RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS – SETIF –

MÉMOIRE

Présenté à la Faculté des Sciences de la nature et la vie

Département de Biologie végétale et d'Écologie

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Option : Biodiversité et gestion des écosystèmes

Par :

NOUIOUA Wafa

THÈME

BIODIVERSITE ET RESSOURCES PHYTOGENETIQUES

D'UN ECOSYSTEME FORESTIER « *Paeonia mascula* (L.) Mill. »

Soutenu le :

Devant le jury

Président	**BOUZERROUR Hamena**	**Professeur**	**Université Ferhat Abbas Sétif**
Encadreur	**KAABÈCHE Mohammed**	**Professeur**	**Université Ferhat Abbas Sétif**
Examinateur	**FENNI Mohammed**	**Professeur**	**Université Ferhat Abbas Sétif**
Examinateur	**HAFSI Miloud**	**Professeur**	**Université Ferhat Abbas Sétif**

2011-2012

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder l'exposé de mes résultats, qu'il me soit permis de remercier toutes les personnes qui, à des degrés divers, ont contribué à faciliter l'élaboration de cette étude.

Ce travail a été réalisé sous la direction du Professeur **Mohammed KAABÈCHE** qui a bien voulu me témoigner de sa confiance. Son intérêt, toujours renouvelé, ses conseils, tant sur le plan de la collecte des données sur le terrain qu'au plan de l'élaboration du mémoire et sa connaissance approfondie dans le domaine de l'écologie végétale, m'ont été précieux pour mener dans les meilleures conditions, cette étude dont il a déterminé les orientations, tout en me laissant entière liberté pour la conduire à mon gré. Je le remercie de la confiance qu'il m'a témoignée en me proposant ce sujet passionnant et en acceptant que cette étude se déroule sous l'égide de son équipe « Biodiversité et Ressources Phytogénétiques » (Laboratoire des Plantes Médicinales Appliquées aux Maladies Chroniques et je l'assure de ma profonde reconnaissance.

Je remercie, également, vivement Monsieur le Professeur **ZAIDI Farouk** (Faculté des Sciences UFAS) spécialiste en phytochimie, qui m'a initié aux techniques de phytochimie et qui a pris de son temps et qui a mis tous ses moyens à ma disposition pour que je puisse achever mon travail dans de bonnes conditions. C'est grâce à sa précieuse contribution que les analyses phytochimiques ont été réalisées.

Je suis très reconnaissante à Monsieur **BOUZERZOUR Hamena**, Professeur à l'Université de Sétif et Vice-Doyen de la Faculté SNV, pour avoir

accepté de juger ce travail ; je suis très sensible à l’honneur qu’il me fait en acceptant de présider le jury.

Que Monsieur **Mohammed FENNI,** Professeur à l’Université de Sétif et à Monsieur **HAFSI Miloud,** Professeur à l’Université de Sétif trouvent ici l'expression de ma gratitude pour l'intérêt qu'ils ont toujours porté à mon étude. Je les remercie, vivement, pour la confiance qu’ils m’ont témoignée en acceptant de juger ce travail en tant que membres du jury.

INTRODUCTION

Cette étude a été réalisée au sein du Laboratoire de recherche « Plantes médicinales Appliquées aux Maladies Chroniques » et particulièrement au sein de l'équipe « Biodiversité et Ressources Phytogénétiques » dirigée par le Professeur Mohammed KAABÈCHE.

Ayant une position géographique privilégiée, l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par 4125 plantes vasculaires inventoriées réparties en 123 Familles botaniques. A cette richesse spécifique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) et sur le plan pharmacologique.

Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles. Partant de ces constats, nous avons envisagé d'analyser les ressources phytogénétiques de la forêt de Kéfrida.

Le travail présenté traite de la biodiversité au sein d'un massif forestier de Kéfrida et de l'utilisation de cette biodiversité en tant que ressource. Cette utilisation est illustrée par une espèce de la famille des Paeoniaceae (ancienne famille des Ranunculaceae) Paeonia mascula (L.) Mill. endémique des montagnes telliennes sublittorales d'Algérie.

En Algérie, cette espèce est relativement rare ; elle colonise les forêts des montagnes calcaires et siliceuses bien arrosées situées à une altitude comprise entre 1250 m et 1500 m.

Selon la flore d’Algérie (Quézel et Santa, 1962-1963) l’aire de Paeonia mascula (L.) Mill. est limitée aux massifs forestiers de Petite Kabylie : forêt de Kéfrida, forêt de Gerrouch, forêt de Goubia, forêt des Monts Babor) et aux massifs forestiers de grande Kabylie : forêts du Djudjura et de l'Akfadou.

Cette plante colonise les collines boisées et les lisières, surtout dans, les zénaies. Il y a lieu de souligner, que depuis de nombreuses années, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (Bruneton, 1999).

L’ethnobotanique et l’ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Ce sont avant tout des domaines de recherche interdisciplinaire à l'interface des sciences de l'Homme, comme l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie, la médecine.

Il y a lieu de souligner que l'ethnopharmacologie et l’ethnobotanique ont donc pour finalité la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, et la description, l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles. L’usage empirique des différentes préparations traditionnelles plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l’intermédiaire d’investigations ethnobotaniques.

ASPECTS TAXONOMIQUES ET ETHNOBOTANIQUES

Dans un second temps, la connaissance des plantes choisies au travers des enquêtes ethnobotaniques peut être enrichie par la connaissance botanique des espèces citées. Les plantes appartenant aux mêmes familles ou à des familles voisines et/ou qui poussent dans les mêmes biotopes sont susceptibles de synthétiser les mêmes molécules chimiques. Par ailleurs, connaître la rareté éventuelle d'une espèce, son époque de floraison et sa disponibilité en terme de quantité peuvent également constituer des critères de choix.

C'est cette démarche que nous avons suivi pendant nos investigations sur le terrain : la contribution des riverains de la forêt portant sur les usages et les propriétés des plantes de cette région a été largement utilisée.

C'est grâce à leurs observations lors des discussions sur le terrain qu'une liste préliminaire de plantes potentiellement intéressantes a été établie. Dans une seconde étape, les plantes ont été identifiées sur la base de travaux bibliographiques et complétées par des données inédites qui ont été récoltées par nos soins sur le terrain.

Dans l'optique de réaliser un travail inédit et original, nous avons jugé qu'il est plus judicieux de choisir une plante (*Paeonia mascula)* qui n'a été pas étudiée aussi bien en Algérie que par ailleurs dans le Monde. Compte tenu de ces diverses constatations relative à l'importance de cette plante, aussi bien sur le plan biologique et chorologique (plante endémique) que sur le plan des ressources biologiques notamment son usage thérapeutique, cette espèce a retenu notre attention et a donc été choisie comme matériel biologique pour cette étude. En effet, les espèces du genre *Paeonia* sont connues pour leur richesse en principes actifs et sont, selon BRUNETON (1999), source de nombreuses molécules utilisées en pharmacie.

SÉLECTION DES EXTRAITS : CRIBLAGE BIOLOGIQUE

Les travaux de laboratoire, guidés par les usages vernaculaires, ont pour double but de constater le bien-fondé de l'usage d'une plante donnée en démontrant les effets biologiques par des techniques pharmacologiques et d'orienter les travaux chimiques ultérieurs vers une certaine fraction chimique de la plante.

Cette étude est structurée selon 3 chapitres.

- Le premier chapitre traite du contexte écologique qui caractérise la région d'étude où se développe la plante étudiée.
- Le second chapitre prend en compte le matériel et les approches méthodologiques retenues : taxonomie de la plante, caractères écologiques, et phénologiques. Une approche phytochimique axée sur les principales substances bioactives (huiles essentielles, tanins et flavonoïdes) dans les différents organes aériens et souterrains de la plante a été entreprise avec en plus l'analyse de l'activité des isolats sur les bactéries pathogènes. En effet, de nos jours, un grand nombre de composés issus de plantes sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. Selon Bruneton (1999), des 25 composés pharmaceutiques les plus vendus à travers le monde, 12 proviennent de produits naturels, mais jusqu'ici, environ seulement 10 % des 250 000 espèces de plantes inventoriées ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives. En Algérie, les plantes des massifs forestiers n'ont fait l'objet que de très peu de recherches de composés actifs bien que les populations riveraines aient utilisé une grande diversité de plantes pour soigner toutes sortes de maladies et d'affections. Ces connaissances médicinales ancestrales permettent d'orienter et de guider la recherche de molécules bioactives.

- Enfin, le dernier chapitre expose les résultats auxquels nous sommes parvenus. Ce chapitre est suivi d’une conclusion générale portant sur les principaux points relatifs à l’écologie, et sur les possibilités d’utilisation de cette plante dans le domaine de la phytothérapie.

CHAPITRE I : CONTEXTE ÉCOLOGIQUE DE LA FORÊT DE KÉFRIDA

1. CADRE GÉOGRAPHIQUE ET TOPOGRAPHIQUE

De par sa situation géographique, la région d'étude (figure 1) est située au nord du Kherrata. Elle fait partie de la chaine constituée par des massifs forestiers telliens de la Kabylie des Babors.

En plus de leur rôle socio-économique due à leur richesse forestière, ces massifs remplissent un rôle important dans le maintien de l'équilibre écologique : ils représentent l'habitat de diverses espèces animales très rares à l'échelle du globe (comme par exemple la sitelle kabyle), protègent le sol contre l'érosion hydrique et constituent ainsi un réservoir de la biodiversité. La zone d'étude, située au nord de Kherrata ne présente, du point de vue topographique, aucune homogénéité mais par contre elle présente des habitats écologiques remarquables.

Figure 1. Localisation géographique de la zone d'étude (Google Earth, 6 mars 2011)

Il y a lieu d’observer que sur le plan étymologique, le terme de Kéfrida d’origine romaine, veut dire « fontaine fraîche ». Actuellement, Kéfrida est le nom d’un village perché sur le mont d’Igoulalen d'où viennent les eaux des cascades.

Cette région est particulièrement connue pour la beauté de son cadre physique et pour la diversité de ses habitats écologiques d’une verdure splendide comme par exemple la cascade de Kéfrida (Figure 2) qui se trouve près du village d'Ait Smaïl. La cascade de Kéfrida, bien qu’elle ne soit haute que d’une cinquantaine de mètres, reste la plus belle d'Algérie. Les eaux proviennent des monts Igoulalen, Isensag, Taberyets et Agni Sidi Djaber, et les chutes sont aussi un pôle d’attraction pour des milliers d'Algériens qui viennent se baigner et jouir des paysages de verdure et de la fraicheur locale.

Figure 2. Cascade de Kéfrida.

2. CADRE GÉOLOGIQUE ET GÉOMORPHOLOGIQUE

Cette région correspond à des montagnes calcaires et siliceuses bien arrosées situées à une altitude comprise entre 1250 m et 1500 m.

Les principaux traits de la zone ont été dégagés des travaux des auteurs suivants : OBERT (1974) et VILA et OBERT (1977) pour la géologie et pour la géomorphologie. Les massifs forestiers se composent schématiquement de trois ensembles structuraux :

- à la base se trouvent les formations carbonatées du Jurassique représentées essentiellement par le Lias qui reposent sur des argiles gypsifères attribuées au Trias ;
- le deuxième niveau comporte essentiellement des calcaires et des schistes constituant le Crétacé inferieur ;
- enfin, le troisième niveau le plus élevé correspond au Crétacé supérieur marno-calcaire.

3. CADRE CLIMATIQUE

Le climat est de type méditerranéen. Les paramètres importants à considérer sont : la pluviométrie et les températures. Les données utilisées sont celles publiées par l'Office Nationale de Météorologie. En outre, l’orientation et l’'allongement des massifs montagneux, perpendiculairement à la direction des vents humides, favorisent la condensation des nuages sur les versants nord.

La zone d'étude est dépourvue de postes d'observations météorologiques. La caractérisation climatique et la définition de bioclimat sont basées sur les données de Kherrata, station la plus proche.

Pour cette station, les données climatiques utilisées proviennent du Bureau Météorologique Régional de Sétif, relevant de l'Office National de la Météorologie.

Nous avons aussi utilisé la carte pluviométrique de l'Algérie du Nord, 1/500.000, éditée par l'Agence Nationale des Ressources Hydrauliques (A. N. R. H. 1993), ainsi que la Carte Pluviométrique de l'Algérie au 1/500.000 établie par CHAUMONT ET PAQUIN (1971).

3.1. Précipitations

Précipitations moyennes annuelles

Elles sont déterminantes pour la distribution des sols, de la bdiversité floristique et pour le développement de la végétation. Les précipitations annuelles sont irrégulières. La répartition mensuelle des précipitations dans la zone considérée, tout en mettant en évidence

Le caractère irrégulier de la pluviosité, conduit à y reconnaître une période pluvieuse s'étalant de septembre à mai, avec un maximum en hiver (entre 800 et 1400 mm) et une période sèche estivale correspondant au minimum pluviométrique. Une telle répartition saisonnière est caractéristique du climat méditerranéen.

Tab.01 – Précipitations moyennes mensuelles

Station	KHERATTA : longitude : 5°17'E latitude : 36°30'N altitude :470m											
MOIS	janvier	février	mars	avril	mai	juin	juillet	Aout	sep	Oct	Nov	Dec
Précipitation	162 ,3	98,2	49,2	86,7	49,4	12 ,1	4,4	11,2	42,7	47,7	125,2	192,6
											total	881,7

