladies Oto-Rhino-Laryngologie et maux de tête	Bellakhdar, 1997

1.5. Données pharmacologiques et phytochimiques

A notre connaissance, *Pulicaria arabica* été peu étudié auparavant d'un point de vue phytochimique et pharmacologique en Algérie. Plusieurs travaux montrent une diversité de composés sur le plan qualitative et quantitative des huiles essentielles du genre *Pulicaria* (Mossa *et al.*, 1987 ; Abed *et al.*, 2010 ; Djermane *et al.*, 2016) ; de flavonoïdes (Malek *et al.*, 1988 ; Mossa *et al.*, 1988 ; Ali, 2011) et de dérivés de caryophyllène (Hafez *et al.*, 1987).

Certaines publications rapportent l'efficacité des substances bioactives du genre *Pulicaria* comme antibactérienne (Abdallah *et al.*, 2018 ; Ozdemir *et al.*, 2021), antioxydante (Djermane *et al.*, 2016-2017), antivirale (Mouhajir, 2002), analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire hépatique et néphrétique (Yusufoglu, 2014).

Peu de travaux ont été cités sur les activités biologiques, que ce soit sur les huiles essentielles ou les extraits de *P. arabica*. L'effet microbiologique de l'huile essentielle de *P. arabica* montre une action inhibitrice significative contre les bactéries et les levures (Abed *et al.*, 2010), de plus, l'extrait éthanolique de *P. arabica* montre une activité contre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (Ozdemir *et al.*, 2021). En résumé, l'extrait éthanolique de *P. arabica* induit de puissants analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires avec des actions protectrices hépatiques et néphritiques importantes. De plus, la perturbation des paramètres de la fonction hépatique et rénale induite par l'intoxication au CCl_4 a été récupérée par l'extrait éthanolique de *P. arabica* (Yusufoglu, 2014).

2. *Cotula coronopifolia* L.

(Famille : Asteraceae)

■ **Synonymie:** *Cotula integrifolia* Hook. F.; *Cotula montevidensis* Spreng.; *Lancisia coronopifolia* (L.) Rydb. (Tela Botanica).



Figure 3 : *Cotula coronopifolia* L.
(Photo A. Sassoui, Oued el Ksob – M'sila, 15/05/2018)

■ **Nom vernaculaire** : boutons en laiton, boutons dorés, et buttonweed (Turner, 1996)

2. 1. Présentation

Le genre *Cotula* L. appartenant à la famille des *Asteracea*, comprend 3 espèces (*C. cinerea* Del., *C. anthemoides* L. et *C. coronopifolia*) en Algérie (Quezel et Santa, 1963), avec des espèces réparties dans l'hémisphère sud et certaines naturalisées dans l'hémisphère nord (Himmelreich *et al.*, 2008). Le genre est placé dans la première sous-tribu divergente *Cotulinae* de la tribu *Anthemideae* (Himmelreich *et al.*, 2008 ; Oberprieler *et al.*, 2007) et est étroitement lié au genre largement sud-américain et le genre à prédominance australasienne (Powell *et al.*, 2014). L'espèce du groupe *C. coronopifolia* est une plante annuelle sauvage qui pousse dans les zones humides d'eau douce ou saumâtre et semble très tolérante aux inondations périodiques. De nombreuses espèces du genre *Cotula* sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle (Kether *et al.*, 2012).

2.2. Description botanique

La plante *C. coronopifolia* L. est une plante aquatique (Figure 4), herbacée vivace ou annuelle à feuilles pennatiséquées, fleurs jaunes et hermaphrodites. Les capitules sont homogames, à réceptacle nu et conique (Pottier, 1981). Germination des graines réalisée en fin d'hiver (Van der Toorn, 1982).

2.3. Distribution et écologie

Plante sub-cosmopolite ; en Algérie cette espèce abrite les Dayas et les bords des ruisseaux (Quézel et Santa, 1963). Le genre *Cotula* comprend environ 55 espèces, la plupart endémiques d'Afrique du Sud (Jakubowsky et Mucina, 2007) (Figure 4), trois en Afrique du Nord : *Cotula cinerea* Del., *Cotula coronopifolia* L. et *Cotula anthemoides* L. (Quézel et Santa, 1963), deux se trouvent en Australie, et le même nombre en Asie et sur les îles Tristan da Cunha dans l'océan Atlantique Sud (Jakubowsky et Mucina, 2007). L'espèce *C. coronopifolia* occupe une niche écologique spécialisée. Elle préfère les zones humides boueuses, anoxiques et les eaux saumâtres, et elle est très tolérante au sel (Turner, 1996).

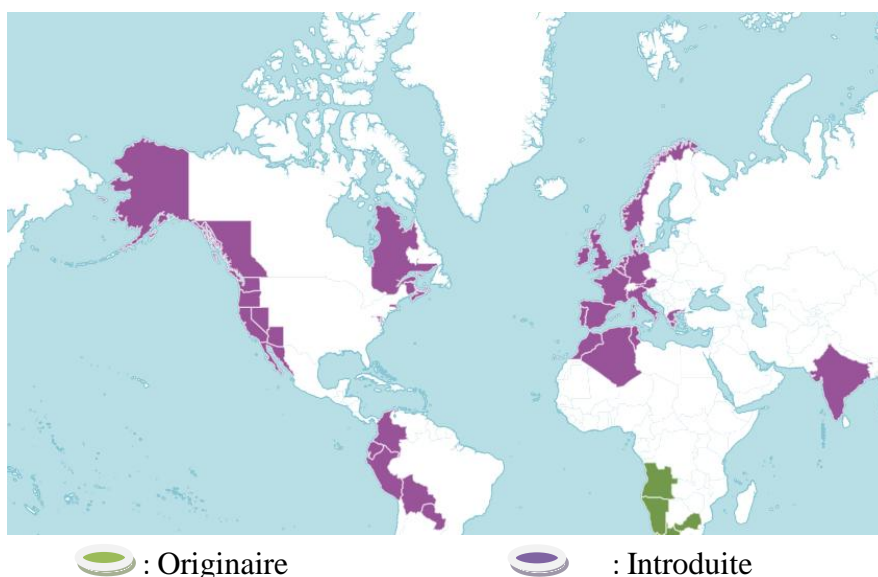


Figure 4 : Répartition dans le monde de *C. coronopifolia* L.
(Kew, 2022)

2.4. Utilisations traditionnelles

L'utilisation traditionnelle de la plante *C. coronopifolia* est méconnue en Algérie, en Tunisie et au Maroc. Par contre l'espèce *Cotula cinerea* voisine de *C. coronopifolia* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques telles antipyrétique, analgésique, antibactérienne, antiseptique et anti-inflammatoire (Benhammou, 2012). En outre, elle est préconisée pour traiter les maux de tête, les migraines, d'estomac, la fièvre, les articulations inflammation et la toux (Chouikh et Chefrour, 2014).

2.5. Données pharmacologiques et phytochimiques

En signale peu de travaux phytochimiques et biologiques qui ont été réalisés sur les espèces du genre *Cotula*. Markouk *et al.* (1999) ont annoncé une activité antibactérienne des extraits de *Cotula cinerea*. L'extrait de pétrole de la plante *Cotula coronopifolia* possède de fortes activités antimicrobiennes (contre *Escherichia coli* et *Enterococcus fecalis*) et antioxydantes (Liouane *et*

al., 2009). En Tunisie (Kether *et al.*, 2012), les composés les plus importants détectés dans les huiles essentielles de *C. coronopifolia* étaient l'agarospirol (10,43%) dans les feuilles, l'hexacosane (31,7%) dans les fleurs, le 1-eicosanol (17,1%) dans la tige et les racines étaient l'heptacosane (28,4%), le 1-eicosanol (14,6%), l'octacosane (5,4%) et le γ amorphe (5,2%).

Les recherches effectuées sur l'espèce *C. cinerea* du même genre du *Cotula* poussant en Algérie (Chouikh *et al.*, 2015) montrent que la composition chimique de l'huile essentielle des fleurs et fruits est dominée par les composés chimiques suivants : 3-Carène (30,99%), Thujone (28,78%), triène de santoline (18,58%), Eucalyptol (15,13%) et Camphre (7,49%). Autres composés chimiques ont été mentionnés comme les flavonoïdes (Dendougui *et al.*, 2012) et les terpènes et les huiles essentielles (Markouk *et al.*, 1999).

3. *Nolletia chrysocomoides* (Desf.) Cass.

(Famille : Asteraceae)

■ **Synonymie** : *Conyza chrysocomides* Desf. (Battandier et Trabut, 1889 ; The Plant List, 2012) ; *Nolletia arenosa* O. Hoffm ; *Chrysocoma dinteri* Muschl. et *Conyza pulicarioides* Coss. & Durand (Durand et Baratte, 1910) ; *Aster chrysocomifolius* Hort. ex. Steud. ; *Aster chrysocomoides* Desf. (The Plant List, 2012).



Figure 5 : *Nolletia chrysocomoides*
(Photo M. Sarri, Chott el Hodna – M'sila, 17/04/2019)

■ **Noms vernaculaires** : pas de nom cité.

3.1. Présentation

Nolletia est un genre de plantes à fleurs de la tribu des Asteraceae au sein de la famille des Asteraceae. Le genre a été décrit par Alexandre Henri Gabriel de Cassini (Cuvier, 1825). Bremer (1994) a signalé 10 espèces dans le genre, neuf en Afrique australe et une en Afrique du Nord et en Espagne. Durand et Barratte (1910) signalent *N. chrysocomoides* (Desf.) Cass. ex. Les., l'espèce type du genre, pour le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et l'Espagne. Récemment Dobignard et Chatelain (2011) l'ont signalé pour la Mauritanie, le Maroc, l'Algérie, la Tunisie et la Libye en Afrique du Nord. Une révision complète du genre a été entreprise avec une clé de toutes les espèces. Cinq nouvelles espèces ont été décrites : *N. annemariae*, *N. annetjiae*, *N. vanhoepeniae*, *N. jeanettae* et *N. welmaniae*. Une espèce d'Afrique australe (*N. arenosa*) est synonyme de *N. chrysocomoides* (Herman, 2013).

3.2. Description botanique

Plante vivace pubescente cendrée des zones sableuses (Figure 5). Tiges grêles, dressées ou diffuses, entièrement feuillées. Feuilles petites et linéaires. Capitules hémisphériques, de 1 cm de

diamètre environnant, à fleurs jaunâtres dépassées par les aigrettes, peu nombreux sur chaque tige. Bractées de l'involucre velues lancéolées-linéaires, les intérieures aussi longues que les fleurs (Quézel et Santa, 1963).

3.3. Distribution et écologie

Nolletia chrysocomoides plante endémique de la partie nord-africaine de la Méditerranée occidentale (Figure 6), et est une espèce trouvée de l'ouest de la Libye au Maroc et à la Mauritanie, atteignant le sud du Hoggar en Algérie et peut-être le Niger (Ozenda, 1983). L'espèce abrite les lits secs de ravins et de rivières qui souffrent de sécheresse sévère, et dans des zones côtières sablonneuses, sur le plancher thermo-méditerranéen avec un ombroclimat sec ou subhumide (Banares *et al.*, 2004).



 : Originaire

Figure 6 : Répartition dans le monde de *N. chrysocomoides* (Desf.) Cass.
(Kew, 2022)

3.4. Utilisations traditionnelles

A notre connaissance, aucune utilisation traditionnelle particulière de *N. chrysocomoides* n'est signalée dans la littérature disponible.

3.5. Données, pharmacologiques et phytochimiques

Dans la littérature disponible, aucune investigation chimique et biologique n'est citée, mais exceptionnellement des recherches sur le plan taxonomique c-à-d. des révisions sur le genre *Nolletia* (Herman, 2013).

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODE

Dans le cadre de la valorisation du patrimoine végétal de la région du Hodna, zone caractérisée par un climat semi aride et un paysage naturel diversifié avec des biotopes aquatique, sableu, forestier et steppique et sur ce contexte, des travaux de recherches ont été réalisés (Boudjellal *et al.*, 2013 ; Flamini *et al.*, 2013 ; Meratate *et al.*, 2015 ; Medjekal *et al.*, 2016 ; Dehimi *et al.*, 2016 ; Hendel *et al.*, 2019 ; Fodil *et al.*, 2021 ; Fodil, 2021 ; Hendel *et al.*, 2021 et Sarri *et al.*, 2021; Smaili *et al.*, 2022 a et b; Tahar *et al.*, 2022). Le but de cette étude est la continuité de valoriser cette flore Hodnnienne par la réalisation de ce Doctorat. Notre choix est fondé sur deux axes à savoir des études sur la phytochimie (huiles essentielles et extraits) et les activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne et insecticide). Dans ce travail, nous avons étudié trois espèces : *Pulicaria arabica* (L.) Cass., *Cotula coronopifolia* L. et *Nolletia chrysocomoides* Desf., qui poussent spontanément dans la région du Hodna (caractérisations des huiles essentielles et des extraits et leurs activités biologiques).

1. Récolte des espèces

Les espèces sélectionnées pour cette étude ont été récoltées dans trois différents biotopes de la région du Hodna (Tableau 2), elles ont été nettoyées et séchées à labri de la lumière. Après le séchage, les échantillons ont été récupérés et conservés dans des sacs en papier jusqu'au moment d'extraction. L'identification botanique des trois espèces a été faite par le Dr. Djamel SARRI enseignant chercheur au département des Sciences de la Nature et de la Vie.

- ***Pulicaria arabica* (L.) Cass.**

La plante entière a été récolté dans le campus universitaire (M'sila), le 8 juin 2018.

- ***Cotula coronopifolia* L.**

La plante entière a été récolté dans un milieu aquatique "Oued Ksob", situé à 10 Km au nord de la ville de M'sila, le 15 mai 2018.

- ***Nolletia chrysocomoides* Desf.**

La partie aérienne a été récoltée dans la région de Chott El Hodna, située au sud de la willaya de M'sila (80 Km de chef-lieu), le 17 avril 2019.

Tableau 2 : Caractéristiques géographiques des espèces étudiées

Espèces	Station	Altitude (m)	Latitude (N)	Longitude (N)	Etage bioclimatique
<i>Cotula coronopifolia</i>	Oued Ksob	599	35° 50' 24"	4° 34' 14"	Semi aride
<i>Pulicaria arabica</i>	Campus Univ. M'sila	516	35° 44' 30"	4° 32' 55"	Semi aride
<i>Nolletia chrysocomoides</i>	Chot El Hodna	394	35° 18' 00"	4° 40' 00"	Semi aride

2. Dosage des composés polyphénoliques

• Polyphénols totaux

Le protocole utilisé par notre laboratoire est inspiré de celui de Tajini *et al.* (2020), avec quelques modifications. Le Folin-ciocalteu (FC) est une solution d'acide contenant des ions complexes polymériques issus d'un mélange de l'acide phosphotungstate ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide dephosphomolybdate ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Ce dosage est une estimation rapide de la teneur en polyphénols totaux. Le caractère réducteur des composés phénoliques et leur complication possible avec les métaux lourds contenus dans l'agent oxydant et qui conduisent à la formation d'un complexe bleu à une longueur d'onde de $\lambda = 760$ nm.

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des HEs, EMs, EEs et des ECs, se fait par spectrophotométrie (Atere *et al.*, 2018) ; dans des tubes à essais, un volume de 0,1 ml (1 mg/ml), de chaque échantillon en solution, a été introduit avec un volume de 0,9 ml de l'eau distillée et 0,2 ml de réactif FC, le mélange résultant a été vortexé et incubé. Après 5 minutes de repos, 1ml d'une solution de carbonate de sodium à (7%, poids / poids) a ensuite été ajouté et la solution résultante qui a été complétée à 2,5 ml avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu a été incubé pendant 90 minutes à une température ambiante. La lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 750 nm contre un blanc, à l'aide d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle pour le standard (acide gallique) en gardant les mêmes conditions opératoires (El-haci *et al.*, 2012). Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

• Flavonoïdes totaux

Pour ce dosage, nous avons utilisé le protocole de Meda *et al.* (2005) avec quelques modifications. La teneur en flavonoïdes totaux des HEs, EMs, des EEs et des ECs des plantes d'étude a été déterminée en utilisant le réactif de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Celui-ci forme un complexe stable de couleur jaune avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes et absorbe à une longueur d'onde maximale de 415 nm.

En Bref, en introduit dans un tube à essai un volume de 0,6 ml de AlCl_3 à 2% dans du méthanol. Ce volume est mélangé avec le même volume d'échantillon 0,6 ml (à différentes concentrations). Après agitation, le mélange est incubé à température ambiante pendant 10 min et la lecture est effectuée à une longueur d'onde de 415 nm contre un blanc composé d'une solution AlCl_3 et de 0,6 ml avec 0,6 ml de méthanol. La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée en utilisant une courbe standard réalisée avec de la quercétine (0-50 $\mu\text{g/l}$) comme standard. Les résultats sont exprimés en μg équivalent de quercétine par mg de d'extrait ($\mu\text{gEQ/mg}$ d'extrait).

3. Extraction et calcul du rendement

L'huile essentielle a été extraite par procédé d'hydrodistillation (appareil de type Clevenger), au niveau du laboratoire de Biochimie du département de Microbiologie et Biochimie, faculté des Sciences et de l'Université Mohamed Boudiaf de M'sila.

Pour cela, 100g des organes ciblés (partie aérienne, plante entière, feuille) des trois espèces étudiées préalablement séchées à l'ombre ont été broyées puis mises dans un ballon avec 1L d'eau distillée, le ballon a été par la suite porté à ébullition sur un chauffe -ballon de 2L pendant 3h. Les HE entraînées par la vapeur se dirigent vers un réfrigérant ou elles subissent une condensation donnant naissance à deux phases ; une phase organique et une phase aqueuse. L'HE obtenue a été déshydratée par le sulfate de sodium anhydre puis gardée au réfrigérateur à 4°C et à l'obscurité (Willem, 2002).

• Calcul du rendement (huile essentielle)

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la quantité d'HE récupérée et la quantité de la matière végétale sèche traitée (AFNOR, 1986), il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\mathbf{R = P_b / P_a \times 100}$$

Sachant que :

- **R** : rendement de l'huile essentielle
- **P_b** : poids de l'huile essentielle récupérée en gramme
- **P_a** : poids de la matière végétale sèche en gramme

Les différents extraits organiques ont été préparés à partir des trois plantes séchées par extraction à froid (macération) au moyen des solvants organiques de polarité défférente (l'éthanol, le méthanol et le chloroforme).

L'extrait méthanolique, ethanolique et chloroformique de chaque espèce végétale a été procédée selon la méthode décrite par (Motamed et Naghibi, 2010). Une quantité de 30g de la partie aérienne de la plante est mise à macération dans 300 ml de solvant organique (méthanol /

éthanol et chloroforme) sous agitation pendant 24h, à l'abri de la lumière et à températures ambiante, le mélange obtenu est ensuite filtré sur papier filtre (Wattman N°1). L'extrait récupéré par la filtration est soumis à une évaporation du méthanol, éthanol et du chloroforme sous pression réduite à 45°C dans un rotavapeur. La solution obtenue est séchée pour obtenir une poudre brun foncé à 40°C dans l'étuve. Enfin l'extrait sec a été récupéré, pesé, étiqueté et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

- **Calcul de rendement (extraits)**

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et la masse de la plante sèche en poudre, il est calculé par la formule suivante (Mahmoudi *et al.*, 2013) :

Sachant que :

$$R = M_{\text{extrait}} / M_{\text{échantillon}} \times 100$$

- **R en (%)** : rendement en pourcentage
- **M_{extrait}** : Masse en gramme d'extrait sec après l'évaporation du solvant
- **M_{échantillon}** : Masse en gramme du matériel végétal utilisé

4. Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse et l'identification des huiles essentielles ont été procédées par chromatographie en phase gazeuse à ionisation de flamme, et couplée à la spectrométrie de masse au niveau du laboratoire de pharmacie, université de Camerino (Italie) pour les trois espèces étudiées (Zorzeto *et al.*, 2015 ; Maggi *et al.*, 2015). La séparation et l'analyse des composants des huiles essentielles des trois espèces : *Pulicaria arabica*, *Cotula coronopifolia* et *Nolletia chrysocomoides* ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890N couplé à un spectromètre de masse 5973N et équipé d'un HP-5 MS (5% phénylméthylpolysiloxane, 30 m, 0,25 mm id, épaisseur de film de 0,1 µm ; colonne capillaire J & W Scientific, Folsom). Le programme de température utilisé était le suivant : 5 min à 60°C puis 4°C / min jusqu'à 220°C, puis 11°C min⁻¹ jusqu'à 280° C, maintenu pendant 15 min. Températures de l'injecteur et du détecteur : 280°C ; gaz vecteur : He ; débit : 1 ml/min ; rapport de division : 1:50; plage de masse d'acquisition: 29 - 400 m/z; mode: impact d'électrons (EI, 70 eV). L'huile essentielle a été diluée à 1 : 100 dans du n-hexane, puis 2 µl de la solution ont été injectés dans le système GC-MS. Pour l'identification des composants des huiles essentielles, une co-injection avec les normes ci-dessus a été utilisée, ainsi que la correspondance des indices de rétention et des spectres de masse par rapport à ceux dans les bibliothèques ADAMS, NIST 08 et FFNSC2 (Adams, 2007, NIST 08, 2008, FFNSC2, 2012). La semi-quantification des composants des HE a été réalisée par normalisation de la zone

de pic en considérant le même facteur de réponse pour tous les composants volatils. Les pourcentages étaient la moyenne de trois analyses chromatographiques.

5. Evaluation de l'activité antioxydante

Les différentes méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante existante dans la littérature basée sur la mesure de l'activité de piégeage des radicaux des composés antioxydants, souffrent des difficultés rencontrées dans la formation et la stabilité des radicaux colorés (Apak *et al.*, 2005). Dans notre étude, l'activité antioxydante *in vitro* des HE des espèces retenues et des extraits (EM, EE et EC) a été évaluée par deux méthodes chlorométriques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH et le blanchissement de β -carotène et les résultats sont comparés l'étalons de référence ; le BHT.

a-Test du piégeage de radical libre DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le test au DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl), l'une des méthodes les plus utilisées dans le monde entier dans la quantification de l'activité de piégeage des radicaux libres. La réaction de ce réactif repose sur la diminution de la couleur qui se produit lorsque l'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH "est réduit en recevant un atome d'hydrogène provenant de composés antioxydants. Le DPPH est un radical libre stable, il est très sensible à la lumière, à l'oxygène, au pH et au type de solvant utilisé (Scherer et Godoy, 2009). Dans cette expérience, les antioxydants transforment le DPPH de couleur violette en un composé de couleur jaune, dont l'intensité est inversement corrélée à la capacité des antioxydants présents dans l'environnement à produire des protons (Talbi *et al.*, 2015).

Afin d'évaluer l'activité anti-radicalaire des HEs, des EMs, EEs et ECs des trois plantes d'étude nous avons utilisé la méthode du DPPH réalisé selon le protocole cité par (Kelen et Tepe, 2008). Un volume de 50 μ l de différentes concentrations des solutions méthanoliques des HEs, des EMs et des EEs est mélangé avec 5 ml d'une solution de méthanolique à 0,004% de DPPH. Après une période de 30 minutes d'incubation à température ambiante à l'abri de la lumière, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à une longueur d'onde 517nm.

L'inhibition des radicaux libres DPPH en pourcentage (I%) a été calculée de la manière suivante :

$$I(\%) = \frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}})}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où :

I(%) : le pourcentage d'inhibition

A_{contrôle} : l'absorption de contrôle négatif

A_(échantillon) : l'absorbance du composé d'essai d'huile ou d'extrait

Les valeurs des concentrations des échantillons fournissant une inhibition de 50% (IC₅₀) ont été calculées à partir de la courbe de régression linéaire du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des HEs, des EMs et des EEs. Pour le calcul de ces valeurs, un logiciel Microsoft Excel a été utilisé. Les tests ont été réalisés en triple exemplaire. Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes ± SD.

b-Test de blanchissement du β-carotène

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de blanchissement de β-carotène ; ce test qui repose sur la mesure indirecte de l'inhibition des composés organiques volatils, des hydroperoxydes lipidiques et des diènes conjugués résultant de l'oxydation d'acide linoléique (Meroune *et al*, 2014). Cette méthode consiste à mesurer le changement de couleur du β-carotène provoqué par son oxydation par les produits de dégradation de l'acide linoléique. Grâce au tween, la dispersion de l'acide linoléique et du β-carotène dans la phase aqueuse est assurée. La chaleur (50°C) catalyse l'oxydation de l'acide linoléique (El hachi *et al*, 2012).

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de décoloration du β-carotène a été réalisée par le protocole expérimentale décrit par Kelen et Tepe (2008) et Barros *et al.*, (2007). Ce protocole dépend de la préparation d'une solution mère qui comprend un mélange de β-carotène et l'acide linoléique, ce mélange a été préparé comme suit : une solution de β-carotène a été préparée en dissolvant 0,5 mg de β-carotène dans 1 ml de chloroforme (qualité HPLC), 25 µl d'acide linoléique et 200 µl de tween 40 ont été ajoutés au ballon à fond rond de 100 ml. A l'aide d'un évaporateur on a éliminé complètement le chloroforme de solution. Ensuite, on a ajouté au ballon un volume de 100 ml de l'eau distillée saturée en oxygène pendant 30 min sous agitation vigoureuse ; 1350 µl de cette émulsion réactionnelle ont été transférées dans de différents tubes à essai contenant 150 µl de différentes concentrations de l'huile ou d'extrait préparée à des concentrations de 2mg/ml.

Ces tubes ont été fermés, secoués et incubés à 50°C dans un bain-marie. Dès que l'émulsion a été ajoutée à chaque tube, l'absorbance au temps zéro a été mesurée à 470 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La même procédure a été répétée avec un antioxydant synthétique, de l'hydroxytoluènebutylé (BHT), un contrôle et un blanc. Après 2h d'incubation, Les lectures d'absorbance ont ensuite été enregistrées. Les capacités antioxydantes des huiles et des extraits ont été comparées à celles du BHT et du blanc (contient de l'MeOH). Les valeurs sont présentées comme des moyennes ± et ont été effectuées en triple. L'activité antioxydante a été calculée par la relation suivante :

$$\text{Activité Antioxydante} = \frac{\text{Teneur en } \beta\text{-carotène après 2 h}}{\text{Teneur initiale en } \beta\text{-carotène}} \times 100$$

Le calcul de la concentration d'extrait fournissant 50% d'activité antioxydante (IC₅₀) a été assuré à partir du graphique du pourcentage d'activité antioxydante par rapport à la concentration d'extrait.

6. Evaluation de l'activité antibactérienne

- Les microorganismes testés

Pour mettre en évidence la capacité antibactérienne des HEs et des extraits (EM, EE et EC) des trois plantes étudiées, 08 souches bactériennes de référence de type ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées dans ce travail (elles ont été fournies par le laboratoire de microbiologie du département de microbiologie et biochimie, université de M'sila). Les bactéries à Gram négatif sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica* ATCC 43972. Les bactéries à Gram positif sont : *Bacillus subtilis* ATCC9372, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D'autre part, des souches fongiques ont été utilisées dans notre travail afin d'évaluer *in vitro* le potentiel antimicrobien des huiles essentielles et des extraits pour les plantes d'étude. Ces souches fongiques renferment les moisissures *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum* et la levure *Candida albicans* ATCC 10231.

- Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive (GN) : pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.

- La gélose Mueller Hinton (MH) : pour étudier la sensibilité des bactéries aux HE et aux extraits des plantes d'études.
- Potato Dextrose Agar (PDA) : pour étudier la sensibilité des mycètes aux huiles essentielles et aux extraits de notre plante d'études.

- Conservation des souches

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur le milieu GN, et incubées pendant 24h à 37°C, ensuite elles sont conservées à 5°C dans des tubes contenant de la GN incliné. Les champignons isolés et purifiés sont repiqués et maintenus sur le milieu PDA dans des tubes inclinés puis stockés à 4°C jusqu'à utilisation.

- Préparation de l'inoculum bactérien

La préparation de l'inoculum bactérien dépend de l'utilisation d'un bouillon adapté à la croissance de la bactérie utilisée, où il faut que le prélèvement de l'inoculum pendant la phase stationnaire de croissance et l'incubation est effectuée à une température optimale de croissance (Branger *et al.*, 2007). Les souches bactériennes ont été repiquées sur milieu MH par la méthode de stries et incubées à 37°C pendant 24 h, afin d'obtenir des colonies bien isolées. Deux colonies bactériennes bien isolées de chaque souche ont été prélevées et émulsionnées à l'aide d'une anse de platine et transférées dans un tube contenant 9mL de l'eau physiologique (NaCl à 0,09%) puis agitées, afin d'obtenir une suspension bactérienne. L'inoculum bactérien était ajusté jusqu'à trouver une turbidité voisine de 0,5 de Mc Ferland (approximativement 10^7 UFC/ml) (Lango-Yaya *et al.*, 2020).

Remarque : afin de tester l'activité antimicrobienne *in vitro* des HEs, des Ems, des EEs et des ECs des plantes d'étude nous avons utilisé deux méthodes : une méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé et une méthode des puits de diffusion.

- Méthode des disques de diffusion sur milieu gélosé

La méthode des disques de diffusion sur un milieu gélosé est inspirée de l'antibiogramme visant à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion de l'HE en milieu solide. La méthode décrite par Mouas *et al.* (2017) ; Bekhechi *et al.* (2008) a été appliquée avec une légère modification. Les milieux gélosés de MH stériles sont coulés à raison de 20 ml par boîte puis laissée se solidifier. A l'aide des écouvillons stériles imprégnés dans la suspension bactérienne de 10^7 germes/mL, les boîtes de Pétri sontensemencées sur la totalité de la surface de MH de haut en bas en stries serrées. Dans chaque boîte de Pétri, des disques de papier Whatman n°1 de

6 mm stériles 3 disques sont imprégnés d'une quantité d'HE (15 µL) et un disque imprégné de DMSO (15 µL) pour le contrôle négatif, ont été déposés à la surface des boîtes de pétri ensemencées de souches à tester. Ces boîtes sont ensuite fermées par le parafilm et laissées pour diffuser l'HE à une température de 4°C pendant 2h, et après sont mises à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque, en mm. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes désignant la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle.

La sensibilité aux différentes huiles et extraits a été ordonnée par le diamètre des halos d'inhibition comme : non sensible (-) pour les diamètres inférieurs à 8 mm ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).

- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration à laquelle le microorganisme ne montre pas une croissance visible ; la croissance des microorganismes a été indiquée par la turbidité (Haddouchi *et al.*, 2016). Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) sont déterminées, pour les bactéries étant sensibles à l'HE, par la méthode de micro-dilution sur les microplaques. Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir de la culture jeune de 18 h sur une GN et elles ont ensuite été ajustées par rapport une turbidité standard de 0,5 Mc Farland, les HEs ont premièrement été dissoutes dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO).

En bref, les microplaques à 96 puits ont été préparées en répartissant dans chaque puits 95 µL de bouillon nutritif et 5 µL d'inoculum. Dans les premiers puits, on a ajouté des aliquotes de 100 µL à partir des solutions mères de HE initialement préparées à la concentration de 50 µL/mL. Puis, 100 µL de dilutions en série ont été transférés dans sept puits successifs. Le dernier puits contient 195 µL de bouillon nutritif sans échantillon et 5 µL de l'inoculum sur chaque série a été utilisé comme control négatif. Le volume final de chaque puits était de 200 µL et les concentrations finales dans le bouillon nutritif étaient de 25 à 0,391 µL/mL. Les microplaques ont été recouvertes puis incubées à des 37°C pendant 24 h, la croissance des microorganismes a été indiquée par la turbidité (Sokomen *et al.*, 2004).

- Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB c'est la concentration la plus faible de bactéricide à laquelle 99% des bactéries sont tuées, exprimée en µg/L. La CMB indique à quelle concentration la préparation présente une activité bactéricide (Lambertus *et al.*, 2020).

A partir de la CMI, les puits n'ayant montré aucune croissance microbienne visible à l'œil nu sont ré-isolés sur la gélose Muller-Hinton Agar. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 h. La plus faible concentration pour laquelle on n'observe aucune colonie microbienne (99,99% de destruction) est la concentration minimale bactéricide CMB, de l'extrait sur la souche testée (Mamadou *et al.*, 2014).

7. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique *in vitro* sur la croissance mycélienne a été évaluée par deux méthodes : une méthode des disques de diffusion pour les HEs et une méthode des puits de diffusion pour les EMs, EEs et les ECs des trois plantes d'étude.

- Méthode des disques de diffusion

L'activité antifongique *in vitro* des HEs a été testée par la méthode des disques de diffusion décrite par Sharma *et al.* (2016) modifiée.

Le milieu PDA (20 ml) a été coulé dans des boîtes de Pétri stériles (90 mm de diamètre), un disque fongique (7 mm de diamètre) de mycélium, découpé à la périphérie d'une culture de sept jours à l'aide d'un emporte-pièce stérile, a été inoculé de manière aseptique au centre de chaque boîte de Pétri. Des aliquotes (10 µL) d'HE provenant de la solution mère dans du DMSO à 10% ont été déposées sur des disques de papier Wattman stériles (6mm de diamètre) placés sur le milieu PDA à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte de Pétri, et pour le contrôle en utilisant des quantités égales de DMSO à 10% à la place de l'huile. Les boîtes de pétri ont été scellées avec un film de polyéthylène et incubées à une température de 25°C pour sept jours. Le pourcentage d'inhibition de croissance était calculé selon la formule suivante (Mazari *et al.*, 2010) :

$$I\% = \frac{D_C - D_T}{D_C} \times 100$$

Où

D_C : Diamètre de la colonie fongique du témoin (mm)

D_T : Diamètre de la colonie fongique traité par l'extrait (mm)

I% : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage

La capacité de croissance et de reproduction de chaque culture dépend de sa sensibilité à l'huile essentielle étudiée. Ainsi, si l'effet existe, une zone transparente claire s'est formée autour des disques de papier indiquant qu'il n'y a pas de croissance de micro-organismes (Stanojevic *et al.*, 2017). Les observations sont faites au 7^{ème} jour après l'incubation et portent sur la croissance mycélienne moyenne mesurée selon deux diamètres de la boîte de Pétri (Tiendrebeogo *et al.*, 2017).

- Méthode des puits de diffusion

L'activité antifongique *in vitro* des EMs, EEs et des ECs des trois plantes a été évaluée par la méthode des puits de diffusion (Tepe *et al.*, 2005 ; Sharma *et al.*, 2016).

Dans cette méthode tous les EMs, EEs et des ECs des trois plantes ont été préparés dans le DMSO pour avoir une concentration finale de 600 mg/ml. Trois puits équidistants du centre et des marges (8 mm) ont été créés à l'aide d'une porte-pièce dans le PDA solide, qui est déjà coulé dans des boîtes de Pétri stériles (90 mm). Un volume de 15µl de l'EM, l'EE et de l'EC de chaque plante est appliqué à chaque puits et le contrôle a été préparé en utilisant des quantités égales de DMSO à 10% à la place de l'EM, l'EE et l'EC. Un disque fongique (7 mm) de mycélium, découpé à la périphérie d'une culture de sept jours à l'aide d'un emporte-pièce, a été inoculé de manière aseptique au centre de chaque boîte de Pétri, les boîtes de pétri ont été scellées avec du parafilm et incubées à une température de 25° C pour 7 jours. Le pourcentage d'inhibition de croissance était calculé par la formule suivante (Mazari *et al.*, 2010) :

$$I\% = \frac{D_C - D_T}{D_C} \times 100$$

Où

D_C : Diamètre de la colonie fongique du témoin (mm)

D_T : Diamètre de la colonie fongique traité par l'extrait (mm)

I% : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage

La capacité de croissance et de reproduction de chaque culture dépend de sa sensibilité à l'huile essentielle étudiée. Ainsi, si l'effet existe, une zone transparente claire se forme autour des disques de papier indiquant qu'il n'y a pas de croissance de microorganismes (Stanojevic *et al.*, 2017). Les observations sont faites au 7^{ème} jour après l'incubation et portent sur la croissance mycélienne moyenne mesurée selon deux diamètres de la boîte de Pétri (Tiendrebeogo *et al.*, 2017).

8. Evaluation de l'activité insecticide

* Cas de *Pulicaria arabica* (L.) Cass.

a-Test de l'activité insecticide contre *Culex quinquefasciatus*

L'efficacité de l'activité insecticide sur huile essentielle de *Pulicaria arabica* a été diluée dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) sur des larves de *C. quinquefasciatus* au 3^{ème} stade a été évaluée selon l'OMS (1996) avec des modifications mineures par Pavela *et al.* (2018). Les concentrations testées étaient de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 250, 300, 400, 500 et 800 mg/L ; chaque concentration a été répliquée 4 fois sur des groupes de 25 larves chacun. Le contrôle négatif était de l'eau distillée avec la même quantité de DMSO utilisée pour dissoudre l'huile essentielle testée. Le témoin positif était l'extrait de pyrèthre (50%, Sigma-Aldrich, République tchèque) testé à 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 et 1,00 mg/L. La mortalité larvaire a été enregistrée après 24 h.

b-Test de l'activité insecticide contre *Musca domestica*

Des essais d'application topique ont été réalisés pour faire la lumière sur l'activité insecticide aiguë d'HE de *Pulicaria arabica* sur des femelles adultes de *M. domestica* (âgées de 3 à 6 jours). Suivant Benelli *et al.* (2019), 1 µL d'acétone (Sigma-Aldrich, Allemagne) plus l'huile essentielle aux concentrations suivantes, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 et 500 µg adulte⁻¹ (chaque concentration a été testée sur 4 groupes de 20 mouches chacun), a été appliqué à l'aide d'un applicateur microélectrique sur le pronotum de mouches domestiques anesthésiées au CO₂. L'acétone était le témoin négatif. Le témoin positif était l'extrait de pyrèthre (50 %, Sigma-Aldrich, République tchèque) testé à 2, 4, 6, 8 et 10 µg adulte⁻¹. Alors, Les mouches *M. domestica* ont été déplacées dans une boîte de récupération (10 × 10 × 12 cm, 26 ± 1°C 16:8 L:D) pendant 24 h, et la mortalité a été enregistrée (Benelli *et al.*, 2019).

c-Test de l'activité insecticide contre *Spodoptera littoralis*

Le Test de toxicité de l'huile essentielle de *Pulicaria arabica* pour les larves de 3^{ème} stade de *S. littoralis* a été évaluée par application topique l'huile essentielle diluée dans de l'acétone. Selon Benelli *et al.* (2019), les larves ont été traitées sur le dos avec 1 µL d'acétone contenant 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 et 200 µg de larves⁻¹ de *P. arabica*. Quatre répétitions (n = 20 larves par répétition) pour chaque concentration ont été réalisées. L'acétone était le témoin négatif. Le témoin positif était un extrait de pyrèthre (50%, Sigma-Aldrich, République Tchèque)

testé à 4, 8, 12, 16 et 20 µg de larves-1. Les larves ont été déplacées dans une boîte de récupération (10 × 10 × 7 cm, avec des trous fins

**** Cas de *Cotula coronopifolia* L. et *Nolletia chrysocomoides* Desf.**

a-Test de toxicité du tarse

Les femelles adultes de tétranyque à deux points (*Tetranychus urticae* Koch.) âgées de 1 à 2 jours ont été obtenues à partir d'un élevage à l'Institut de recherche sur les cultures (République tchèque). La toxicité des huiles essentielles, mesurée en mortalité après 24 et 96 h d'exposition, a été déterminée par application tarsienne sur des adultes de *T. urticae* (Pavela, 2015). L'expérience a été réalisée sur des disques de feuilles d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) de taille 2 cm². Les HE ont été dissous dans de l'acétone, et en utilisant une pipette automatique, des aliquotes (20 µl/disque) des solutions d'acétone, contenant une quantité définie d'HE, ont été appliquées uniformément sur les disques de feuilles. De cette manière, une série de concentrations équivalente à des doses d'extrait de 100, 50, 25, 12,5, 6,3 et 3,2 mg.cm⁻². Après application, les disques ont été placés dans des boîtes de Pétri (5 cm) avec une couche d'agar de 0,5 cm d'épaisseur sur le fond. Pour les disques témoins, seule l'acétone a été utilisée.

Après évaporation du solvant (environ 5 minutes), une brosse fine a été utilisée pour transférer 10 femelles de *T. urticae* sur chacune des faces traitées des disques de feuilles. Les disques de Pétri ont été placés dans une chambre de croissance (L16: D8, 25°C). Chaque expérience a été répétée 4 fois. Les disques de feuilles coupées ont ensuite été vérifiés après 24 et 96 h de l'application, déterminant le nombre d'adultes morts. La mort a été enregistrée lorsque les adultes ne répondaient pas aux incitations avec des forceps. Des tests expérimentaux ont démontré que plus de 20% de la mortalité contrôlée était évacuée et répétée. La mortalité a été corrigée à l'aide de la formule d'Abbott (Abbott, 1925) et les doses létales (DL₃₀, DL₅₀ et DL₉₀) pendant 24 et 96 h après l'application ; y compris des limites de confiance de 95% pour les niveaux de confiance supérieur et inférieur, ont été calculés à l'aide d'une analyse probit (Finney, 1971).

b-Effet des doses sublétales sur la fertilité de *T. urticae*

Cette expérience a été réalisée par la même méthode décrite dans la section « Test de toxicité du tarse » avec la modification suivante. Les doses sublétales (LC₃₀) estimées par analyse probit pour les HEs individuels ont été appliquées aux disques de feuilles. Les doses utilisées sont énumérées dans le Tableau 3. Les 96 heures après l'exposition, le nombre d'œufs pondus par les femelles sur le disque de feuille a été déterminé. Le nombre moyen d'œufs pondus par les

femelles par jour a été déterminé. Par la suite, les femelles ont été retirées des disques de feuilles et les œufs ont été transférés dans un incubateur pendant 5 jours (25°C) et le pourcentage de nymphes écloses a été détecté. Toutes les données ont été analysées par la variance d'analyse (ANOVA) pour un plan de bloc complet randomisé. Les moyennes ont été séparées en utilisant le test de comparaisons multiples de différence hautement significative (DHS) de Tukey ($p < 0,05$). Les données en pourcentage ont été soumises à une transformation de racine carrée arcsine avant analyse. Les données obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel BioStat v5.0.

Tableau 3 : Influence des doses sublétales des huiles essentielles de *N. chrysocomoides* et *C. coronopifolia* sur l'inhibition de la ponte et de l'éclosion des œufs *T. urticae*

Huiles essentielles	Dose utilisée (CL ₃₀) en mg/cm ²	Nombre moyen d'œufs par femelle (96 heures après l'application)	Pourcentage d'éclosibilité des œufs	Nombre moyen de nymphes écloses par femelle et par jour	Réduction de la fertilité par rapport au contrôle (%)
<i>C. coronopifolia</i>	3,3	2,6±0,3	37,3±3,6	0,9±0,1	83,3±4,1
<i>N. chrysocomoides</i>	3,8	2,1±0,2	74,0±9,8	1,6±0,1	70,3±6,2
Contrôle	0,0	5,9±0,4	91,9±2,7	5,4±0,2	
ANOVA* (Df, F-value, P-level)	-	6,21; 873,6; 0,000	6,21; 410,7; 0,000	6,21; 1285,5; 0,000	5,18; 274,9; 0,000

9. Analyses statistiques

Toutes les expériences ont été réalisées en triple exemplaire et les données sont exprimées sous forme de moyenne ± SD. L'analyse de variance (ANOVA) et de comparaison multiple de Tukey ont été considérées significatives à $p < 0,05$.

CHAPITRE IV
RESULTATS ET DISCUSSIONS
PULICARIA ARABICA

1. Rendement en huile essentielle

L'HE obtenue par hydrodistillation des différentes parties aériennes de l'espèce *P. arabica* est de 0,4%, liquide, de couleur jaune avec une odeur forte. Le rendement en huile est exprimé en pourcentage volume/poids (v/w) par rapport à la matière végétale sèche récoltée le 8 juin 2018 au niveau du campus universitaire (Université MB de M'sila).

2. Rendement en extraits

Les caractères organoleptiques et le rendement moyen des extraits organiques obtenus par macération des parties aériennes de la plante *P. arabica* sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Caractères organoleptiques et le rendement en extraits organiques de *P. arabica*

Extraits	Caractéristiques			Rendement (%)
	Aspect	Couleur	Odeur	
EM	Visqueux	Vert foncé	Forte	11,89
EE	Visqueux	Vert foncé	Forte	9,68
EC	Très visqueux	Verte	Faible	3,02

Les résultats obtenus dans le tableau 4 montrent une variation du rendement d'extraction. On constate que, le rendement de l'extrait méthanolique (11,89%) est supérieur à celui de l'extrait éthanolique (9,68%) et également du chloroforme (3,02%), ce dernier est le plus faible que les autres extraits. Cette variation de rendement peut être due à la nature du solvant choisit bien que la même méthode d'extraction utilisée.

Ces valeurs de rendement sont supérieures à celles trouvées par Djermane *et al.* (2017) pour l'extrait méthanolique (8,5%) et l'extrait de chloroforme (2,52%) cela peut être du principalement à la méthode d'extraction utilisée.

3. Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux (TPT) et en flavonoïdes totaux (TFT) de l'HE et des trois extraits EM, EE et EC de *P. arabica* ont été déterminées par les méthodes colorimétriques de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium pour les TPT et TFT respectivement, en utilisant le produit d'acide gallique et le produit de quercitrine comme contrôle positif standards pour les TPT et TFT respectivement (Figure 7).

D'après la figure 7, on constate une variation des quantités en TPT et TFT, ou nous avons enregistrées des teneurs selon l'ordre EM > EE > EC > HE avec des valeurs de TPT (100,46 ; 77,93 ; 56,78 ; 20,29) ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$) respectivement. La même succession en TFT (65,52 ; 51,71 ; 39,26 ; 0,5) ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$) respectivement

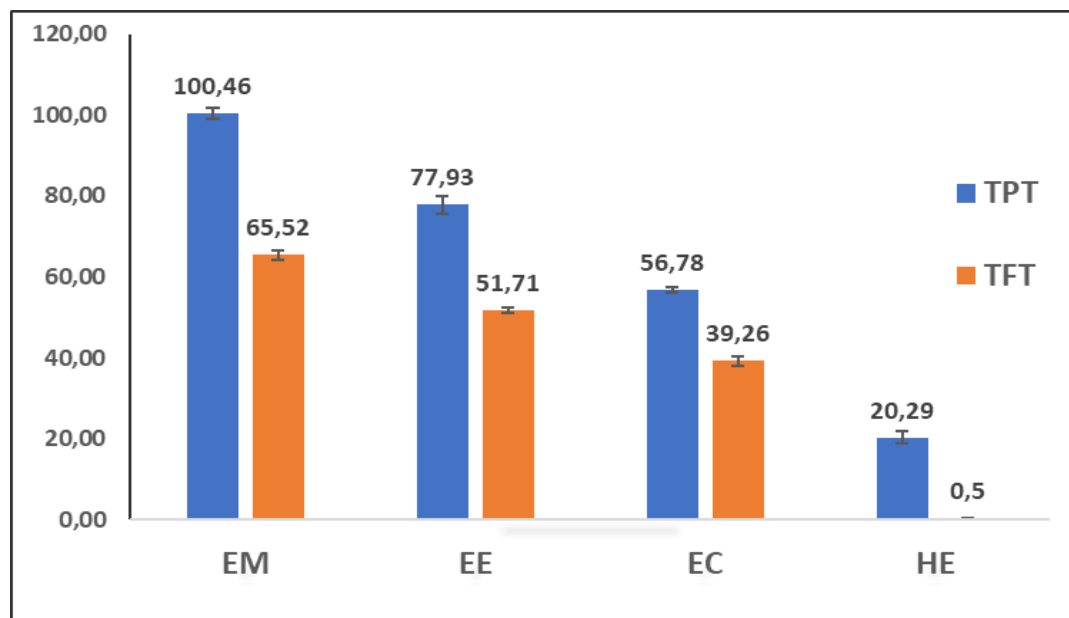


Figure 7 : les teneurs en TPT ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$) et en TFT ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$) des extraits EM, EE, EC et HE de *P. Arabica*. (Les résultats sont exprimés en moyenne ($n=3$) \pm SD).

4. Composition chimique de l'huile essentielle

Le tableau 5 présente la composition chimique de l'HE de *P. arabica*. Au total, trente-cinq (35) composants volatils ont été identifiés, représentant 93,2% de l'ensemble de sa composition. Le chromatogramme GC/MS de l'huile a révélé la présence de sesquiterpènes oxygénés (56%), de sesquiterpènes hydrocarbonés (35,6%), de monoterpènes oxygénés (1,6%) et la classe d'autres composés est sous forme de traces avec deux composés. Les composés majeurs élevés étaient l'épi- α -cadinol (23,9%), le δ -cadinène (21,1%), le α -cadinol (19,8%) et le germacrène D-4-ol (8,40%).

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *P. arabica*

N°	Composé ^a	RI ^b	% ^c
1	α -cubébène	1344	t
2	α -copaène	1368	0,1
3	(E)- β -damascénone	1380	t
4	β -cubébène	1383	t
5	α -gurjunene	1400	0,2
6	(E)-caryophyllène	1409	0,1

Suite Tableau 5

N°	Classe / Composé ^a	RI ^b	% ^c
7	β -copaène	1420	t
8	<i>cis</i> -muurola-3,5-diène	1438	0,1
9	<i>trans</i> -muurola-3,5-diène	1442	0,1
10	α -humulène	1443	t
11	<i>allo</i> -aromadendrène	1451	t
12	<i>cis</i> -cadina-1(6),4-diène	1454	0,2
13	(<i>E</i>)- β -farnesène	1456	t
14	γ -muurolène	1470	0,8
15	Germacrène D	1472	0,1
16	<i>trans</i> -cadina-1(6),4-diène	1475	3,2
17	<i>trans</i> -muurola-4(14),5-diène	1482	0,5
18	Thymol isobutyrate	1484	1,6
19	δ -selinène	1485	1,9
20	<i>épi</i> -cubébol	1486	0,4
21	α -muurolène	1494	3,4
22	γ -cadinène	1506	2,6
23	δ -cadinène	1518	21,1
24	<i>trans</i> -cadina-1,4-diène	1525	0,3
25	α -cadinène	1530	0,6
26	α -calacorène	1535	t
27	Germacrène D-4-ol	1567	8,4
28	1,10-di- <i>épi</i> -cubénol	1605	0,2
29	1- <i>épi</i> -cubénol	1619	0,6
30	<i>épi</i> - α -cadinol	1634	23,9
31	α -muurolol	1639	2,5
32	α -cadinol	1647	19,8
33	Oplopanone	1727	t
34	Cyclocolorénone	1745	0,1
35	Phytone	1844	t
Total identifié (%)			93,2
Classes chimiques			
Monoterpènes oxygénés			1,6
Sesquiterpènes hydrocarbonés			35,6
Sesquiterpènes oxygénés			56,0
Autres			T

^a Les composés sont répertoriés selon leur ordre d'éluion à partir d'une colonne capillaire HP-5MS ; ^b indice de rétention linéaire calculé selon la formule de Van den Doll pour le programme de gradient de température ; ^c La valeur est la moyenne de trois déterminations ; t : traces (< 0,1%).

L'investigation chimique du genre *Pulicaria* a montré la présence de lactones sesquiterpéniques (Dendougui *et al.*, 2012 ; Ghouila *et al.*, 2009), de flavonoïdes (Rizk et Ismail, 1982 ; Mansour *et al.*, 1990 ; Williams *et al.*, 2003 ; Algabr *et al.*, 2010), des dérivés du caryophyllène (San Feliciano *et al.*, 1989 ; Marco *et al.*, 1992), des alcaloïdes et des tanins (Ajaib

et al., 2015). Le tableau 6 qui résume la synthèse des travaux portés sur l'étude phytochimique de *P. arabica* caractérise la présence d'huile volatile (Mossa et al., 1987 ; Abed et al., 2010 ; Djermame et al., 2016), de flavonoïdes (El Negoumy et al., 1982 ; Malek et al., 1988 ; Salleh et al., 2021) et de dérivés de caryophyllène (Hafez et al., 1987). En outre, la comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle de *P. arabica* (parties aériennes, feuilles, tiges et fleurs) montre quelques différences qualitatives et quantitatives dans la composition de l'huile saoudienne, tunisienne et algérienne de la plante étudiée (Mossa et al., 1987 ; Abed et al., 2010 ; Djermame et al., 2016). D'autres recherches (Tableau 6) sur *P. arabica* ont rapporté l'isolement de certains composés flavonoïdes et dérivés de caryophyllène (Hafez et al., 1987).

Tableau 6 : Principaux composants chimiques de *P. arabica*

Pays	Organes / Composants majeurs	Références
	A) Huiles essentielles	
Algérie	<u>Parties aériennes</u> <ul style="list-style-type: none"> ■ Bicyclo (4.4.0) dec-1-ene2- -5-méthyl-9-méthylène (17.2%) ■ 1H-indene.1-éthylideneoctahydro (13.2%) ■ Δ-Cadinène (13.0%) ■ α-Muuroène (5.9%) ■ β-Ocimène (5.8%) 	Djermame et al., 2016
	Arabie Saoudite	
Tunisie	<u>Tiges</u> <ul style="list-style-type: none"> ■ Thymol (15.2%) ■ cis-Calamenène (9.1%) ■ Composés carbonylés et acides (7.5%) ■ α-epi-Cadinol (6.6%) 	Abed et al., 2010
	<u>Fleurs</u> <ul style="list-style-type: none"> ■ γ-Cadinène (11.7%) ■ cis-Calamenène (9.5%) ■ α-Cadinol (8.6%) 	
	<u>Feuilles</u> <ul style="list-style-type: none"> ■ α-Cadinol (10.3%), ■ α-épi-Cadinol (8%) ■ cis-Calamenène (7.9%) 	
B) Flavonoïdes		
Arabie Saoudite	<u>Parties aériennes</u> <ul style="list-style-type: none"> ■ Quercétagétine-3,6,7-triméthyl éther 	Mossa et al., 1988
Egypte	<u>Feuilles et fleurs</u> <ul style="list-style-type: none"> ■ Quercétagétine-3,7-diméthyl éther ■ Quercétagétine-3,5,7-triméthyl éther ■ Quercétagétine-3,5,7,3'-tetraméthyl éther ■ Quercétine 3-glucoside ■ 3-glucuronide 	El Negoumy et al., 1982

Suite Tableau 6

Pays	Organes / Composants majeurs	Références
	B) Flavonoïdes	
	<p align="center"><u>Parties aériennes</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Quercétagétine-3,5,6,7,4' ■ 3,5,6,7,3'-pentaméthyl éther ■ Quercétagétine-3',4'-diméthyl éther 	Malek <i>et al.</i> , 1988
	<p align="center"><u>C) Dérivés du caryophyllène</u></p> <p align="center"><u>Parties aériennes</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 12-Hydroxy-5β-méthoxy-6(14)-déhydro-5,6-dihydrocaryophyllène-7-one ■ 12-Acetoxy-5β-méthoxy-6(14)-dèhydro-5,6-dihydrocaryophyllène-7-one ■ 12-Acetoxy-5α-méthoxy-6(14)-dèhydro-5,6-dihydrocaryophyllène-7-one ■ 5α,12-dihydroxy-5,6-dihydrocaryophyllène-7-one ■ 12-Acetoxy-7α,14-dihydroxy-5E-caryophyllène ■ 12-Acetoxy-14-méthoxy-5E-caryophyllène-7-one ■ <i>Bis</i>-[SZ-7-oxo-caryophyllène]-14-O-éther 	Hafez <i>et al.</i> , 1987

5. Resultats de l'activité antioxydante

a-Test du piégeage de radical libre DPPH

Le principe de ce test repose sur la capacité des extraits à réduire le radical libre DPPH de couleur violette en colleur jaune. Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (Merouane *et al.*, 2014). Les résultats obtenus du test DPPH de *P. arabica* sont assez considérables (Tableau 7) et ont révélé que l'extrait méthanolique est le plus efficace de valeur d'IC₅₀ (21,2 ± 0,12) µg/ml et proche du standard BHT standard (19,83 ± 0,3) µg/ml par apport l'EC (27,21 ± 0,04) µg/ml et l'EE (29,56 ± 0,04) µg/ml, cela est probablement dû à la teneur en polyphénols trouvés dans chaque extrait.

Tableau 7. Les valeurs IC₅₀ (µg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de *P. arabica* et du standard BHT dans le test de DPPH (*les valeurs IC₅₀ de l'HE sont en µL/ml ; les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± SD).

Types d'extraits			Huile essentielle (HE*)	BHT
Méthanol (EM)	Ethanol (EE)	Chloroform (EC)		
21,2 ± 0,12	29,56 ± 0,04	27,21 ± 0,04	44,05 ± 1,27	19,83 ± 0,3

b-Test de blanchissement du β-carotène

Le test du β-carotène/acide linoléique est une méthode utile pour évaluer l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique d'extraits de plante (Tableau 8). La présence d'antioxydant inhibe le blanchiment du β-carotène par les produits formés de l'oxydation de l'acide linoléique (Zouari *et al.*, 2011).

Dans la présente étude l'HE de *P. arabica* présenté une faible activité contrairement aux extraits méthanolique et éthanolique, mais ces derniers sont faibles aussi par rapport au BHT. Les composés phénoliques de cette espèce sont les responsables majeurs de ses potentialités antioxydantes. Cette activité ne dépend pas seulement de la concentration en composés phénoliques mais aussi de la structure et de l'interaction entre les différents composés antioxydants (Bettaieb *et al.*, 2017).

Tableau 8 : Les valeurs IC₅₀ (mg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de *P. arabica* et du standard BHT dans le test du blanchiment de β-carotène (*les valeurs IC₅₀ de l'HE sont en μL/ml ; les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± SD).

Types d'extraits			Huile essentielle (HE*)	BHT
Méthanol (EM)	Ethanol (EE)	Chloroforme (EC)		
1,60 ± 0,09	1,89 ± 0,07	2,18 ± 0,2	6,66 ± 0,37	0,092±0,005

6. Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE et des extraits EM, EE et EC de *P. arabica* est étudié *in vitro* par la méthode des disques et des puits de diffusion respectivement (Tableau 9). Méthode basée sur la mesure de diamètre d'inhibition autour des disques et des puits contenant les HE et les extraits respectivement de la plante étudiée vis-à-vis de 08 souches bactériennes et la levure *Candida albicans*.

D'après le Tableau 9, on remarque que les diamètres d'inhibition de l'HE varient entre 10 mm et 12 mm ; ce qui qualifie les bactéries sensibles à l'HE de *P. arabica* ; cela est confirmé par l'étude de (Djermane *et al.*, 2016), Les bactéries Gram-négatives sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram-positives.

La levure *Candida albicans* est sensible à l'extrait méthanolique, ce qui est confirmé aussi par (Djermane *et al.*, 2016).

Les activités les plus élevées ont été enregistrées avec l'extrait chloroformique contre les espèces à Gram positif, la plus grande surface d'inhibition a été observée pour *Staphylococcus aureus* clinique, suivie des staphylocoques de collection (Djermane *et al.*, 2017).

Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (15µL/disque) et EM, EE, EC (30µl/puit) de *P. arabica*. (les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± SD).

Bactéries / Levures	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Méthanol (EM)	Ethanol (EE)	Chloroforme (EC)	Huile essentielle (HE)
<i>Escherichia coli</i>	14,33 ± 0,29 ^a	12,67 ± 0,29 ^a	11,00 ± 0,29	12,00 ± 0,00 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14,17 ± 0,76	13,33 ± 0,29 ^b	14,00 ± 1,00 ^a	10,17 ± 0,29 ^{bc}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14,33 ± 0,58 ^a	15,50 ± 0,50	—	10,50 ± 0,50 ^{bc}
<i>Selmonella enterica</i>	13,00 ± 0,00 ^d	12,33 ± 1,04 ^a	—	12,00 ± 0,50 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	12,50 ± 0,50 ^d	10,50 ± 0,50 ^c	—	11,83 ± 0,29 ^a
<i>Proteus mirabilis</i>	14,83 ± 0,76 ^{abc}	13,17 ± 0,76 ^a	14,83 ± 0,29 ^a	10,50 ± 0,50 ^{bc}
<i>Staphylococcusepidermidis</i>	14,83 ± 0,76 ^{abc}	10,67 ± 0,58 ^c	15,67 ± 0,58	11,50 ± 0,50 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,76 ± 0,29 ^b	16,83 ± 0,58	9,00 ± 0,00	10,17 ± 0,58 ^c
<i>Candida albicans</i>	15,17 ± 0,29^c	13,33 ± 0,29 ^b	—	10,33 ± 0,76 ^c

(— : Pas d'inhibition)

Les moyennes suivies par la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes (P<0.05) selon le test de comparaisons multiples de Tukey.

