Répulique Algerienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi, Tebessa

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Etres Vivants



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Ecophysiologie végétale

Thème

Etude phytochimique et pouvoir germinatif de quelques plantes médicinales

Présenté par

Aya Rouabhia

Devant le jury

Souad Mehalaine	MCA	Université de Tebessa	Directrice
Mohamed Salah Hannachi	MCB	Université de Tebessa	Président
Soraya Hioun	MAA	Université de Tebessa	Examinatrice

Date de soutenance : 10 Juin 2025

Résumé

Marrubium vulgare, *Origanum vulgare*, et *Mentha pulegium* sont des plantes médicinales capables de synthétiser des polyphénols et huiles essentielles, et sont largement utilisées dans la phytothérapie et l'industrie pharmaceutique et en cosmétologie.

L'objectif de cette étude est l'évaluation du rendement des composés phénoliques et huiles essentielles chez ces trois espèces végétales natives dans le nord-est algérien. La capacité germinative et l'effet de quelques substances chimiques sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* ont été également évalués.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation, et le dosage de composés phénoliques par la méthode du Folin-ciocalteu.

L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative ($P<0.001$) entre les trois espèces ; *Origanum vulgare* a présenté le meilleur rendement des huiles essentielles (1.65%) et le meilleur rendement des phénols totaux (2.53%). L'analyse statistique a montré également des différences très hautement significatives entre les trois variétés ($P<0.001$) de *Marrubium vulgare* ; le traitement des graines par l'acide gibbérellique a montré le meilleur taux de germination chez la variété 2 (86.6%). Les autres variétés ont présenté des taux faibles avec tous les traitements appliqués (acide gibbérellique, acide sulfurique, et peroxyde d'hydrogène).

Mots clés : Plantes médicinales, composés phénoliques, huiles essentielles, germination *in vitro*

Abstract

Marrubium vulgare, *Origanum vulgare*, and *Mentha pulegium* are medicinal plants capable of producing phenolic compounds and essential oils, and are widely used in herbal medicine, pharmaceuticals, and cosmetics.

The objective of this study is to evaluate the yield of phenolic compounds and essential oils in these three plants growing wild in northeastern Algeria. Germination ability and effect of some chemical substances (gibberellic acid, sulfuric acid, and hydrogen peroxide) on germination of *Marrubium vulgare* seeds were also assessed. Essential oils were extracted by hydrodistillation, and phenolic compounds were determined using Folin-Ciocalteu method.

Statistical analysis showed a very highly significant difference ($P<0.001$) between the three species; *Origanum vulgare* had the best quantity of essential oils (1.65%) and the best one of total phenols (2.53%). Statistical analysis also showed very highly significant differences between *Marrubium vulgare* varieties ($P<0.001$); seed treatment with gibberellic acid showed the best germination rate in variety 2 (86.6%). The other varieties showed low rates with all applied treatments.

Keywords: Medicinal plants, phenolic compounds, essential oils, *in vitro* germination.

ملخص:

يعتبر نبات الفراسيون الأبيض، الزعتر الشائع، والنعناع البرّي من النباتات الطبية القادرة على تصنيع المركبات الفينولية والزيوت الأساسية. لهذا السبب تستخدم هذه النباتات على نطاق واسع في علاج العديد من الأمراض، في الصناعات الصيدلانية، ومواد التجميل والعطور.

في هذا السياق تندرج هذه الدراسة؛ حيث تهدف إلى تقييم مردود المركبات الفينولية والزيوت الأساسية عند هذه الأنواع النباتية البرية، والتي تم جمعها من شمال شرق الجزائر. كما تم تقدير القدرة الإنباتية، وفحص تأثير بعض المواد الكيميائية على إنبات بذور الفراسيون الأبيض.

تم استخلاص الزيوت الطيارة بواسطة التقطير المائي، وتقدير المركبات الفينولية الكلية بواسطة التحليل الطيفي الضوئي.

أظهر التحليل الإحصائي فرقا معنويا عاليا جدا بين الأنواع النباتية الثلاثة؛ حيث أعطى الزعتر الشائع أحسن مردود للزيوت الأساسية (1.65%)، وأحسن مردود للمركبات الفينولية (2,53%). كما بيّن التحليل الإحصائي فروقا معنوية عالية جدا بين أصناف الفراسيون الأبيض؛ حيث أظهرت البذور المعالجة بحامض الجبريليك للصنف 02 أحسن نسبة إنبات (86,6 %)، أما الأصناف الأخرى فأعطت نسبة إنبات ضعيفة لكل المعالجات المطبقة (حامض الجبريليك، حامض الكبريت، بيروكسيد الهيدروجين).