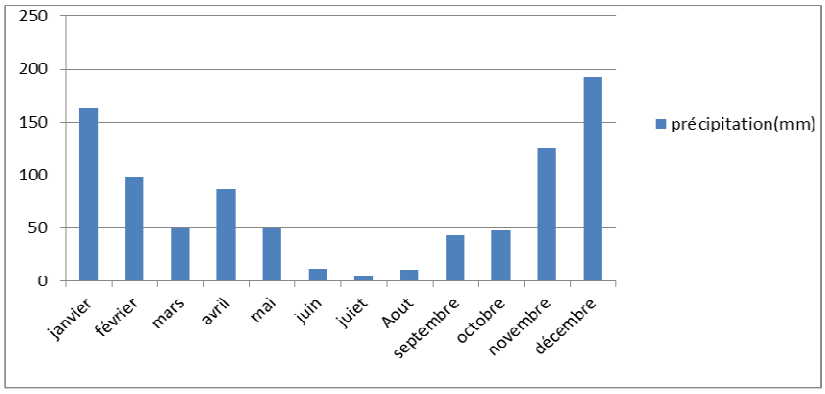


Figure 3. Histogramme des moyennes annuelles des précipitations

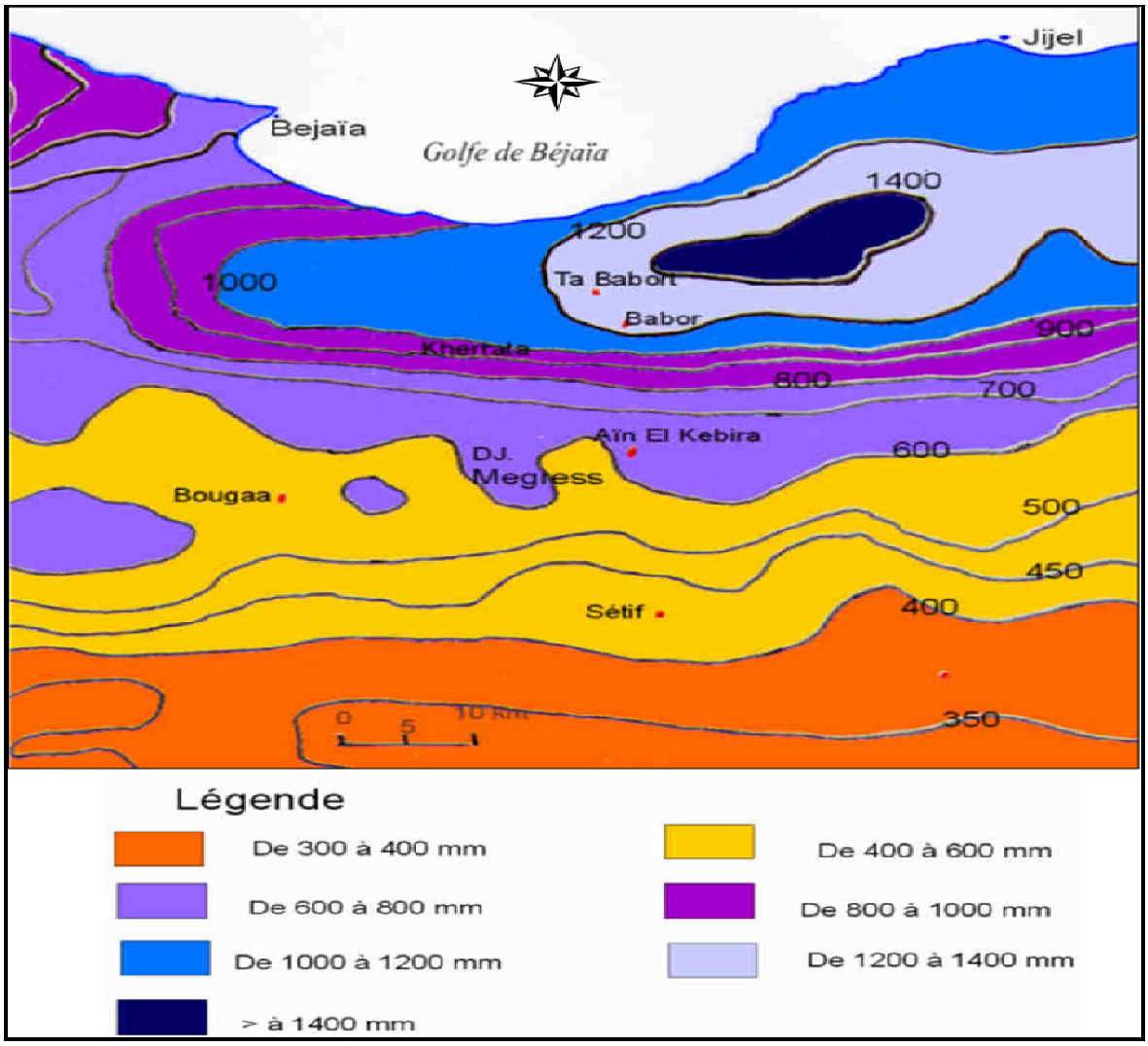


Figure 04 : Carte pluviométrique de la région de KHERRATA (extrait de la carte pluviométrie d'Algérie, A.N.R.H 1993)

Variation interannuelle

La moyenne annuelle des précipitations ne reflète nullement la réalité, en effet, des années très sèches peuvent succéder à des années exceptionnellement pluvieuses (Tab. 02). Les séries étudiées portent sur une période de 09 ans pour Kherrata (1996-2004) (fig.04).

tab.02 : Précipitations moyennes annuelles des années 1996 à 2004.

années	1996	1997	1998	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Précipitations annuelles	797,6	732,3	1100 ,6	832,7	832,7	446,5	552,2	913,2	1457,8	1102,4

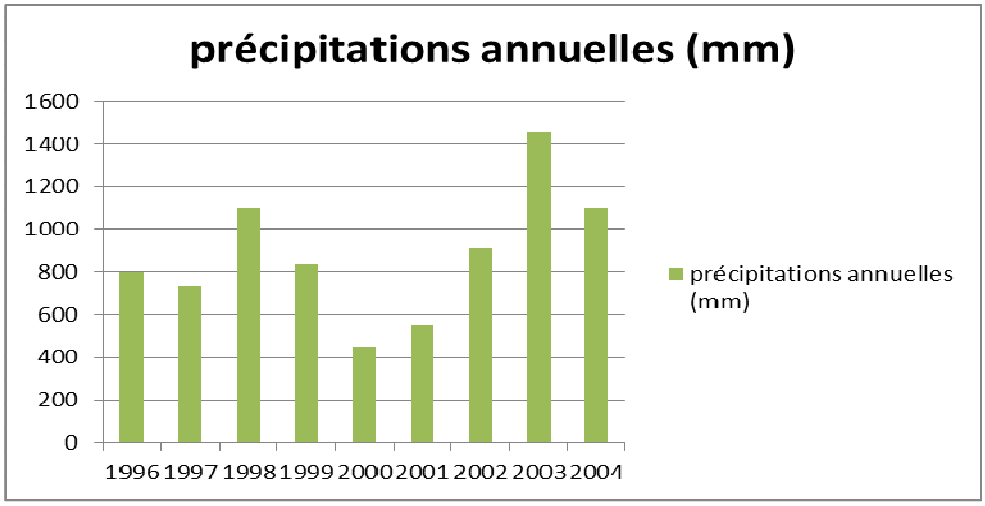


Figure 5 : Précipitations moyennes annuelles des années 1996 à 2004.

3. RÉGIME THERMIQUE

Le régime thermique varie d'un point à un autre en fonction de l'altitude, de l'éloignement de la mer et de la situation topographique de la station. Il y a lieu de remarquer que les plus fortes chaleurs coïncident avec les précipitations les plus faibles (mois de juillet et août) et que la période pluvieuse coïncide souvent avec les températures minimales les plus basses.

Tab. 04 : Moyenne mensuelle des températures

station	T°	janvier	février	mars	avril	mai	juin
Kherrata	M	14.1	15.3	19.2	20.8	24.7	29.4
	m	04.1	04.1	06.0	08.0	11.6	15.4
	$\frac{M+m}{2}$	09.1	09.7	12.6	14.4	18.1	22.4
station	T°	juillet	Aout	septembre	octobre	novembre	décembre
Kherrata	M	33.3	33.9	29.2	23.4	17.7	14.3
	m	17.6	18.2	15.9	11.4	07.1	03.9
	$\frac{M+m}{2}$	23.4	26.0	22.5	18.4	12.4	09.1

M : moyenne mensuelle des températures maximales; m : moyenne mensuelle des températures minimales

(mois de juillet et août

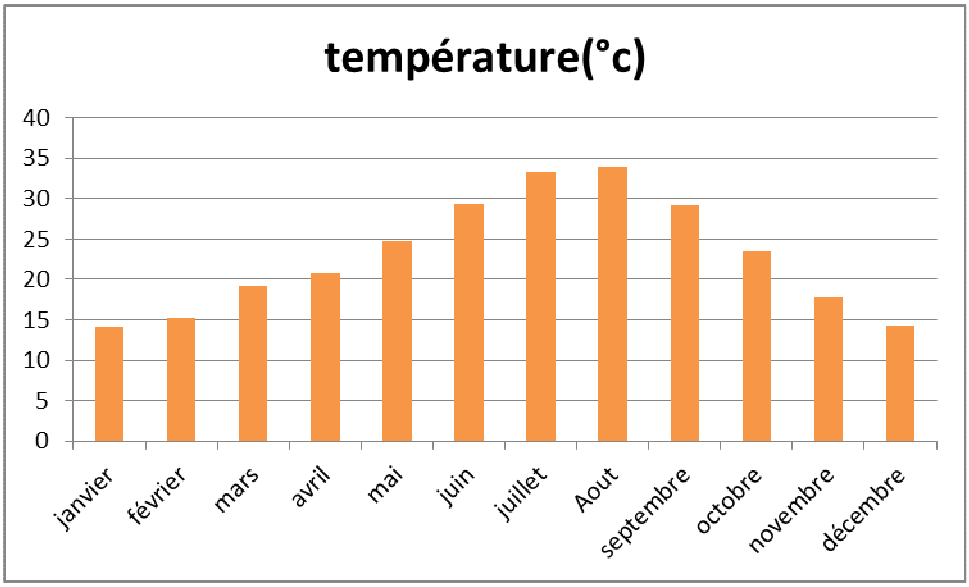


Figure 6 : Représentation graphique des moyennes mensuelles des précipitations

CADRE BIOCLIMATIQUE

1. Saison sèche

De nombreux auteurs (De MARTONNE, 1929; GIACOBBE, 1961) ont proposés diverses formules pour caractériser la saison sèche, qui joue un rôle capital dans la distribution de la végétation, notamment par sa durée et son intensité.

Selon BAGNOULS et GAUSSEN (1953), un mois est dit biologiquement sec si, "le total mensuel des précipitations exprimées en millimètres est égal ou inférieur au double de la température moyenne, exprimée en degrés centigrades". Cette formule (P inférieur ou égal 2T) permet de construire des « diagrammes ombrothermiques » traduisant la durée de la saison sèche d'après les intersections des deux courbes. Pour la zone considérée, la saison sèche s'étale en général, de manière plus ou moins intense, sur près de 6 mois (figure ci-dessous).

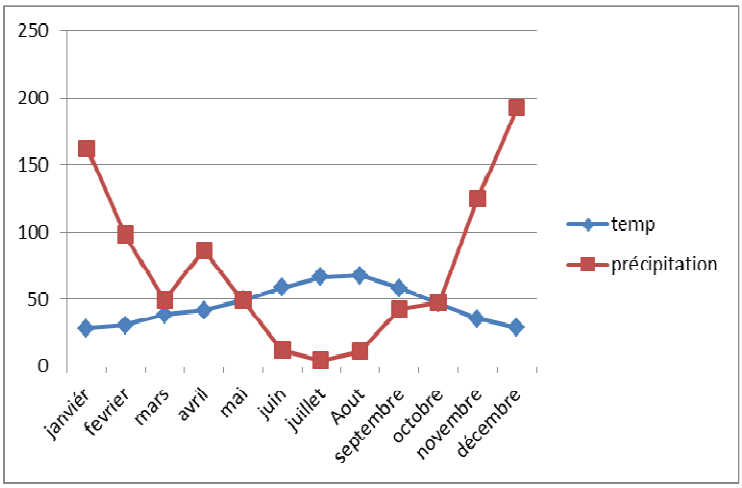


Fig.06 : Durée de la saison sèche pour Kherrata.

2. Quotient pluviothermique et climagramme

La végétation est l'expression biologique du climat. A chacun des climats correspond un ensemble de groupements végétaux ayant les mêmes aptitudes écologiques, et qui forment un étage climatique de végétation.

Le quotient pluviothermique (Q_2) d'EMBERGER (1952) correspond à une expression synthétique du climat méditerranéen tenant compte de la moyenne annuelle des précipitations (P en mm) et, pour les températures, d'une part de la « moyenne des minimums du mois le plus froid » (m), d'autre part de la "moyenne des maximums du mois le plus chaud" (M). Ces deux valeurs thermiques extrêmes permettent d'évaluer, selon EMBERGER, (1952), la « température moyenne » (M + m)/2, et « l'amplitude thermique extrême moyenne" (M - m); cette dernière, traduisant la continentalité d'une station, intégrerait approximativement l'évapotranspiration, variable climatique difficilement quantifiable sur le terrain.

$$Q2 = \frac{P}{\frac{(M + m) \times (M - m)}{2}} \times 1.000$$

Ce quotient ne tenant pas compte de la valeur absolue de m, variable discriminante dans les régions concernées puisqu'elle conditionne la durée et le degré de la période des gelées, EMBERGER (1955) propose, l'établissement d'un "climagramme" comportant m en abscisse et Q_2 en ordonnée. Dans un deuxième temps, celui-ci est subdivisé en zones correspondant à divers étages bioclimatiques méditerranéens selon un gradient d'aridité. Compte tenu des valeurs de P et de m relative à la station de Kherrata, la zone étudiée s'avère englober l'étage bioclimatique humide.

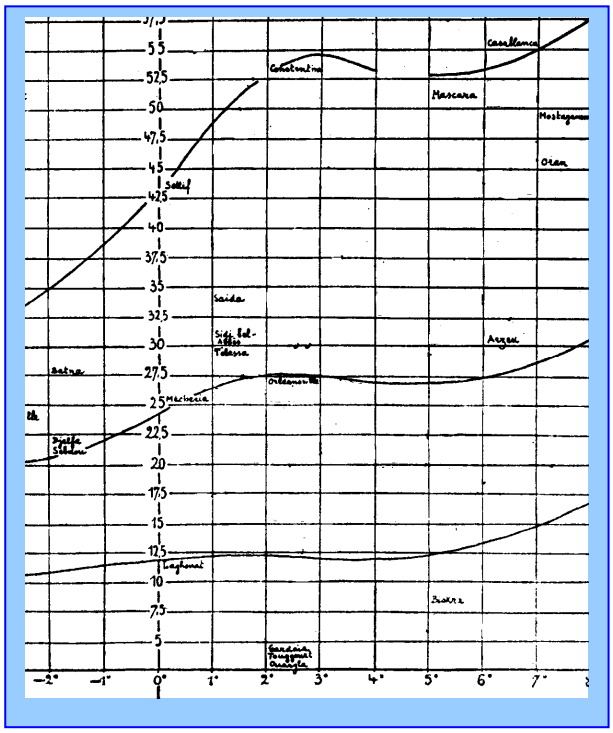


Figure 7. Position de la station de Kherrata sur le climagramme D'EMBERGER

CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODE

MATÉRIEL VÉGÉTAL

Deux catégories de plantes sont envisagées : les plantes à principe actif utilisé dans la préparation des médicaments (cas de la plupart des substances reconnues : huiles essentielles, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins etc.) et les plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle.

Seules les plantes médicinales qui se trouvent dans la forêt de Kéfrida à l'état spontané sont prises en compte et il n'est pas envisageable de les citer toutes : le choix répond aux critères d'abondance et des possibilités de valorisation des plantes.

La nomenclature des plantes médicinales citées est basée sur les règles du « Guide international de nomenclature botanique » et celle en usazge dans la flore de Quézel et Santa (1962-1963).

APPROCHES MÉTHODOLOGIQUES

Sur le plan méthodologique, cette étude est basée sur 2 approches complémentaires.

D'une part, une approche taxonomique qui permet de caractériser les plantes avec une grande fiabilité sur le plan biologique, botanique et systématique. Cette méthode prend en charge les diverses activités suivantes : prospection et identification des plantes, leur distribution géographique, leur écologie, les protocoles de collecte des échantillons et l'inventaire et l'évaluation des ressources phytogénétiques.

D’autre part, une seconde approche, dite screening phytochimique (particulièrement la recherche de la présence des huiles essentielles, des tanins et des flavonoïdes), basée sur la prise en compte de la connaissance des plantes déjà utilisées dans la pharmacopée populaire de la zone prospectée [exemple : le *Thapsia garcanica* L. plante utilisée pour ses propriétés révulsives].

Dans cette approche on se propose de valoriser l’ensemble des indications collectées, portant soit sur les plantes soit sur leurs usages, de les homogénéiser et d’assurer une identification fiable sur le plan systématique de la plante et des informations recueillies (Usage, Propriétés, Organes utilisés et Date de récolte).