Les valeurs des CMI et CMB de l'HE et des extraits EM, EE, EC de *P. arabica* sont représentés dans les tableaux 10 et 11 ; les bactéries testées paraissent plus sensibles à l'HE et les concentrations inhibitrices sont comprises entre 2,5 et 10 µl/ml. *Escherichia coli* est la plus sensible à l'HE de *P. arabica* avec une valeur de 2,5 µL/ml, puis 5µL/ml enregistrée avec *Selmonella enterica* et *Bacillus subtilis*, et 10 µl/ml pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*, et le reste des bactéries ont une CMI de 20 µL/ml.

Les valeurs de CMI de l'extrait méthanolique sont les plus efficaces et sont comprises entre 2,34 et 9,37 µg/ml, cependant celles de l'extrait éthanolique qui varient entre 9,37 et 37,5

Tableau 10 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE et des extraits EM, EE, EC de *P. arabica*.

Bactéries / Levure	CMI (mg/ml)		
	HE	EM	EE
<i>Escherichia coli</i>	2,5	4,68	37,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	9,37	37,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	9,37	18,75
<i>Selmonella enterica</i>	5	9,37	9,375
<i>Bacillus subtilis</i>	5	9,37	9,37
<i>Proteus mirabilis</i>	10	9,37	37,5
<i>Staphylococcusepidermidis</i>	10	2,34	18,75
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	4,68	9,37
<i>Candida albicans</i>	10	2,34	18,75

Tableau 11 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) et levuricide de l'HE et des extraits EM, EE, EC de *P. arabica*

Bactéries / Levure	CMB (mg/ml)		
	HE	EM	EE
<i>Escherichia coli</i>	20	18,75	125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 20	18,75	> 150
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 20	37,5	> 150
<i>Salmonella enterica</i>	> 20	37,5	125
<i>Bacillus subtilis</i>	> 20	37,5	> 150
<i>Proteus mirabilis</i>	> 20	37,5	125
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	9,37	125
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 20	18,75	125
<i>Candida albicans</i>	> 20	9,37	75

Apartir le tableau 11, on constate que 20 µl/ml de l'HE de *P. arabica* est bactériocide pour les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus epidermidis*. Mais les autres bactéries ont des valeurs bactériocide supérieures à 20µl/ml.

Les valeurs bactériocides de l'extrait méthanolique sont comprises entre 9,37 mg/ml et de 37,5 mg/ml. Cependant l'EE est un peu faible et vest de valeur 125 mg/ml pour les bactéries de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*. Le reste des bactéries ont des CMB supérieurs à 150 mg/ml.

7. Résultats de l'activité antifongique

Les résultats de la figure 8 montrent l'effet de l'HE et les extraits EM, EE et EC de *P. arabica* sur les moisissures testées *A. flavus*, *A. niger*, *Alt. alternata*, *P. expansum* et *C. herbarum* par l'utilisation de la méthode des disques de diffusion pour l'HE et la méthode des puits de diffusion pour les extraits pour les extraits on utilise les puits.

L'HE de *P. arabica* est plus efficace et possède une forte inhibition fongique avec des pourcentages d'inhibition variant entre 35,9% sur *A. niger* et 49,73% sur *A. flavus*.

Les trois extraits possèdent une inhibition considérable sur les moisissures et de degré de sensibilité est proche entre elles, sauf le champignon *Alt. alternata* qui paraît très sensible à tous les extraits avec des pourcentages d'inhibition élevés.

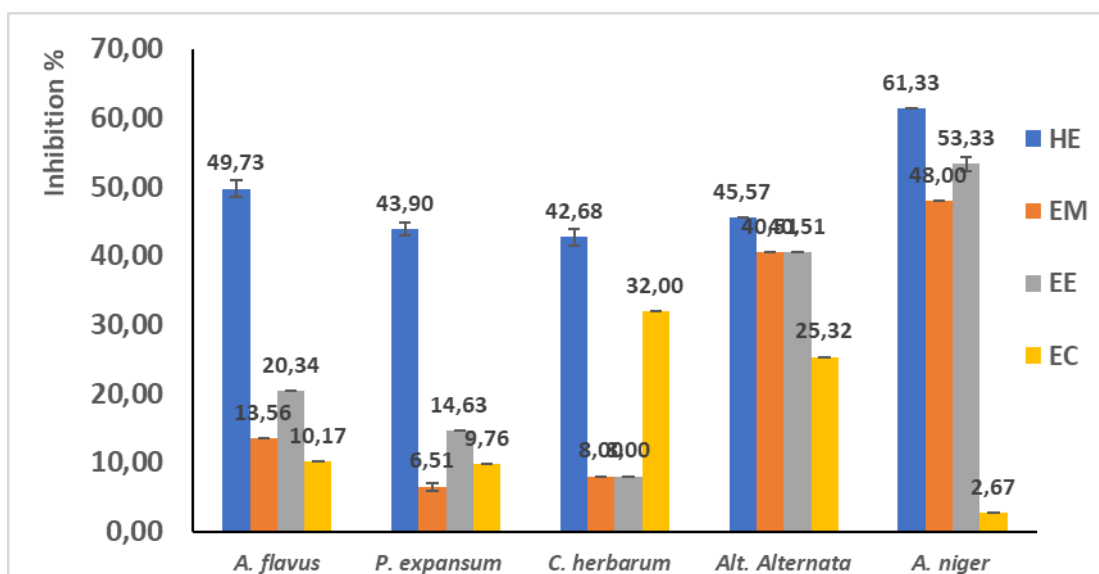


Figure 8 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures *A. flavus*, *A. niger*, *Alt. alternata*, *P. expansum*, *C. herbarum* provoqué par l'HE et EM, EE et EC de *P. arabica*. (Les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± D).

8. Résultats de l'activité insecticide

L'huile essentielle extraite de *P. arabica* s'est révélée toxique pour les trois espèces d'insectes testés dans cette étude (Tableau 2). En règle générale, la toxicité était significativement inférieure à celle caractérisant le contrôle positif, l'extrait de pyrèthre. Concernant les larves de 3^{ème} stade de *C. quinquefasciatus*, l'HE est efficace montrant une valeur CL₅₀ égale à 230,3 mg/L, sans chevauchement d'IC₉₅ avec une valeur de 228,6 mg/L. *P. arabica* avait une valeur CL₉₀ supérieur à 100 mg/L indiquant une activité insecticide acceptable (Pavela, 2015). La DL₅₀ calculée pour l'huile essentielle de *P. arabica* (193,3 µg/adulte) était significativement plus élevée. Globalement, pour supprimer 90% de la population de mouches domestiques avec l'huile essentielle de *P. arabica*, une DL₉₀ de 523,4 µg/adulte est nécessaire (Tableau 12). L'huile essentielle de *P. arabica* était peu toxique pour les larves de 3^{ème} stade de *S. littoralis*, avec une DL₅₀ < 100 µg/larve, tandis que la DL₉₀ est d'une valeur égale 131,3 µg de larve-1. Donc, l'huile essentielle de *P. arabica* montre une efficacité significativement inférieure par rapport à l'extrait de pyrèthre que nous avons testé comme contrôle positif (Tableau 12).

Bien que l'efficacité de l'huile essentielle que nous avons testée soit moyenne par rapport à certaines autres huiles essentielles (Palacios *et al.*, 2009 a,b), on peut supposer que même des doses sublétales peuvent avoir des conséquences fatales, par exemple contre les mouches, comme précédemment démontré pour les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. contenant du thymol

comme substance majeure. Des doses sublétales d'huiles essentielles de thym et de *Carlina acaulis* L. ont entraîné une réduction significative de la longévité et de la fécondité de *M. domestica*, l'exposition à l'huile de thym a également entraîné une diminution du poids des pupes, une mortalité élevée lors de la métamorphose et une très faible natalité F1 totale lorsque les femelles parentales avaient été exposées (Pavela, 2007 ; Pavela *et al.*, 2020).

Tableau 12. Efficacité insecticide des huiles essentielles (HEs) de *P. arabica*, sur les larves de *Culex quinquefasciatus*, *Spodoptera littoralis*, et les adultes de *Musca domestica*

Espèces d'insectes	Unité	CL ₅₀ /DL ₅₀ ± SE	IC ₉₅	CL ₉₀ /DL ₉₀ ± SE	IC ₉₅	X ²	p-value
<i>Culex quinquefasciatus</i> larve de 3 ^{ième} stade	mg L ⁻¹	230,3 ± 6,8	228,6-245,5	841,3 ± 87,6	729,9-953,9	4,077	0,133 n.s.
<i>Musca domestica</i> femelle adulte	µg adulte ⁻¹	193,3 ± 22,3	174,5-231,8	523,4 ± 17,5	498,3-597,8	0,801	0,671 n.s.
<i>Spodoptera littoralis</i> larve de 3 ^{ième} stade	µg larve ⁻¹	68,9 ± 4,9	59,3-72,9	131,3 ± 10,2	25,8-148,6	0,678	0,715 n.s.
Contrôle positif: extrait de pyrèthre							
<i>Culex quinquefasciatus</i> larve de 3 ^{ième} stade	mg/L	0,071 ± 0,001	0,068-0,73	0,095 ± 0,003	0,090-0,102	1,889	0,929 n.s.
<i>Musca domestica</i> femelle adulte	µg/adulte	3,98 ± 0,25	3,25-4,56	9,87 ± 0,85	8,79-11,56	2,145	0,845 n.s.
<i>Spodoptera littoralis</i> larve de 3 ^{ième} stade	µg/larve	5,83 ± 1,15	4,95-6,78	15,18 ± 1,12	12,35-17,12	1,285	0,529 n.s.

CL/DL₅₀ = Concentration Létale / Dose Létale tuant 50% de la population d'insectes exposés

CL/DL₉₀ = Concentration Létale / Dose Létale tuant 90% de la population d'insectes exposés

IC₉₅ = 95% Intervalle de Confiance / n.s. = non significatif (d.f. = 4, p > 0.05)

CHAPITRE V
RESULTATS ET DISCUSSIONS
COTULA CORONOPIFOLIA

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS DE *COTULA CORONOPIFOLIA*

1. Rendement en huile essentielle

L'HE obtenue par hydrodistillation des différentes parties aériennes de l'espèce *C. coronopifolia* est de rendement 0,1% (v/w), liquide visqueuse, de couleur marron avec une odeur forte.

Ce rendement est supérieur à celui obtenu par Kether *et al.*, (2012) des fleurs ($39,35 \times 10^{-3}$ %) de la même plante. Cela peut être expliqué par le fait que nous avons utilisé toute la partie aérienne (feuilles, tiges, fleurs).

Selon Fellah *et al.* (2006), la quantité en HE dépend aussi de la méthode d'extraction utilisée, de l'origine de la plante, et du cycle végétatif de la plante (la période pendant laquelle la plante est prête à être cueillie).

2. Rendement en extraits

Les caractères organoleptiques et le rendement moyen des extraits organiques obtenus par macération des parties aériennes de *C. coronopifolia* sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 13 : Caractères organoleptiques et le rendement en extraits organiques de *C. coronopifolia*

Extraits	Caractéristiques			Rendement (%)
	Aspect	Couleur	Odeur	
EM	Visqueux	Vert foncé	Faible	9,58
EE	Visqueux	Verte	Faible	6,13
EC	Très visqueux	Verte	Faible	2,4

Les résultats du tableau 13 montrent une variation du rendement d'extraction. On constate que, le rendement en l'extrait méthanolique (9,58%) est supérieur à celui de l'extrait éthanolique (6,13%) et également à celui de l'extrait de chloroforme (2,4%), ce dernier est le plus faible que les autres extraits. Cette variation de rendement des extraits peut être due à la nature du solvant choisi bien que la même méthode d'extraction utilisée.

3. Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux (TPT) et en flavonoïdes totaux (TFT) de l'HE et des trois extraits ; méthanolique (CcEM), éthanolique (CcEE), chloroforme (CcEC) de *C. coronopifolia*, ont été déterminées par les méthodes colorimétriques de Folin-Ciocalteu et de

trichlorure d'aluminium pour les TPT et TFT respectivement, en utilisant l'acide gallique et la quercitrine comme contrôles positifs standards pour les TPT et TFT respectivement.

On remarque des variations des quantités des TPT et TFT des trois extraits et l'HE de *C. coronopifolia* et on constate que la quantité de TPT de l'extrait éthanolique est la plus élevée (117,71 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$) par rapport à l'EM et l'EC qui sont respectivement 88,6 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ et 65,55 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$. L'HE représente la plus faible valeur en quantité en TPT (31,35 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$) et aussi en TFT (1,3 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$) (figure 9).

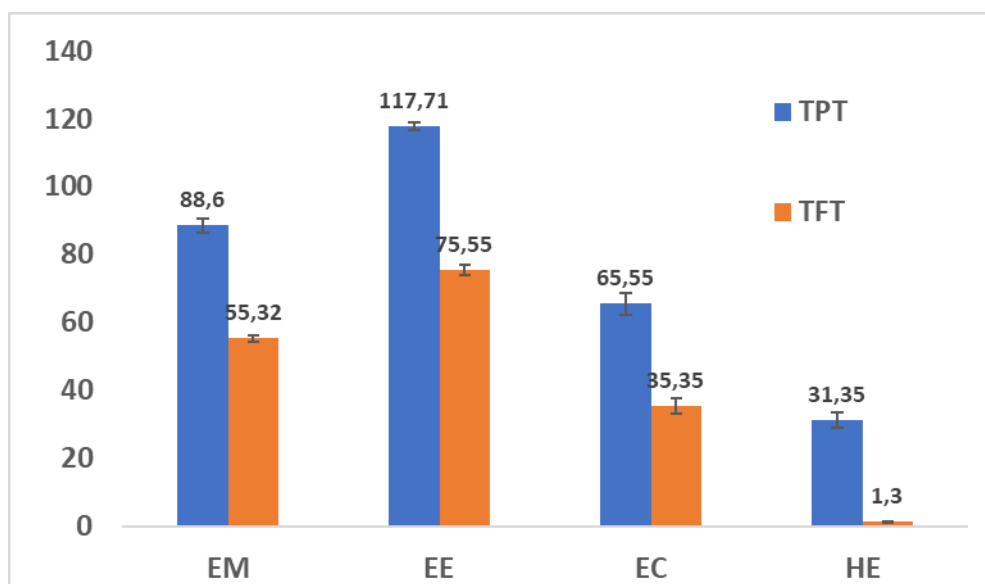


Figure 9 : les teneurs en TPT ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$) et en TFT ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$) des extraits EM, EE, EC et HE de *C. coronopifolia*. (Les résultats sont exprimés en moyenne ($n=3$) \pm SD).

4. Composition chimique de l'huile essentielle

Le tableau 14 présente la composition chimique de l'huile essentielle de *C. coronopifolia*. Au total, dix huit (18) composants volatils ont été identifiés, représentant 92,95% de l'ensemble des compositions. Le chromatogramme GC/MS de l'huile a révélé la présence de monoterpènes hydrocarbonés (0,46%), de sesquiterpènes hydrocarbonés (3,42%), de sesquiterpènes oxygénés (3,97%) et d'autres composés (85,19%). Les constituants majeurs étaient le 1-Pentadécène (55,31%) et isovalérate de néryl (12,74%).

Tableau 14 : Composition chimique d'HE des parties aériennes de *C. coronopifolia*

N°	Composé ^a	RI ^b	% ^c
1	Chrysanthénone	1122	0,46
2	α -Copaène	1374	0,14
3	cis-Verbénol,2-propionate de méthyle	1412	1,42
4	α -Humulène	1452	0,68
5	allo-aromadendrène	1458	2,37
6	Chrysantényle 2-butanoate de méthyle	1488	0,88
7	1-Pentadécène	1493	55,31
8	Silphiperfolan-7- β -ol	1519	0,77
9	(E)-Calaménène	1521	0,10
10	δ -Cadinène	1522	0,13
11	(E)-Nérolidol	1561	0,64
12	Angélate de bornyle	1564	0,52
13	Isovalérate de néryl	1582	12,74
14	<i>épi</i> - α -Cadinol	1638	1,59
15	8-bromo- α -néo Isolongifolène	1639	6,20
16	α -Cadinol	1652	0,97
17	Dihydro-aplotaxène	1664	1,38
18	(E)-11-Tétradécène-1-ol	1673	6,65
Total identifié (%)			92,95
Classes chimiques			
Monoterpènes oxygénés			0,46
Sesquiterpènes hydrocarbonés			3,42
Sesquiterpènes oxygénés			3,97
Autres			85,1

^a Les composés sont répertoriés selon leur ordre d'éluion à partir d'une colonne capillaire HP-5MS ; ^b indice de rétention linéaire calculé selon la formule de Van den Doll pour le programme de gradient de température ; ^cLa valeur est la moyenne de trois déterminations.

La composition de l'huile de *C. coronopifolia* a montré un profil différent à celui rapporté dans la littérature (Kether *et al.*, 2012). Seulement un travail cité dans la bibliographie sur l'huile essentielle de *C. coronopifolia* récoltée en Tunisie dont les résultats montrent que les composés les plus importants sont l'hexacosane (au niveau des fleurs) d'un pourcentage de 31,7 et le 1-eicosanol 17,1 dans la tige, et ceux identifiés dans les huiles de racines étaient l'heptacosane (28,4%), le 1-eicosanol (14,6%), l'octacosane (5,4%) et le γ -amorphène (5,2%). En outre, le 6-méthoxy-1-benzofuran-4-ol a été isolé de l'extrait de chloroforme de *C. coronopifolia* (Liouane *et al.*, 2012).

5. Résultats de l'activité antioxydante

a-Test du piégeage de radical libre DPPH

Les résultats du test DPPH de *C. coronopifolia* est assez considérable (Tableau 15) et ont révélé que l'HE à une activité antioxydante élevée de valeur égale à 3,65 µl/ml, tandis que les extraits EM, EE et EC sont variés avec des valeurs d'IC₅₀ 45,66µg/ml, 76,06µg/ml et 100,5µg/ml respectivement. Cette variation des valeurs peut être due à la forte teneur en polyphénols trouvés dans chaque extrait.

Ces résultats d'IC₅₀ sont considérables par rapport à l'IC₅₀ obtenue par Liouane *et al.* (2009) de l'extrait de pétrole et est de 0,15 mg/ml.

Tableau 15. Les valeurs IC₅₀ (µg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de *C. coronopifolia* et du standard BHT dans le test de DPPH (*les valeurs IC₅₀ de l'HE sont en µL/ml ; les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± SD).

Types d'extraits			Huile essentielle (HE*)	BHT
Méthanol (EM)	Ethanol (EE)	Chloroform (EC)		
45,63 ± 0,9	76,06 ± 0,4	100,5 ± 1,1	3,65 ± 0,09	19,83 ± 0,3

b-Test de blanchissement de β-carotène

Le test du β-carotène/acide linoléique est une méthode utile pour évaluer l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique d'extraits de plante (Tableau 16). La présence d'antioxydant inhibe le blanchiment du β-carotène par les produits formés de l'oxydation de l'acide linoléique (Zouari *et al.*, 2011). Dans la présente étude, l'HE de *C. coronopifolia* présente une forte activité du DPPH avec une valeur d'IC₅₀ de 3,65 µl/ml. Les extraits EM, EE et EC possèdent une activité considérable avec des valeurs de 45,63, 76,06 et 100,5 µg/ml respectivement.

Les composés phénoliques de cette espèce sont les responsables majeurs de ses potentialités antioxydantes. Cette activité ne dépend pas seulement de la concentration en composés phénoliques mais aussi de la structure et de l'interaction entre les différents composés antioxydants (Bettaieb *et al.*, 2017).

Tableau 16 : Les valeurs IC₅₀ (mg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE des *C. coronopifolia* et du standard BHT dans le test du blanchiment de β -carotène (*les valeurs IC₅₀ de l'HE sont en μ L/ml ; les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) \pm SD).

Types d'extraits			Huile essentielle (HE*)	BHT
Méthanol (EM)	Ethanol (EE)	Chloroform (EC)		
0,237 \pm 0,04 ^a	0,282 \pm 0,03 ^a	0,95 \pm 0,01	0,104 \pm 0,07	0,092 \pm 0,005

Les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0,05) selon le test de comparaisons multiples de Tukey.

6. Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE et des extraits EM, EE et EC de *C. coronopifolia* est étudiée *in vitro* par la méthode des disques et des puits de diffusion respectivement. Cette méthode est basée sur la mesure de diamètre d'inhibition autour des disques et des puits contenant les HE et les extraits respectivement de la plante étudiée vis-à-vis de huit 08 souches bactériennes et la levure *Candida albicans*.

D'après les résultats obtenus (Tableau 17), les diamètres d'inhibition se situent entre 10,17 et 12,33 mm ce qui qualifie les bactéries et les levures testées sensibles à l'HE. Notons un effet différent pour toutes les bactéries, où nous avons enregistré la valeur la plus élevée pour l'EM chez la levure *Candida* (14,33 mm), ainsi que (14 mm) pour les bactéries *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*.

Selon Liouane *et al.* (2009), Les extraits de *Cotula coronopifolia* sont plus actifs contre les bactéries Gram-positives que les bactéries Gram-négatives. Cette résistance plus élevée chez les bactéries Gram-négatives pourrait être due aux différences de membrane cellulaire de ces groupes bactériens

Tableau 17 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (15µL/disque) et EM, EE, EC (30µL/puit) de *C. coronopifolia*

Bactéries / Levures	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Méthanol (EM)	Ethanol (EE)	Chloroform (EC)	HE
<i>Escherichia coli</i>	11,00 ± 0,00 ^a	12,17 ± 0,29 ^a	—	12,17 ± 0,29 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,33 ± 0,76 ^{ab}	10,33 ± 0,29 ^c	13,00 ± 0,00	11,67 ± 0,58 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11,50 ± 0,50 ^a	12,00 ± 0,00 ^{ab}	—	10,33 ± 0,58 ^b
<i>Selmonella enterica</i>	13,17 ± 0,29 ^c	12,33 ± 0,58 ^a	—	12,33 ± 0,58 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	9,33 ± 0,58 ^b	9,83 ± 0,29 ^c	—	10,33 ± 0,58 ^b
<i>Proteus mirabilis</i>	13,67 ± 0,58 ^c	11,17 ± 0,29 ^b	11,00 ± 0,00	11,67 ± 0,58 ^a
<i>Staphylococcusepidermidis</i>	14,00 ± 0,50 ^c	11,67 ± 0,58 ^b	12,00 ± 0,00	10,17 ± 0,29 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,00 ± 0,00 ^c	11,50 ± 0,50 ^b	—	10,67 ± 0,58 ^b
<i>Candida albicans</i>	14,33 ± 0,29	16,00 ± 1,00	—	11,50 ± 0,50 ^a

— : Pas d'inhibition

Les moyennes suivies par la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes (P<0.05) selon le test de comparaisons multiples de Tukey.

Les valeurs des CMI et CMB de l'HE et des extraits EM, EE et EC de *C. coronopifolia* sont représentées dans les tableaux 18-19 respectivement. D'après le tableau des CMI, la majorité des bactéries testées semblent être plus sensibles à l'HE ; les concentrations inhibitrices sont comprises entre 5 et 20 µl/ml. En plus, les valeurs de CMI des deux extraits méthanolique et éthanolique sont plus efficaces et sont comprises entre 2,34 et 9,37 mg/ml.

Dans l'étude de Liouane *et al.* (2009), il est mentionné que l'extrait de pétrole présente une activité importante contre *Escherichia coli* (CMI=250µg/ml) et *Enterococcus faecalis* (CMI=125µg/ml).

Tableau 18 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de *C. coronopifolia*.

Bactéries / Levures	CMI (mg/ml)		
	HE	EM	EE
<i>Escherichia coli</i>	5	9,37	2,34
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	2,34	4,68
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	9,37	2,34
<i>Selmonella enterica</i>	5	9,37	4,68
<i>Bacillus subtilis</i>	10	9,37	2,34
<i>Proteus mirabilis</i>	5	4,68	9,37
<i>Staphylococcusepidermidis</i>	10	4,68	2,34
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	4,68	4,68
<i>Candida albicans</i>	5	2,34	4,68

D'après le tableau des CMB, on constate que la quantité de l'HE de *C. coronopifolia* nécessaire pour tuer les bactéries est supérieure à 10 µl/ml. En outre, les valeurs de CMB de l'extrait éthanolique sont les plus efficaces que celles de l'EM comprises entre 4,68 et 9,37 mg/ml, à l'exception de la bactérie *Proteus mirabilis* qui nécessite 18,75 mg/ml pour être tuée par l'EE. Concernant l'EM, les valeurs des CMB varient entre 4,68 mg/ml pour la bactérie *Klebsiella pneumoniae* et la levure *Candida albicans*, et est de 9,37 mg/ml pour les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus*, et enfin de 18,75 mg/ml pour le reste des bactéries.

Tableau 19 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) et levuricide de l'HE et des extraits EM, EE, EC de *C. coronopifolia*.

Bactéries / Levure	CMB (mg/ml)		
	HE	EM	EE
<i>Escherichia coli</i>	> 10	18,75	4,68
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>10	4,68	9,37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 10	18,75	4,68
<i>Selmonella enterica</i>	> 10	18,75	9,37
<i>Bacillus subtilis</i>	> 10	18,75	9,37
<i>Proteus mirabilis</i>	> 10	18,75	18,75
<i>Staphylococcusepidermidis</i>	> 10	9,37	4,68
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 10	9,37	9,37
<i>Candida albicans</i>	> 10	4,68	9,37

7. Résultats de l'activité antifongique

Les résultats de la figure 10 montrent l'effet de l'HE et les extraits EM, EE et EC de *C. coronopifolia* sur les moisissures *A. flavus*, *A. niger*, *Alt. alternata*, *P. expansum* et *C. herbarum* par l'utilisation de la méthode des disques de diffusion pour l'HE et la méthode des puits de diffusion pour les extraits.

Les résultats obtenus montrent que l'HE de *C. coronopifolia* a provoqué une inhibition très importante sur toutes les moisissures testées avec un pourcentage d'inhibition qui varie de 51,98% à 73,79%. On constate que, l'extrait méthanolique, avec des pourcentages d'inhibitions compris entre 44,07% et 78,22% est le plus efficace par rapport à l'extrait éthanolique qui est en deuxième position avec des valeurs comprises entre 15,82% et 57,78%, et le dernier extrait chloroformique avec des faibles pourcentages par rapport aux extraits précédents qui varient entre 6,78% et 48%.

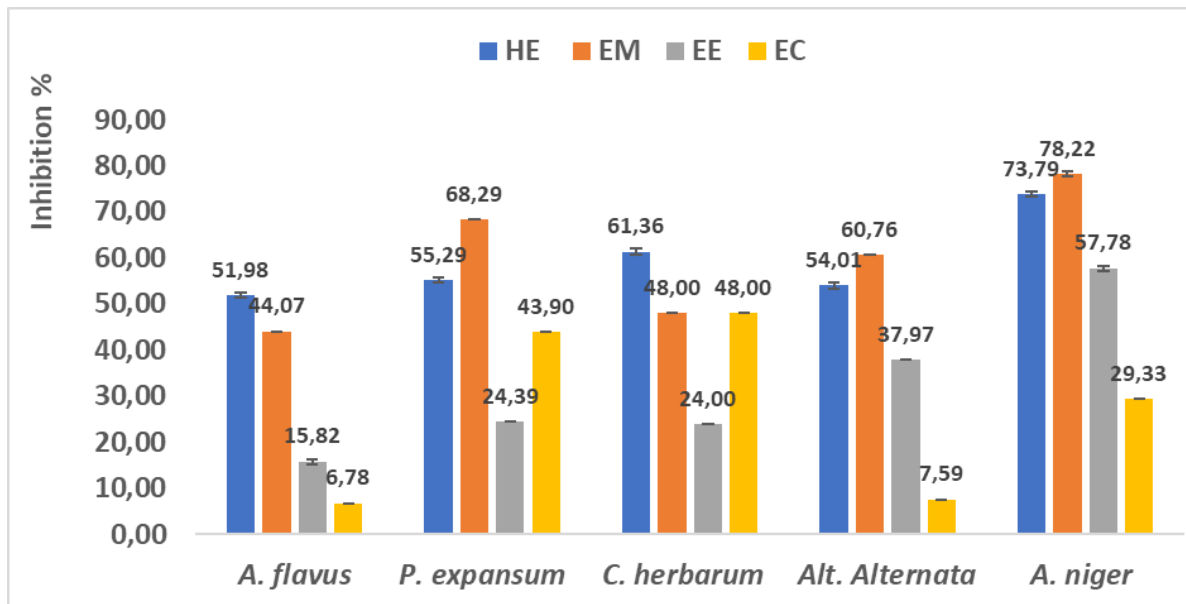


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures *A. flavus*, *A. niger*, *Alt. alternata*, *P. expansum*, *C. herbarum* provoqué par l'HE et (EM, EE et EC) de *C. coronopifolia*. (Les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) \pm SD).

8. Résultats de l'activité insecticide

Dans cette étude, nous avons décrit l'efficacité acaricide et ovicide de l'huile essentielle extraite de *C. coronopifolia* $DL_{50} = 23,1 \text{ mg.cm}^{-2}$ (Tableau 1) contre *Tetranychus urticae* introduites dans les feuilles d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). Concernant la ponte et de l'éclosion des œufs de *T. urticae*, l'HE est plus efficace avec une valeur CL_{30} (pendant 96h) égale à $3,3 \text{ mg.cm}^{-2}$ (Tableau 20). Les femelles adultes introduites dans les feuilles d'haricot 96 heures après l'application d'HE ont pondu significativement moins d'œufs par rapport au témoin (Tableau 21). L'efficacité d'HE la plus élevée a été observée ($0,9 \pm 0,1$) dont le nombre significativement plus faible de nymphes et d'œufs a été trouvé sur les plantes traitées en un jour après l'application. Cependant, il est également probable que les doses mortelles et sublétales d'HEs ou d'extraits de plantes peuvent entraîner une diminution significative de la fertilité ou modifier le comportement des acariens dans une telle mesure (Mansour *et al.*, 1986; Attia *et al.*, 2013) que leur nombre dans la zone traitée diminue considérablement, de la même manière que les autres espèces nuisibles (Pavela, 2007, 2013; Pavela et Vrchotova, 2013). Sur la base de notre test, l'HE de l'espèce *C. coronopifolia* peut être considéré comme source très prometteur pour le développement de nouveaux acaricides botaniques.