L’objectif de l’utilisation de ces 2 approches méthodologiques consiste à faciliter l’identification et le choix d’une espèce végétale qui possède les caractéristiques suivantes : tout d’abord, une espèce qui possède une aire de répartition limitée au territoire algérien et donc une espèce endémique d’Algérie ; l’identification de cette espèce est facilitée par la première approche méthodologique basée sur la taxonomie.

Dans une seconde étape, l’identification d’une plante « utile » sur le plan de la valorisation de la biodiversité (présence de substances bioactives mises en évidence par un screening phytochimique) : le choix de cette plante sera précisé par la prise en compte des connaissances issues de la pharmacopée populaire notamment les données relatives aux usages et autres propriétés recueillies auprès des riverains de la forêt de Kéfrida.

Échantillonnage

Les techniques d'échantillonnage des plantes sont élaborées en tenant compte de la standardisation de la récolte des données sur le terrain et de la prise en compte de toutes les informations disponibles sur les plantes et sur leur milieu. En effet, collecter les végétaux sur le terrain ne s’apparente pas simplement à créer une collection, il s’agit d’un travail portant sur une

approche méthodologique de conservation de la biodiversité en tant que ressource végétale conduisant à la définition de stratégies de collecte et de prospection des végétaux sur le terrain.

Compte tenu du fait des diverses contraintes liées à la prospection sur le terrain de la région d'étude (forêt de Kéfrida) et de l'objectif qui a été fixé à cette étude (choix de plantes endémiques en tant que ressources phytogénétiques), l'échantillonnage a été initialement réalisé selon une technique stratifiée sur la base de documents bibliographiques traitant du contexte écologique et floristique de la région.

Analyse phytochimique et screening

Analyse phytochimique

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Celle-ci est effectuée sur du matériel végétal que nous avons récoltés sur le terrain.

Selon Bruneton (1999), la recherche de nouveaux principes bioactifs et de nouvelles substances d'origines végétales via le screening de plantes naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines.

Selon, les données de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages.

La recherche de nouvelles molécules est entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnobotaniques. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux actifs.

Screening

Ce terme (en anglais screening, c'est-à-dire une suite de nombreux essais et erreurs) correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits naturels contenus dans les plantes récoltées en faisant de nombreux tests ou essais.

En effet, la prospection sur le terrain n'est pas ciblée vers une espèce ou une famille botanique précise. Pour cela la recherche de substances utiles dans les végétaux demande un criblage pharmacologique très important.

Principe

Sur le plan théorique, on commence par obtenir un extrait de la plante. On lui fait subir des essais biologiques préliminaires qui, s'ils sont concluants, mèneront à une extraction à plus large échelle d'où on cherchera à isoler la molécule active de l'extrait (qui en compte souvent énormément). On va ensuite la soumettre à des mesures physiques pour étudier sa structure, à savoir spectrophotométrie, résonance magnétique, spectrographie de masse…

Une fois cette molécule isolée, on va en faire varier la structure et étudier la variation d'activité biologique : on effectue donc un essai structure/activité. La molécule la plus intéressante (sur des critères d'efficacité, de sélectivité, de toxicité…) est sélectionnée. De là, on peut soit :

- Cultiver la plante à large échelle si la molécule efficace est la molécule d'origine ;

- Hémisynthétiser cette molécule à partir de la molécule originale de la plante ;
- Synthétiser intégralement l'analogue de la molécule naturelle (il existe souvent de nombreuses méthodes différentes)
- Et ce afin de permettre à un industriel d'exploiter la molécule nouvellement découverte pour en faire un médicament.

TECHNIQUE SUIVIE LORS DE NOTRE ÉTUDE.

Avant de faire un screening il faut préparer un extrait méthanolique de chaque organe de la plante (Feuille, Racine, Tige, Follicule, Graine). On pèse 10 g de chaque organe dans un mélange (80 méthanol 20 l'eau distillée), ensuite on le laisse repose 48 h puis on filtre pour obtenir un extrait.

DÉMARCHE DE L'ANALYSE PHYTOCHIMIQUE

Comme nous l'avons souligné dans le contexte écologique, la région étudiée dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. C'est en s'appuyant sur ces deux aspects, nous avons envisagé cette partie phytochimique de notre étude. Nous nous sommes intéressés à la présence des 3 substances suivantes : les huiles essentielles, les tanins et les flavonoïdes.

Il y a lieu d'observer que l'ensemble des données bibliographiques qui traite des aspects de la phytochimie de l'espèce végétale prise en compte (Paeonia mascula) font référence aux travaux de Bruneton (1999).

Les huiles essentielles

Introduction

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues.

Les huiles essentielles sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques.

Les huiles essentielles sont des produits odorants, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Les huiles essentielles sont des substances volatiles non grasses sécrétées par les plantes aromatiques comme la lavande, l'eucalyptus ou le thym. Elles sont constituées d'un mélange souvent complexe de molécules organiques. Elles entrent dans la composition de parfums, de cosmétiques, de produits d'entretien et sont utilisées en aromathérapie.

État naturel, Répartition botanique, Localisation

Tous les organes des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle.

les fleurs : oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées

les feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin

les organes souterrains : racines, rhizomes (gingembre)

les fruits : fenouil, anis, épicarpes des agrumes

les graines : noix de muscade

le bois et les écorces: cannelle, santal, bois de rose

Quel est le rôle des Huiles essentielles ?

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique) :

attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines, voire communication entre les végétaux (émission de signaux chimiques signalant la présence d'animaux herbivores par exemple)

Procédés d’extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles, mais la plus utilisée est l'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche.

Extraction par distillation

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement par la vapeur d'eau (sauf les huiles essentielles des hespéridés : citron, orange, etc.). La (parfois très) faible quantité d'HE contenue dans les plantes explique le coût élevé des huiles essentielles, il est lié à la rareté et non au procédé d'extraction qui reste le même pour la plupart des plantes.

Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. Il existe différents procédés d'extraction (souvent chimiques). Pour l'aromathérapie, tant ces procédés que le choix des plantes et leur méthode de récolte détermine la qualité finale des HE.

Extraction aux solvants volatils

L'extraction se fait à l'aide de solvants organiques volatils dans des appareils appelés extracteur de Soxhlet. En apparence, la division de la matière à extraire facilite le contact avec le solvant (en agrandissant la surface d’échange), permet d’augmenter la charge de l’extracteur et aussi de réduire le rapport du solvant à la charge. Toutefois le tassement entrave la circulation du solvant et l’homogénéisation des solutions ; il faut donc éviter de tasser ou de trop charger l’extracteur.

On obtient des huiles concrètes avec des solvants volatils tels que l’hexane, qui est le plus utilisé actuellement; le benzène très utilisé dans le passé est interdit pour des raisons de toxicité.

Ce procédé a remplacé l'enfleurage (méthode d'extraction par les graisses) qui est devenu beaucoup trop coûteux.

L’extraction s’effectue en plusieurs étapes, on lave la matière avec le solvant deux à trois fois. Il semble que la presque totalité des produits odorants passe en solution dès la première extraction. Mais, étant donné que la matière traitée retient une forte proportion de la solution, il est nécessaire de pratiquer des dilutions successives avec de nouvelles charges de solvant (lavages). La matière épuisée retient une proportion importante de solvant.

Avec la charge normale de fleurs d’un extracteur statique de mille litres, la quantité varie entre 150 et 180 litres. Il faut donc concentrer la solution en évaporant le solvant qui est recyclé pour d'autres lavages. La récupération du solvant atteint couramment 94 à 96 % de la quantité retenue.

Extraction par expression à froid

L’extraction se fait sans chauffage, les plantes sont pressées à froid (notamment les hespéridés : citron, orange, etc.) de l’écorce ou des fruits.

Extraction de l’huile essentielle à partir de l’écorce :

Les premiers procédés d’extraction consistaient à presser l’écorce des Citrus pour faire éclater les tissus contenant l’huile essentielle en les frottant sur des récipients dont les parois étaient recouvertes de pics en métal.

Puis le procédé dit à « l’éponge » s’est développé: les écorces étaient pressées plusieurs fois contre un assemblage d’éponges naturelles fixées à une bassine en terre cuite. La pression était accompagnée par un mouvement de rotation de la main.

Le mélange exprimé était recueilli par essorage des éponges. Finalement par simple décantation, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse qui contient aussi des détritus produits par la lacération des tissus de l'écorce.

Extraction à partir des fruits entiers

Avant d'être pressés, les fruits passent dans des machines qui les trient selon leur taille. Cette opération est nécessaire pour améliorer le fonctionnement des extracteurs, obtenir un meilleur rendement et une huile essentielle de meilleure qualité. Les Citrus sont séparés en trois parties de base : l'huile essentielle, le jus et l'écorce. Il existe trois méthodes fondamentales pour extraire l'huile essentielle des Citrus à partir des fruits entiers, les deux premières étant les plus utilisées : système séparant l'huile essentielle et le jus en une seule opération (FMC), l'extraction de l'huile essentielle des fruits entiers précède l'extraction du jus.

Classification des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction ou les effets biologiques. On retient diverses classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers et les peroxydes) avec les composants importants suivants.

Composition des huiles essentielles

- carbures terpéniques et sesquiterpéniques :
- huile essentielle de térébenthine : alpha-pinène et camphène
- huile essentielle de genévrier : alpha-pinène, cadinène
- huile essentielle de citron : limonène
- alcools
- huile essentielle de coriandre : linalol

- huile essentielle de bois de rose : linalol
- huile essentielle de rose : géraniol
- mélange d'esters et d'alcools
- huile essentielle de lavande : linalol, acétate de lynalyle
- huile essentielle de menthe : menthol, acétate de menthyle
- aldéhydes
- huile essentielle de cannelle : aldéhyde cinnamique
- huile essentielle de citronelle : citral et citrannal
- huile essentielle d'eucalyptus citriodora : citronellal
- cétones
- huile essentielle de carvi : carvone
- huile essentielle de sauge : thuyone
- huile essentielle de thuya : thuyone
- phénols
- huile essentielle de thym : thymol
- huile essentielle de sarriette : carvacrol
- huile essentielle d'origan : thymol et carvacrol
- huile essentielle de girofle: eugénol
- éthers
- huile essentielle d'anis vert : anéthol
- huile essentielle d'eucalyptus globulus : eucalyptol
- peroxydes
- huile essentielle de chénopode : ascaridol

- huile essentielle d'ail: allicine
- La composition chimique d'une huile essentielle peut varier dans une même plante:
- selon les organes au cours du cycle de développement
- selon la saison pour une même plante,
- selon les conditions de culture (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol),
- selon les races chimiques (ou chimiotypes) pour une même espèce (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques).

Propriétés physiques des huiles essentielles

- Liquides odorants, volatils, entraînables par la vapeur d'eau
- Densité généralement inférieure à 1 (sauf exceptions)
- Solubilités : Insolubles dans l'eau ; Solubles dans l'alcool, les huiles, les solvants organiques
- Fragilité: conservation limitée

Contrôle de qualité d'une huile essentielle

Les contrôles exigés par les normes internationales en vue d'une fiche technique de l'analyse des huiles essentielles sont :

Aspect (liquide, limpide…), couleur, odeur

Caractéristiques organoleptiques

Constantes physiques

détermination de la densité

détermination de l'indice de réfraction à 20°

détermination du pouvoir rotatoire à 20°

détermination de la miscibilité à l'éthanol à 80 %

Constantes chimiques

détermination de l'indice d'acide

détermination d'ester

détermination de la durée de la saponification (30 minutes)

détermination d'ester après acétylation

Actions biologiques, effets thérapeutiques

Les HE ont des effets biologiques variés, sur les cellules de l'organisme comme les agents infectieux. Les effets et cibles sont multiples du fait de chaque composant chimique, et de leur multiplicité. Les HE ont notamment les Propriétés thérapeutiques suivantes :

Les HE sont antiseptiques : antibactérienne, antivirale, antifongique, antiparasitaire et insecticide

Les HE sont anti-inflammatoires

Les HE ont des propriétés à visée neurotrope

Les HE sont analgésiques et anesthésiques

Les HE sont calmantes et facilitent le sommeil

Les HE sont antispasmodiques

Les HE et l’appareil cardio-vasculaire :

- Phlébotonique (augmente le tonus veineux);
- Anticoagulante,
- Antihématome;

Hémostatique;

Anti-arythmique

Les HE sont anticatarrhales (contre l'inflammation des muqueuses se traduisant par une hypersécrétion)

Les HE sont endocrino-régulatrices

Les HE sont tonifiantes

Les HE ont des propriétés digestives : Eupeptiques, carminatives; antispasmodiques

Extraction des huiles essentielles dans le cadre de cette étude

Le matériel végétal est coupé en parties très fines et soumises à l'hydrodistillation en se servant du dispositif d'extraction

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les HE. L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un grand ballon (1) en verre (de 1 litre) contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers).

Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une plaque chauffante (2). Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent à travers le réfrigérant (3) où aura lieu la condensation.

Les gouttelettes ainsi récupéré dans une fiole ensuite dans une ampoule à décantation en verre le récupérait ensuite en ajoute du chloroforme (HE se dissoud dans le chloroforme), la refaire cette opération trois fois (séparation liquide liquide). Ensuite on passe le mélange dans le rota vapeur pour obtention des huiles essentielles. L'hydrodistillation dure 5 heures. Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans des flacons opaques bien scellés à l'abri de la lumière et à une température de 4 à 6 C°.

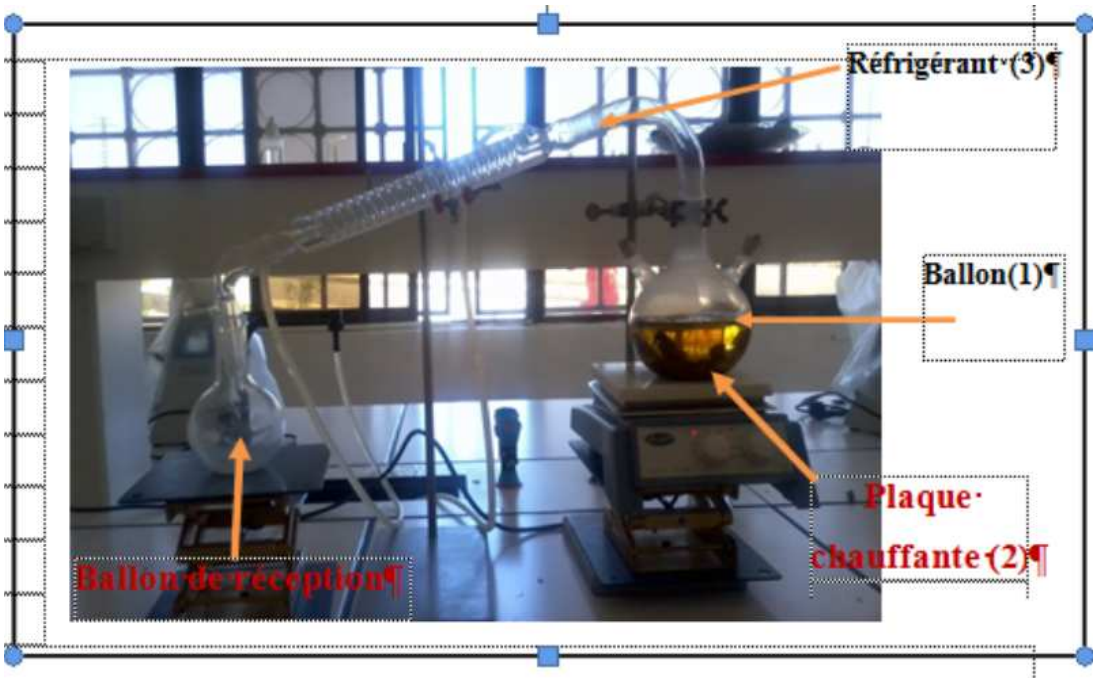


Fig.16°:···Dispositif de L'hydro distillation

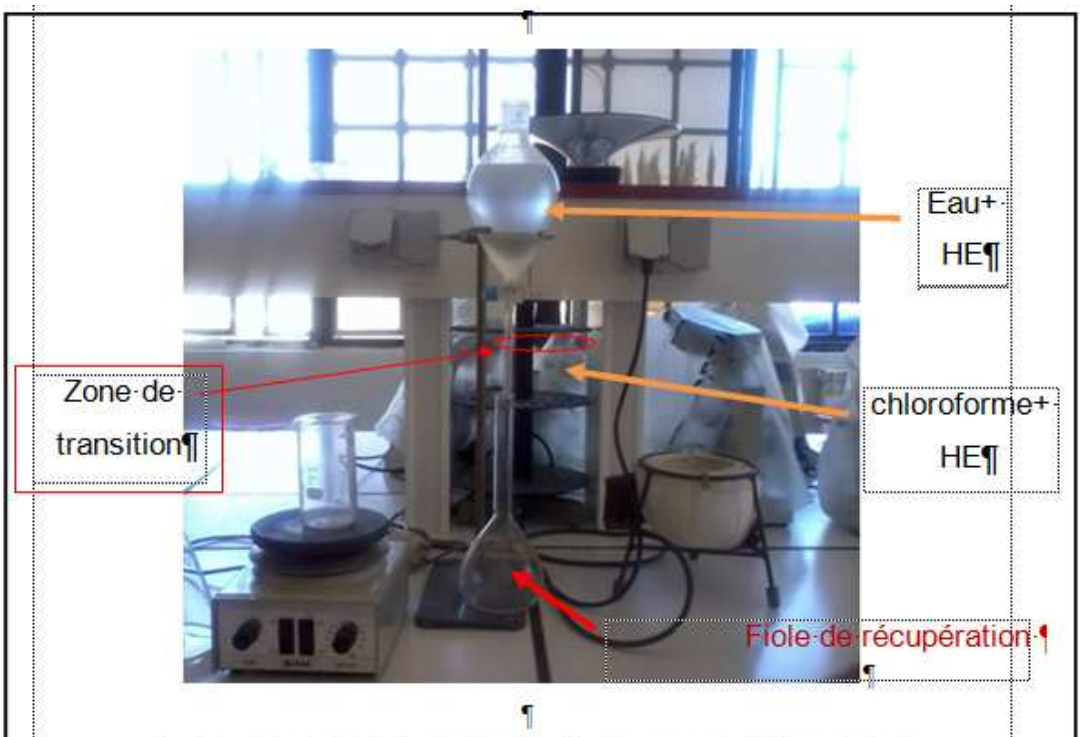


Fig.17°: Dispositif de séparation liquide par ampoule à décantation

LES TANINS

Selon Bruneton (1999), les tanins sont des substances naturelles phénoliques qui peuvent précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. Ce sont des métabolites secondaires des plantes supérieures que l'on trouve dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, fruits etc.).

Sur le plan chimique, ils sont constitués soit de polyol (glucose le plus souvent), ou de catéchine auquel sont attachés des unités galloyles (ou leurs dérivés) soit d'oligomères ou polymères de flavanols.

Extraction

L'extraction des tanins est réalisée en général par un mélange d'eau et d'acétone. On élimine ensuite l'acétone par distillation puis les pigments et les lipides par un solvant (comme le dichlorométhane). On extrait de cette solution aqueuse par l'acétate d'éthyle les proanthocyanidols dimères et la plupart des tanins galliques. Les techniques de chromatographie permettent seules d'obtenir des molécules pures.

Propriétés biologiques

Les tanins sont capables de former des complexes avec les macromolécules et particulièrement avec les protéines. La combinaison avec le collagène de la peau est à l'origine du tannage, celle avec les glycoprotéines de la salive est à l'origine de la sensation d'astringence.

Distribution

La majorité des familles de plantes contiennent des espèces dépourvues de tanin (testé par leur aptitude à précipiter les protéines). Parmi les familles les plus connues, dont toutes les espèces, restent la famille du chêne (Fagaceae) et celle des acacias (Légumineuses).

Utilisations

On emploie les tanins pour protéger le cuir, car ils transforment les protéines contenues dans le cuir en produits insolubles résistant à la décomposition organique.

La principale utilisation du tanin est le tannage (comme son nom l'indique) des peaux. Les tanins confèrent aux cuirs leurs qualités d'imputrescibilité. Les tanins sont recherchés également pour leurs propriétés antioxydantes. expliquant certains effets bénéfiques du jus de raisin sur la santé (protection cardio-vasculaire.

Recherche des tanins de la pivoine.

Une goutte d'extrait brut est placée dans un tube à assai ; on ajoute de l'eau distillée chaude : l'ajout de $FeCl_3$ 1 % permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques.

LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones. Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation.

Distribution

Les flavonoïdes sont largement distribués dans le règne végétal où ils sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides. Ils sont fréquents chez les mousses et hépatiques, les fougères et les conifères mais c'est chez les Angiospermes qu'ils manifestent la plus grande diversité.

Propriétés physico-chimiques

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. L'extraction est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou de mélanges méthanol-eau.

Propriétés biologiques

Historiquement, c'est la première propriété reconnue aux flavonoïdes. On les dit "veinotoniques" car on peut montrer qu'ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires et de renforcer leur résistance.

ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux.

TEST DES FLAVONOÏDES TOTAUX

Une goute extrait dans un tube à assez on verse du méthanol puis HCl on voit une couleur orange ou rouge brique

ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE *IN VITRO* DES HUILES ESSENTIELLES DE LA PIVOINE

Souches microbiennes utilisées

L’évaluation de l’activité antimicrobienne relative à l’huile essentielle de la plante retenue dans le cadre de cette étude a été étudiée vis-à-vis de 3 souches bactériennes choisies pour leur fréquence élevée à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité.

En effet, pour tester l’activité antimicrobienne, les trois souches bactériennes sont : *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus.* Ces souches sont des lots de l’ATCC (American Type Culture Collection).

Les milieux de cultures

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur milieu nutritif gélosé (bouillon nutritif gélosé de l'institut Pasteur d'Alger) favorable à leur croissance. L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion du disque (Bauer *et al.,* 1966).

Les bactéries ont été inoculées sur gel d'agar Mueller-Hinton (Fluka) placé dans des pétris stériles qui a ensuite été inoculé avec la solution bactérienne en utilisant une tige de coton. Les disques d'antibiotiques provenant de l'Institut Pasteur d'Alger sont utilisés comme des témoins positifs (gentamicine). L'activité antibactérienne des huiles essentielles de la pivoine est réalisée par la technique du contact direct.

Technique par contact direct

Méthode de diffusion

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui initialement est conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'huile essentielle (aromatogramme).

Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes. Le choix des antibiotiques pour chaque souche microbienne est basé sur les directives du National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS). Les boites de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24h. Après ce délai, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés autour de chaque disque.

Pour savoir si l'effet des huiles est bactéricide ou bactériostatique, un prélèvement à partir de la zone d'inhibition est transféré dans un tube contenant du bouillon nutritif. Ce dernier est incubé dans une étuve à 37°C pendant 18 h puis examiné à l'œil nu. Un milieu trouble indique un effet bactériostatique, tandis qu'un milieu clair indique un effet bactéricide de l'huile testée (Fig. 18).

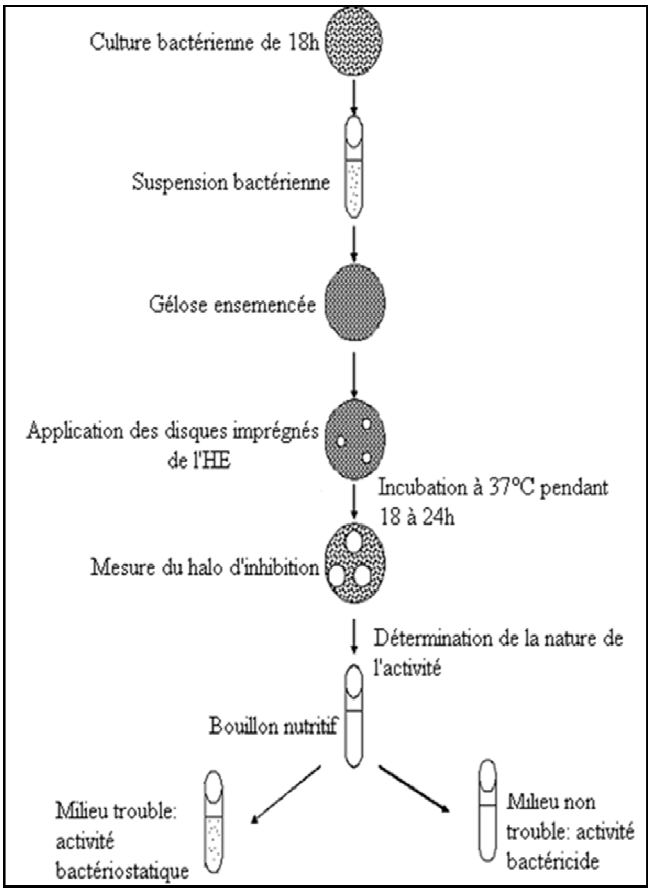


Fig.18 :
technique de la diffusion par disque

TEST DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE AU DPPH

Notion de radicaux libres et d'antioxydants

Il y a lieu de préciser les termes de radicaux libres et d'antioxydants. Selon Bruneton (1999), les radicaux libres sont des molécules instables produites en permanence par le corps humain ; ils peuvent s'associer à d'autres molécules et entrer en réaction comme ils peuvent endommager les parois des cellules. L'organisme humain pour se défendre possède des agents neutralisant les radicaux libres qui sont les enzymes et les vitamines "anti-oxydantes" (C, E, A).

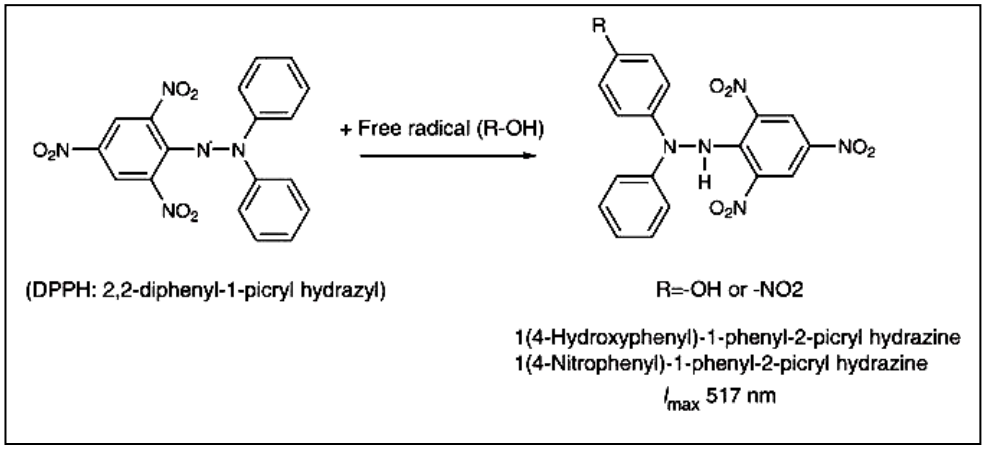
Des substances végétales bio-synthétisées comme les pigments végétaux et les huiles essentielles ont, également un effet protecteur neutralisant les radicaux libres. Ces derniers favorisent habituellement le bon fonctionnement de l'organisme humain, mais leur excès peut être néfaste pour la santé.

En dehors de toute situation pathologique, leur production est stimulée par toute situation de stress ou par des déséquilibres alimentaires. Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées.

Principe du test l'activité antioxydante au DPPH.

Diverses techniques sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des huiles essentielles. Dans le cadre de cette étude, l'activité antioxydante (anti-radicalaire) de l'huile essentielle de Paeonia mascula a été évaluée *in vitro*, par le test au DPPH. Le radical DPPH·+ (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur bien caractéristique (violette foncé).

Les antioxydants présents dans l'échantillon de l'huile essentielle de Paeonia mascula le réduisent ce qui entraîne une décoloration (la couleur violette foncé initiale vire au jaune) facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.



Ainsi, le DPPH de couleur violette, vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2.2 diphényl 1 picryl-hydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Cette technique consiste à suivre la réduction du radical libre par un antioxydant à l'aide de spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence de l'huile essentielle.

Mesure de l'activité de l'huile essentielle de *Paeonia mascula*

L'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de *Paeonia mascula* est évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH qui est à l'origine du changement de couleur : la couleur violette initiale qui vire au jaune en présence de l'huile testée (HE de la pivoine) est indicatrice de la capacité de cette huile essentielle à piéger ces radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique. Ce test permet donc, d'obtenir des informations sur le pouvoir anti-radicalaire direct de l'HE de *Paeonia mascula.*

La méthode retenue pour réaliser ce test est due à Masuda et al. (1999). Le protocole est le suivant : 2,45 ml de l'huile essentielle (à différentes dilutions) est additionné à 50 µl d'une solution de DPPH (5 mM) préparée dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min à une température de 37°C pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesuré à 517 nm contre un blanc. Le contrôle est constitué d'un mélange réactionnel contenant 50 µl de DPPH et 2.45 ml de méthanol.

Les mesures de l'absorbance du DPPH de l'huile essentielle permettent de déterminer le pourcentage d'inhibition PI en appliquant la formule suivante :

$$\mathbf{PI\ (\%) = [A0 - (Ai - Ab)/A0] \times 10}$$

- Où : A0: absorbance du radical seul (contrôle).
- Ai : absorbance du radical après 30 minutes de contact à l'obscurité avec l'antioxydant.
- Ab : absorbance de l'huile essentielle seul (blanc).

Les pourcentages d'inhibition ainsi déterminés, nous permettent de calculer la valeur du paramètre IC50 (concentration d'inhibiteur) qui représente la concentration de la substance nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel.

CHAPITRE : RÉSULTATS

I. BIODIVERSITÉ ET RESSOURCES PHYTOGÉNÉTIQUES DE LA FORÊT DE KÉFRIDA

Compte tenu de son contexte écologique et du fait d'une conjonction de facteurs mésologiques favorables représentés par le cadre climatique, bioclimatique et orographique, la forêt de Kéfrida possède une richesse floristique remarquable (liste des espèces en annexe 1).

C'est d'ailleurs sur la base de cette richesse et particulièrement en plante rares et endémiques qui nous a permis d'envisager de choisir cette forêt comme terrain de cette étude. En outre, l'analyse de la composition floristique nous a, également, permis de retenir Paeonia mascula (pivoine) comme un modèle d'utilisation de la biodiversité comme ressource phytogénétique.