Tableau 20. Toxicité d'huile essentielle de *C. coronopifolia* sur la femelle *T. urticae*

Temps	DL ₅₀	IC ₉₅	DL ₉₀	IC ₉₅	X ²	p-value
24 h	23,1	19,8-39,5	280,5	201,1-325,6	0,253	0,092
96 h	4,8	3,6-5,5	12,2	10,8-15,6	0,128	0,127

DL₅₀₍₉₀₎ en mg.cm⁻² causant 50% (90%) de mortalité des femelles *T. urticae*

IC₉₅ indique les intervalles de confiance, l'activité du composé est considérée comme significativement différente lorsque l'IC à 95% ne se chevauche pas / Non significatif (n.s.) au niveau $P > 0,05$.

Tableau 21 : Influence des doses sublétales d'huile essentielle de *C. coronopifolia* sur l'inhibition de la ponte et de l'éclosion des œufs *T. urticae*

Huile essentielle	Dose utilisée (CL ₃₀) en mg/cm ²	Nombre moyen d'œufs par femelle (96 heures après l'application)	Pourcentage d'éclosibilité des œufs	Nombre moyen de nymphes écloses par femelle et par jour	Réduction de la fertilité par rapport au contrôle (%)
<i>C. coronopifolia</i>	3,3	2,6±0,3	37,3±3,6	0,9±0,1	83,3±4,1
Contrôle	0,0	5,9±0,4	91,9±2,7	5,4±0,2	-
ANOVA* (Df, F-value, P-level)	-	6,21; 873,6; 0,000	6,21; 410,7; 0,000	6,21; 1285,5; 0,000	5,18; 274,9; 0,000

CHAPITRE VI
RESULTATS ET DISCUSSIONS
NOLLETIA CHRYSOCOMOIDES

1. Rendement en huile essentielle

L'HE obtenue par hydrodistillation des différentes parties aériennes de l'espèce *N. chrysocomoides* est de rendement 0,2% (v/w), liquide visqueuse, de couleur jaune avec une odeur forte.

2. Rendement en extraits

Les résultats obtenus (Tableau 22) montrent une variation de rendement d'extraction. On constate que le rendement en extrait méthanolique (11,22%) est supérieur à celui en extrait éthanolique (7,58%) et également à celui chloroformique (2,02%) ; ce dernier est le plus faible.

Cette variation de rendement en extraits peut être due à la nature du solvant choisi et ses caractéristiques.

Tableau 22 : Caractères organoleptiques et le rendement des extraits organiques.

Extrait	Aspect	Couleur	Odeur	Rendement en (%)
EM	Visqueux	Verte	Forte	11,22
EE	Visqueux	Verte	Forte	7,58
EC	Très visqueux	Verte	Faible	2,02

3. Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux (TPT) et en flavonoïdes totaux (TFT) de l'HE et des trois extraits méthanolique (EM), éthanolique (EE), chloroforme (EC) de *N. chrysocomoides* ont été déterminées par les méthodes colorimétriques de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium pour les TPT et TFT respectivement, en utilisant l'acide gallique et la quercitine comme contrôles positifs standards pour les TPT et TFT respectivement. D'après les résultats illustrés dans la figure 11. On constate qu'il existe des variations graduées dans la quantité des phénol TPT de *N. chrysocomoides*, où nous avons enregistré la plus grande valeur à pour l'extrait de méthanol, puis pour l'extarit de l'éthanol, puis pour l'extrait de chloroforme, et enfin pour l'huile avec des valeurs de 158,82 µg EAG/ml, 105,48 µg EAG/ml, 70,36 µg EAG/ml et 25,21 µg EAG/ml respectivement. La même graduation des teneurs en flavonoïdes est enregistrée 110,34 µg EQ/ml ; 75,36 µg EQ/ml ; 39,26 µg EQ/ml et le dernier avec la plus faible teneur égale à 1,49 µg EQ/ml.

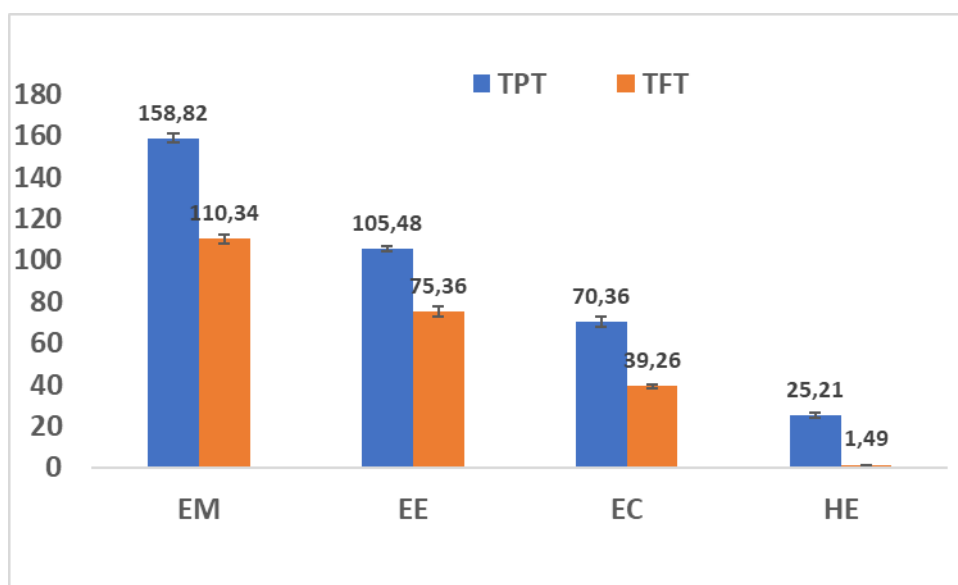


Figure 11. Teneurs en TPT et en TFT des extraits EM, EE et HE de *N. chrysocomoides*. (Les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) \pm SD).

4. Composition chimique de l'huile essentielle

Le tableau 23 présente la composition chimique de l'huile essentielle de *N. chrysocomoides*. Au total, vingt-cinq (25) composants volatils ont été identifiés, représentant 97,2% de l'ensemble des compositions. Le chromatogramme GC/MS de l'huile a révélé la présence de sesquiterpènes oxygénés (59,81%), de sesquiterpènes hydrocarbonés (39,29%) et d'autres composés (0,1%). Les constituants majeurs étaient le α -Cadinol (25,86%), δ -Cadinène (25,6%), *épi*- α -Cadinol et *épi*- α -Muurolol (22,73%). Vu le manque des études bibliographiques disponibles sur les huiles essentielles sur le genre *Nolletia*, ainsi que l'espèce *N. chrysocomoides* une comparaison est impossible à faire. Bref, ce travail est considéré comme originale à l'échelle nationale et régionale sur la valorisation de cette plante sur le plan phytochimique et activités biologiques.

Tableau 23 : Composition chimique d'HE des parties aériennes de *Nolletia chrysocomoides*

N°	Composé ^a	RI ^b	% ^c
1	α -Copaène	1367	t
2	α -Gurjunène	1398	0,10
3	(Z)-Cadina-1(6),4-diène	1450	0,16
4	Dauca-5,8-diène	1462	0,18
5	γ -Muuroloène	1465	0,58
6	Amorpha-4,7(11)-diène	1470	3,18
7	(E)-Muurolo-4(14),5-diène	1476	0,33
8	δ -Selinène	1478	0,91
9	<i>épi</i> -Cubébol	1481	0,26
10	α -Muuroloène	1488	3,57
11	γ -Cadinène	1499	2,16

Suite Tableau 23

N°	Composé ^a	RI ^b	% ^c
12	δ-Cadinène	1511	25,6
13	α-Cadinène	1524	0,42
14	α-Calacorène	1528	0,10
15	β-Calacorène	1549	t
16	Germacrène D-4-ol	1561	7,55
17	1,10-di-épi-Cubénol	1600	0,13
18	1-épi-Cubénol	1614	0,50
19	épi-α-Cadinol, épi-α-Muurolol	1628	22,73
20	α-Muurolol	1634	2,79
21		1643	25,86
22	(Z)-Calaménène-10-ol	1646	t
23	(E)-Calaménène-10-ol	1656	t
24	(3Z)-Phtalide de butylidène	1663	t
25	Oplopanone	1724	t
Total identifié (%)			97,2
Classes chimiques			
Sesquiterpènes hydrocarbonés			37,29
Sesquiterpènes oxygénés			59,81
Autres			0,1

^a Les composés sont répertoriés selon leur ordre d'élu­tion à partir d'une colonne capillaire HP-5MS ; ^b indice de rétention linéaire calculé selon la formule de Van den Doll pour le programme de gradient de température ; ^c La valeur est la moyenne de trois déterminations ; t : traces (< 0,1%).

5. Résultats de l'activité antioxydante

a-Test du piégeage de radical libre DPPH

Nos résultats (Tableau 24) ont montré que les extraits des parties aériennes de *N. chrysocomoides* ont un pouvoir piégeur du radical libre DPPH assez important comparable à celui du BHT. En plus, ils présentent des variations graduées selon l'ordre l'EM > l'EE > l'EC avec des valeurs de 23,72 mg/ml ; 29,4 mg/ml et 46,67 mg/ml respectivement. L'HE a montré une activité de piégeage du DPPH très importante avec une d'IC₅₀ égale à 18,8 µl/ml.

Tableau 24 : Les valeurs IC₅₀ (µg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de *N. chrysocomoides* et du standard BHT dans le test de DPPH (*les valeurs IC₅₀ de l'HE sont en µL/ml ; les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± SD).

Extrait Methanolique (EM)	Extrait Ethanologique (EE)	Extrait Chloroformique (EC)	Huile essentielle (HE*)	BHT
23,72 ± 0,69	29,4 ± 0,65	46,67 ± 1,23	18,80 ± 0,18	19,83 ± 0,3

b-Test de blanchissement du β -carotène

Le test du β -carotène/acide linoléique est une méthode utile pour évaluer l'activité inhibitrice de la peroxydation lipidique d'extraits de plantes. La présence d'antioxydant inhibe le blanchiment du β -carotène par les produits formés de l'oxydation de l'acide linoléique (Zouari *et al.*, 2011). D'après les résultats (Tableau 25), l'HE à un effet significatif avec inhibition d'IC₅₀ égale 0,298 μ L/ml. Les trois extraits EC, EE et EM possèdent un effet considérable par rapport au standard BHT (IC₅₀: 0,092 mg/ml) avec des IC₅₀: 0,13 mg/ml ; 0,3 mg/ml et 0,4 mg/ml respectivement.

Tableau 25 : Les valeurs IC₅₀ (mg/ml) de l'EE, l'EM, l'EC et de l'HE de *N. chrysocomoides* et du standard BHT dans le test du blanchiment de β -carotène. (*les valeurs IC₅₀ de l'HE sont en μ L/ml ; les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) \pm SD).

Extrait Methanolique (EM)	Extrait Ethanolique (EE)	Extrait Chloroformique (EC)	Huile essentielle (HE*)	BHT
0,4 \pm 0,07	0,30 \pm 0,04	0,13 \pm 0,09	0,298 \pm 0,02	0,092 \pm 0,005

Les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05) selon le test de comparaisons multiples de Tukey.

6. Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE et des extraits de *N. chrysocomoides* est étudiée *in vitro* par la méthode des disques et des puits de diffusion respectivement. Cette méthode est basée sur la mesure de diamètre d'inhibition autour des disques et des puits contenant les HE et les extraits respectivement de la plante étudiée vis-à-vis de 8 souches bactériennes et une levure *Candida albicans*. Le tableau 26 regroupe les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition de l'HE et des différents extraits de la partie aérienne de l'espèce *N. chrysocomoides*. On remarque que, les diamètres d'inhibition varient entre 9 et 14 mm pour l'HE et les extraits.

Tableau 26 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de l'HE (10 μ L/disque) et EM, EE, EC (30 μ L/puit) de *N. chrysocomoides*. (les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) \pm SD).

Bactéries / Levures	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	HE	EM	EE	EC
<i>Escherichia coli</i>	11,83 \pm 0,29	11,33 \pm 0,29 ^b	11,83 \pm 0,29 ^b	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,17 \pm 0,29 ^a	10,67 \pm 0,58 ^c	11,17 \pm 0,76 ^{ab}	13,00 \pm 0,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,67 \pm 0,58 ^a	12,00 \pm 0,00^a	11,19 \pm 0,29 ^a	—
<i>Selmonella enterica</i>	10,50 \pm 0,50 ^b	11,67 \pm 0,29 ^c	14,50 \pm 0,50	—
<i>Bacillus subtilis</i>	11,17 \pm 0,29 ^c	10,50 \pm 0,50 ^c	12,33 \pm 0,29	—
<i>Proteus mirabilis</i>	10,50 \pm 0,50 ^{cd}	11,33 \pm 0,29 ^b	11,33 \pm 0,29 ^a	11,00 \pm 0,00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10,33 \pm 0,58 ^b	11,83 \pm 1,00 ^a	12,83 \pm 0,76 ^c	12,00 \pm 0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,17 \pm 0,29 ^b	11,00 \pm 0,50 ^c	13,50 \pm 0,50^{cd}	—
<i>Candida albicans</i>	10,17 \pm 0,76 ^{ad}	11,67 \pm 0,50^{ab}	13,83 \pm 0,29^d	—

— : Pas d'inhibition

Les moyennes suivies par la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différentes (P<0.05) selon le test de comparaisons multiples de Tukey.

Le tableau 27 représente les valeurs de CMI de l'HE et les deux extraits (méthanolique et éthanolique) de *N. chrysocomoides*. On constate que, les valeurs de CMI pour l'HE varient entre 5 et 20 µl/ml, où nous avons enregistré la forte valeur de 5µL /ml deux bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*) et la valeur de 10 µL/ml pour les bactéries (*Selmonella enterica*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*).

Les valeurs de CMI pour l'extrait méthanolique sont variées entre 37,5 mg/ml pour *Klebsiella pneumoniae*, *Selmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus epidermidis*, et 75 mg/ml pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. La même variation de 37,5 mg/ml et 75 mg/ml est signalée pour l'extrait éthanolique.

Tableau 27 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'HE et des extraits EM et EE de *N. chrysocomoides*.

Bactéries / Levure	CMI (µg/ml)		
	HE	EM	EE
<i>Escherichia coli</i>	5	75	75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	37,5	75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	75	75
<i>Selmonella enterica</i>	10	37,5	37,5
<i>Bacillus subtilis</i>	10	37,5	75
<i>Proteus mirabilis</i>	5	37,5	75
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	37,5	75
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	75	75
<i>Candida albicans</i>	20	37,5	37,5

Les valeurs de CMB de l'HE et les deux extraits méthanolique et éthanolique sont représentées dans le tableau 28. D'après ces résultats on constate que la valeur d'HE de 20µl/ml est bactéricide pour les deux bactériés *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*, mais les autres bactéries elle est supérieure à 20µL/ml. Les valeurs bactéricides des extraits EE et EM varient entre 125 mg/ml et 150 mg/ml.

On constate que la valeur de 125 mg/ml de l'EE est bactéricides pour les trois bactéries à Gram négatif *Escherichia coli*, *Selmonella enterica* et *Proteus mirabilis*, et sur les deux bactériés Gram positif *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*. Pour le reste des bactériés, la CMB est supérieure à 150 mg/ml. Pour l'EM on remarque la valeur de 150 mg/ml est bactéricide pour deux bactériés *Escherichia coli* et *Staphylococcus epidermidis*, mais supérieure à de 150 mg/ml pour le reste des bactéries.

Tableau 28 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) et levuricide de l'HE et des extraits (EM, EE, EC) de *N. chrysocomoides*

Bactéries / Levure	CMB (mg/ml)		
	HE	EM	EE
<i>Escherichia coli</i>	20	150	125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 20	> 150	> 150
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 20	> 150	> 150
<i>Salmonella enterica</i>	> 20	> 150	125
<i>Bacillus subtilis</i>	> 20	> 150	> 150
<i>Proteus mirabilis</i>	20	> 150	125
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 20	150	125
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 20	> 150	125
<i>Candida albicans</i>	> 20	> 150	75

7. Résultats de l'activité antifongique

D'après les résultats de la figure 12 qui représente le pouvoir inhibiteur de l'HE et les extraits EM, EE et EC de l'espèce *N. chrysocomoides* sur les moisissures testées, on constate que, l'extrait éthanolique est le plus efficace, et qui donne une forte inhibition sur tous les champignons avec une inhibition maximale sur *A. niger* atteindre 79,12%, et minimale sur le champignon *C. herbarum* par rapport les autres extraits qui sont assez importants. L'HE donne une inhibition sur toutes les moisissures avec des pourcentages variant entre un minimum 29,29% sur *P. expansum* et la maximum 56% sur *C. herbarum*. L'EC donne une inhibition forte sur *C. herbarum* avec un taux de 64% d'inhibition. Cette valeur est la plus élevée comparé par rapport aux autres. Cette plante est la plus faible dans son pouvoir fongicide par rapport à *P. arabica* et *C. coronopifolia*.

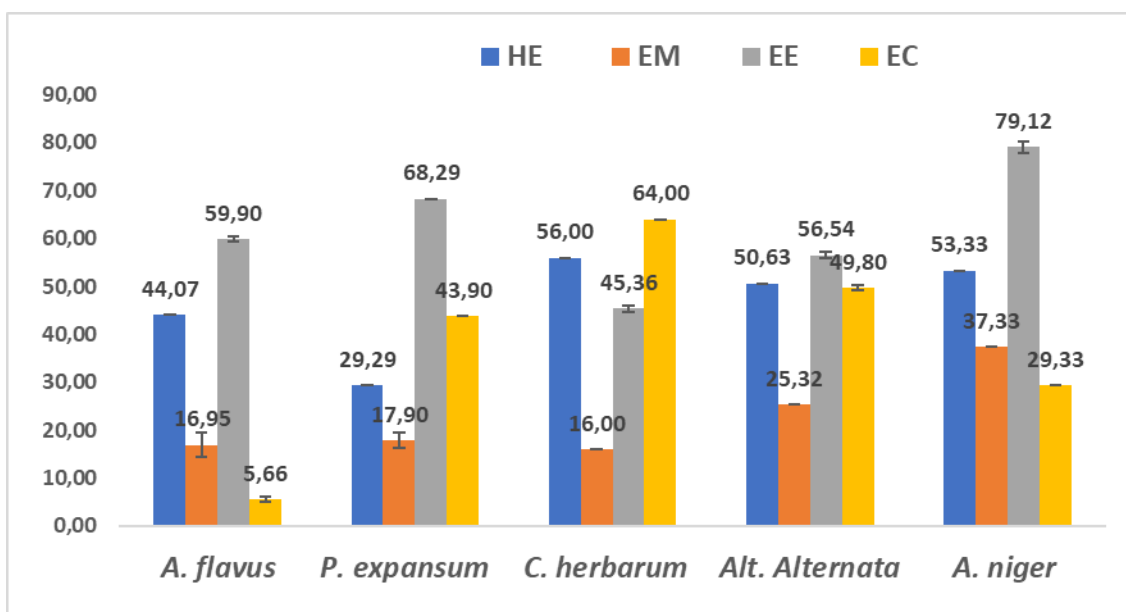


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures *A. flavus*, *A. niger*, *Alt. alternata*, *P. expansum*, *C. herbarum* provoqué par l'HE et les extraits EM, EE et EC de *N. chrysocomoides*. (Les résultats sont exprimés en moyenne (n=3) ± D).

8. Résultats de l'activité insecticide

Cette étude décrit l'efficacité acaricide et ovicide de l'huile essentielle extraite de *N. chrysocomoides*, obtenue d'une $DL_{50} = 10,1 \text{ mg.cm}^{-2}$ (Tableau 1) à partir des feuilles d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) contre *Tetranychus urticae*. L'huile essentielle extraite de l'espèce *N. chrysocomoides* était toxique pour *T. urticae* testée. Concernant la ponte et de l'éclosion des œufs de *T. urticae*, l'huile essentielle était efficace avec une valeur CL_{30} (pendant 96h) de $10,1 \text{ mg.cm}^{-2}$ (Tableau 29). Les femelles adultes introduites dans les feuilles d'haricot 96 heures après l'application d'HE ont pondu significativement moins d'œufs par rapport au témoin (Tableau 30). L'efficacité d'HE est plus élevée ($1,6 \pm 0,1$), car un nombre significativement plus faible de nymphes et d'œufs a été trouvé sur les plantes traitées en un jour après l'application. Cependant, il est également probable que les doses mortelles et sublétales d'HE ou d'extraits de plantes peuvent entraîner une diminution significative de la fertilité ou modifier le comportement des acariens dans une telle mesure (Mansour *et al.*, 1986 ; Attia *et al.*, 2013) que leur nombre dans la zone traitée diminue considérablement, de la même manière que les autres espèces nuisibles (Pavela, 2007, 2013 ; Pavela et Verchotova, 2013). Sur la base de notre test, l'HE de *N. chrysocomoides* peut être considéré comme source très prometteur pour le développement de nouveaux acaricides botaniques.

Tableau 29. Toxicité d'huile essentielle de *N. chrysocomoides* sur la femelle *T. urticae*

Temps	DL ₅₀	IC ₉₅	DL ₉₀	IC ₉₅	X ²	p-value
24 h	>100	-	-	-	-	-
96 h	10,1	7,3-12,8	107,6	98,5-148,9	0,295	0,862

DL₅₀₍₉₀₎ en mg.cm⁻² causant 50% (90%) de mortalité des femelles *T. urticae*

IC₉₅ indique les intervalles de confiance, l'activité du composé est considérée comme significativement différente lorsque l'IC à 95 % ne se chevauche pas,

non significatif (n.s.) au niveau $P > 0,05$.

Tableau 30 : Influence des doses sublétales d'huile essentielle de *N. chrysocomoides* sur l'inhibition de la ponte et de l'éclosion des œufs *T. urticae*

Huile essentielle	Dose utilisée (CL ₃₀) en mg/cm ²	Nombre moyen d'œufs par femelle (96 heures après l'application)	Pourcentage d'éclosibilité des œufs	Nombre moyen de nymphes écloses par femelle et par jour	Réduction de la fertilité par rapport au contrôle (%)
<i>N. chrysocomoides</i>	3,8	2,1±0,2	74,0±9,8	1,6±0,1	70,3±6,2
Contrôle	0,0	5,9±0,4	91,9±2,7	5,4±0,2	
ANOVA* (Df, F-value, P-level)		6,21; 873,6; 0,000	6,21; 410,7; 0,000	6,21; 1285,5; 0,000	5,18; 274,9; 0,000

CONCLUSION

CONCLUSION

Le présent travail avait pour but de faire une continuité aux études qui traitent la valorisation du patrimoine végétal de la région de M'sila ; le dosage des principes actifs les plus importants des plantes retenues pour cette étude qui sont : *P. arabica*, *C. coronopifolia* et *N. chrysocomoides*, à savoir la teneur en composés phénoliques, le rendement en huiles essentielles, en extrait éthanoliques, méthanoliques et chloroformiques. Notre étude a aussi permis d'évaluer les activités biologiques de ces plantes, à savoir les activités antioxydante, antibactérienne, antifongique et insecticide.

Les rendements des huiles essentielles des plantes étudiées sont faibles, ainsi, l'ordre de grandeur des rendements en huile essentielle, se présente comme suit : *P. arabica* > *N. chrysocomoides* > *C. coronopifolia*.

Au total, 35 composants volatils ont été identifiés pour l'huile essentielle de *P. arabica*, représentant 93,2% de l'ensemble des compositions. Les constituants majeurs sont l'*épi- α -cadinol* (23,9%), le *δ -cadinène* (21,1%) et le *α -cadinol* (19,8%). Pour *C. coronopifolia*, 18 composés ont été identifiés, représentant 92,95% de l'huile totale. Les constituants majeurs ont été identifiés comme le 1-Pentadécène (55,31%) et l'Isovalérate de néryl (12,74%). En fin, pour l'huile essentielle de *N. chrysocomoides*, un total de 25 composants volatils, représentant 97,2% de la composition totale, ont été entièrement caractérisés et regroupés en trois classes, à savoir : sesquiterpènes hydrocarbonés, sesquiterpènes oxygénés et autres composés. Les composés majeurs étaient le *α -Cadinol* (25,86%), *δ -Cadinène* (25,6%), *épi- α -Cadinol* et *épi- α -Muurolol* (22,73%).

L'activité antimicrobienne des HEs a été estimée qualitativement sur 8 souches microbiennes par la technique de diffusion des disques sur gélose puis quantitativement en déterminant la CMI et CMB. En parallèle, l'effet antioxydant des HE a été testé par la technique du DPPH et par le test du blanchiment du β -carotène/acide linoléique. L'extrait méthanolique de chaque plante présente une forte activité antiradicalaire, est la plus importante en utilisant le test de piégeage du radical libre DPPH supérieur que l'extrait éthanolique et chloroformique. Le test antimicrobien a montré une activité allant de la résistance à la sensibilité sur l'ensemble des souches testées. Les valeurs des CMI les plus prometteuses sont celles des huiles de *P. arabica* avec des valeurs CMI variées entre 2,5 μ L/ml et 10 μ L/ml. Par contre l'huile de *C. coronopifolia* et *N. chrysocomoides* varie entre 5 μ L/ml et 20 μ L/ml ; les HEs et les extraits montrent une forte

inhibition fongique, est la plus importante, et est enregistré dans l'extrait éthanolique de *N. chrysocomoides* avec une valeur de 79,12%.

L'activité insecticide montre que les huiles essentielles de *C. coronopifolia* et *N. chrysocomoides* sont plus efficace avec une valeur LC_{30} de 3,3 mg cm^{-2} et de 3,8 mg cm^{-2} respectivement, qui sont prometteuse pour le développement de plantes car le pourcentage d'éclosibilité des œufs et le nombre moyen de nymphes éclosés par femelle et par jour est considérable et que le rendement de fertilité est de 70,3 pour *N. chrysocomoides* et 83,3 pour *C. coronopifolia*. Par contre l'huile essentielle de *P. arabica* est moins efficace.

Au terme de ce travail, nous espérons avoir contribué à la valorisation des composés bioactifs de la région du Hodna, entre autres, les trois espèces retenues pour cette étude que se soit sur le plan phytochimique ou bioactivités des huilles essentielles (valorisation est difficile, car les rendements sont très faible), par contre l'extrait éthanolique présente des résultats prometteuses sur l'inhibition de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (à divelloper avec d'autres techniques).

Toutefois, les résultats de cette étude ne constituent qu'une ébauche mais suffisante pour être une base scientifique dans le domaine de recherche phytochimlique. Les persepectives à envisager est d'étudier la toxicité des extraits et faire des travaux sur le modele animale (*in vivo*) pour déterminer les doses thérapeutiques. Aussi, tester d'autres activités biologiques comme l'activité antidiabétique et anti inflammatoire et immunomodulatrices.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide, *J. Econ. Entomol.*, 18: 265-267.
- Abdallah H.M., Asfour H.Z., El Halawany A.M., Elfaky M.A. (2018). Saudi plants as a source of potential β -lactamase inhibitors, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 31(1): 325-332.
- Abed N.E. Harzallah-Skhiri F., Boughalleb N. (2010). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. from Tunisia, *Agric Segment*, 11: 530-534.
- Adams R.P. (2001). Identification of essential oil components by gaz chromatography / quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream.
- Adams R.P. (2007). Identification des composants des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. 4^{ème} Ed. Carol Stream (IL): Allured Publishing Corporation.
- AFNOR (1986). Recueil des normes françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris (France), 57p.
- Ajaib M., Mati-ur-Rehman A., Mohammed Khan K., Perveen S. (2015). *Pulicaria undulata*: A potential phytochemical, antimicrobial and antioxidant source, *Journal Chemical Society of Pakistan*, 37(3):559-566
- Algabr M.N., Mekkiou R., Ameddah S., Menad A., Boumaza O., Seghiri R., Benayache F. Antioxidant activities from the aerial parts of *Pulicaria jaubertii* (2010), *Adv Nat Appl Sci*, 4: 63-71.
- Ali S.A. (2011). Natural products as therapeutic agents for schistosomiasis. *Res. J. Med. Plant.*, 5: 1-20.
- Amber K., Shiman M., and Badiavas E. (2013). 'The Use of Antioxidants in Radiotherapy Induced Skin Toxicity', *Integr Cancer Ther.* 13(1).
- Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Esin K.S., Altun M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II) meocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method, *Free Radical Research*, 39(9): 949-961.
- Assmann KE., Adjibade M., Herberg S., Galan P., Kesse-Guyot E. (2019). Les apports en acides gras insaturés au milieu de la vie sont positivement associés au fonctionnement cognitif mesuré 13 ans plus tard, avec un effet modulateur d'une supplémentation en antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 33(1): 33.
- Atere T.G., Akinloye O.A., Ugbaja R.N., Ojo D.A., Dealtry G., (2018). *In vitro* antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* Leaf. *Food Science and Human Wellness*, 10: 1016.

- Attia S., Grissa K.L., Lognay G., Bitume E., Hance T., Mailleux A.C. (2013). A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides –biological approaches to control *Tetranychus urticae*, *J. Pest Sci.*, 86: 361-386.
- Bañares Á., Blanca G., Güemes J., Moreno J.C. et Ortiz S. (2004). Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España. *Dirección General de Conservación de la Naturaleza*. Madrid, 1069p.
- Barros L., Ferrreira M.J., Queiros B., Ferrreira I.C.F.R., Baptista P. (2007). Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, *Food Chem.*, 103: 413-419.
- Battandier J.A. et Trabut L.C. (1889). Flore de l'Algérie [Dicot]: 424. <https://bibdigital.rjb.csic.es/viewer/10763/?offset=#page=436&viewer=picture&o=bookmark&n=0&q=> (consulté le mars 2021).
- Bekhechi C., Atik-Bekkara, F., Abdelouahid D.E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6(3): 153-159.
- Bel Hadj Kether F., Mahjoub M.A., Mahjoub S.A., Belhaj Salah K., Helal A.N., Mighri Z. (2012). Chemical composition, *in vitro* antifungal and antioxidant activities of essential oil from *Cotula coronopifolia* L. growing in Tunisia. *African Journal of Microbiology Research*, 6(20): 4388-4395.
- Bellakhdar J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Edition Ibis Press, Paris, 764p.
- Benelli G., Maggi F., Canale A., Mehlhorn H. (2019). Lyme disease is on the rise – how about tick repellents? *A global view Entomol Gen*, 39: 61-72.
- Benhammou N. 2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen, Algérie : Thèse de Doctorat, 30p.
- Bettaieb Rebey I., Bourgou S., Saidani Tounsi M., Fauconnier, M.L., Ksouri R., (2017). Etude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des différents extraits de la Lavande dentée (*Lavandula dentata*). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 39(2): 2096-2105.
- Billing J., Sherman P.W. (1998). Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *Q. Rev. Biol.*, 73: 3-49.
- Boizot N., Charpentier J.P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *INRA*, 79-82.
- Boudjelal, A., Smeriglio, A., Ginestra, G., Denaro, M., & Trombetta, D. (2020). Phytochemical profile, safety assessment and wound healing activity of *Artemisia absinthium* L. *Plants*, 9(12), 1744.

- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Hom E., Mc Analley S. et Mc Analley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco Science & Nutrition*, 4(6): 7.
- Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity LWT. *Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Branger A., Richer M.M., Roustel S. (2007). Microbiochimie et alimentation. Educagri Edition, Paris, 343 p.
- Bremer, K. (1994) Asteraceae, cladistics and classification. Timber Press, Portland, Oregon, 752p.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *TEC and DOC*, Lavoisier 3^{ème} Edition, Paris.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *Int J Food Microbiol.*, 94: 223-253.
- Chiasson H., Beloin N. (2007). Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre ». *Bulletin de la Société d'entomologie du Québec*, Antennae. (14): 1.
- Chouikh A, Chefrou A. (2014). Seasonal biometric and dynamic monitoring of the Shihia plant *Cotula cinerea* Del (1831) and its accompanying plants in the Saharan region Oued-Souf (south-east of Algeria). *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 3(7): 826-833.
- Chouikh A., Mayache B., Maazi M, Hadeff Y., Chefrou A. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils in Xerophytic plant *Cotula cinerea* Del. (Asteraceae) during two stages of development: flowering and fruiting. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(3): 29-34
- Constantin E. (1996). Spectrométrie de Masse, Lavoisier, *TEC et Doc*, Paris, 279p.
- Cuvier G. (1825). Dictionnaire des sciences naturelles, deuxième édition. 37:461-479. <https://inaturalist.mma.gob.cl/taxa/575795-Nolletia> (consulté le 4 janvier 2022).
- De Hoffmann E., Charette J., Stroobant V. (1999). Spectrométrie de Masse, 2^{ème} Edition, *Librairie Dunod*, Paris.
- Dehimi K., Speciale A., Antonina S., Dahamna S., Raciti R., Cimino F., Cristani M. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory properties of Algerian *Thymelaea microphylla* Coss. and Dur. extracts, *Journal of Pharmacognosy & Natural Products*, 12(47): 203-210.
- Dendougui H., Benayache S., Benayache F., Connolly J.D. (2012). Sesquiterpene lactones from *Pulicaria crispa*. *Fitoterapia*, 71: 373-378.
- Desjobert J.M., Bianchini A., Tommy P., Costa J., Bernardini A.F. (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25(6): 13-16.

- Djermane N., Gherraf N., Arhab R., Zellagui A., Rebbas K. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. *Der Phar Let*, 8: 1-6.
- Djermane N., Gherraf N., Rebbas K., Arhab R. (2017). Comparative evaluation of the antiradical and antimicrobial activities of organic extracts of Algerian *Pulicaria arabica* (L.) Cass. with reference products. *Der Pharma Chemica*, 9(12): 114-118.
- Dobignard A. et Chatelain C. (2011) Asteraceae. *Index synonymique Flore d'Afrique du Nord*. 2: 139-406. Conservatoire et Jardin Botaniques, Genève.
- Durand E. et Barratte G. (1910) Compositae. *Florae Libycae Prodromus ou catalogue raisonné des Plantes de Tripolitaine*, Genève, 121-156.
- Duval L. (2012). Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Rouen, France, 155p.
- EL Negoumy S.I., Mansour R.M.A., Saleh N.A.M. Flavonols of *Pulicaria arabica*, *Phytochemistry*, 21(4) (1982) 953-954.
- El-haci I.A., Atik-Bekkara F., Didi A., GheribM., Didi M.A.(2012).Teneur en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du sahara algerien. *Phytotherapie-Heidelberg*, 10: 280-285.
- Favier A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 5: 108-115.
- Feliciano A. S., Medarde M., Gordaliza M., Olmo E.D., Corral J.M.D. (1989). The structures of *Pulicaral* and related sesquiterpenoids from *Pulicaria paludosa*, *Journal of Natural Products*, 51(6): 1153-1160
- Fellah S., Romdhane M. et Abderraba M. (2006). Extraction et Etude des Huiles Essentielles de *Salvia officinalis* L. Cueillie dans Deux Régions Différentes de la Tunisie. *J Soc Alger Chim*. 16 (2): 193-202.
- Fethi, B. H. K., Mohamed, A. M., Samia, A. M., Karima, B. S., Ahmed, N. H., & Zine, M. (2012). Chemical composition, in vitro antifungal and antioxidant activities of essential oil from *Cotula coronopifolia* L. growing in Tunisia. *African Journal of Microbiology Research*, 6(20): 4388-4395.
- FFNSC 2 (2012). Flavors and fragrances of natural and synthetic compounds. mass spectral database. Japan: Shimadzu Corps.
- Finney D.J. (1971). Probit analysis. Cambridge University Press, London (UK), 333p.
- Flamini G., Smaili T., Zellagui Amar, Gherraf N., Cioni Pier L. (2013). Effect of growth stage on yield and essential oil composition of *Daucus sahariensis*, *Chemistry & Biodiversity*, 10(11): 2014-2020.
- Fodil H. (2021). Ethnobotanique, composition chimique et activités biologiques des huiles essentielles de quelques espèces de la flore du Hodna (M'sila). Thèse de doctorat 3^{ème}

- cycle (LMD) : Biodiversité et Ressources Naturelles. M'sila: Université MB de M'sila, 141p.
- Fodil H., Sarri M., Hendel N., Sarri D. (2021). Potentiality of medicinal flora in treating of several diseases in some municipalities in the Hodna (Algeria), *Journal of EcoAgriTourism*, 17(2): 44-53.
- Gautam N., Mantha A.K. and Mittal S. 2014. Essential oils and their constituent's anticancer agents: a mechanistic view. *BioMed Research International*.1-23.
- Ghouila H., Beyaoui A., Jannet H.B., Hamdi B., Salah A.B., Mighri Z. (2009) . Isolation and structure determination of pulicazine, a new sesquiterpene lactone from the Tunisian *Pulicaria laciniata* (Coss.et Kral.) Thell., *Tetrahedron Lett*, 50: 1563-1565
- Haddouchi F., Zerhouni K., Yekhelef A.S., Chaouche T.M. (2016). Evaluation de l'activité antimicrobienne de déffirant extraits d'*Helichrysum stoechas* subp. rupestre, *Bulletin de la Société Royale des Science de Liège*, 85: 152-159.
- Hafez S., Sarg T.M., El Domiaty M.M., Ahmed A.A., Melek F.R., Bohlmann F. (1987). Caryophyllene derivatives from *Pulicaria arabica*, *Phytochemistry*, 26(12): 3356-3358.
- Hashem M.Y., Ahmed S.S., El Mohandes M.A., Gharib M.A. (2012). Susceptibility of different life stages of saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to modified atmospheres enriched with carbon dioxide. *Journal of Stored Products Research*. 48: 46-51
- Hendel N., Edoardo N., Sarri M., Saija A., Cristani M., Nostro A., Ginestra G., Ruberto G. (2019). Essential oil from aerial parts of wild Algerian rosemary: screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(1): 1-17.
- Hendel N., Sarri D., Sarri M., Selloum M., Boussakra F., Driche O. (2021). Screening for *in vitro* antioxidant activity and antifungal effect of *Artemisia campestris* L., *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(3): 251-259.
- Hendel, N., Larous, L., Sari, M., Boudjelal, A., & Sarri, D. (2012). Place of Labiates in folk medicine of the area of M'sila (Algeria). *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 1(8), 315.
- Herman P.P.J. (2013). Cypsela morphology in the genus *Nolletia* (Asteraceae, Astereae) and a revision of the genus. *Phytotaxa*, 122(1): 1-44
- Himmelreich S., Källersjö M., Eldenäs P., Oberprieler C. (2008). Phylogeny of southern hemisphere Compositae–Anthemideae based on nrDNA ITS and cpDNA ndhF sequence information, *Plant Systematics and Evolution*, 272:131-153
- Hubert R. (1998). Biochimie de l'aliment, acide amines and oligopeptides ENSIA. Activity assay of superoxide dismutase. *Biomed Biochim Acta*, 46: 775-779.

- Ighodaro O.M. and Akinloye O.A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med*.
- Jakubowsky G, Mucina L. (2007). Phylogeny of the South African centred plant genus *Cotula* (Asteraceae), *J. sajb.*, 73: 292.
- Joulain D., König W.A., (1998). The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, E.B.Verlag, Hamburg.
- Kaufmann S.H.E. (1997). Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer ; R.G. Landes, New York; Austin, 345p.
- Keita R.M. (2002). Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de 14 plantes utilisées dans le traitement des I.S.T. Thèse de pharmacie, Bamako, 130p.
- Kelen M., Tepe B. (2008). Chemical composition antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora, *Bioresour. Technol.*, 99: 4096-4104.
- Kether F.B.H, Mahjoub M.A., Mahjoub S.A., Belhaj Salah K., Helal A.N., Mighri Z. (2012). Chemical composition, *in vitro* antifungal and antioxidant activities of essential oil from *Cotula coronopifolia* L. growing in Tunisia. *African Journal of Microbiology Research*, 6(20): 4388-4395.
- Kew (2022). The International Plant Names Index and World Checklist of Selected Plant Families 2022. <http://www.ipni.org> and <http://apps.kew.org/wcsp/> (consulté mars 2022).
- Koen D. (2004). Nutri et phytothérapie. Développements récents-4. Ed. Garant: 41-42.
- Lafferty F.W., Michnowicz J.A. (1992). State of the art GC-MS, *Chemtechnology*, 182- 189.
- Lafferty M.C., Stauffer D.B. (1994). Wiley registry of mass spectral Data, 6th Ed. Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10 d. Palisade Co., Newfield
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J.P. (1994). Biogénèse des Monoterpènes : la Chaîne Isoprenique. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 133: 79-99.
- Lambertus A.M., Carmen G.B, Christian V.S. (2020). Chitin and chitosan: Properties and applications, Kindle Edition, India, 536p.
- Lango-Yaya E., Worowounga X., Issa Madongo M., Namkona A.F., Saravolia M., Rafai D.C., Syssa Magalé J.L. (2020). Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des écorces de racines de *Paullinia pinnata* et des feuilles de *Petactlethra macrophylla*, *Journal of Applied Biosciences*, 147: 15151-15158.
- Lichtenstein E.P. (1966). Insecticides occurring naturally in crops Advances. *Chemistry Ser.* 53: 34-38.
- Liouane K., Bel Hadj Salah K., Ben Abdelkader H., Mahjoub M.A., Aouni M., Said K., Mighri Z. (2012). Antibacterial and antifungal activities of *Cotula coronopifolia*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(22): 4662-4666.

- Liouane K., Ben Abdelkader H., Bel Hadj Saleh K., Debbabi A., Ali Mahjoub M., Said K., Mighri, Z. (2009). Antioxidant and antimicrobial activity of *Cotula coronopifolia* (Asteraceae) growing in Tunisia. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, 2: 65-73.
- Liu L.L., Yang J.L., Shi Y.P. (2010). Phytochemicals and biological activities of *Pulicaria* Species. *Chem. Biodivers.* 7: 327-349.
- Longevialle P. (1981). Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques, Masson, Paris, 208p.
- Macheix J., Fleuriet A., Jay-allemant C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*, Lausanne, 4-5.
- Maggi F., Papa F., Giuliani C., Maleci Bini L., Venditti A., Bianco A. et al. (2015) Essential oil chemotypification and secretory structures of the neglected vegetable *Smyrniololus atrum* L. (Apiaceae) growing in Central Italy. *Flavour Fragr J*, 30:139–159.
- Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.), *Nature & Technology*, (9): 35.
- Malek F.R., El Ansari M.A., Hassan A., Regaila A., Ahmed A.A., Abary T.J. (1988). Methoxylated flavonoid aglycones from *Pulicaria arabica*, *Revista Latinoamericana Química*, 19: 119.
- Mamadou R.S., Moussa I., Sessou P., Yehouenou B., Agbangnan P.D.C., Illagouma A.T., Abdoulaye A., Sohounhloué D.C.K., Ikhiri K. (2014). Etude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll. Arg, *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 37:10-17.
- Mansour F., Ravid U., Putievsky E. (1986). Studies on the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*, *Phytoparasitica*, 14:137-142.
- Mansour R.M.A., Ahmed A.A., Melek F.R, Saleh N.A.M. (1990). The flavonoids of *Pulicaria incise*, *Fitoterapia*, 61:186-187.
- Marc T. ; Gerard W. ; Denis L (2001). Classification des anti-inflammatoires in *Guidepharmacologie*. Etudiants et professionnelsparamédicaux. 4eme Edition. 426p.
- Marco J.A., Sanz J.F., Albiach R. (1992). Caryophyllene derivatives from *Pulicaria dysenterica*, *Phytochemistry*, 31(7): 2409-2413
- Markouk M., Redwane A., Lazrek H. B., Jana M., Benjama A. (1999). Antibacterial activity of *Cotula cinerea* extracts, *Fitoterapia*, 70: 314-316.

- Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L., *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10): 959-964.
- Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G. (2005). Détermination of the total phénolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity, *Food chemistry*, 91: 571-577.
- Medjekal S., Saker I., Ghadbane M., Benderradji L., Bousseboua H. (2016). Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale de la région de M'sila *Mentha pulegium* L., *Revue des Régions Arides*, 607-613.
- Meinardus Otto F.A. (1996). The Virgin Mary as mediatrix between Christians and Muslims in the Middle East,"*Marian Studies*: Article 10, 47.
- Meissner O. 2004. Editorial: The traditional healer as part of the primary health care team? *South African Medical Journal*, 94:901-902.
- Meratate F., Lalaoui A., Rebbas Kh., Benmakhbi L., Ouali D., Bounab S., Bouhadda A., Laouer H., Akkal S. (2015). Antioxidant and antibacterial activities of essential oil and extract of *Zizyphora hispanica* L. of M'sila, *Advances in Environmental Biology*, 9(14): 90-96.
- Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari Benhadj Ali K., Saadi A. (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 8(4): 1865-1870.
- Mossa J.S., Hifnawy M.S., Al-Yahya M.A., Al-Meshal I.A., Mekkawi A.G. (1987). Aromatic plants of Saudi Arabia (part 8), GC/MS analysis of essential oils of *Pulicaria arabica* and *P. undulata*., *Pharm Biol.*, 25: 113-119.
- Mossa J.S., Hifnawy M.S., Alyahya M.A., Hafez M.M., Shehata A.A., Elferaly F.S. (1988). Flavonoids and coumarins from three Saudi Arabian Compositae Species, *Int. J. Crude Drug Res.*, 26(2): 181-184.
- Motamed S.M, Naghibi F (2010). Antioxydant activity of some plants of the Turkmen Sahara region in northern Iran, *Chemistry*, 119(4): 1637-1642.
- Moualek I., Iratni G., Aiche N., Guechaoui M., Lahcene S., Houali K. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11): 937-944.
- Mouas Y., Benrebiha F.Z., Chaouia C. (2017). Evaluation de l'activité antibacterienne de huiles essentielles et de l'extrait méthanoliques de Romarin « *Rosmarinus officinalis* L., *Agrobiologia*, 7(1): 363-370.
- Mouhajir F. (2002). Medecinal plants used by Berber and Arab peoples of Morocco: Ethnopharmacology and phytochemistry. PhD in University of British Columbia, Vancouver, 245.

- Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., Coppola R., De Feo V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12): 1451-1474.
- Nicklin J., Graeme-cook Paget T., Killington R. (2000). L'essentiel en microbiologie, Ed Berti.
- Nicole M. (1996). Aperçu de l'Aromathérapie. Info Essence. 2: 4-5.
- NIST [National Institute of Standards and Technology] (1999). PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, the Perkin Elmer Corporation.
- NIST 08 (2008). Mass spectral library (NIST/EPA/NIH). Gaithersburg, USA: National Institute of Standards and Technology.
- Nwosu D. C., Obeagu E. I., Ezenwuba C., Agu G.C., Amah H., Ozims S. J., Nwanjo H.U., Edward A., Izuchukwu I. F., Amadike J. N., Nwagwu A. J., and Emesowum A. C.(2016). Antioxidant status of children with *Plasmodium falciparum* malaria in Owerri municipal Council of Imo state. *Int J Curr Res Chem Pharm. Sci.*, 3(8).
- O.M.S. (1996). Medicaments essentiels et politiques pharmaceutiques : Donner un soutien aux pays pour réduire le manque d'accès aux médicaments. Rapport annuel, publication générale, SEARO N°39.
- Oberprieler C., Himmelreich S., Vogt R. (2007). A new subtribal classification of the tribe Anthemideae (Compositae), *Willdenowia*, 37:89-114.
- Ofor I. B., Obeagu E. I., Ochei K.C., and Odo M. (2016). Evaluation of Superoxide Dismutase, Glutathione, Vitamins C, E and Trace Element status in Prostate Cancer Patients in Orlu Teaching Hospital, Imo State. *Int J Curr Res Chem Pharm Sci.*, 3(2).
- Ozdemir N.E., Bilgin M, Gurdal B. (2021). Antimicrobial activity of *Pulicaria* species from Turkey. *Experimed.*, 11(3): 195-1199.
- Ozenda P. (1983). La flore du Sahara, Paris. Editions *Centre National de la Recherche Scientifique*, 430-432.
- Palacios S.M., Bertoni A., Rossi Y., Santander R., Urzua A. (2009a). Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules*, 14: 1938-1947.
- Palacios S.M., Bertoni A., Rossi Y., Santander R., Urzua A. (2009b). Insecticidal activity of essential oils from native medicinal plants of Central Argentina against the house fly, *Musca domestica* L., *Parasitol Res*, 106: 207-212.
- Pavela R. (2007). Lethal and sublethal effects of thyme oil (*Thymus vulgaris* L.) on the house fly (*Musca domestica* L.), *J. Essent. Oil Bear Plants*, 10: 346-356.
- Pavela R. (2013). Efficacy of naphthoquinones as insecticides against the house fly *Musca domestica* Lin., *Ind. Crop. Prod.*, 43: 745-750.
- Pavela R. (2015). Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae, *Parasitology Research*, 114(10): 3835-3853.

- Pavela R., Maggi F., Cianfaglione K., Bruno M., Benelli G. (2018). Larvicidal activity of essential oils of five Apiaceae taxa and some of their main constituents against *Culex quinquefasciatus*. *Chem Biodivers*, 15: e1700382
- Pavela R., Maggi F., Petrelli R., Cappellacci L., Buccioni M., Palmieri A., Canale A., Benelli G. (2020). Outstanding insecticidal activity and sublethal effects of *Carlina acaulis* root essential oil on the housefly, *Musca domestica*, with insights on its toxicity on human cells. *Food Chem Toxicol*, 136: 111037.
- Pavela R., Vrchotova N. (2013). Insecticidal effect of furano coumarins from fruits of *Angelica archangelica* L. against larvae *Spodoptera littoralis* Boisd, *Ind. Crop. Prod.* 43: 33-39
- Peralta M.A., Silva Da., Ortega M.G., Cabrera J.L., Paraje M.G. (2015). Antifungal activity of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* against *Candida albicans* biofilms. *Phytomedicine*, 22(11): 975-980.
- Pierangeli G, Vital G, Windell Revera L.J, (2009). *Plants Res*, (3)7: 511.
- Ponce A.G., Fritz R., Del-valle C. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swisschard, *Lwt-Food Sci. Technol.*, 36(7): 679-684.
- Pottier A.G. (1981). Flore de la Tunisie. Angiospermes - Dicotylydones – Gamopetales : La république Tunisienne : *Publication scientifiques Tunisiennes*, 1008p.
- Powell R.F., Bouatwright J., Magee A.R. (2014). A taxonomic revision of the *Cotula coronopifolia* group (Asteraceae) and implications for the conservation statuses of the species, *South African Journal of Botany*, 93:105-117
- Provencal P. (2010). The Arabic plant names of Peter Forsskal's Flora Aegyptiaco-Arabica. ISBN : 978-87-7304-345-5, 161.
- Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Paris. *Centre National de la Recherche Scientifique*, 2: 798-990.
- Rizk A.M., Ismail S.I. (1982): Flavonoids of *Francoeuria crisp*, *Planta mediaca*, 45(7):146.
- Rudramurthy G.R., Swamy M.K., Sinniah U.R., Ghasemzadeh A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21: 7-8.
- Sabu M., Kattan R. (2002). Antidiabetic activity of medicinal plants and. its relationship with their antioxidant property. *Journal of Ethnopharmacology*, 81: 155-160.
- Salleh W.M.N.H.W, Kassim H. Tawang A. (2021). Volatile components and biological activities of *Pulicaria* essential oils. A review. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 98(1): 49-58.
- Sarri D., Hendel N., Fodil H., Ruberto G., Sarri M. (2021). Chemical composition of essential oil from the aerial parts of *Santolina rosmarinifolia* L. a wild Algerian medicinal plant, *Nat. Volatiles & Essent. Oils*, 8(1): 22-28.
- Scherer R., Godoy H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by DPPH (the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl méthode), *Food Chem.*, 112: 654-658.

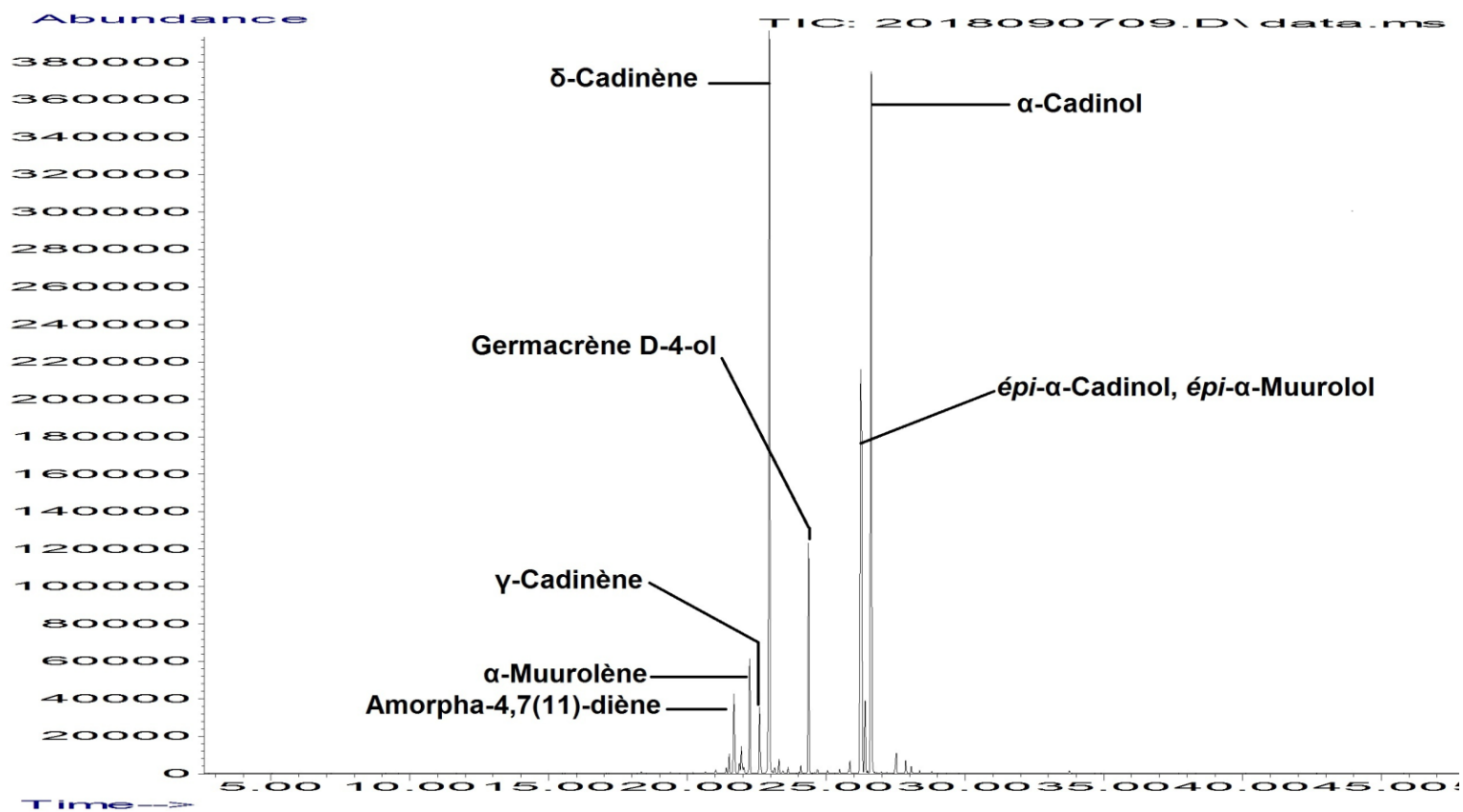
- Sharma A., Rajendran S., Srivastava A., Sharma S., Kundu B. (2016). Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* F. ssp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil, *Jour. Bios Bioengineering*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.09.011>.
- Smaili T., Bendif H., Öztürk M., Emin Duru M., Flamini G., Maggi F. (2022a). Chemical constituents and anticholinesterase activity of the essential oil of Algerian *Elaeoselinum thapsioides* (desf.) maire. *Natural Product Research*, 36(5), 1359-1364.
- Smaili T., Bendif H., Zedam A., Flamini G., Maggi F. (2022b). A new chemotype with high tricyclene content from the essential oil of *Salvia aegyptiaca* L. growing in Algerian Pre-Sahara. *Natural Product Research*, 36(20), 5364-5369.
- Sofowara A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Karthala*, Paris (France), 378p.
- Sokmen A., Gulluce M., Akpulat A.H., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., Sahin F., (2004). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanolextracts of endemic *Thymus spathulifolius*, *Food Control*, 15.
- Stanojevic P.L., Marjanović Balaban Z., Kalaba V.D., Stanojević J., Cakic M., Cvetkovic D., Tajini F., Bouali Y., Ouerghui A. (2020). Etude de la qualité nutritionnelle de fruit de *Phoenix dactylifera* L.: mesure des paramètres biochimiques, *Revue Nature et Technologie*, 12(2): 39-49.
- Sun J., Yao J., Huang S., Long X., Wang J., Garcia-Garcia E. (2009). Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) A.C. Smith. *Food Chemistry*, 117: 276-281.
- Tahar S., Hamdi B., Flamini G., Mehmet Ö., Duru M. E., Bruno M., Maggi, F. (2022). Chemical composition, antioxidant, and anticholinesterase activity of the essential oil of Algerian *Cachrys sicula* L. *Natural Product Research*, 36(16), 4094-4102.
- Talbi S., Romero-Puertas M.C., Hernández A., Terrón L., Ferchichi A., Sandalio, L.M. (2015). Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya africana*: role of antioxidant defences, *Environmental and Experimental Botany*, 111: 114-126.
- Tela Botanica. <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-19248-synthese> (consulté le 15 juin 2021)
- Tepe B., Sokmen M., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. *Journal of Food Engineering*, 69: 335-342.
- Tiendrebeogo A., Ouedraogo I., Bonzi S., Kassankogno A.I. (2017). Etude de l'activité antifongique d'extraits de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stap, *Eclipta alba* L., *Lippia multiflora* M. et *Agave sisalana* P., *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3): 1202-1211.
- Turner B.L. (1996). Les Comps du Mexique : Un compte systématique de la famille Asteraceae, vol. 6. Tageteae et Athemideae. *Phytologia Memoirs* 10: i-ii, 1-22, 43-93.

- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.
- Van der Toorn J, Ten Hove HJ (1982). On the ecology of *Cotula coronopifolia* L. and *Ranunculus sceleratus* L. II. – Experiment on germination, seed longevity, and seedling survival, *Acta Oecol.*, 3(17): 409-418.
- Willem J.P. (2002). Les huiles essentielles, Médecine d'avenir. Ed., Dauphin, Paris. 311 p.
- Williams C.A., Harborne J.B., Greenham J.R., Grayer R.J., Kite G.C., Eagles J. (2003). Variation in lipophilic and vacuolar flavonoids among European *Pulicaria* species, *Phytochemistry*, 64: 275-283.
- Yusufoglu H.S. (2014). Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, hepatoprotective and nephritic effects of the aerial parts of *Pulicaria arabica* (Family: Compositae) on rats. *Asian Pac J Trop Med*, 7(1): S583-S590.
- Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A. (2004). Chemical composition and fungicidal activity of commercial oils of *Thymus vulgaris* L. *Journal Essential Oil Research*. 16(1): 69-74.
- Zedan Z.I., Hatem A.S. (2002). Phytochemical and pharmacological studies on *Pulicaria orientalis* Jaub & SP. *Bull. Pharma. Sci. Assiut University*, 6(2): 189-200.
- Zorzetto C., Sánchez-Mateo C.C., Rabanal R.M., Lupidi G., Petrelli D., Vitali L.A. *et al* (2015) Phytochemical analysis and *in vitro* biological activity of three *Hypericum* species from the Canary Islands (*Hypericum reflexum*, *Hypericum canariense* and *Hypericum grandifolium*). *Fitoterapia*, 100:95-109.
- Zouari N., Fakhfakh N., Zouari S., Bougatef A., Karray A., Neffati M., Ayadi M.A. (2011). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae), *Food and Bio. Pro.*, 89(4): 257-265.