Le choix des plantes citées prend en compte l'abondance des espèces sur le terrain et leur richesse en substances actives. Seules les plantes qui se trouvent en Algérie à l'état spontané sont prises en compte dans cette étude. La nomenclature des substances bio-actives citées est transcrite selon Bruneton (1999). Les plantes médicinales sources de ces substances sont classées selon les catégories habituellement retenues dans les ouvrages de phytochimie (Bruneton, 1999) : oléorésines et produits apparentés, huiles essentielles, alcaloïdes et hétérosides.

L'analyse de la composition floristique de la forêt de Kéfrida, nous a permis de reconnaître que les principales plantes qui sont sources de substances bioactives et qui peuvent donc être considérées comme des ressources phytogénétiques sont les suivantes :

PRINCIPALES PLANTES SOURCES D'OLÉORÉSINES.

Définis comme des « exsudats principalement constitués de composés résineux et de composés volatils », Les oléorésines sont, en majorité, produites par des arbres ou des arbustes de la famille des pinacées : le pin maritime (*Pinus pinaster*). Ces substances sont produites, également, par quelques familles d'Angiospermes (Dicotylédones) et par la fougère-mâle (*Dryopteris filix-mas*).

PRINCIPALES PLANTES SOURCES DE RÉSINES

Substances résiduelles de la distillation des térébenthines des Conifères dont de nombreuses espèces occupent en Algérie de vastes superficies. Les résines constituent également de nombreux principes actifs issus de la famille des *Umbelliferaceae* (*Apiaceae*); ces végétaux dont de nombreuses espèces sont des plantes culinaires, à saveur âcre, aromatique et odeur caractéristique, sont représentés dans l'ensemble du territoire algérien.

Parmi les plantes ayant un usage thérapeutique il y a lieu de citer le *Thapsia garganica* dont l'usage comme puissant révulsif (écorce de racine) est recherché en médecine traditionnelle mais également comme substance pharmaceutique élaborée (résine de thapsia). D'autres végétaux de la famille des *Anacardiaceae* (*Pistacia lentiscus*) riches en résines sont, également, largement représentés en Algérie.

PRINCIPALES PLANTES SOURCES D'HUILES ESSENTIELLES

Substances de composition chimique complexe, ces huiles renferment des principes actifs volatils élaborés par des végétaux supérieurs appartenant à une cinquantaine de Familles botaniques réparties, principalement, en 5 Ordres : Lamiales, Astérales, Rutales, Laurales et Magnoliales, les 4 premiers sont largement représentés en Algérie.

Les principales plantes productrices de ces huiles sont représentées par les Familles suivantes :

- Les *Lamiaceae* (Ordre des Lamiales) : une des plus naturelles Famille botanique, les Lamiaceae (Labiées), bien que répandues dans diverses régions du Monde, sont essentiellement localisées dans le bassin méditerranéen.

Ces plantes se remarquent par leur odeur pénétrante d'ou le nom de plantes aromatiques qui leur est attribué. En Algérie, cette Famille comprend 29 genres et 140 espèces se développant aussi bien dans les zones méditerranéennes que sahariennes.

Plus de 90 espèces de *Lamiaceae* sont inscrites dans la pharmacopée, leurs activités sont dues à la présence de véritables réservoirs sous-cuticulaires représentés par de nombreux poils glanduleux qui sécrètent des essences, constituant ainsi de véritables unités de production pour les alcools (géraniol, linalol, bornéol, terpinéol) provenant des Genres *Lavandula* (5 espèces en Algérie), *Mentha* (6 espèces), *Salvia* (19 espèces) et *Rosmarinus* (R. *officinalis* L. et R. *tournefortii* De Noé), pour les aldéhydes de Melissa officinale L., pour les cétones [camphre, carvone, thuyone, pulégone, menthone] de *Lavandula stoechas* L. et pour les dérivés phénoliques [thymol, carvacrol, eugénol et estragol] du *Thymus* (plus de 20 espèces), de diverses espèces d'*Origanum* pour les hydrocarbures (terpéniques et non terpéniques) enfin pour les oxydes de *Mentha piperita* L., de *Salvia officinale* L. et de *l'Hyssopus officinale* L. dont une sous espèce est caractéristique de la région d'Oran. En plus de ces plantes inscrites au codex, de nombreuses espèces de Lamiaceae sont utilisées dans la pharmacopée populaire: *Ajuga iva* Schr., 5 espèces de *Marrubium*) et plus de 20 taxons de *Teucrium*.

- Les *Asteraceae* : la plus riche des Familles botaniques (12.000 espèces dont 424 en Algérie) fournit une quantité impressionnante de plantes médicinales à nombreux usages et propriétés diverses: toniques : *Cichorium intybus* L., stimulantes: *Matricaria chamomilla* L. et *Tanacetum parthenium* (L.) Pers., diurétiques: *Taraxacum officinal* Wigg., sudorifiques: *Lappa minor* DC., sédatives: *Lactuca virosa* L., fébrifuges: *Achillea odorata* L., décongestionnantes : *Sylibum marianum* Gaertn., antinévralgique: *Anacyclus pyrethrum* (L.) Cass., antihelminthiques: *Artemisia absinthium* L. et *Artemisia arborescens* L.

- Les *Apiaceae* sont aussi, une source d'huiles essentielles: *Foeniculum vulgare* Mil. et *Anethum graveolens* L. constituent une source industrielle de E-anéthole.

- Les *Rutaceae* : les espèces du genre *Ruta* et les espèces de *Citrus*, cultivées en Algérie (bigaradier, oranger, mandarinier, citronnier etc.) élaborent des huiles essentielles.

PRINCIPALES PLANTES SOURCES D'ALCALOÏDES

Ces substances sont spécifiques à quelques rares Familles d'Angiospermes Monocotylédones (Amaryllidaceae, Liliaceae) ou Dicotylédones (Apocynaceae, Asteraceae, Fumariaceae, Lauraceae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Solanaceae, Zygophyllaceae etc.). Les végétaux producteurs d'alcaloïdes se développent dans l'ensemble du territoire algérien (Kaabèche, 1996).

- Les Solanaceae : plantes à usage médicinale par excellence, cette Famille est la plus importante en pharmacognosie. En Algérie, Les Solanaceae sont représentées par des arbres, des arbustes et des plantes herbacées répartis en 10 Genres et 20 espèces; parmi les plus utilisées le Lycium (4 espèces), Solanum (3 espèces), Datura stramonium L. très abondante déjà exploitée il y plus d'un siècle (Reboud, 1867),

Mandragora autumnalis Spr., Hyoscyamus niger L. et Hyoscyamus albus L., Atropa belladonna L., également répandues en Algérie, constituent la source entre autres, de l'atropine, de la scopolamine et de l'hyoscyamine.

- Les *Papaveraceae*: Famille botanique de première importance par l'activité de ses substances, les *Papaveraceae* sont largement représentées en Algérie: 5 Genres (*Argemone*, *Chelidonium*, *Glaucium*, *Papaver*, *Roemeria*) et 12 espèces se développant sur l'ensemble du territoire. Le Genre *Papaver* comprend 7 espèces: *Papaver somniferum* L., *Papaver rhoeas* L., *Papaver hybridum* L., *Papaver argemone* L., *Papaver malviflorum* Dmg., *Papaver pinnatifidum* Moris, et *Papaver dubium* L. sont utilisées pour leur propriétés sédatives et narcotiques (papavérine et morphine).

- Les *Fabaceae* constituent une des familles les plus vastes et les plus importantes par le nombre et la variété des substances qu'elle produit. En Algérie, elle est représentée par 53 Genres et 339 espèces: les genêts (*Genista*) qui sont représentés dans notre zone d'étude par diverses espèces endémiques.

- De nombreuses *Asteraceae* (*Eupatorium cannabinum* L., *Senecio jacobaea* L., *Tussilago farfara* L.) et des *Borraginaceae* (*Borrago officinale* L. et *Alkanna tinctoria* L. (al-kanna des botanistes arabes) présentent des alcaloïdes dits pyrrolizidiniques à toxicité remarquable.

- Les bulbes de *Liliaceae* (*Colchicum autumnale* L.), plante répandue dans les massifs montagneux telliens, constituent une source industrielle de la colchicine utilisée pour le traitement des crises de goutte.

- Deux *Apocynaceae* d'Algérie (*Vinca major* L. et *Vinca difformis* Pourr.) produisent la vincamine utilisée dans les troubles liés à la sénescence cérébrale et dans les séquelles de traumatisme crânien.

Sur le plan richesse en substances actives, la flore d'Algérie recèle des potentialités certaines comme l'indique la figure 2 relative aux capacités de production en alcaloïdes des espèces spontanées appartenant à 2 Familles botaniques : les *Papaveraceae* et les *Fabaceae*

PRINCIPALES PLANTES SOURCES DE TANINS

Ces substances proviennent essentiellement de l'écorce de 2 *Fagaceae* (*Quercus ilex* L. et *Quercus coccifera* L.) qui constituent de vastes forêts sur les massifs telliens et sahariens. L'écorce des racines de *Quercus coccifera* L., largement utilisée en usage populaire en Algérie, est la plus active dans le traitement des plaies de la diarrhée et de la dysenterie.

Le *Lythrum salicaria* L., *Lythraceae* particulièrement représentée en Algérie dans les milieux humides est bien pourvue en tanins (10 %). Les *Rosaceae* constituent une source importante de cette drogue : les arbustes de *Crataegus* avec 4 espèces communes dans l'Atlas tellien et sur le littoral dont *Crataegus monogyna* Jacq. qui produit une drogue utilisée dans le traitement des palpitations cardiaques; plusieurs espèces d'*Alchemilla*, de *Potentilla*, de *Rosa* ainsi que la benoîte (*Geum urbanum* L.) constituent des sources de tanins. Les *Anacardiaceae*, présents en Algérie depuis le littoral jusqu'au Sahara sont particulièrement riches en tanins : les *Rhus coriaria* L., *Rhus tripartitum* (Ucria DC.) et *Rhus pentaphylla* Desf. et les pistachiers (*Pistacia terebinthus* L., *Pistacia lentiscus* L.) produisent de nombreuses galles tannifères.

Certaines Conifères, des genres *Cupressus, Pinus* et *Juniperus*, sont largement utilisées dans la pharmacopée populaire comme source de tanins et utilisées traditionnellement par voie orale dans le traitement des diarrhées.

PRINCIPALES PLANTES SOURCES D'HÉTÉROSIDES NATURELS

Le terme hétéroside désigne, habituellement, des substances variées qui sont produites principalement par les végétaux, et résultant de la combinaison du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique, l'aglycone. Le rôle biologique des hétérosides n'est pas clairement établi. Par leurs propriétés thérapeutiques (notamment cardiotoniques), les hétérosides jouent un rôle capital dans la pharmacopée.

La plupart des hétérosides naturels ont reçu une dénomination dérivée du nom botanique de la plante dont on les extrait. Ainsi, l'arbutoside ou arbutine, substance obtenue à partir des feuilles de l'arbuste à feuilles persistantes, *Arbutus uva ursi*, la salicine est le principe actif de l'écorce de saule *(Salix sp*), qui fut longtemps utilisé contre la fièvre et les arthrites, la digitaline est un hétéroside extrait des feuilles de digitale (*Digitalis purpurea*), enfin la convolvuline est produite par des espèces du genre *Convolvulus*.

Les Familles des *Liliaceae* et des *Iridaceae* (iridine) sont largement représentées en Algérie par de nombreux genres et espèces. Principal pourvoyeur de scilline, la scille maritime, *Drimia maritima* (L.) Stearn [= *Scilla maritima* L. = *Urginea maritima* (L.) Baker] était conseillée contre l'hydropisie depuis EPIMENIDE le Crétois (584 av. JC). Possédant un bulbe pouvant atteindre 10 kilogrammes, cette plante est actuellement employée comme rubéfiante dans de nombreux usages populaires.

Il y a lieu de signaler, également, d'autre *Liliaceae* le petit houx (*Ruscus acuelatus*), la salsepareille (*Smilax aspera*) produisant ces substances sont répandue en Algérie. La picrococine, est issue des stigmates de la fleur d'une *Iridaceae* le safran (*Crocus sativus* L.) ; cette petite plante herbacée originaire d'Orient, produit une drogue (stigmate) qui est souvent falsifiée, depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours, par le faux safran ou « safran bâtard » provenant des pétales du Carthame (*Asteraceae*).

Les saliciline et populine obtenues à partir des *Salicaceae* représentée par 5 espèces de saule (*Salix alba* L., *Salix nigra* L., *Salix purpurea* L., *Salix triandra* L. *Salix pedicellata* Desf.) et 5 autres de peupliers (*Populus alba* B., *Populus euphratica* Oliv., *Populus tremula* L. et *Populus nigra* L.).

Les *Cucurbitaceae* représentée en Algérie par de nombreuses espèces nitrophiles, se développant sur les bords des chemins et des fossés, possèdent des principes actifs largement utilisées aussi bien dans la pharmacopée populaire que comme substances pharmaceutiques élaborées : la brionine, produite par la bryone (*Bryonia dioica* Jacq.), constitue un médicament homéopatique d'un usage courant dans le traitement des pneumonies, de la bronchite et des pleurésies; l'élatrine produite par le concombre d'âne (*Ecballium elaterium* Rich.) est largement utilisée comme substance purgative.

II. RESSOURCES PHYTOGÉNÉTIQUES *: Paeonia mascula*

La zone d'étude a été explorée par nos soins en vue de procéder à la récolte des échantillons. Les échantillons sont récoltées entiers, avec, fleurs et fruits pour faciliter l'identification.

RÉCOLTE DES ÉCHANTILLONS DE *PAEONIA MASCULA*

Compte tenu du caractère irrégulier de la pluviosité annuelle, les investigations de terrain ont été effectuées au cours des périodes printanière et estivale pendant lesquelles la plante est à l'état de floraison et de fructification. Paeonia mascula.

Au moment de la récolte, la date de récolte, la localité, le type d'habitat écologique, la couleur des fleurs, la taille et la hauteur de chaque échantillon sont répertoriés ; un numéro est ensuite attribué à chaque échantillon.

La récolte du matériel biologique a été entreprise en tenant compte de la période de développement optimal de la plante et a été faite selon les cycles biologiques suivants :

Février : récolte des échantillons de tiges et de rameaux feuillées.

Avril-Mai : récolte des échantillons fleuris

Juillet-Août : récolte des échantillons fructifiés.

RECONNAISSANCE DE *PAEONIA MASCULA*

L'identification des échantillons a été réalisée au sein du Laboratoire de recherche « Plantes médicinales Appliquées aux Maladies Chroniques » et particulièrement au sein de l'équipe « Biodiversité et Ressources Phytogénétiques ». La reconnaissance du matériel végétal utilisé a été faite sur la base des caractères morphologiques cités dans la flore de Maire (1952).

RÉCOLTE DES ORGANES VÉGÉTAUX

Les organes ont été récoltés selon l'état phénologique de la plante. Les parties souterraines *de Paeonia mascula* (L.) MILL. sont recueillies en Mai 2011, Ensuite, Elles sont débarrassées des impuretés puis séchées à l'ombre à une température ambiante. Le matériel biologique est récolté au niveau d'une principale station dans laquelle existe une population importante de *Paeonia mascula* (L.) MILL.

AIRE DE RÉPARTITION ET ÉCOLOGIE DE PAEONIA

Les échantillons relatifs aux populations de *Paeonia mascula* (L.) Mill. étudiées ont été récoltés au niveau des stations de Kéfrida où cette espèce colonise les forêts des montagnes calcaires et siliceuses bien arrosées situées à une altitude comprise entre 1250 m et 1350. *Paeonia mascula ssp. atlantica* présente une aire repartie sur les massifs des BABOR, KEFRIDA, TAZEOUZOUT.

DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE

Description du genre

La description originale du genre Paeonia est citée par Maire (1952). Cette description est la suivante :

« Herbes ou arbrisseaux à tige bien feuillée. Feuilles ± divisées, ordinairement biternées. Fleurs très grandes; périanthe à préfloraison imbriquée.

Sépales ordinairement 5, persistants, parfois plus nombreux et passant extérieurement progressivement aux feuilles végétatives. Pétales 5-8, rouges ou blancs, rarement jaunes. Étamines réunies à la base en anneau; anthères introrses. Carpelles 2-6, libres, insérés sur un disque charnu, à stigmate sessile.

Péricarpe épais, charnu, subcoriace ; follicules ± divariqués, ordinairement polyspermes. Graines subglobuleuses, grosses, lisses, à albumen charnu ».

DESCRIPTION DE L'ESPÈCE

Cette description étant la plus complète possible publiée à ce jour sur cette plante endémique, il a été jugé utile de la reproduire « *in extenso* » pour être disponible à des personnes qui le souhaitent. Cette espèce a été décrite pour la première fois par Battandier et Trabut en 1783. En 1952, Maire en donne la description suivante :

« Plante vivace Rhizome noir, portant des racines tubérisées, à tubercules ± napiformes, sessiles ou brièvement pédonculés. Tige dressée, cylindrique, glabre, 30-60 cm long., ordinairement simple et uniflore, rarement rameuse.

Feuilles très grandes, les inférieures biternées, rarement triternées, les supérieures ternées, toutes à folioles ovales, obovales ou ovales-oblongues, larges, entières, vertes et glabres en dessus, glauques et glabres ou ± poilues en dessous, ± longuement acuminées au sommet, la médiane ordinairement atténuée-cunéiforme à la base, toutes ± pétiolées, ou sessiles et parfois même un peu confluentes à la base. Fleurs grandes (10-12 cm diam.), purpurin vif, rarement blanches. Sépales 4-5, inégaux, ovales-arrondis ou ovales-lancéolés, l'externe souvent en partie ou entièrement foliacé. Pétales 5-10, largement ovales, arrondis et ordinairement un peu sinués-subcrénelés au sommet. Anthères à filets.

Carpelles 2-5, glabres ou villeux. Follicules 1-5, oblongs, divariqués, glabres ou ± villeux, à paroi interne rouge vif. Graines d'abord rouge vif, à la fin noires, subglobuleuses, lisses, luisantes, 6-8 mm diam. Floraison: avril-mai ».

Fig.12 : ***Paeonia mascula*** ***(L.)*** MILL.

Fig.13. Fruit mûr

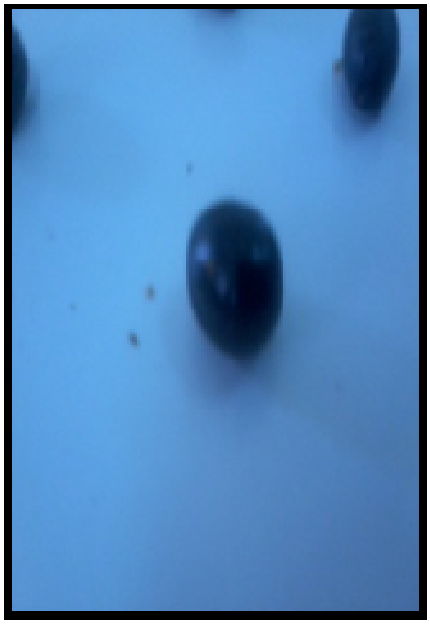


Fig.14 : Graines mûres

TAXONOMIE DE LA PLANTE

Le nom pivoine vient de Paeonia latinisation du grec paionia signifiant primitivement « propre à guérir » plus tard la légende à rattaché la fleur et son nom du dieu guérisseur qui employa cette plante pour guérir pluton dieu des enfers

Classification classique

Règne	*Plantae*
Division	*Magnoliophyta*
Classe	*Magnoliopsida*
Ordre	*Dilleniales*
Famille	*Paeoniaceae*
Genre	*Paeonia*

Nom ***Paeonia mascula*** **(L.) Mill.**

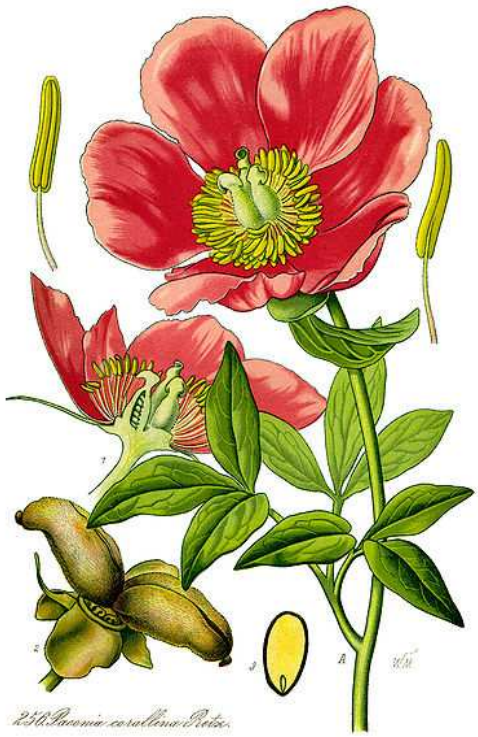


Planche 1.
Reconnaissance du matériel végétal
Paeonia mascula (L.) MILL.

LA PIVOINE PLANTE MÉDICINALE

La pivoine, plante herbacée est utilisée en phytothérapie selon notre enquête de terrain auprès des riverains de la forêt (seule la racine de la pivoine est utilisée. Séchée puis fragmentée, elle est employée en infusion ou en décoction.

En outre, la pivoine est, également, reconnue depuis l'antiquité comme une plante médicinale : la mythologie raconte que c'est le dieu guérisseur grec Paeon qui aurait découvert les propriétés médicinales de la pivoine. Son nom scientifique rappelle d'ailleurs cette légende : la pivoine porte le nom latin de Paeonia officinalis.

Selon Bruneton (1999), la pivoine a des propriétés médicinales remarquables et la substance active contenue par la racine de pivoine est la paeoniflorine. Cette substance a de puissants effets analgésiques, anti-inflammatoires, antispasmodiques et sédatifs. Ils sont appréciés pour le traitement des rhumatismes, mais aussi contre les spasmes gastro-intestinaux, certaines aménorrhées et les dysménorrhées, c'est-à-dire des interruptions ou des douleurs pendant les périodes de règles.

La pivoine qui séduit autant par ses qualités esthétiques que par son intérêt médical, est traditionnellement utilisée pour ses vertus apaisantes et antibiotiques. Selon, Bruneton (1999), sa racine est prescrite en médecine chinoise contre le ralentissement de la circulation sanguine et dans le traitement de certaines maladies fébriles.

Les Chinois utilisaient la pivoine blanche dans leurs remèdes homéopathiques, surtout pour soigner les maux de tête. Aujourd'hui encore, en Chine, d'importantes cultures de pivoines sont destinées à la production de médicaments, fabriqués à partir de l'écorce des racines.

Cette plante, tient une place importante dans la pharmacopée chinoise : en effet, elle est connue pour apaiser les douleurs des règles et faciliter l'accouchement.

Par ailleurs, des étu

des (Bruneton, 1999) ont permis de mettre en évidence la présence de paeniflorine dans ses racines faisant de cette plante un actif cosmétique très intéressant pour calmer les irritations.

Son activité anti-inflammatoire est utilisée pour apaiser les cuirs chevelus irrités. Elle est particulièrement adaptée pour calmer les démangeaisons accompagnant notamment les états pelliculaires.

En outre, les ouvrages de pharmacie et particulièrement le Vidal (2011) signale de nombreux médicaments (PAEONIA COMPLEXE N°104 LEHNING Solution buvable Flacon compte-gouttes de 30 ml, PAEONIA BOIRON, etc.) utilisant cette plante comme source de substances bioactives.

En cosmétologie, la pivoine est largement sollicitée pour son effet anti-inflammatoire. De plus, des formules anti-oxydantes renfermant de la paeoniflorine sont utilisées contre le vieillissement de la peau. En outre, il y a lieu de signaler que du fait de ses grosses fleurs rouges ou pourpres la pivoine est principalement cultivée pour ses qualités ornementales.

LA PIVOINE SOURCE D'HUILES ESSENTIELLES.

Évaluation de l'huile essentielle :

La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique : hydrodistillation. Ce rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée dans l'hydro-distillation ; soit :

$$\mathbf{Rdt} = {}^{\mathbf{Mhe}}/_{\mathbf{Mvg}} \times \mathbf{100}$$

Où :

Rdt : rendement en HE (en %)

Mhe : masse de l'huile essentielle

Mvg : masse végétale sec

Le rendement des huiles essentielles de le partie souterraine de *Paeonia mascula* est de 0.1-0.3

Ce rendement est considéré faible, mais proche de celui de ***Paeonia daurica*** tiré à partir des fleurs (TOSUN Gonca et al.2010)

Il est cependant inférieur au rendement des fleurs.

En ce qui concerne la couleur du l'huile essentielle elle est jaune ; avec une odeur piquante. La lumière stimule aussi la production des huiles essentielles. Des études sur *Mentha piperita* L. ont montré que l'obscurité à diminuer le rendement en huiles volatiles de 1.43 % à 1.09 %.

De même, le pourcentage du menthol dans l'huile essentielle est diminué de 61.8 % à 57.5 %.

L'irrigation a un effet positif sur la croissance végétative. Il est démontré que l'insuffisance ou l'excès d'eau a un effet négatif sur le rendement en huiles essentielles. Le pourcentage de l'huile volatile est passé de 1.4 % (pendant la période des jours longs) à 0.7 % (pendant la période des jours courts) (El-Zakhem, 2003).

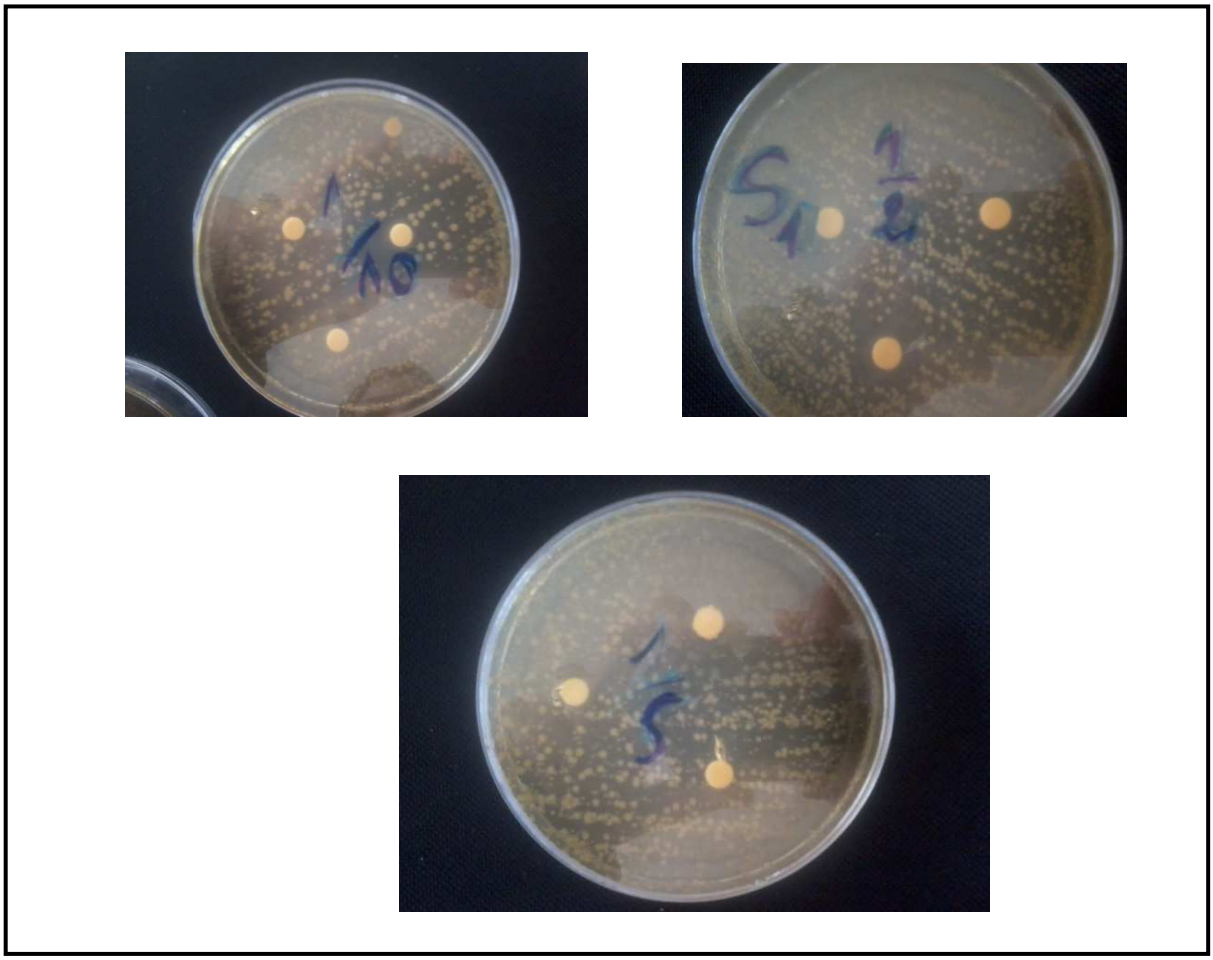
La teneur en huiles essentielles dépend aussi du moment de la récolte. Les sommités fleuries et les feuilles doivent être récoltées avant la floraison, car selon Salle et Pelletier (1991), après la floraison, 70% des huiles essentielles s'évaporent dans l'air. Par contre, la plante entière est généralement récoltée pendant la floraison (Flück, 1942).

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

Les huiles essentielles obtenues de pivoine ont été testées uniquement sur les souches de référence du fait de la faible quantité des huiles dont on a disposé. Les premiers constats qui peuvent être retenus à l'issue des tests d'évaluation de l'activité antibactérienne sont les suivants :

Ces huiles ont montré une activité modérée et semblable sur *E. coli* ATCC 25922 (07-13 mm) et sur *S. aureus* ATCC 25923 (09 à 14 mm) à la concentration de 1/2 (v/v). P.aeruginosa ATCC27853 (07 à 08 mm).

L'activité de l'huile essentielle de la pivoine se manifeste donc aussi bien sur les bactéries Gram (+) que sur les Gram (-).