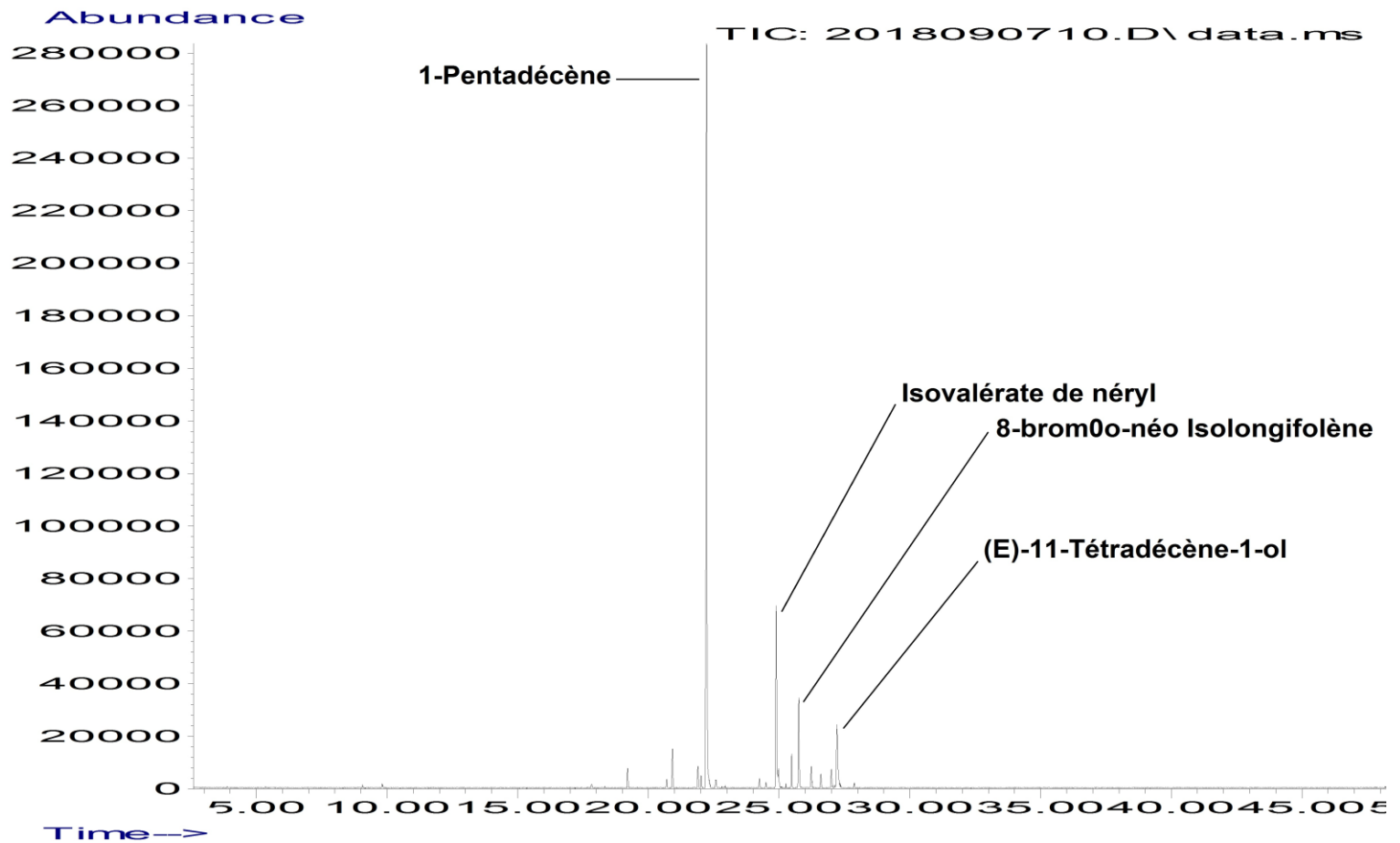
ANNEXES

Annexe n°1

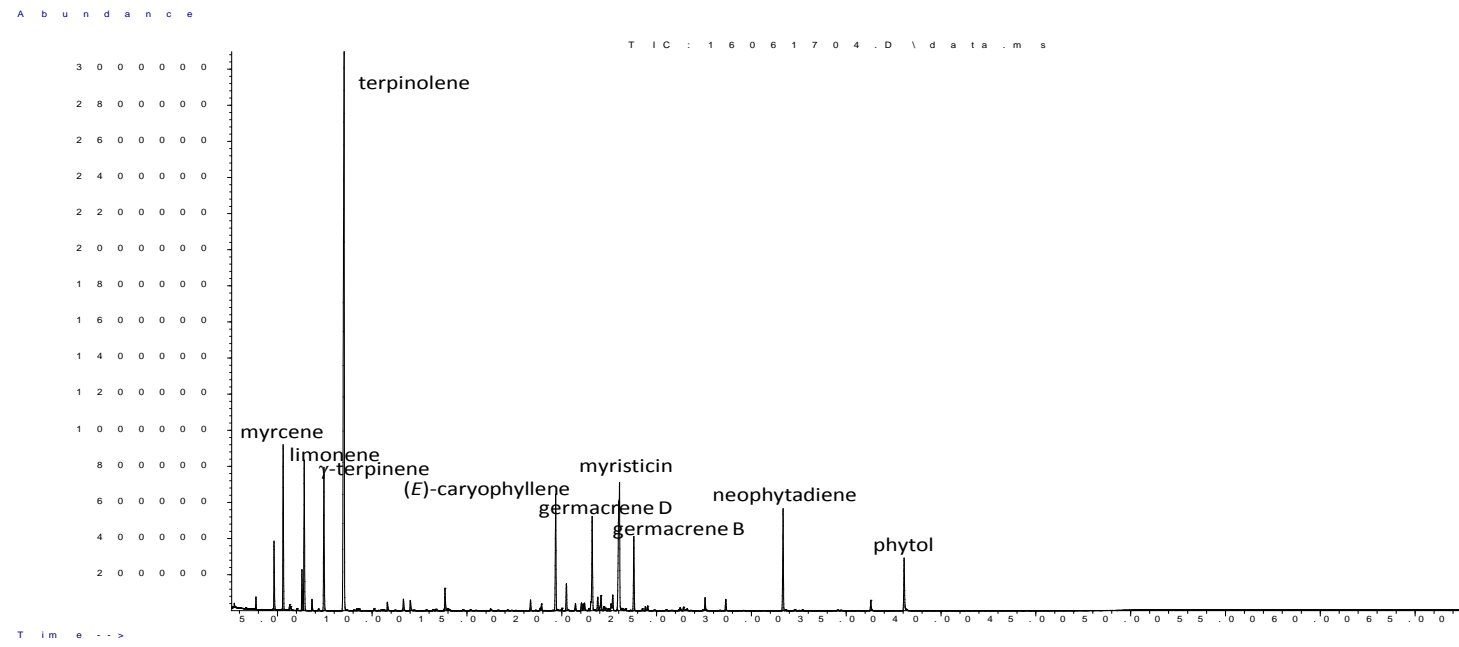
Chromatogrammes des espèces étudiées



Chromatogramme de *Nolletia chrysocomoides*



Chrommatogramme de *C. coronopifolia*



Chrommatogramme de *P. arabica*

Annexe n°2

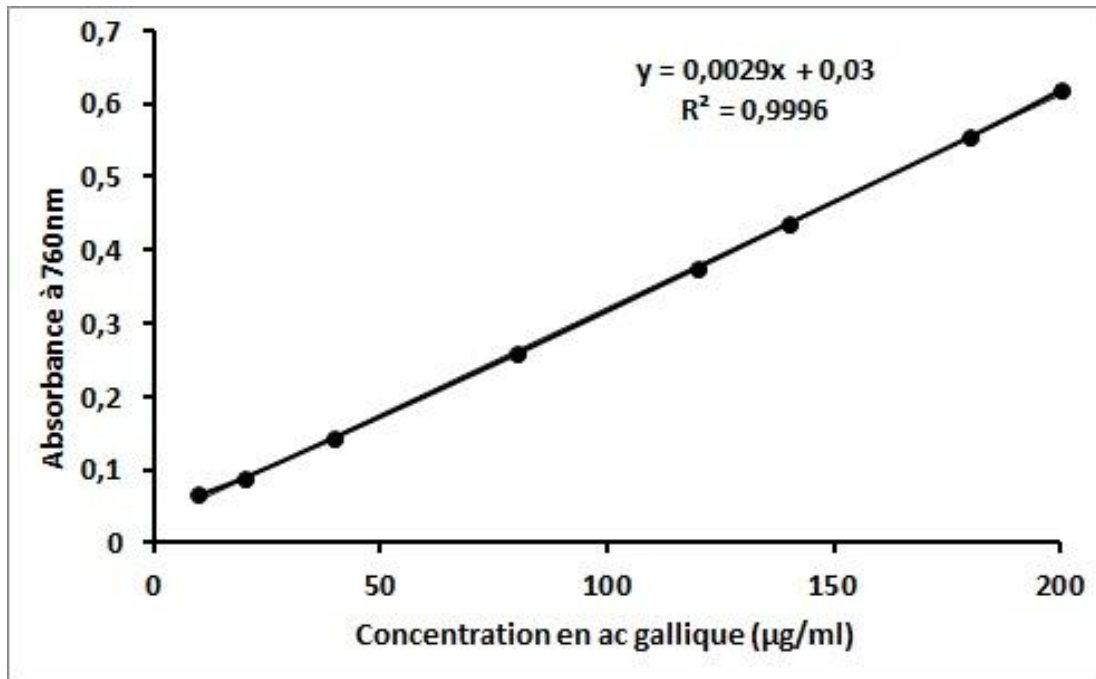


Figure 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

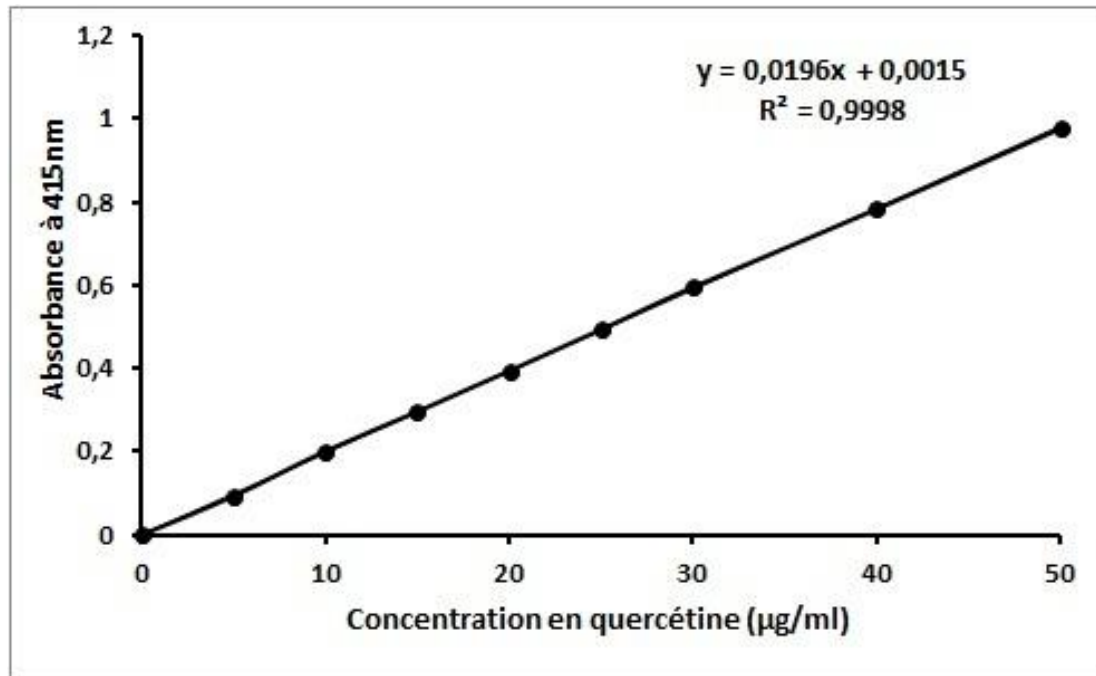


Figure 2. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Publication



Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides?

Sassoui Ammar¹ · Hendel Noui² · Sarri Djamel¹ · Sarri Madani¹ · Filippo Maggi³ · Maurizio Bruno⁴ · Donato Romano^{5,6} · Angelo Canale⁷ · Roman Pavela⁸ · Giovanni Benelli⁷

Received: 23 October 2019 / Accepted: 27 April 2020
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2020

Abstract

Medicinal and aromatic plants represent an outstanding source of green active ingredients for a broad range of real-world applications. In the present study, we investigated the insecticidal potential of the essential oils obtained from three medicinal and aromatic plants of economic importance in Algeria, *Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*. Gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) was used to study the essential oil chemical compositions. The three essential oils were tested against a mosquito vectoring filariasis and arboviruses, i.e., *Culex quinquefasciatus*, a fly pest acting also as pathogens vector, *Musca domestica*, and an agricultural moth pest, i.e., *Spodoptera littoralis*, using WHO and topical application methods, respectively. The essential oil from *A. campestris*, containing β -pinene (15.2%), α -pinene (11.2%), myrcene (10.3%), germacrene D (9.0%) (*Z*)- β -ocimene (8.1%) and γ -curcumene (6.4%), showed remarkable toxicity against *C. quinquefasciatus* (LC_{50} of 45.8 mg L⁻¹) and moderate effects (LD_{50} of 99.8 μ g adult⁻¹) against *M. domestica*. Those from *P. arabica* and *S. satureioides*, containing *epi*- α -cadinol (23.9%), δ -cadinene (21.1%), α -cadinol (19.8%) and germacrene D-4-ol (8.4%), and thymol (25.6%), α -terpineol (24.6%), borneol (17.4%) and *p*-cymene (11.4%), respectively, were more active on *S. littoralis* showing LD_{50} values of 68.9 and 61.2 μ g larva⁻¹, respectively. Based on our results, the essential oil from *A. campestris* may be further considered a candidate ingredient for developing botanical larvicides.

Keywords *Culex quinquefasciatus* · Insect pest · Mosquito vector · *Musca domestica* · Green pesticide · *Spodoptera littoralis*

Responsible editor: Philippe Garrigues

✉ Giovanni Benelli
giovanni.benelli@unipi.it

- 1 Department of Nature and Life Sciences, Faculty of Sciences, M'sila University, 28000 M'sila, Algeria
- 2 Department of Microbiology and Biochemistry, Faculty of Sciences, M'sila University, 28000 M'sila, Algeria
- 3 School of Pharmacy, University of Camerino via Sant'Agostino 1, 62032 Camerino, Italy
- 4 Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STeBiCEF), University of Palermo, viale delle Scienze, Parco d'Orleans II, I-90128 Palermo, Italy
- 5 The BioRobotics Institute, Sant'Anna School of Advanced Studies, viale Rinaldo Piaggio 34, 56025 Pontedera, Pisa, Italy
- 6 Department of Excellence in Robotics & A.I., Sant'Anna School of Advanced Studies, 56127 Pisa, Italy
- 7 Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, via del Borghetto 80, 56124 Pisa, Italy

Introduction

Algeria covers an area of 2,381,741 km² and is the first major country in Africa, and one of the Mediterranean countries with a remarkable floristic richness that is directly related to its ecosystem and landscape diversity. The number of taxa of its flora is estimated to about 4000 including 300 endemic taxa (Dobignard and Chatelain 2010, 2011a, b) of which approximately 90% are present in the north of the country. Asteraceae and Lamiaceae represent two important families of medicinal and aromatic plants growing in Algeria, including essential oil-producing species. Among them, the genera *Artemisia* L., *Pulicaria* Gaertner and *Saccocalyx* Coss. & Durand are of economic importance in Algeria due to their important uses as foods and medicines (Miara et al. 2019). The Algerian flora comprises nine species of *Artemisia*, thirteen species of *Pulicaria*, and a species of *Saccocalyx* (Quezel and Santa 1963).

Artemisia campestris L., commonly called “degouft,” “tgouft,” “alala,” or “tedjouq,” is locally known as a medicinal herb indicated for the treatment of digestive troubles, stomach pain, nausea, pain in menstruation and hypertension (Baba Aissa 1991; Hammiche and Maiza 2006; Baba Aissa 1999; Sari et al. 2012; Boudjelal et al. 2013).

Pulicaria arabica (L.) Cass. has been traditionally used in several countries. It is indigenous to Egypt, locally known as “rara ejub,” “abu-’ajn-safra,” and “deithouth”. It is used in folk medicine to treat ulcers (Provencal 2010). In Morocco, it is known as “hatassa” and used traditionally as anti-tobacco (Mouhajib 2002). In the Iranian folk medicine, *P. arabica* is used as an antidiarrheal agent and against schistosomiasis (Ali 2011). In Tunisia, it is used to treat swelling and boils (Abed et al. 2010). On the other hand, no traditional uses are recorded in Algeria.

Saccocalyx satureioides Coss. & Dur. is known in all North African regions as “azir el-ibel” (Trabut 1935), “zaater” (Biondi et al. 2006), and “zaâtar r’mel” (Benabed 2018), alluding to its resemblance with oregano and thyme. It is traditionally recommended for the treatment of diabetes (Allali et al. 2008).

The essential oil of *A. campestris* has been isolated and investigated for its chemical composition and biological activities by several authors in Algeria (Belhattab et al. 2011; Ghorab et al. 2013; Boutemak et al. 2017; Medila et al. 2017; Bakchiche et al. 2019) and other countries (Neffati et al. 2008; Costa et al. 2009; Judzentienea et al. 2010; Akrouf et al. 2003, 2010; Dib et al. 2017). Only two investigations have been provided on the essential oil of *P. arabica* concerning the analysis of its chemical constituents (Mossa et al. 1987; Djermane et al. 2016). The chemical composition of the essential oil of *S. satureioides* as well as its biological properties were described in previous studies (Biondi et al. 2006; Laouer et al. 2006; Bendahou et al. 2008; Bendimerad et al. 2009; Benabed 2018; Kherkhache et al. 2018; Zerroug et al. 2011; Belmekki and Bendimerad 2012; Mohamadi et al. 2015; Benahmed et al. 2016). To the best of our knowledge, the insecticidal properties of the essential oils from these three species have not been explored in depth.

Managing insect pests and vectors through environmental sustainable approaches represent a major and timely challenge (Benelli and Beier 2017; Stevenson et al. 2017; Chaieb et al. 2018; Isman 2018, 2020; Benelli et al. 2019a; Pavela et al. 2019a; Petrović et al. 2019), to relevant non-target effects of synthetic pesticides on human health and environment (Desneux et al. 2007; Ullah et al. 2019a, b; Varikou et al. 2019), and their efficacy threatened by rapid resistance development in target species (Naqqash et al. 2016; Yavaşoglu et al. 2019; Guz et al. 2020). In this framework, the present research was aimed to investigate the insecticidal activity of *A. campestris*, *P. arabica*, and *S. satureioides* essential oils extracted from plants collected in Algeria. The three essential oils were tested as larvicides against the African cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera:

Noctuidae), as well as against the lymphatic filariasis and arbovirus vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae), for which effective control tools are urgently needed (Wilke et al. 2020). Note that this species is also under investigation as a potential Zika virus vector, with contrasting evidences reported (Benelli and Romano 2017; van den Hurk et al. 2017). Furthermore, the three essential oils were evaluated as adulticides against the common housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), a noxious pest, also able to spread dozens of pathogens (Butler et al. 2010). The chemical composition of the three Algerian essential oils was analyzed through GC-MS analysis, discussing the potential contribution of the essential oil major constituents in terms of insecticidal effectiveness.

Materials and methods

Plant material

Plant material was represented by the aerial parts of *A. campestris* (Asteraceae, collected in Salah Bey (Sétif) region, at the end of August 2016), *P. arabica* (Asteraceae, collected at the University of Mohamed Boudiaf Campus in May 2017) and *S. satureioides* (Lamiaceae, collected in El Houamed (M’sila) region in June 2015). The samples (25–40 plants for each species) were representative of the species and their geographic area of distribution. The voucher specimens were deposited in the herbarium of the Department of Nature Sciences and Life, Faculty of Sciences, M’sila.

Essential oil isolation

The aerial parts of the three species (100 g) were subjected to hydrodistillation for 3 h in a Clevenger-type apparatus. The oil yields, estimated on a dry weight basis (w/w), were 0.45, 0.40, and 2.8%, for *A. campestris* oil, *P. arabica* and *S. satureioides*, respectively.

Chemical analyses

The three essential oils from *A. campestris*, *P. arabica*, and *S. satureioides* were analyzed by GC-MS using an Agilent 6890N gas chromatograph coupled with a 5973N mass spectrometer. The overall analytical conditions adopted were the same used in the works of Zorzetto et al. (2015) and Maggi et al. (2015). Briefly, an HP-5 capillary column, 30 m in length, 0.25- μ m internal diameter, 0.1- μ m film thickness, was used as stationary phase whereas helium (99.99%) was the mobile phase with a flow rate of 1 mL/min. Oven was thermostated as follows: 60 °C kept for 5 min, then increased up to 220 °C at 4 °C/min, then raised up to 280 °C at 11 °C/min. Injector and detector temperatures were set to

280 °C. The essential oils were diluted 1:100 in analytical grade *n*-hexane (Sigma-Aldrich, Milan, Italy) and 2 µL injected in split mode (ratio, 1:50). Total ion chromatograms were obtained using the electron impact (EI) mode at 70 eV. The identification followed the procedures already reported by Benelli et al. (2017, 2018a) relying on the interactive combination of temperature-programmed retention indices and mass fragmentations with those stored in commercial libraries (Adams, FFNSC2, NIST17 and Wiley275). Semi-quantitative values were obtained from relative peak areas considering the same response factor for all compounds.

Insect rearing

The insect pest species tested in this study, i.e., *C. quinquefasciatus* larvae, *M. domestica* adults, and *S. littoralis* larvae, were reared following the method recently reported by Benelli et al. (2019b). All species were obtained from established laboratory colonies (>20 generations) and maintained at 25 ± 1 °C, 70 ± 3% R.H., and 16:8 h (L:D).

Insecticidal activity against *Culex quinquefasciatus*

The insecticidal efficacy of *A. campestris*, *P. arabica*, and *S. saturoioides* essential oils diluted in dimethyl sulfoxide (DMSO) on *C. quinquefasciatus* 3rd instar larvae was assessed following WHO (1996) with minor changes by Pavela et al. (2018a). Tested concentrations were 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 250, 300, 400, 500, and 800 mg L⁻¹; each concentration was replicated 4 times on groups of 25 larvae each. The negative control was distilled water with the same amount of DMSO used for dissolving the tested essential oil. The positive control was pyrethrum extract (50%, Sigma-Aldrich, Czech Republic) tested at 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, and 1.00 mg L⁻¹. Larval mortality was recorded after 24 h.

Insecticidal activity against *Musca domestica*

Topical application trials were done to shed light on the acute insecticidal activity of *A. campestris*, *P. arabica*, and *S. saturoioides* essential oils on *M. domestica* adult females (3–6 days old). Following Benelli et al. (2019b), 1 µL of acetone (Sigma-Aldrich, Germany) plus the essential oil at the following concentrations, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, and 500 µg adult⁻¹ (each concentration was tested on 4 groups of 20 flies each), was applied using a microelectric applicator to the pronotum of houseflies anesthetized with CO₂. Acetone was the negative control. The positive control was pyrethrum extract (50%, Sigma-Aldrich, Czech Republic) tested at 2, 4, 6, 8 and 10 µg adult⁻¹. Then, *M. domestica* flies were moved to a recovery box (10 × 10 × 12 cm, 26 ± 1 °C 16:8 L:D) for 24 h, and mortality was recorded (Benelli et al. 2019b).

Insecticidal activity against *Spodoptera littoralis*

The toxicity of the *A. campestris*, *P. arabica* and *S. saturoioides* essential oils to 3rd instar larvae of *S. littoralis* was evaluated through topical application of the essential oils diluted in acetone. Following Benelli et al. (2019b), the larvae were treated on the dorsum with 1 µL of acetone containing 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, and 200 µg larvae⁻¹ of *A. campestris*, *P. arabica*, or *S. saturoioides* essential oil. Four replicates (*n* = 20 larvae per replicate) for each concentration were done. Acetone was the negative control. The positive control was pyrethrum extract (50%, Sigma-Aldrich, Czech Republic) tested at 4, 8, 12, 16, and 20 µg larvae⁻¹. Larvae were moved to a recovery box (10 × 10 × 7 cm, with thin holes to avoid fumigation effects, 26 ± 1 °C, 70 ± 3% R.H., and 16:8 L:D) for 24 h, then mortality was noted (Benelli et al. 2019b).

Statistical analysis

In insecticidal assays, if control mortality < 20%, the observed mortality rates were corrected using Abbott's formula (Abbott 1925) and probit analysis was used to estimate the LD₅₀₍₉₀₎ and LC₅₀₍₉₀₎ values, with associated 95% confidence limits (CI₉₅) and chi-square for each tested product (Finney 1971). For the calculation of LC₅₀₍₉₀₎, five suitable concentrations were always selected.

Results and discussion

Essential oil chemical compositions

The chemical compositions of the three essential oils are reported in Table 1, where a total of 94 components, accounting for 88.7–99.7% of the total compositions, are listed. Overall, the three essential oils displayed different chemical profiles, as determined by GC-MS (Fig. 1).

The essential oil from *A. campestris* was characterized by two main chemical classes, namely monoterpene hydrocarbons (58.2%) and sesquiterpene hydrocarbons (21.9%), whereas oxygenated monoterpenes and sesquiterpenes gave a minor contribution (2.2 and 6.3%, respectively). Among monoterpenes, the major constituents were β-pinene (15.2%), α-pinene (11.2%), myrcene (10.3%) and (Z)-β-ocimene (8.1%), whereas germacrene D (9.0%) and γ-curcumene (6.4%) were the most representative compounds of sesquiterpenes. *Artemisia campestris* is a polymorphic species, including many subspecies and varieties (Dib and El Alaoui-Faris 2019). Therefore, different essential oil chemotypes have been reported in literature. Abidi et al. (2018) studied an *A. campestris* population growing in Tunisia and found β-pinene (36.4%) and 2-undecanone

Table 1 Chemical composition of the essential oils from three Algerian medicinal plants, *Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx saturejoides*

No.	Component ^a	RI ^b	RI lit. ^c	<i>Artemisia campestris</i> (%) ^d	<i>Pulicaria arabica</i> (%) ^d	<i>Saccocalyx saturejoides</i> (%) ^d	ID ^e
1	Tricyclene	917	921			0.1 ± 0.0	1,2
2	α-Thujene	921	924	0.1 ± 0.0		0.7 ± 0.1	1,2
3	α-Pinene	926	932	11.2 ± 1.8		2.2 ± 0.5	1,2,3
4	Camphene	940	946	0.1 ± 0.0		3.8 ± 0.7	1,2,3
5	Thuja-2,4(10)-diene	945	953	Tr ^f			1,2
6	Sabinene	966	969	0.8 ± 0.2		0.3 ± 0.1	1,2,3
7	β-Pinene	968	974	15.2 ± 2.9		0.3 ± 0.1	1,2,3
8	3-Octanone	986	979			0.1 ± 0.0	1,2
9	Myrcene	989	988	10.3 ± 2.1		0.8 ± 0.2	1,2,3
10	α-Phellandrene	1003	1002			Tr	1,2,3
11	α-Terpinene	1014	1014	0.1 ± 0.0		0.5 ± 0.1	1,2,3
12	p-Cymene	1022	1020	4.3 ± 0.8		11.4 ± 2.1	1,2,3
13	Limonene	1025	1024	4.3 ± 0.9		1.0 ± 0.2	1,2,3
14	(Z)-β-Ocimene	1037	1032	8.1 ± 1.6			1,2,3
15	(E)-β-Ocimene	1047	1044	1.9 ± 3.9			1,2,3
16	γ-Terpinene	1055	1054	1.2 ± 0.3		3.1 ± 0.6	1,2,3
17	cis-Sabinene hydrate	1064	1065			Tr	1,2
18	Terpinolene	1085	1086	0.2 ± 0.0		0.1 ± 0.0	1,2,3
19	p-Cymenene	1087	1089			Tr	1,2
20	trans-Sabinene hydrate	1096	1098			Tr	1,2
21	Linalool	1101	1095	0.1 ± 0.0		1.1	1,2,3
22	α-Campholenal	1124	1122	0.1 ± 0.0		Tr	1,2
23	allo-Ocimene	1129	1128	0.2 ± 0.0			1,2
24	trans-Pinocarveol	1133	1135	0.5 ± 0.1		Tr	1,2,3
25	Camphor	1139	1141			0.1 ± 0.0	1,2,3
26	Pinocarvone	1158	1160	0.1 ± 0.0			1,2
27	Borneol	1161	1165	Tr		17.4 ± 3.4	1,2,3
28	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	1165	1166	0.1 ± 0.0			1,2
29	Terpinen-4-ol	1173	1174	0.2 ± 0.0		1.5 ± 0.3	1,2,3
30	p-Cymen-8-ol	1184	1179	0.1 ± 0.0		0.1 ± 0.0	1,2
31	α-Terpineol	1187	1186	0.2 ± 0.0		24.6 ± 4.8	1,2,3
32	Myrtanal	1191	1195	0.2 ± 0.0			1,2,3
33	Myrtanol	1192	1194	0.3 ± 0.1			1,2,3
34	cis-Dihydro carvone	1193	1191			0.2 ± 0.0	1,2
35	trans-Carveol	1217	1215	Tr			1,2
36	(3Z)-Hexenyl 3-methyl butanoate	1238	1232	Tr			1,2
37	Thymol	1295	1289	Tr		25.6 ± 4.9	1,2,3
38	Carvacrol	1303	1298	Tr		2.1 ± 0.4	1,2,3
39	(3Z)-Hexenyl tiglate	1326	1325	Tr			1,2
40	δ-Elementene	1331	1335	0.1 ± 0.0			1,2
41	α-Cubebene	1344	1345		Tr		1,2
42	Thymol acetate	1354	1349			Tr	1,2
43	α-Copaene	1368	1374	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0		1,2
44	β-Bourbonene	1376	1387	0.1 ± 0.0			1,2
45	(E)-β-Damascenone	1380	1383		Tr		1,2,3
46	β-Cubebene	1383	1387		Tr		1,2
47	α-Gurjunene	1400	1409		0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	1,2
48	(E)-Caryophyllene	1409	1417	0.5 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.2	1,2,3
49	β-Copaene	1420	1430	Tr			1,2
50	cis-Muurola-3,5-diene	1438	1448		0.1 ± 0.0		1,2
51	trans-Muurola-3,5-diene	1442	1451		0.1 ± 0.0		1,2
52	(Z)-β-Famesene	1439	1440	Tr			1,2
53	α-Humulene	1443	1452	Tr	Tr	0.1 ± 0.0	1,2,3
54	allo-Aromadendrene	1451	1458		Tr	0.1 ± 0.0	1,2,3
55	cis-Cadina-1(6),4-diene	1454	1461		0.2 ± 0.0		1,2
56	(E)-β-Famesene	1456	1454	0.1 ± 0.0	Tr		1,2,3
57	γ-Muurolene	1470	1478		0.8 ± 0.2		1,2
58	Germacren D	1472	1484	9.0 ± 1.7	0.1 ± 0.0		1,2
59	trans-Cadina-1(6),4-diene	1475	1471		3.2 ± 0.7		1,2
60	γ-Curcumene	1475	1481	6.4 ± 1.3			1,2
61	α-Curcumene	1479	1478	2.4 ± 0.5			1,2
62	trans-Muurola-4(14),5-diene	1482	1493		0.5 ± 0.1		1,2
63	Thymol isobutyrate	1484	1480			1.6 ± 0.3	1,2
64	δ-Selinene	1484	1492		1.9 ± 0.4		1,2