***E. coli* ATCC 25922**

P.aeruginosa ATCC27853

***S. aureu* ATCC 25923**

Tableau 06 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Paeonia mascula*

	Zone d'inhibition (mm)		
Microorganismes testés	1/2	1/5	1/10
Témoin négatif DMSO	6	6	6
***Escherichia coli* ATCC 25922**	13	9	7
***Staphylococcus aureus* TC25923**	10	8	6
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	7 **7**	6	6

Apartir des ces resultats statistiques il ya une corrélation avec la dilution et la zone d'inhibiton ,si la concentration augmante l'activite de HE et plus grand

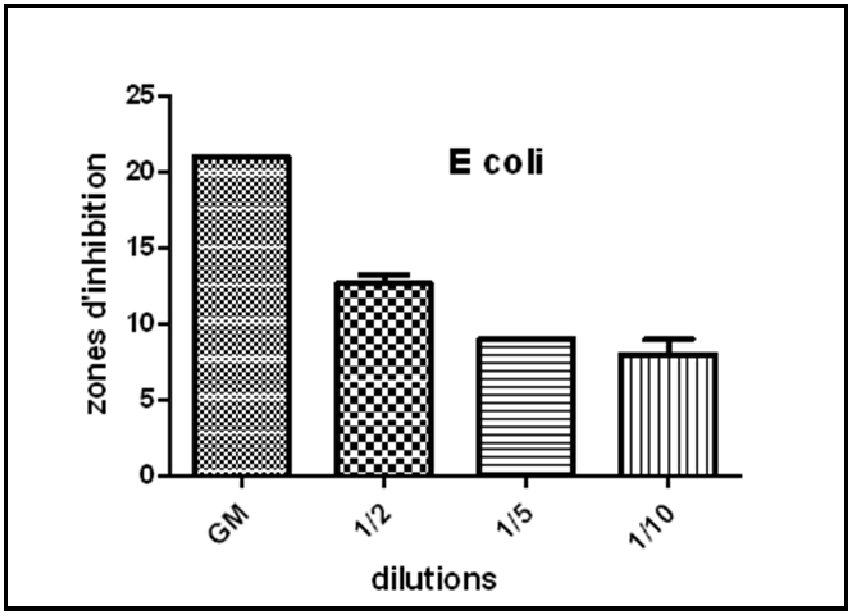


Fig20 : Graphe de corrélation entre la dilution et la zone d'inhibition
Pour **E coli**

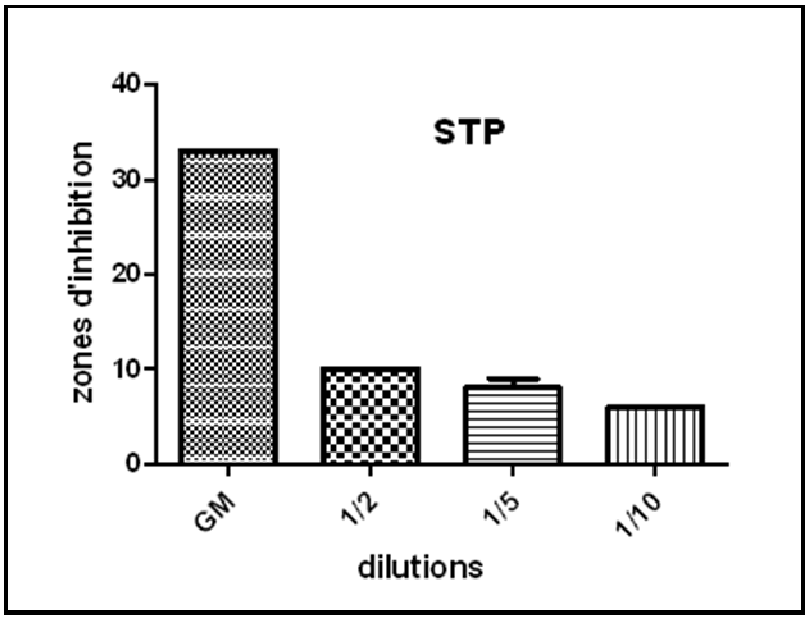


Fig21 : Graphe de corrélation entre la dilution et la zone d'inhibition pour **STP**

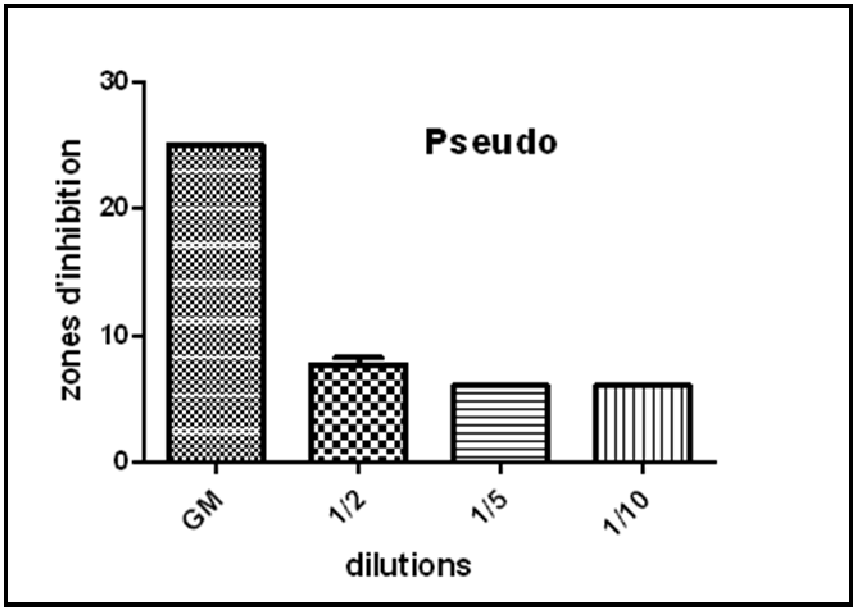


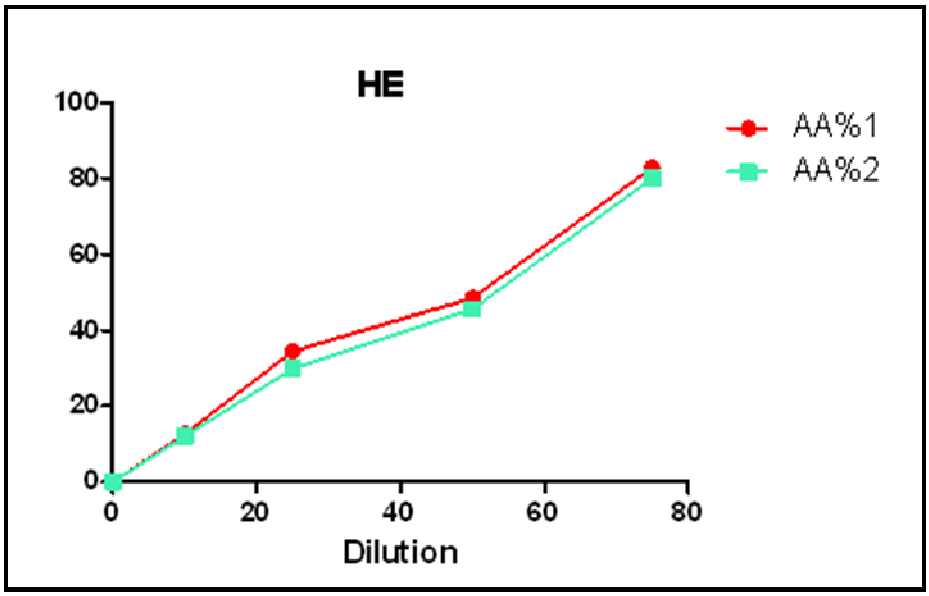
Fig22 : Graphe de corrélation entre la dilution et la zone d'inhibition

Pour **Pseudo**

ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

Les mesures de l'inhibition d'absorbance du DPPH provoquée par la présence de l'huile essentielle de *Paeonia mascula* après 30 minutes ont permis de déterminer le pourcentage d'inhibition (PI) de chaque dilution de l'huile. Il est calculé en appliquant la formule citée auparavant (matériels et méthodes).

Après avoir calculé le PI des différentes dilutions de l'huile de *Paeonia mascula* nous avons constaté qu'à la plus grande concentration utilisée qui est de 10 mg/ml nous avons obtenu un PI= 32.4%. Suite à la faible quantité de cette huile, nous n'avons pas pu aller au delà de la concentration 10 mg/ml et par conséquent, il était impossible d'obtenir son IC50.k

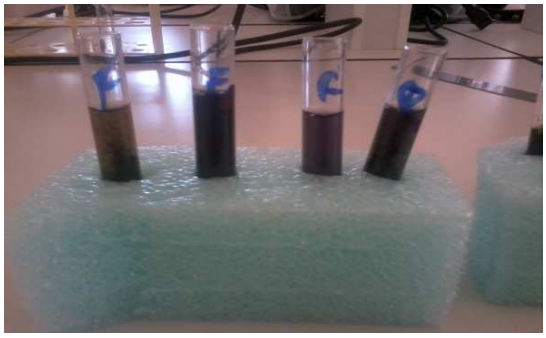


RÉSULTAT DES TESTS DES TANINS

TEST DES TANINS

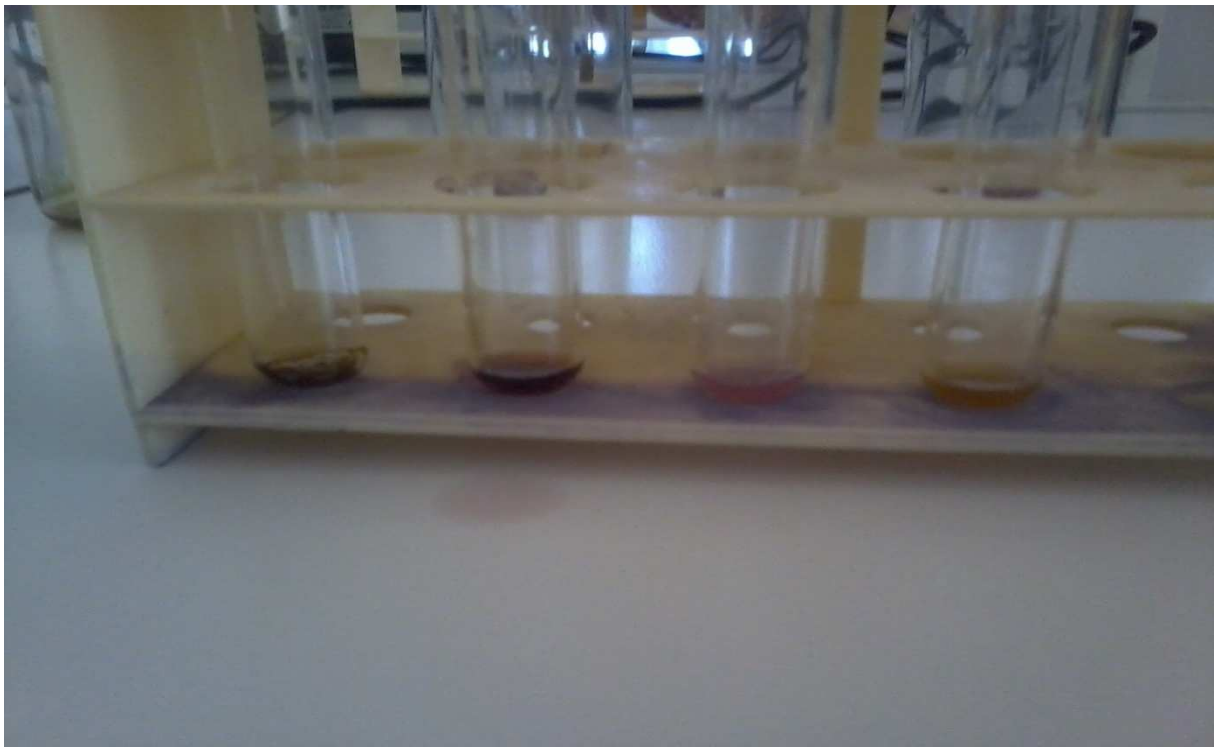
***** la couleur vire vers le bleu noirs la possibilité d'avoir des tanins galliques

Le screening phytochimique de *la pivoine* a été effectué pour la première fois.



*****la solution devient verte indique une trace des tanins dans chaque organe de la plante (Racine, feuilles, graine, fruit)

Racine



*Test des flavonoïdes totaux la solution vire vers orange surtout dans les feuilles et les follicules

CONCLUSION

Le travail présenté a permis de mettre en évidence l'importance, d'une part de la biodiversité de la forêt de Kéfrida et d'autre part les possibilités d'utilisation de cette biodiversité en tant que ressource à travers l'exemple d'une Paeoniaceae *Paeonia mascula* (L.) Mill**.** endémique d'Algérie. Cette importance se manifeste selon les niveaux suivants :

Importance sur le plan de la biodiversité : cette plante qui colonise les collines boisées et les lisières des zénaies au sein des massifs forestiers de Kéfrida et de Babors où elle constitue des populations relativement rares et qui nécessitent donc une action de conservation. Cette espèce mérite d'être inscrite sur la liste rouge (« red liste) des espèces protégées d'Algérie.

Importance sur le plan de la richesse des principes bioactifs (huiles essentielles) qui ont été mis en évidence au sein des extraits issus des racines de cette plante. En effet, sur le plan phytochimique, l'effet inhibiteur des huiles essentielles de *Paeonia mascula* (L.) Mill**.** sur les bactéries pathogènes expliquent en partie les propriétés thérapeutiques de cette plante ; ces propriétés ont été mises en évidences pour la première fois et sont donc inédites.

Les perspectives à envisager pour la suite de cette étude, peuvent être ainsi, formulées : sachant pertinemment que notre travail bien que préliminaire, mais avec des résultats concluant, il reste néanmoins, que de profonds travaux de recherche soient envisagés en vue de développer les approches suivantes :

procéder à une analyse physico-chimique fine en vue de la caractérisation et de l'identification des substances bioactives produites par cette plante ;

déterminer la toxicité de ces substances et mieux évaluer leurs effets ;

envisager l'exploitation économique de la plante en tant que ressource phytogénétique en développant des techniques de culture. Ces techniques culturales permettent d'assurer la protection et la conservation de cette plante endémique et rare.

Du fait des propriétés antibactériennes mises en évidence au cours de notre travail, il s'avère, intéressant, d'envisager l'utilisation de ces propriétés à des fins thérapeutiques.

En conclusion, il est possible de résumer l'ensemble des approches méthodologiques selon la démarche suivante :

Étape 1. Exploration floristique d'un territoire intéressant pour sa biodiversité : c'est le cas de la forêt de Kéfrida que nous avons choisie.

Étape 2. Récolte des échantillons de plantes et constitution d'un herbier de référence.

Étape 3. Identification de la flore : cette étape est cruciale, même si elle fastidieuse, elle doit à tout prix être faite car elle constitue la base de toute la démarche.

Étape 4. Classification et taxonomie des plantes recueillies : sélection de plantes sur la base de critères précis d'ordre biologique, écologique et ethnobotanique.

Étape 5. Conclusions tenant aux propriétés supposées de la plante vis-à-vis de son appartenance botanique.

Étape 6. Extractions phytochimiques et screening de la plante, applications de divers tests in vitro et si possible in vivo en vue d'évaluer les activités des extraits de cette plante.

En effet, afin d'isoler des substances nouvelles de plantes et de trouver de ce fait de nouvelles voies d'applications tant dans les domaines de la pharmacie que de la cosmétique et afin de rendre la stratégie d'isolement le plus efficace, il convient de sélectionner avec soin les plantes à étudier.