Table 1 (continued)

No.	Component ^a	RI ^b	RI lit. ^c	<i>Artemisia campestris</i> (%) ^d	<i>Pulicaria arabica</i> (%) ^d	<i>Saccocalyx saturejoides</i> (%) ^d	ID ^e
65	<i>epi</i> -Cubebol	1486	1493		0.4 ± 0.1		1,2
66	Bicyclogermacrene	1487	1500	2.1 ± 0.4		0.2 ± 0.0	1,2
67	α-Zingiberene	1492	1492	0.1 ± 0.0			1,2
68	α-Muurolene	1493	1500	0.1 ± 0.0	3.4 ± 0.7	Tr	1,2
69	γ-Cadinene	1506	1513	0.1 ± 0.0	2.6 ± 0.5	0.1 ± 0.0	1,2
70	β-Curcumene	1508	1514	0.1 ± 0.0			1,2
71	δ-Cadinene	1517	1520	0.5 ± 0.1	21.1 ± 3.8	0.3 ± 0.1	1,2
72	<i>trans</i> -Cadin-1,4-diene	1525	1533		0.3 ± 0.0		1,2
73	α-Cadinene	1530	1537		0.6 ± 0.2		1,2
74	α-Calacorene	1535	1544		Tr		1,2
75	(<i>E</i>)-Nerolidol	1562	1561	0.1 ± 0.0			1,2,3
76	Germacrene D-4-ol	1567	1574		8.4 ± 1.7		1,2
77	Spathulenol	1567	1577	4.5 ± 0.9		0.3 ± 0.1	1,2
78	Caryophyllene oxide	1571	1583	0.2 ± 0.0			1,2,3
79	<i>an</i> -Turmerol	1576	1582	0.2 ± 0.0			1,2
80	Salvial-4(14)-en-1-one	1583	1594	0.1 ± 0.0			1,2
81	Neryl isovalerate	1585	1582	Tr			1,2
82	Ledol	1591	1602			0.1 ± 0.0	1,2
83	1,10- <i>di-epi</i> -Cubebol	1605	1618		0.2 ± 0.0		1,2
84	Geranyl isovalerate	1609	1606	0.3 ± 0.0			1,2
85	1- <i>epi</i> -Cubebol	1619	1627		0.6 ± 0.1		1,2
86	<i>epi</i> -α-Cadinol	1633	1638	0.1 ± 0.0	23.9 ± 4.2	0.1 ± 0.0	1,2
87	<i>epi</i> -α-Muurolol	1633	1640	0.1 ± 0.0		0.1 ± 0.0	1,2
88	α-Muurolol	1639	1644		2.5 ± 0.5		1,2
89	β-Eudesmol	1639	1649	0.9 ± 0.2			1,2
90	α-Cadinol	1646	1652	0.2 ± 0.0	19.8 ± 3.9	0.1 ± 0.0	1,2
91	Shyobunol	1678	1688			0.3 ± 0.0	1,2
92	Oplopanone	1727	1739		Tr		1,2
93	Cyclocolorone	1745	1759		0.1 ± 0.0		1,2
94	Phytone	1844	1845		Tr		1,2
	Total identified (%)			88.7	93.2	99.7	
	Chemical classes						
	Monoterpene hydrocarbons			58.2		24.4	
	Oxygenated monoterpenes			2.2	1.6	72.9	
	Sesquiterpene hydrocarbons			21.9	35.6	1.3	
	Oxygenated sesquiterpenes			6.3	56.0	0.9	
	Others			0.1	tr	0.1	

^a Components are listed according to their elution from a HP-5MS column

^b Linear retention index (RI) experimentally calculated using the Van den Dool and Kratz formula (1963) using a mixture of *n*-alkanes (C₈-C₂₄)

^c Literature RI taken from NIST 17 or ADAMS libraries

^d Relative peak area percentage as mean of three measurements ± SD

^e Identification: *RI*, correspondence of calculated value with those stored in NIST 17 or ADAMS libraries; *MS*, similarity of mass fragmentation with those recorded in NIST 17, WILEY 275, FFNSC2, and ADAMS libraries; *Std*, comparison with available analytical standard (Sigma-Aldrich, Milan, Italy)

^f Tr, traces, % < 0.1

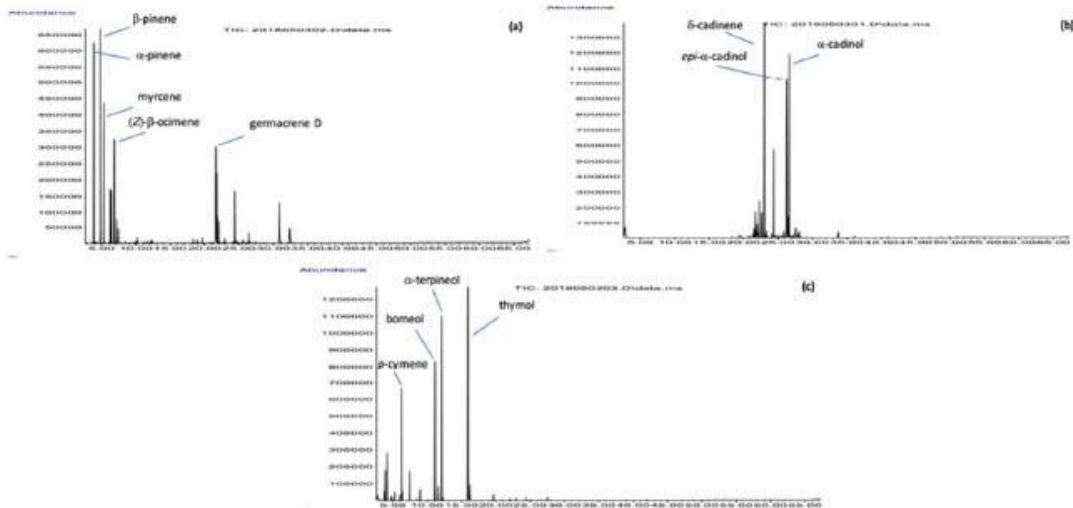


Fig. 1 TIC chromatograms of the three essential oils from *Artemisia campestris* (a), *Pulicaria arabica* (b), and *Saccocalyx satureioides* (c)

(14.7%) as the major volatile constituents. Other Tunisian populations of *A. campestris* were analyzed by Younsi et al. (2017) who detected germacrene D (16.38%), β -pinene (16.33%) and limonene (9.17%) as the main essential oil compounds. Dib et al. (2017) investigated the essential oil composition of a population growing in Morocco finding spathulenol (10.2%) as the main component. Judzentiene and Budiene (2014) studied natural populations growing in Lithuania and found germacrene D (9.8–31.2%) as the major volatile compound in all the samples analyzed. Other noteworthy compounds detected in these populations were α -pinene, β -pinene, caryophyllene oxide, γ -curcumene and β -selinene. Boukhalkhal et al. (2018) identified a new chemotype containing the polyacetylene capillene in a population belonging to the subsp. *campestris* growing in Algeria. On the other hand, Houicher et al. (2016) reported a similar chemical profile for a natural population growing in Algeria, with α -pinene (18.7%), β -pinene (16.8%), β -myrcene (17.3%) and germacrene D (10.3%) as the major essential oil constituents.

The essential oil from *P. arabica* was dominated by oxygenated sesquiterpenes (56.0%) and sesquiterpene hydrocarbons (35.6%), with *epi*- α -cadinol (23.9%), δ -cadinene (21.1%), α -cadinol (19.8%), and germacrene D-4-ol (8.4%) as the most abundant compounds. The present work represents the second investigation about the chemical composition of the *P. arabica* essential oil. Previously, Mossa et al. (1987) investigated the essential chemical composition of natural populations growing in Saudi Arabia finding sesquiterpene hydrocarbons as the main volatile fraction. However, results were not detailed since many compounds have not been identified. Therefore, a comparative evaluation between the two

studies cannot be done. Within the genus *Pulicaria*, *P. undulata* (L.) C.A.Mey was the subject of several investigations for essential oil composition. For instance, Mustafa et al. (2018) found carvacrol (46.5%), xanthoxylin (18.1%), and carvotanacetone (8.7%) as the most abundant volatile compounds in a population growing wild in Egypt. Boumaraf et al. (2016) analyzed the essential oil of *P. undulata* growing in Algeria reporting carvotanacetone (14.8%), δ -cadinene (8.2%), α -cadinol (4.7%), and thujanol (4.7%) as the main constituents. Ravandeh et al. (2011) studied the essential oil composition of an Iranian population, finding terpinen-4-ol (20.1%), *cis*-calamenene (13.37%), junipene (8.66%), *cis*-sabinene hydrate (8.29%), and γ -terpinene (7.00%) as the main constituents. Thus, the *Pulicaria* essential oils seem to be quite variable depending on genetics and geographic factors (see also Znini et al. 2013).

The essential oil from *S. satureioides* was dominated by oxygenated monoterpenes (72.9%) followed by monoterpene hydrocarbons (24.4%), whereas the other groups gave scant contributions. The major components were thymol (25.6%), α -terpineol (24.6%), borneol (17.4%) and *p*-cymene (11.4%). Several research groups analyzed the essential oil chemical profile of *S. satureioides* populations growing in Algeria. Bendahou et al. (2008), Biondi et al. (2006) and Laouer et al. (2006) found an essential oil chemical profile qualitatively similar to that detected by us, with borneol (27.4%), α -terpineol (17.2%) and thymol (18.8%); α -terpineol (32.7%), thymol (22.8%), borneol (11.6%) and carvacrol (6.9%); and α -terpineol (35.9%), thymol (15.6%) and borneol (12.4%) as the main constituents, respectively. Based on these studies, it seems that the essential oil of *S. satureioides* growing in

Algeria is characterized by the thymol/ α -terpineol/borneol chemotype, with slight differences in percentages depending on the harvesting times, plant processing and analytical conditions adopted for analyses.

Insecticidal activity

The essential oils extracted from the *A. campestris*, *P. arabica* and *S. satureioides* were toxic to the three insect species tested in this study (Table 2). As a general trend, toxicity was significantly lower than that characterizing the positive control, pyrethrum extract (Table 2). Concerning *C. quinquefasciatus* 3rd instar larvae, the most effective essential oil was the *A. campestris* one, showing a LC_{50} value of 45.8 mg L^{-1} , significantly lower if compared to the LC_{50} values achieved by the essential oils of *S. satureioides* and *P. arabica*, which were 62.8 and 230.3 mg L^{-1} , respectively, with no overlapping CI_{95} . Both *A. campestris* and *S. satureioides* had LC_{90} values lower than 100 mg L^{-1} , i.e., 84.2 and 94.4 mg L^{-1} indicating promising insecticidal activity (Table 2), which is generally considered suitable for the development of botanical larvicides (Pavela 2015).

The *A. campestris* essential oil was toxic also against *M. domestica* adults, showing a LD_{50} value of $99.8 \text{ } \mu\text{g adult}^{-1}$. However, this LD_{50} value did not significantly differ (with overlapping CI_{95}) from the LD_{50} estimated for *S. satureioides*

essential oil, which was $113.9 \text{ } \mu\text{g adult}^{-1}$. On the other hand, the LD_{50} calculated for the *P. arabica* essential oil ($193.3 \text{ } \mu\text{g adult}^{-1}$) was significantly higher if compared to the two abovementioned ones. Overall, to suppress 90% of the housefly population with the most effective essential oil, *A. campestris*, a LD_{90} of $258.7 \text{ } \mu\text{g adult}^{-1}$ is needed (Table 2).

The essential oil from *A. campestris* was scarcely toxic to *S. littoralis* 3rd instar larvae, with an $LD_{50} > 200 \text{ } \mu\text{g larva}^{-1}$, while *S. satureioides* and *P. arabica* essential oils achieved LD_{50} values of 61.2 and $68.9 \text{ } \mu\text{g larva}^{-1}$, respectively, with overlapping CI_{95} . Their LD_{90} did not differ with each other, being 150.2 and $131.3 \text{ } \mu\text{g larva}^{-1}$, respectively, with overlapping CI_{95} . All essential oils also showed significantly lower efficacy if compared to the pyrethrum extract tested by us as positive control (Table 2).

Although the efficacy of the essential oils we tested was average compared to some other essential oils (Palacios et al. 2009a, b), it can be assumed that even sub-lethal doses can have fatal outcomes, for example, against flies, as previously demonstrated for the essential oils from *Thymus vulgaris* L. containing thymol as its major substance. Sub-lethal doses of thyme and *Carlina acaulis* L. essential oils caused a significant reduction in the longevity and fecundity of *M. domestica*, thyme oil exposure also led to lower weight of the pupae, high mortality during metamorphosis and very low total F_1 natality when the parental females had been exposed (Pavela 2007; Pavela et al. 2020).

Table 2 Insecticidal efficacy of the essential oils (EOs) from three Algerian medicinal plants, *Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica* and *Saccocalyx satureioides*, on larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Spodoptera littoralis*, and adults of *Musca domestica*

Insect species	Unit	$LC_{50}/LD_{50} \pm SE$	CI_{95}	$LC_{90}/LD_{90} \pm SE$	CI_{95}	χ^2	p-value
<i>Artemisia campestris</i> EO							
<i>Culex quinquefasciatus</i> 3rd instar larva	mg L^{-1}	45.8 ± 1.8	46.5–49.4	84.2 ± 5.8	75.9–82.9	6.849	0.144 n.s.
<i>Musca domestica</i> adult female	$\mu\text{g adult}^{-1}$	99.8 ± 5.6	89.5–111.3	258.7 ± 31.2	212.3–340.8	1.071	0.898 n.s.
<i>Spodoptera littoralis</i> 3rd instar larva	$\mu\text{g larva}^{-1}$	> 200					
<i>Pulicaria arabica</i> EO							
<i>Culex quinquefasciatus</i> 3rd instar larva	mg L^{-1}	230.3 ± 6.8	228.6–245.5	841.3 ± 87.6	729.9–953.9	4.077	0.133 n.s.
<i>Musca domestica</i> adult female	$\mu\text{g adult}^{-1}$	193.3 ± 22.3	174.5–231.8	523.4 ± 17.5	498.3–597.8	0.801	0.671 n.s.
<i>Spodoptera littoralis</i> 3rd instar larva	$\mu\text{g larva}^{-1}$	68.9 ± 4.9	59.3–72.9	131.3 ± 10.2	125.8–148.6	0.678	0.715 n.s.
<i>Saccocalyx satureioides</i> EO							
<i>Culex quinquefasciatus</i> 3rd instar larva	mg L^{-1}	62.8 ± 1.9	59.2–66.9	94.4 ± 5.4	86.1–99.1	1.882	0.391 n.s.
<i>Musca domestica</i> adult female	$\mu\text{g adult}^{-1}$	113.9 ± 6.1	102.6–126.7	260.4 ± 31.4	256.7–325.8	1.191	0.755 n.s.
<i>Spodoptera littoralis</i> 3rd instar larva	$\mu\text{g larva}^{-1}$	61.2 ± 9.2	48.9–82.3	150.2 ± 12.3	142.2–172.9	0.225	0.882 n.s.
Positive control: pyrethrum extract							
<i>Culex quinquefasciatus</i> 3rd instar larva	mg L^{-1}	0.071 ± 0.001	0.068–0.73	0.095 ± 0.003	0.090–0.102	1.889	0.929 n.s.
<i>Musca domestica</i> adult female	$\mu\text{g adult}^{-1}$	3.98 ± 0.25	3.25–4.56	9.87 ± 0.85	8.79–11.56	2.145	0.845 n.s.
<i>Spodoptera littoralis</i> 3rd instar larva	$\mu\text{g larva}^{-1}$	5.83 ± 1.15	4.95–6.78	15.18 ± 1.12	12.35–17.12	1.285	0.529 n.s.

LC/LD_{50} = lethal concentration/lethal dose killing 50% of the exposed insect population

LC/LD_{90} = lethal concentration/lethal dose killing 90% of the exposed insect population

CI_{95} = 95% confidence interval

n.s. = not significant ($d.f. = 4, p > 0.05$)

This phenomenon has also been observed for other insect species, where it has been found that application of sub-lethal doses or concentrations may have a significant negative effect on larval development and on reproductive parameters in adults (Pavela 2013; Benelli et al. 2018b). However, we are aware that further experiments will be needed to confirm this hypothesis.

Overall, the *A. campestris* essential oil appeared to be the most active on the lymphatic filariasis vector, *C. quinquefasciatus*. The chemical analysis of its essential oil put in evidence a pool of major constituents, namely β -pinene (15.2%), α -pinene (11.2%), myrcene (10.3%), germacrene D (9.0%), (*Z*)- β -ocimene (8.1%) and γ -curcumene (6.4%). The larvicidal effect can therefore be the result of the complex interaction between these compounds. The two pinene isomers (α - and β -) are endowed with larvicidal effects against several mosquito larvae (Govindarajan et al. 2016). For instance, α -pinene showed a LC_{50} values of 15.4 and 47–49 ppm on *Aedes aegypti* L. and *C. pipiens*, respectively; β -pinene displayed LC_{50} values of 12.1, 23.2, and 32.2 ppm on *Ae. aegypti*, *Anopheles stephensi* Liston, and *C. quinquefasciatus*, respectively; germacrene D was toxic to *An. anthropophagus* larvae with LC_{50} of 49.8 ppm; (*Z*)- β -ocimene was toxic to *An. stephensi*, *Ae. aegypti*, and *C. quinquefasciatus* larvae showing LC_{50} of 41.9, 46.3 and 50.6 ppm, respectively (Maggi and Benelli 2018). In particular, the presence of exocyclic double bonds in some of their structures may contribute to inducing toxicity in insects (Benelli et al. 2017). Taken together, these mixtures may also have a multi-target action, interacting with GABA, AChE and octopaminergic systems (Jankowska et al. 2017, 2019).

On the other hand, *S. satureioides* and *P. arabica* essential oils achieved noteworthy toxicity on *S. littoralis*. The two essential oils were characterized by thymol (25.6%), α -terpineol (24.6%), borneol (17.4%) and *p*-cymene (11.4%), and *epi*- α -cadinol (23.9%), δ -cadinene (21.1%), α -cadinol (19.8%), and germacrene D-4-ol (8.4%), respectively. The toxicity of thymol-rich essential oil from *S. satureioides* and thymol itself in *S. littoralis* has been reported in several papers (Pavela 2010; Pavela et al. 2019c). One of the main mechanisms of action of thymol is through modulation of GABA_A receptors (Priestley et al. 2003). It has also been reported that the effect of thymol may be enhanced by the presence of *p*-cymene (Burt 2004). However, it is surprising that this kind of oil did not produce relevant toxicity on *C. quinquefasciatus* and *M. domestica*, as previously seen for other oils with similar chemical profile or for the pure compound itself (Benelli et al. 2017; Pavela et al. 2018b). Thus, we can assume that the other constituents may antagonize the mosquitocidal effects of thymol. Concerning the oxygenated sesquiterpenes, the main essential oil constituents in *P. arabica*, no reports on their insecticidal effects have been previously provided.

The essential oils tested in this study were extracted from plants growing in arid areas. Therefore, they may have a relevant potential as novel crops in climatically dry areas in the future. *Saccocalyx satureioides*, which had a high yield of essential oil (2.8%), appears to be particularly promising as source of novel green insecticides. Further research on this plant should focus on new technologies to boost its effectiveness and stability in the field (Pavoni et al. 2019), as well as the possibility of increasing the yield of essential oils, which has proved to be very important for the cultivation of aromatic plants (Pavela et al. 2016, 2018c).

Conclusions

The exploration of the Algerian flora in the search of bioactive plant-borne essential oils led us to identify *A. campestris* as a potential ingredient for botanical insecticides. From a real-world point of view, the most interesting use of the *A. campestris* essential oil is as mosquito larvicide, as the LC_{50} fits the criteria by Pavela (2015), being below 100 mg L⁻¹. Future research efforts are needed about evaluating the synergistic and antagonistic blends of the *A. campestris* essential oil in selected blends of botanical insecticides for biocontrol purposes (Benelli et al. 2017), as well as to shed light on the possible modes of action of this essential oil (Jankowska et al. 2017) and to boost its stability and bioactivity through nanoemulsion and nanoencapsulation techniques or the employ of green coated nanoparticles (Benelli et al. 2018c; Pavela et al. 2019b).

Funding This work was supported by the FAR 2014-2015 (Fondo di Ateneo per la Ricerca) of the University of Camerino. R. Pavela would like to thank the Ministry of Agriculture of the Czech Republic for the financial support of the botanical pesticide and basic substances research. Financial support for this work was provided by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Project MZE-RO0418). The authors also thank M'sila University (CNEPRU, Comité National d'Evaluation et de Programmation de la Recherche Universitaire) (grant no D01N01 UN2801 201 50001).

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Abbott WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol* 18:265–267
- Abed NE, Harzallah-Skhiri F, Boughalleb N (2010) Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. from Tunisia. *Agric Segment* 1:1530–1534

- Abidi A, Sebai E, Dhibi M, Alimi D, Rezik M, B'chir F, Maizels RM, Akkari H (2018) Chemical analyses and anthelmintic effects of *Artemisia campestris* essential oil. *Vet Parasitol* 263:59–65
- Akrout A, Chemli R, Simmonds M, Kite G, Hammami M, Chreif I (2003) Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J Essent Oil Res* 15:333–336
- Akrout A, El Jani H, Amouri S, Neffati M (2010) Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso. and *Thymus capitatus* Hoff. et Link. growing wild in the southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech* 2:29–39
- Ali SA (2011) Natural products as therapeutic agents for schistosomiasis. *Res J Med Plant* 5:1–20
- Allali H, Benmehdi H, Dib MA, Tabti B, Ghalem S, Benabadji N (2008) Phytotherapy of diabetes in West Algeria. *Asian J Chem* 20:2701–2710
- Baba Aissa F (1991) Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchene et Addwane, Alger, p 181
- Baba Aissa F (1999) Encyclopédie des plantes utiles « Flore d'Algérie et du Maghreb ». Librairie moderne, Rouiba, p 368
- Bakchiche B, Gherib A, Bronze MR, Ghareeb MA (2019) Identification, quantification, and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Artemisia campestris* from Algeria. *Turk J Pharm Sci* 16:234–239
- Belhattab R, Boudjouf M, Barroso JG, Pedro LP, Figueirido AC (2011) Essential oil composition from *Artemisia campestris* grown in Algeria. *Adv Environ Biol* 5:429–432
- Benabed KH (2018) Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles et extraits phénoliques de deux espèces de la famille des Lamiaceae. Doctorat en Sciences: Biologie-Biochimie Université Kasdi Merbah Ouargla, 126
- Benahmed M, Djeddi N, Akkal S, Laouar H (2016) *Saccocalyx satureioides* as corrosion inhibitor for carbon steel in acid solution. *Int J Ind Chem* 7:109–120
- Bendahou M, Benyoucef M, Muselli A, Desjobert JM, Paolini J, Bernardini AF, Costa J (2008) Antimicrobial activity and chemical composition of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. Essential oil and extract obtained by microwave extraction, comparison with hydrodistillation. *J Essent Oil Res* 20:174–178
- Bendimerad N, Bekhechi C, Belmekki N, Fernandez X (2009) Chemical analysis and antimicrobial activity of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. essential oil from southwestern Algeria. *Int J Essent Oil Ther* 3:1–5
- Benelli G, Beier JC (2017) Current vector control challenges in the fight against malaria. *Acta Trop* 174:91–96
- Benelli G, Romano D (2017) Mosquito vectors of Zika virus. *Entomol Gen* 36:309–318
- Benelli G, Pavela R, Iannarelli R, Petrelli R, Cappellacci L, Cianfaglione K, Afshar FH, Nicoletti M, Canale A, Maggi F (2017) Synergized mixtures of Apiaceae essential oils and related plant-borne compounds: larvicidal effectiveness on the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. *Ind Crop Prod* 96:186–195
- Benelli G, Pavela R, Petrelli R, Cappellacci L, Santini G, Fiorini D, Sut S, Dall'Acqua S, Canale A, Maggi F (2018a) The essential oil from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products as an effective tool for insect pest management in organic crops. *Ind Crop Prod* 122:308–315
- Benelli G, Pavela R, Giordani C, Casertari L, Curzi G, Cappellacci L, Petrelli R, Maggi F (2018b) Acute and sub-lethal toxicity of eight essential oils of commercial interest against the filariasis mosquito *Culex quinquefasciatus* and the housefly *Musca domestica*. *Ind Crop Prod* 112:668–680
- Benelli G, Maggi F, Canale A, Mehlhorn H (2019a) Lyme disease is on the rise—how about tick repellents? A global view. *Entomol Gen* 39:61–72
- Benelli G, Pavela R, Zorzetto C, Sánchez-Mateo CC, Santini G, Canale A, Maggi F (2019b) Insecticidal activity of the essential oil from *Schizogyne sericea* (Asteraceae) on four insect pests and two non-target species. *Entomol Gen* 39:9–18
- Benelli G, Maggi F, Pavela R, Murugan K, Govindarajan M et al. (2018c) Mosquito control with green nanopesticides: towards the One Health approach? A review of non-target effects. *Environ Sci Pollut Res* 25:10184–10206. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9752-4>
- Biondi DM, Sari M, Zedam A, Ruberto R (2006) Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. et Durieu. *Flavour Fragr J* 21:546–548
- Boudjelal A, Henchiri C, Sari M, Sarri D, Hendel N, Benkhaled A, Ruberto G (2013) Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila - North Algeria - (2013): an ethnopharmacology survey. *J Ethnopharmacol* 148:395–402
- Boukhalchal S, Gourine N, Pinto DC, Silva AM, Yousfi M (2018) Variability of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oils of two subspecies of *Artemisia campestris* L. growing in Algeria. *J Food Measur Charact* 12:1829–1842
- Boumaraf M, Mekkiou R, Benyahia S, Chalchat JC, Chalard P, Benayache F, Benayache S (2016) Essential oil composition of *Pulicaria undulata* (L.) DC. (Asteraceae) growing in Algeria. *Int J Pharmacogn Phytochem Res* 8:746–749
- Boutemak K, Benali N, Moulai-Mostefa N (2017) Optimization of combination of steam distillation and solvent extraction of *Artemisia campestris* essential oil using RSM. *Int Res J Public Environ Health* 4:259–269
- Burt S (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol* 94:223–253
- Butler JF, Garcia-Maruniak A, Meek F, Maruniak JE (2010) Wild Florida house flies (*Musca domestica*) as carriers of pathogenic bacteria. *Fla Entomol* 93:218–223
- Chaieb I, Zarrad K, Sellam R, Tayeb W, Hammouda AB, Laarif A, Bouhachen S (2018) Chemical composition and aphidicidal potential of *Citrus aurantium* peel essential oils. *Entomol Gen* 37:63–75
- Costa R, De Fina MR, Valentino MR, Rustiayan A, Dugo P, Dugo G, Mondello L (2009) An investigation on the volatile composition of some *Artemisia* species from Iran. *Flavour Fragr J* 24:75–82
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu Rev Entomol* 52:81–106
- Dib I, El Alaoui-Faris FE (2019) *Artemisia campestris* L.: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds. *Biomed Pharmacother* 109:1884–1906
- Dib I, Fauconnier ML, Sindie M, Belmekki F, Assaidi A, Berrabah M, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A, Bnouham M, Ziyat A (2017) Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Compl Alt Med* 17:1–15
- Djemane N, Gherraf N, Arhab R, Zellagui A, Rebbas K (2016) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. *D Phar Let* 8:1–6
- Dobignard A, Chatelain C (2010) Index synonymique de la flore d'Afrique du nord (Pteridophyta, Gymnospermae, Monocotyledoneae), vol 1. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques, Genève, p 458
- Dobignard A, Chatelain C (2011a) Index synonymique de la flore d'Afrique du nord (Dicotyledoneae: Acanthaceae - Asteraceae), vol 2. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques, Genève, p 428
- Dobignard A, Chatelain C (2011b) Index synonymique de la flore d'Afrique du nord (Dicotyledoneae: Balsaminaceae - Euphorbiaceae), vol 3. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques, Genève, p 449
- Finney DJ (1971) Probit Analysis. Cambridge University, London, pp 68–78

- Ghorab H, Laggoune S, Kabouche A, Semra Z, Kabouche Z (2013) Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia campestris* L. from Khenchela (Algeria). *Pharm Lett* 5:189–192
- Govindarajan M, Rajeswary M, Hoti SL, Bhattacharyya A, Benelli G (2016) Eugenol, α -pinene and β -caryophyllene from *Plectranthus barbatus* essential oil as eco-friendly larvicides against malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. *Parasitol Res* 115: 807–815
- Guz N, Gagatay NS, Fotakis EA, Dumusoglu E, Vontas J (2020) Detection of diflubenzuron and pyrethroid resistance mutations in *Culex pipiens* from Muğla, Turkey. *Acta Trop* 203:105294
- Hammiche V, Maiza K (2006) Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J Ethnopharmacol* 105:358–367
- Houicher A, Hechachna H, Özogul F (2016) *In vitro* determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria. *Int J Food Prop* 19:1749–1756
- Isman MB (2018) Bridging the gap: moving botanical insecticides from the laboratory to the farm. *Ind Crops Prod* doi 110:10–14. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.012>
- Isman MB (2020) Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? *Annu Rev Entomol* 65:233–249
- Jankowska M, Rogalska J, Wyszowska J, Stankiewicz M (2017) Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system—a review. *Molecules* 23:34
- Jankowska M, Wisniewska J, Faltynowicz L, Lapid B, Stankiewicz M (2019) Menthol Increases Bendiocarb Efficacy Through Activation of Octopamine Receptors and Protein Kinase A. *Molecules* 24:20–3775
- Judzentiene A, Budiene J (2014) Variability of *Artemisia campestris* L. essential oils from Lithuania. *J Essent Oil Res* 26:328–333
- Kherkchache H, Benabdelaziz I, Silva AMS, Lahrech MB, Benalia M, Haba H (2018) A new indole alkaloid, antioxidant and antibacterial activities of crude extracts from *Saccocalyx satureioides*. *Natural Product Research* <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1519817>
- Laouer H, Akkal S, Debarnot C, Canard B, Meierhenrich UJ, Baldovini N (2006) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. *Nat Prod Comm* 1645–650
- Maggi F, Benelli G (2018) Essential oils from aromatic and medicinal plants as effective weapons against mosquito vectors of public health importance. In *Mosquito-borne Diseases* (pp. 69–129). Springer, Cham
- Maggi F, Papa F, Giuliani C, Maleci Bini L, Venditti A, Bianco A et al (2015) Essential oil chemotypification and secretory structures of the neglected vegetable *Smyrniolum olusatrum* L. (Apiaceae) growing in Central Italy. *Flavour Fragr J* 30:139–159
- Medila I, Touni I, Ferhat I, Mehaych R (2017) Biological evaluation of anti-inflammatory activity of *Artemisia campestris* L. and *Spitzelia coronopifolia* Desf ethanollic leaves extract. *J Chem Pharm Res* 9:1–4
- Miara MD, Bendif H, Rebbas K, Rabah B, Hammou MA, Maggi F (2019) Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *J Herb Med*: 100262
- Mohamadi S, Zhao M, Amrani A, Marchioni E, Zama D, Benayache F, Benayache S (2015) On-line screening and identification of antioxidant phenolic compounds of *Saccocalyx satureioides* Coss. et Dur. *Ind Crop Prod* 76:910–919
- Mossa JS, Hifaway MS, Al-Yahya MA, Al-Meshal IA, Mekkawi AG (1987) Aromatic plants of Saudi Arabia (part 8), GC/MS analysis of essential oils of *Pulicaria arabica* and *P. undulata*. *Pharm Biol* 25:113–119
- Mouhajir F (2002) Medicinal plants used by Berber and Arab peoples of Morocco: Ethnopharmacology and phytochemistry. Phd in University of British Columbia, Vancouver, p 245
- Mustafa AM, Eldahmy SI, Caprioli G, Bramucci M, Quassinti L, Lupidi G et al (2018) Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Pulicaria undulata* (L.) CA Mey. Growing wild in Egypt. *Nat Prod Res.* <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1534107>
- Naqqash MN, Gökçe A, Bakhsh A, Salim M (2016) Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests. *Parasitol Res* 115: 1363–1373
- Neffati A, Skandrani I, Ben Sghaier M, Bouhlef I, Kilani S, Ghedira K, Neffati M, Chraief I, Hammami M, Chekir-Ghedira L (2008) Chemical composition, mutagenic and antimutagenic activities of essential oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba alba*. *J Essent Oil Res* 20:471–477
- Palacios SM, Bertoni A, Rossi Y, Santander R, Urzua A (2009a) Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules* 14:1938–1947
- Palacios SM, Bertoni A, Rossi Y, Santander R, Urzua A (2009b) Insecticidal activity of essential oils from native medicinal plants of Central Argentina against the house fly, *Musca domestica* (L.). *Parasitol Res* 106:207–212
- Pavela R (2007) Lethal and sublethal effects of thyme oil (*Thymus vulgaris* L.) on the house fly (*Musca domestica* Lin.). *J Essent Oil Bear Plants* 10:346–356
- Pavela R (2010) Acute and synergistic effects of monoterpene essential oil compounds on the larvae of *Spodoptera littoralis*. *J Biopest* 3: 573
- Pavela R (2013) Sublethal effects of some essential oils on the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *J Essent Oil-Bear Plants* 15:144–156
- Pavela R (2015) Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Ind Crop Prod* 76:174–187
- Pavela R, Žabka M, Bečvář J, Triska J, Vrchotová N (2016) New knowledge for yield, composition and insecticidal activity of essential oils obtained from the aerial parts or seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Ind Crop Prod* 83:275–282
- Pavela R, Maggi F, Lupidi G, Mbuntcha H, Woguem V, Womeni HM, Barboni L, Tapondjou LA, Benelli G (2018a) *Clausena anisata* and *Dysphania ambrosioides* essential oils: from ethnomedicine to modern uses as effective insecticides. *Environ Sci Pollut Res* 25:10493–10503. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0267-9>
- Pavela R, Maggi F, Cianfaglione K, Bruno M, Benelli G (2018b) Larvicidal activity of essential oils of five Apiaceae taxa and some of their main constituents against *Culex quinquefasciatus*. *Chem Biodivers* 15:e1700382
- Pavela R, Žabka M, Bečvář J, Triska J, Vrchotová N (2018c) Effect of foliar nutrition on the essential oil yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Ind Crop Prod* 112:762–765
- Pavela R, Maggi F, Iannarelli R, Benelli G (2019a) Plant extracts for developing mosquito larvicides: from laboratory to the field, with insights on the modes of action. *Acta Trop* 193:236–271
- Pavela R, Pavoni L, Bonacucina G, Cespi M, Kavallieratos NG, Cappellacci L, Petrelli R, Maggi F, Benelli G (2019b) Rationale for developing novel mosquito larvicides based on isofuranodiene microemulsions. *J Pest Sci* 92:909–921
- Pavela R, Bartolucci F, Desneux N, Lavoit AV, Canale A, Maggi F, Benelli G (2019c) Chemical profiles and insecticidal efficacy of the essential oils from four *Thymus* taxa growing in Central-Southern Italy. *Ind Crop Prod* 138:111460
- Pavela R, Maggi F, Petrelli R, Cappellacci L, Buccioli M, Palmieri A, Canale A, Benelli G (2020) Outstanding insecticidal activity and sublethal effects of *Carlina acaulis* root essential oil on the housefly, *Musca domestica*, with insights on its toxicity on human cells. *Food Chem Toxicol* 136:111037. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111037>

- Pavoni L, Pavela R, Cespi M, Bonacucina G, Maggi F, Zeni V et al. (2019). Green Micro-and Nanoemulsions for Managing Parasites, Vectors and Pests. *Nanomaterials* 9:9–1285
- Petrović M, Popović A, Kojić D, Šučur J, Bursić V, Aćimović M et al. (2019). Assessment of toxicity and biochemical response of *Tenebrio molitor* and *Tribolium confusum* exposed to *Carum carvi* essential oil. *Entomol Gen* 39:333–348
- Priestley CM, Williams on EM, Wafford KA, Sattelle DB (2003) Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br J Pharmacol* 140:1363–1372
- Provencal P (2010) The arabic plant names of Peter Forskål's Flora Aegyptiaco-Arabica. ISBN: 978-87-7304-345-5, 161
- Quezel P, Santa S (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Paris. Centre National de la Recherche Scientifique 2:798–990
- Ravandeh M, Valizadeh J, Noroozifar M, Khorasani-Motlagh M (2011) Screening of chemical composition of essential oil, mineral elements and antioxidant activity in *Pulicaria undulata* (L.) CA Mey from Iran. *J Med Plants Res* 5:2035–2040
- Sari M, Dj S, Hendel N, Boudjelal A (2012) Ethnobotanical study of therapeutic plants used to treat arterial hypertension in the Hodna region of Algeria. *Global J Res Med Plants Indigen Med* 1:411–417
- Stevenson PC, Isman MB, Belmain SR (2017) Pesticidal plants in Africa: a global vision of new biological control products from local uses. *Ind Crop Prod* 110:2–9
- Trabut L (1935) Flore du nord de l'Algérie. Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le nord de l'Afrique, Ed. Collection du Centenaire de l'Algérie 1830-1930, Etudes Scientifiques
- Ullah F, Gul H, Desneux N, Gao X, Song D (2019a) Imidacloprid-induced hometic effects on demographic traits of the melon aphid, *Aphis gossypii*. *Entomol Gen* 39:325–337
- Ullah F, Gul H, Desneux N, Qu Y, Xu Xiao X, Khattak AM, Gao X, Song D (2019b) Acetamiprid-induced hometic effects and vitellogenin gene (Vg) expression in the melon aphid, *Aphis gossypii*. *Entomol Gen* 39:259–270
- van den Hurk AF, Hall-Mendelin S, Jansen CC, Higgs S (2017) Zika virus and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes: a tenuous link. *Lancet Infect Dis* 17:1014–1016
- Varikou K, Garantonakis N, Birouraki A (2019) Exposure of *Bombus terrestris* L. to three different active ingredients and two application methods for olive pest control. *Entomol Gen* 39:53–60
- WHO (1996) Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides. CTD/WHOPES/IC/96.1. p. 69
- Wilke ABB, Beier JC, Benelli G (2020) Filariasis vector control downplayed due to the belief the drugs will be enough – not true! *Entomol Gen* doi 40:15–24. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2019/0776>
- Yavaşoglu Sİ, Yaylagül EÖ, Akıner MM, Ülger C, Çağlar SS, Şimşek FM (2019). Current insecticide resistance status in *Anopheles sacharovi* and *Anopheles superpictus* populations in former malaria endemic areas of Turkey. *Acta Trop* 193:148–157
- Younsi F, Mehdi S, Aissi O, Rahali N, Jaouadi R, Boussaid M, Messaoud C (2017) Essential oil variability in natural populations of *Artemisia campestris* (L.) and *Artemisia herba-alba* (Asso) and incidence on antiacetylcholinesterase and antioxidant activities. *Chem Biodivers* 14:e1700017
- Zerroug MM, Laouer H, Strange RN, Nicklin J (2011) The effect of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. on the growth of and the production of Solanapyrone a by *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. *Adv Environ Biol* 5:501–506
- Znini M, Cristofari G, Majidi L, Paolini J, Desjobert JM, Costa J (2013) Essential oil composition and antifungal activity of *Pulicaria mauritanica* Coss., against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *LWT-Food Sci Technol* 54:564–569
- Zorzotto C, Sánchez-Mateo CC, Rabanal RM, Lupidi G, Petrelli D, Vitali LA et al (2015) Phytochemical analysis and in vitro biological activity of three *Hypericum* species from the Canary Islands (*Hypericum reflexum*, *Hypericum canariense* and *Hypericum grandifolium*). *Fitoterapia* 100:95–109

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

TRADITIONAL USES, PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *PULICARIA ARABICA* (L.) CASS.

A. SASSOUI^{1,2,*}, D. SARRI¹, N. HENDEL³, M. SARRI^{1,*}

¹Mohamed Boudiaf University, Department of Nature and Life Sciences, M'Sila / ALGERIA

²May 8, 1945 University, Laboratory of Biology, Water and Environment (LBWE), Guelma/ ALGERIA

³Mohamed Boudiaf University, Department of Microbiology and Biochemistry, M'Sila / ALGERIA

*Corresponding authors: ammarsassoui@univ-msila.dz / madani.sarri@univ-msila.dz

Abstract: This article aims to overview the traditional uses, chemical compositions and biological activities of essential oils and extracts of *Pulicaria arabica* which is considered a traditional medicinal plant in the treatment of various diseases. The *P. arabica* is used in the treatment of several diseases such as antidiarrheal, anti schistosomiasis, digestive disorders, ulcers, anti-tobacco and skin diseases. Several different biological properties have been reported such as antimicrobial, antioxidant, analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, insecticidal, hepatoprotective and nephritic effects. The chemical investigation of the *P. arabica* (aerial parts, leaves, stems and flowers) showed some qualitative and quantitative differences in the chemical composition, for example the major compounds for essential oils (Thymol, γ -Cadinene, α -Cadinol and epi- α -Cadinol), flavonoids and Caryophyllene derivatives.

Keywords: Asteraceae, *Pulicaria arabica* (L.) Cass., Ethnomedecine, Chemical composition, Bioactivities.

1. Introduction

Pulicaria arabica (L.) Cass. (Asteraceae, Inuleae) its basionym are *Inula arabica* L. This species its native range is South and East Mediterranean basin to Pakistan and Arabian Peninsula (Fig.1a) [1]. There are 12 species of *Pulicaria* that grow naturally in Algeria [2,3], among them *P. arabica* is a grass that shelters wet places and marshes. The plant is traditionally used in Algeria, Egypt, Saudi Arabia and other countries [4-6].

The phytochemical study of the essential oil of *P. arabica* showed a significant chemical variation in different countries such as Egypt [7-10], Saudi Arabia [11-13], Algeria [4,14].

Some publications reported bioactivities of *P. arabica* as antibacterial [4,15-17], antioxidant [4,16], antiviral [18], analgesic, antipyretic and anti-inflammatory in hepatic and nephritic [19] and insecticidal [14].

This article aims to give the relevant literature of the medicinal uses, chemical compositions, and biological activities of *P. arabica* growing in Algeria comparing with other countries.

2. Taxonomic tree of *Pulicaria arabica* (L.) Cass.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Order	: Asterales
Division	: Magnoliophyta
Family	: Asteraceae
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Genus	: <i>Pulicaria</i> Gaertn.
Species	: <i>Pulicaria arabica</i> (L.) Cass.

3. Vernacular names of *Pulicaria arabica* (L.) Cass.

Arabic : Rara ejub, abu- ain-safra, deithouth, hatassa, arba'a Aiuyûb.
 English: Ladies' false fleabane
 French: Pulicaire d'Arabie
 Spanish : Arrudena, coniza, yerba de las pulgas, yerba pulguera
 Portugal : Herba piolheira, tagueda.

4. Botanical description

Perennial plant with yellow flowers (Fig.1b) [1], erect 10-60 cm, with erect branches. Dichotomous, paniculate inflorescence. Capitula

heterogamous, multiflorous, long stalked, large or fairly large, 10-20 mm in diameter, with spreading ligules, fairly long, amply exceeding the involucre and flowers of the disk the tubular and hermaphroditic. Receptacle flat, bare, with alveolate spines. Involucre (bracts on a few rows, generally narrow, the outer ones are short or foliaceous) densely hairy, hispid achenes with fairly long double pappus, the outer one is short, free, cupuliform, made up of flakes more or less

horny at the base, free or more or less fused with the inner, the inner is composed of long, scabrous bristles. Leaves are linear, oblong lanceolate, entire, slightly or subdentate, not embarrassing, nor rolled up, tuberculous, rough, hairy or not [2].

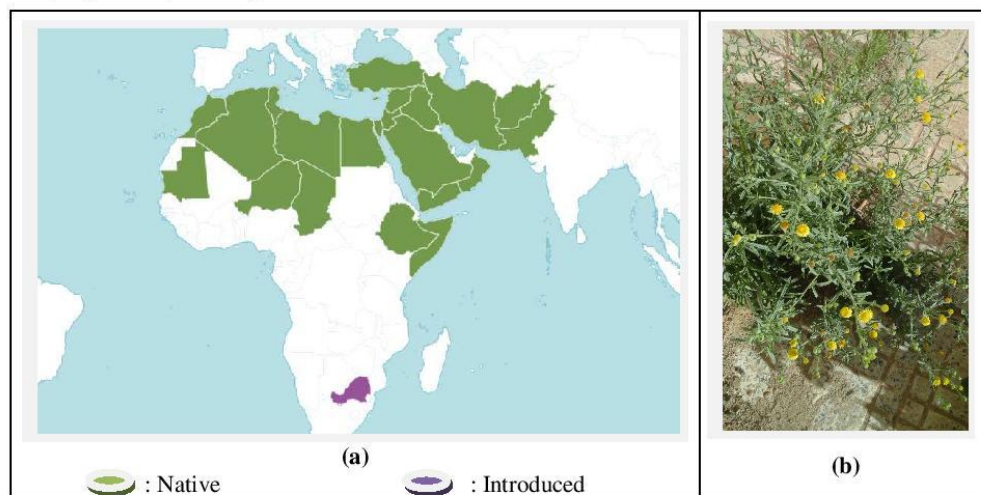


Fig.1: Distribution in the world ^(a) [1] and specimen harvested in Algeria ^(b) of *P. arabica* (L.) Cass.

5. Traditional uses

Pulicaria species are used in the treatment of several diseases such as hypoglycemia, fever, spasmodic diseases, cancers, microbial and

inflammation [20,21]. However, the *P. arabica* (L.) Cass. is used in folk medicine in the form of various remedies (Table 1).

Table 1: Traditional uses of *P. arabica* (L.) Cass.

Traditional uses	References
- antidiarrheal agent and antischistosomiasis	[6]
- treatment of painful swellings and boils	[4]
- treatment of digestive disorders	[5,12]
- treatment of ulcers	[22]
- anti-tobacco	[18]
- use as lotion for curing skin diseases	[23]
- the powder of the plant is used as an sneeze, by nasal intake, in the treatment of certain Oto-Rhino-Laryngology diseases and headaches	[24]

6. Phytochemical investigation

The analysis of chemical components identified in *Pulicaria* genus essential oils shows that the oil consists of several groups of

components, which are monoterpenes, hydrocarbons, oxygenated monoterpenes, sesquiterpene hydrocarbons, oxygenated

sesquiterpenes, aldehydes, and ketones [21]. In addition, Table 1 summarizes the previous investigations of authors on the phytochemical studies from *P. arabica* that characterize the presence of volatile oil [4,11,14,25], flavonoids [7,10,12], and caryophyllene derivatives [8]. The comparison of the chemical composition of the essential oil of *P. arabica* (aerial parts, leaves,

stems and flowers) shows some qualitative and quantitative differences in the composition of the oil from Saudian, Tunisian and Algerian of the plant studied [4,11,14,25]. Other research on the *P. arabica* species has reported the isolation of certain flavonoids compounds and caryophyllene derivatives (Table 1).

Table 2: Major chemical components of *P. arabica*

Country	Parts / Major components	References
	A) Essential oils	
Algeria	<u>Aerial parts</u> ■ Bicyclo(4.4.0) dec-1-ene2-Isopropyl-5-methyl-9-methylene (17.2%) ■ 1H-indene.1-ethylideneoctahydro (13.2%) ■ Δ-Cadinene (13.0%) ■ α-Muurolene (5.9%) ■ β-Ocimene (5.8%)	[4]
	<u>Aerial parts</u> ■ <i>epi</i> -α-Cadinol (23.9%) ■ δ-Cadinene (21.1%) ■ α-Cadinol (19.8%) ■ Germacrene D-4-ol (8.4%)	[14]
Saudi Arabia	<u>Aerial parts</u> ■ β-Selinene-2α-ol (3.4%) ■ β-Cedrene (2.5%) ■ Carbonyl compounds and acids (2%) ■ (Z)-Jasmone	[11]
Tunisia	<u>Stems</u> ■ Thymol (15.2%) ■ <i>cis</i> -Calamenene (9.1%) ■ Carbonyl compounds and acids (7.5%) ■ α- <i>epi</i> -Cadinol (6.6%)	[25]
	<u>Flowers</u> ■ γ-Cadinene (11.7%) ■ <i>cis</i> -Calamenene (9.5%) ■ α-Cadinol (8.6%)	
	<u>Leaves</u> ■ α-Cadinol (10.3%), ■ α- <i>epi</i> -Cadinol (8%) ■ <i>cis</i> -Calamenene (7.9%)	
B) Flavonoids		
Saudi Arabia	<u>Aerial parts</u> ■ Quercetagetin-3,6,7-trimethyl ether	[12]
Egypt	<u>Leaves and flowers</u> ■ Quercetagetin-3,7-dimethyl ether ■ Quercetagetin-3,5,7-trimethyl ether ■ Quercetagetin-3,5,7,3'-tetramethyl ether ■ Quercetin 3-glucoside ■ 3-glucuronide	[7]
	<u>Aerial parts</u> ■ Quercetagetin-3,5,6,7,4' ■ 3,5,6,7,3'-pentamethyl ethers ■ Quercetagetin-3',4'-dimethyl ether	[10]

Table 2: Major chemical components of *P. arabica* (Continued)

Country	Parts / Major components	References
	C) Caryophyllene derivatives	
Egypt	<u>Aerial parts</u>	[8]
	■ 12-Hydroxy-5 β -methoxy-6(14)-dehydro-5,6-dihydrocaryophyllen-7-one	
	■ 12-Acetoxy-5 β -methoxy-6(14)-dehydro-5,6-dihydrocaryophyllen-7-one	
	■ 12-Acetoxy-5 α -methoxy-6(14)-dehydro-5,6-dihydrocaryophyllen-7-one	
	■ 5 α ,12-dihydroxy-5,6-dihydrocaryophyllen-7-one	
	■ 12-Acetoxy-7 α ,14-dihydroxy-5E-caryophyllene	
	■ 12-Acetoxy-14-methoxy-5E-caryophyllen-7-one	
■ Bis-[SZ-7-oxo-caryophyllene]-14-O-ether		

7. Biological activities

In the literature, various biological activities have been reported on the genus *Pulicaria*. Most studies have been reported on antimicrobial [4,17,26-30], and antioxidant [4,27-32]. In addition, *Pulicaria* species have other activities such, analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, hepatoprotective and nephritic effects [19], antihistaminic [33], anticancer [30,34-37], leishmanicidal [38,39] and insecticidal [14,40].

Few works have been cited on biological activities, either on essential oils or extracts of *P. arabica*. In summary, the ethanolic extract of *P. arabica* induces potent analgesic, antipyretic and anti-inflammatory with significant hepatic and nephritic protective actions. In addition, the disturbance of liver and kidney function parameters induced by CCl₄ intoxication was recovered by *P. arabica* extract [19].

The microbiological effect of the essential oil of *P. arabica* show a significant inhibitory action against bacteria and yeasts [14], in addition, the ethanolic extract of *P. arabica* show activity against *Enterococcus faecalis*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [17]; the potential extended spectrum β -lactamase (ES β L) suppressing activities of crude extracts of *P. arabica* show a inhibitory activities [15]; and that *in vitro* antioxidant activity of essential oils of *P. arabica* was achieved using DPPH indicated a average capacity [4], but, the evaluation of the antiradical test of the methanolic extract of *P. arabica* shows a high capacity [4]. Also, the essential oils of *P. arabica* show a very marked insecticidal activity against *Spodoptera littoralis* [14].

8. Conclusion

Pulicaria arabica (L.) Cass. is an important medicinal plant utilized for the treatment of different diseases. The literature revealed that the phytoconstituents and biological activities are available in the *Pulicaria* genus. The species *P. arabica* remains the least studied species in terms of biological activities compared to other species of the genus; this article has summarized the few works cited in the literature, and our objective is to encourage researchers to value as an example the biological activities such as those of insecticidal, anti-inflammatory, anticancer and leishmanicidal of the species *P. arabica*.

9. References

1. Kew. Plants of the world Online (2022). <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:240490-1>
2. Quezel P., Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Paris. *Centre National de la Recherche Scientifique*, 2 (1963) 798-990.
3. Ozenda P. La flore du Sahara, Paris. Editions *Centre National de la Recherche Scientifique*, (1983) 430-432.
4. Djermane N., Gherraf N., Arhab R., Zellagui A., Rebbas K. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. *Der Phar Let*, 8 (2016) 1-6.
5. Zedan Z.I. and Hatem A.S. Phytochemical

- and pharmacological studies on *Pulicaria orientalis* Jaub & SP. *Bull. Pharma. Sci. Assiut University*, 6(2) (2002) 189-200.
6. Ali S.A., Natural products as therapeutic agents for schistosomiasis. *Res. J. Med. Plant.*, 5 (2011) 1-20.
 7. EL Negoumy S.I., Mansour R.M.A., Saleh N.A.M. Flavonols of *Pulicaria arabica*, *Phytochemistry*, 21(4) (1982) 953-954.
 8. Hafez S., Sarg T.M., El Domiaty M.M., Ahmed A.A., Melek F.R., Bohlmann F. Caryophyllene derivatives from *Pulicaria arabica*, *Phytochemistry*, 26(12) (1987), 3356-3358.
 9. Ramadan M.A., Flavonoids from *Pulicaria arabica* (L.) Cass. Assiut University, *Bull. Pharm. Sci.*, 21 (1998) 103-108.
 10. Malek F.R., El Ansari M.A., Hassan A., Regaila A., Ahmed A.A., Abary T.J. Methoxylated flavonoid aglycones from *Pulicaria arabica*, *Revista Latinoamérica Química*, 19 (1988) 119.
 11. Mossa J.S., Hifnawy M.S., Al-Yahya M.A., Al-Meshal I.A., Mekkawi A.G. Aromatic plants of Saudi Arabia (part 8), GC/MS analysis of essential oils of *Pulicaria arabica* and *P. undulata*., *Pharm Biol.*, 25 (1987) 113-119.
 12. Mossa J.S., Hifnawy M.S., Alyahya M.A., Hafez M.M., Shehata A.A., Elferaly F.S. Flavonoids and coumarins from three Saudi Arabian Compositae Species, *Int. J. Crude Drug Res.*, 26 (2) (1988) 181-184.
 13. Al Hazimi H.M.G., Al Khathlan H.Z. Chemistry of various *Pulicaria* species (Asteraceae). *Journal Chemical Society of Pakistan*, 14 (1992) 233-233.
 14. Sassoui A., Hendel N., Sarri D., Sarri M., Filippo M., Maurizio B., Donato R. Angelo C., Roman P. Giovanni B. Essential oils from three Algerian medicinal plants (*Artemisia campestris*, *Pulicaria arabica*, and *Saccocalyx satureioides*) as new botanical insecticides?, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 27 (2020), 26594-26604.
 15. Abdallah H.M., Asfour H.Z., El Halawany A.M., Elfaky M.A. Saudi plants as a source of potential β -lactamase inhibitors, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 31(1) (2018) 325-332.
 16. Djermane N., Gherraf N., Rebbas K., Arhab R. Comparative evaluation of the antiradical and antimicrobial activities of organic extracts of Algerian *Pulicaria arabica* (L.) Cass. with reference products. *Der Pharma Chemica*, 9(12) (2017) 114-118.
 17. Ozdemir N.E., Bilgin M., Gurdal B. Antimicrobial activity of *Pulicaria* species from Turkey. *Experimed.*, 11(3) (2021) 195-1199.
 18. Mouhajir F. Medecinal plants used by Berber and Arab peoples of Morocco: Ethnopharmacology and phytochemistry. PhD in University of British Columbia, Vancouver, (2002) 245.
 19. Yusufoglu H.S. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, hepatoprotective and nephritic effects of the aerial parts of *Pulicaria arabica* (Family: Compositae) on rats. *Asian Pac J Trop Med*, 7(1) (2014) S583-S590.
 20. Liu L.L., Yang J.L., Shi Y.P. Phytochemicals corroand biological activities of *Pulicaria* Species. *Chem. Biodivers.* 7 (2010) 327-349.
 21. Salleh W.M.N.H.W., Kassim H. Tawang A. Volatile components and biological activities of *Pulicaria* essential oils. A review. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 98(1) (2021) 49-58.
 22. Provençal P. The arabic plant names of Peter Forsskal's Flora Aegyptiaco-Arabica. ISBN: 978-87-7304-345-5, 161 (2010).
 23. Meinardus Otto F.A. The Virgin Mary as mediatrix between Christians and Muslims in the Middle East,"*Marian Studies*: Article 10, 47 (1996).
 24. Bellakhdar J. La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Edition Ibis Press, Paris, (1997) 764.
 25. Abed N.E. Harzallah-Skhiri F., Boughalleb N. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. from Tunisia, *Agric Segment*, 1(2010) 1530-1534.
 26. Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Vanhaelen M. Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. *J Ethnopharmacol*, 99 (2005) 287-292.
 27. Foudah A.I., Alam A., Soliman G.A., Salkini M.A., Ahmed E.O.I., Yusufoglu H.S. Pharmacognostical, antioxidant and antimicrobial studies of aerial part of *Pulicaria crispa* (Family: Asteraceae). *Bull Env Pharmacol Life Sci*, 4 (2015) 19-27.
 28. Elshiekh Y.H., Abd El Moniem M.A. Phytochemical, antibacterial screening and

- antioxidant activity of *Pulicaria crispa* extracts. *Pharm Innov J*, 3 (2015) 12-15.
29. Lougraimz H., M'sou S., Bouaichi A., Kotba I., El Hassan A. Chemical characterization and *in vitro* evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of *Pulicaria incisa* (Lam.) DC. essential oil. *Nat. Volatiles and Essent. Oils*, 7(2) (2020) 35-43.
30. Mohammed H.A., Al-Omar M.S., Khan R.A.; Mohammed S.A.A.; Qureshi, K.A., Abbas M.M., Al Rugaie O., Abd-Elmoniem E., Ahmad A.M., Kandil Y.I. Chemical profile, antioxidant, antimicrobial, and anticancer activities of the water ethanol extract of *Pulicaria undulata* growing in the Oasis of Central Saudi Arabian Desert. *Plants*, 10 (2021) 1811.
31. Algabr M.N., Mekkiou R., Ameddah S., Menad A., Boumaza O., Seghiri R., Benayache F. Antioxidant activities from the aerial parts of *Pulicaria jaubertii*. *Adv Nat Appl Sci*, 4 (2010) 63-71.
32. Hussein S.R., Marzouk M.M., Soltan M.M., Ahmed E.K., Said M.M., Hamed A.R. Phenolic constituents of *Pulicaria undulata* (L.) C.A. Mey. sub sp. *undulata* (Asteraceae): Antioxidant protective effects and chemosystematic significances. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25 (2017) 333-339.
33. El Maghraby A.S., Shalaby N., Abd-Alla H.I., Ahmed S.A. Khaled H.M., Baghat M.M. Immunostimulatory effects of extract of *Pulicaria crispa* before and after *Schistosoma mansoni* infection. *Acta Pol Pharm*, 67(1) (2010) 75-79.
34. Fawzy G.A., Al Ati H.Y., El Gamal A.A. Chemical composition and biological evaluation of essential oils of *Pulicaria jaubertii*. *Pharm. Mag.*, (9)33 (2013) 28-32.
35. Bhanu S.H., Thyagaraju K. Anticancer, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of some aromatic medicinal plants (*Pulicaria wightiana* - Asteraceae). *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, 6(10) (2017) 1370-1381.
36. Dekinash M.F., Abou-Hashem M.M., Beltagy A.M., El-Fiky F.K. GC/MS profiling, *in vitro* cytotoxic and antioxidant potential of the essential oil of *Pulicaria crispa* (Forsk.) growing in Egypt. *Int. J. Pharmacogn. Chinese Med.*, 3(3) (2019) 1-7.
37. Emam M.A., Khattab H.I., Hegazy M.G.A. Assessment of anticancer activity of *Pulicaria undulata* on hepatocellular carcinoma HepG2 cell line. *Tumor Biol.*, 41 (2019) 1010428319880080.
38. Asghari G., Zahabi F., Eskandarian A., Yousefi H., Asghari M. Chemical composition and leishmanicidal activity of *Pulicaria gnaphalodes* essential oil. *Res. J. Pharmacogn.* 1(4) (2014) 27-33.
39. Fadel H., Sifaoui I., López-Arencibia A., Reyes-Battle M., Hajaji S., Chiboub O., Jiménez I.A., Bazzocchi I.L., Lorenzo-Morales J., Benayache S., Piñero J.E. Assessment of the antiprotozoal activity of *Pulicaria inuloides* extracts, an Algerian medicinal plant: leishmanicidal bioguided fractionation. *Parasitology Research*, (2018) S00436-017-5731-4.
40. Khani A., Asghari J. Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum*, and the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *J. Insect. Sci.* 12 (2012) 1-10