Dans cette optique, les critères pris en compte pour sélectionner les plantes de cette étude tiennent compte des atouts de la forêt de Kéfrida : cette zone présente tous les caractères d'une biodiversité richesse et extraordinairement variée. Sa flore présente un intérêt scientifique tout particulier en raison de sa diversité, et de sa très grande richesse. Cette forêt est connue pour sa flore d'une remarquable richesse en plantes endémiques.

En effet, en travaillant sur des plantes endémiques, aux caractéristiques potentiellement uniques, la probabilité est plus grande de trouver de nouvelles molécules (et ainsi de nouvelles voies thérapeutiques) élargissant d'autant la connaissance de la biodiversité des forêts d'Algérie et de l'utilisation des ressources phytogénétiques dans un programme de recherche en vue d'assurer un volet social en faveur des populations riveraines et favoriser, ainsi, la pérennité des ressources par leur conservation et leur protection, principes fondamentaux du développement durable.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Al-Burtamani S.K., Fatope M.O., Ruchi G., Marwah G., Onifade A.K., and Al-Saidi S.H. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of Haplophyllum tuberculatum from Oman. Journal of Ethnopharmacology. 96, 107–112, 2005.

Alitonou G., Avlessi F., Wotto V.D., Ahoussi E., Dangou J. and Sohounhloué D.C.K. Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus tereticornis. Chimie. 7, 1051–1055, 2004.

Anizon J.Y., Lemaire B., et Surbled M. Extraction assistée par micro-ondes. Dossier 3060; Base documentaire: Agroalimentaire. vol. papier: n° F2, 2003 (Techniques de l'ingénieur).

Baba Aissa F. Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident. éd. Librairie moderne, Alger, 2000.

Belaiche P. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1, L'aromatogramme .éd. Maloine. 1979.

Berger-Bachi B. Resistance mechanism of Gram positive bacteria. Int. J. Med. Microbiol. 292, 27- 35, 2002.

Bertrand X., Costa Y., et Pina P. Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. Médecine et maladies infectieuses. 35, 329–334, 2005.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, éd. TEC et DOC, Paris, 1999.

Burt SA., and Reinders R., Antibacterial activity of selected plant essential oils against Escherichia coli O157:H7. Letters in Applied Microbiology. 36, 162–167, 2003.

Caude M. et Jardy A. Méthodes chromatographiques. Dossier P1445. Base documentaire : Techniques d'analyse. vol ; papier TA2.

Cheema A.S., Dhillon R.S., Gupta B.C., Chhabra B.R., Kalsi P.S. and Agric P. Chemical investigation of the terpenoids from Daucus carota. Aromen Koerperpflegemittel. 25 (5), 138, 141-2, 144. 1975.

Cloete T.E. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. International biodeterioration and biodegradation. 51, 277 – 282, 2003.

Cowan M.M. Plant product as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews. 12 (4), 564-582, 1999.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C. Gustafson J.E., Warmington J.R and Wyllie S.G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology, 88, 170–175, 2000.

De Billerbeck V.G., Roques C., Vaniére P. et Marquier P. Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. Hygiéne. 10 (3), 2002.

De Maack F. et Sablier M. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier: P2614. vol papier n°: TA3. Bases documentaries, Techniques d'analyse, 1994.

Djarri L., Medjroubi K., Akkal., Elomri A., Seguin E. and Verité P. Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, Daucus reboudii Coss. Flavour Frag. J. 21, 647-649, 2006.

Dorman H.J.D, and Deans H.J.D. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88 (2) 308–316, 2000.

El Zakhem M. Effets antifongiques des huiles essentielles extraites de l'Origanum syriacum L. et de Salvia libanotica Boiss et Gaill contre les Candida : albicans, holmii, et famata. Mémoire de Diplôme d'Études Approfondies

(DEA) en Agroalimentaire et Assurance-Qualité. Institut National Agronomique Paris-Grignon (INA-PG), 2003.

Flamini G., Cioni P.L., Maccioni S. and Baldini R. Composition of the essential oil of Daucus gingidium L. ssp. Gingidium. Food Chemistry. 103 (4), 1237–1240, 2007.

Garnero J. Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. vol. papier n°: K2, 1996.

Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A.M. Le préparateur en pharmacie, dossier 2, Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, 2001.

Grover G.S. and Rao J.T. In vitro antimicrobial studies of the essential oil of Daucus carota. Indian Drugs and Pharmaceuticals Industry, 13 (1), 39-40, 1978.

Guillemot D. Approche pharmaco-épidémiologique de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Dossier scientifique, résistance aux antibiotiques: aspect épidémiologique. Revue Française des laboratoires. n° 354, 2003.

Guillemot D. et Leclercq R. Impact de l'exposition des populations sur le risque de résistance bactérienne. Médecine et maladies infectieuses. 35, S 212-S220, 2005.

Gyorgyi H., Laszlo Gy S. and Éva H. Essential oil composition of three cultivated Thymus chemotypes from Hungary. J. of Essent. Oil Res. 18(3), 315-317, 2006.

Hanbali F., Akssira M., Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Mellouki F., Benherraf A., Blazquez A.M. and Boira A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of Pulicarian odora L. Journal of Ethnopharmacology. 99, 399–401, 2005.

Hancock R.E.W. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive pathogens. Revue électronique: http://infection.thelancet.com. vol 5, 2005.

Hammer K.A., Carson C.F. and Riley T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, Journal of Applied Microbiology. 86: 985–990, 1999.

Haznedaroglu M.Z., Karabay N.U. and Zeybek U. Antibacterial activity of Salvia tomentosa essential oil. Fitoterapia. 72 (7), 829-831, 2001.

Hernandez T., Canales M., Avila J.G., Garcıa A.M., Martinez A., Caballero J., Romo de Vivarc A. and Lira R. Composition and antibacterial activity of essential oil of Lantana achyranthifolia Desf. (Verbenaceae). Journal of Ethnopharmacology. 96 (3), 551–554, 2005.

Hiromu K., Kenichi S. et Mitsuo M. Composition of essential oil of Kakushitsu (Daucus carota L. and Carpesium abrotanoides L.). Nippon Nogei Kagaku Kaishi. 63 (2), 185-188, 1989.

Holley R.A. and Patel D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology. 22 (4), 273–292, 2005.

Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d’aromes. Sciences des aliments, 18: 563-582, 1998.

Inouye S., Tsuruoka., Watanabe M., Takeo K., Akao M., Nishiyama Y. and Yamaguchi H. Inhibitory effect of essential oils on apical growth of Aspergillus fumigatus by vapour contact. Mycoses. 43 (1), 17–23, 1998.

Iserin P. Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation et soins, éd. Larousse, 2001.

Javidnia K., Miri R., Kamalinejad M., Sarkarzadeh H. and Jamalian A. Chemical composition of the essential oils of Anthemis altissima L. grown in Iran. Flavour Frag. J. 19 (3), 213–216, 2004.

Kanko C., Sawaliho B.E., Kone S., Koukoua G. et N'Guessan C.Y.T. Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de Lippia multiflora, Cymbopogon citratus, Cymbopogon nardus, Cymbopogon giganteus. Comptes rendus chimie. 7 (10), 1029-1032, 2004.

Kivcak B., Mert T., Saglam H., Ozturk T., Kurkcuoglu M. and Baser K.H.C. Chemical composition and antimicrobial ativity of the essential oil of Anthemis wiedemanniana from Turkey. Chemistry of Natural Compounds. 43 (1), 531-533, 2007.

Kofidis., George., Bosabalidis, Artemios, Kokkini, Stella. Seasonal variation of essential oils in a Linalool-Rich chemotype of Mentha spicata grown wild in Greece. J. of essent. oil res. 16, 469- 472, 2004.

Mann C..M., Cox S.D. and Markham J.L. The outer membrane of Pseudomonas aeruginosa NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Letters in Applied Microbiology. 30 (4), 294-297, 2000.

Mojay G. Aromatherapy for your home. New Life Journal. 5 (5), 2004.

Pagès J.M., et Garnotel E. Pérméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram-négatif. Dossier scientifique, résistance aux antibiotiques: aspect technique. Revue Française des Laboratoires. vol. 2003 (352), 57-63, 2003.

Pagès G.M. Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. Médecine-Sciences. 20 (3), 346-51, 2004.

Patrick G.L. Chimie pharmaceutique. 2° édition. éd. De boeck. 2003

Perry J.J., Staley J.T., et Lory S. Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod. 2004.

Pradeau D. et Dauphin C. Chromatographie planaire: applications. Dossier P1476, Base documentaire: Techniques d'analyse, vol. papier n° TA2. 2007.

Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A. Microbiologie. 2ème édition, éd. De Boeck, 200

Quezel P. et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, Tome II, éd. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. 1963.

Rahal K. Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. 2005.

Reynaud J. La flore du pharmacien, éd TEC et DOC. 20

Saad H.E.A., El-Sharkawy S.H. and Halim A.F. Essential oils of Daucus carota ssp. maximus Pharmaceutics Acta Helvetiae. 70, 79-84, 1995.

Scwedt G. Méthodes d'analyse. éd. Flammarion. 1993.

Singleton P. Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6ème édition, éd. Dunod, 2005.

Staniszewska M., Kula J., Wieczorkiewicz M., Kusewicz D. Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots - the chemical composition and antimicrobial activity. Jour of essent oil res. 17 (5), 579-583, 2005.

Teixeira da Silva J. Mining the essential oils of the Anthemideae. African Journal of Biotechnology. 3 (12) 706-720, 2004.

Tenover F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. The American journal of medicine. 119 (6A), S3-S10, 2006.

Walsh F.M. and Amyes S.G.B. Microbiology and drug resistance mechanisms of fully resistant pathogens. Current Opinion in Microbiology. 7, 439-444, 2004.

Wichtl M. et Anton R. Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. éd. Tec et Doc, 1999

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., et Ouar Korich M.N. Classification et Mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb. n°91, 2001a.

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. et Ouar Korich M.N. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. n°91. 2001.

ANNEXE 1. LISTE DES ESPÈCES CITÉES DANS LA FORÊT DE KÉFRIDA (QUÉZEL, 1956)

Anthoxanthum odoratum L.
Brachypodium silvaticum (Huds) P.B.
Bromus benekini Scinzet-Thell
Dactylis glomerata L.
Elymus europaeus L.
Festuca drymeja ssp. Grandis Coos.et Dur.
Melica uniflora Retz.
Poa bulbosa L.

Bellis sivestris L.
Doronicum atlanticum (Chabert) Rouy.
Inula conysa DC.
Petasites fragrans Persel.
Pulicaria odora (L) Rchb.
Senecio perralderianus Coos. et Dur.
Solidago virga-aurea L.

Brunella vulgaris L.
Lamium flexuosum Ten.
Lamium longiflorum var.numidicum
Phlomis samia ssp. Bovei de Noé.

Digitalis atlantica Pomel.
Linaria heterophylla Defs.
Veronica montana L.

Veronica serpyllifolia L.

Cerasus avium L.
Geum silvaticum Pourret.
Geum urbanum var. Mauritanicum L.
Potentilla micrantha Ramond.

Alliaria officinalis Scop.
Arabis albida Stev.
Arabis turrita L.

Carex halleriana Asso.
Carex remota L.
Carex silvatica var. algeriensis M. et W.

Danaa verticillata Janchen.
Heracleum sibiricim ssp. Atlanticum Coss
Sanicula europaea L.

Asplenium adiantum-nigrum L.
Asplenium trichomanes L.
Cystopteris fragilis Bernh.

Cyclamen africanum Boiss. et Rent.
Cyclamen repandum ssp. Atlanticum Maire
Primula vulgaris var. Atlantica M. et Willez.

Paeonia corallina ssp. Atlantica Coos.
Ranunculus spicatus Defs.
Thalictrum minus L.

Asperula loevigata L.
Galium ellipticum (Willd) Hon.
Galium tunetanum Poiret.

Viola dehnardtii Ten.
Viola munbyana Boiss et Rent.
Viola silvestris Lank.

Acer compestre Comp.
Acer obtusatum W. et K.

Euphorbia amygdaloides
Mercurialis perennis L.

Quercus faginea fa. Mirbekii
Quercus afares

Geranium atlanticum Boiss et Rent.
Geranium lucidum L.

Luzula forsteri (Sm) Dc.
Luzula graeca E et Mey.

Cytisus triflorus L'Her.
Vicia atlantica (Pomel) Maire.

Narcissus tazetta L.

Stellaria holostea L.

Arum italicum Mill.

*Hedera helix*L.

Epimedium perralderianum Coss.

Myosotis alpestris ssp. Silvestris var. latifolia

Podanthum trichocalycinum Tenore.

Lonicera etrusca Santi.

Umbilicus pendulinus (Dc) Batt.

Tamus communis L.

Hypericum montanum L.
Iris unguicularis Poir.
Gagea foliosa (Presl) Sch.

Chelidonium majus L.

Cedrus atlantica Manitti.

Saxifraga atlantica Bois et Rent.

Silene choulettei Coss.

Daphne laureola L.

AVANT-PROPOS 0
INTRODUCTION 2
Aspects taxonomiques et ethnobotaniques 4
Sélection des extraits : criblage biologique 5
CHAPITRE I : Contexte écologique de la forêt de KÉFRIDA 7
1. Cadre géographique et topographique 7
2. Cadre géologique et géomorphologique 9
3. Cadre climatique 9
3.1. Précipitations 10
3. Régime thermique 13
Cadre bioclimatique 15
1. Saison sèche 15
2. Quotient pluviothermique et climagramme 15
Chapitre 2 : Matériel et méthode 17
Matériel végétal 17
Approches méthodologiques 17
Échantillonnage 18
Analyse phytochimique et screening 19
Screening 20
Technique suivie lors de notre étude. 21
Démarche de l'analyse phytochimique 21
Les huiles essentielles 21
Les tanins 31
Extraction 31
Propriétés biologiques 31
Les flavonoïdes 32
Distribution 32
Propriétés physico-chimiques 33

Propriétés biologiques 33
Activité antioxydante 33
Test des flavonoïdes totaux 33
Activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles de la pivoine 33
Souches microbiennes utilisées 33
Les milieux de cultures 34
Technique par contact direct 34
Test de l'activité antioxydante au DPPH 36
Notion de radicaux libres et d'antioxydants 36
Principe du test l'activité antioxydante au DPPH 36
Mesure de l'activité de l'huile essentielle de *Paeonia mascula* 37
Chapitre : Résultats 39
I. Biodiversité et Ressources phytogénétiques de la forêt de Kéfrida 39
Principales plantes sources d'oléorésines. 40
Principales plantes sources de résines 40
Principales plantes sources d'huiles essentielles 40
Principales plantes sources d'alcaloïdes 42
Principales plantes sources de tanins 44
Principales plantes sources d'hétérosides naturels 45
II. Ressources phytogénétiques : Paeonia mascula 47
Récolte des échantillons de Paeonia mascula 47
Reconnaissance de Paeonia mascula 47
Récolte des organes végétaux 48
Aire de répartition et Écologie de Paeonia 48
Description morphologique 48
Description du genre 48
Description de l'espèce 49
Taxonomie de la plante 51
La pivoine plante médicinale 52
La pivoine source d'huiles essentielles. 53
Évaluation de l'huile essentielle : 53
Évaluation de l'activité antibactérienne 55

Activité antioxydante 59

Résultat des tests des tanins 60
Test des tanins 60
CONCLUSION 62
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 65