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية، المركبات الفينولية، الزيوت الأساسية، الإنبات الزجاجي.

Liste des photos

Numéro	Titre	Page
01	Partie aérienne (feuilles et fleurs) de *Marrubium vulgare* L.	**02**
02	Partie aérienne (feuilles et fleurs) de *Mentha pulegium* L.	**04**
03	*Origanum vulgare* L. (Inflorescences).	**06**
04	Germination *in vitro* des graines de *Marrubium vulgare* .	**16**

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	**10**
02	Teneur en huiles essentielles chez *Origanum vulgare*, *Mentha puligium*, *Marrubium vulgare*.	**12**
03	Concentration des phénols totaux chez *Origanum vulgare*, *Marrubium vulgare*, *Mentha puligium*.	**13**
04	Concentration des phénols totaux chez les trois variétés de Origanum *vulgare*.	**13**
05	Concentration des phénols totaux chez les cinq variétés de *Marrubium vulgare*.	**14**
06	Effets de l'acide sulfurique, peroxyde d'hydrogène et acide gibbérellique sur la germination des graines des trois variétés de *Marrubium vulgare*.	**15**

Table des matières

Introduction ……..……. 1

Chapitre I : Partie Bibliographique

1. Les plantes étudiées 2

1.1. *Marrubium vulgare* L…….…… 2

1.1.1. Classification …….……. 2

1.1.2. Description botanique…….. 2

1.1.3. Répartition géographique …… 3

1.1.4. Composition chimique……. 3

1.1.5. Propriétés thérapeutiques …… 3

1.2. *Mentha pulegium* L……. 3

1.2.1. Classification …… 3

1.2.2. Description botanique…… 4

1.2.3. Répartition géographique ……. 4

1.2.4. Composition chimique ……. 5

1.2.5. Propriétés thérapeutiques…….. 5

1.3. *Origanum vulgare* L. ……...…… 5

1.3.1. Classification …… 5

1.3.2. Description botanique…… 5

1.3.3. Répartition géographique ……... 6

1.3.4. Composition chimique …….. 6

1.3.5. Propriétés thérapeutiques……... 6

2. Les composés phénoliques et huiles essentielles……. 7

2.1. Définition…….. 7

2.2. Biosynthèse des composés phénoliques …….. 7

2.3. Importance des composés phénoliques et huiles essentielles …….. 7

3. Germination des graines de plantes..... 7

3.1. Définition……. 7

3.2. Facteurs qui influencent la germination …….. 8

3.2.1. L'eau……. 8

3.2.2. Température……. 8

3.2.3. Oxygène……... 8

3.3. Effets des phytohormones sur la germination……. 8

3.3.1. La gibbérelline…….. 8

3.4. Effets des éléments chimiques sur la germination…….. 8

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal …… 9

2. Extraction des huiles essentielles……. 9

3. Extraction des composés phénoliques …… 9

4. Dosage des phénols totaux ……. 10

5. Germination *in vitro* des graines de *Marrubium vulgare* …….. 10

5.1. Stérilisation des graines ……..... 10

5.2. Traitement par l'acide gibbérellique ……... 11

5.3. Traitement par l'acide sulfurique et peroxyde d'hydrogène …… 11

6. Analyse statistique …….. 11

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Rendement des huiles essentielles…… 12

2. Concentration des phénols totaux……. 13

3. La germination *in vitro* des graines de *Marrubium vulgare*……. 15

Conclusion …….. 17

Références bibliographique …….. 18

Introduction

Introduction

Depuis toujours, les plantes médicinales tiennent une place importante dans la santé humaine. Bien avant l'apparition des médicaments de synthèse, les civilisations anciennes se soignaient avec des plantes. Aujourd'hui encore, cet héritage n'a pas disparu ; l'Organisation mondiale de la santé estime que plus de 80% de la population mondiale utilise des plantes médicinales pour leurs soins de santé (Monalisa et al., 2022). Les plantes utilisées en médecine traditionnelle contiennent une large gamme de substances utiles pour traiter différentes maladies. Des milliers de composés phytochimiques offrent des alternatives efficaces avec moins d'effets indésirables et exercent de nombreuses activités biologiques bénéfiques : antimicrobiennes, antioxydantes, antidiarrhéiques, analgésiques et cicatrisantes (Sasidharan et al., 2011).

De nombreuses plantes médicinales sont utilisées intensivement dans la médecine traditionnelle et exploitées par différents secteurs : agro-alimentaire, pharmaceutique, et cosmétologique. Les surexploitations des plantes sauvages ont conduit au déclin de plusieurs espèces et à la dégradation de leurs habitats naturels notamment en absence de méthodes de régénération et multiplication.

La germination *in vitro* des graines est considérée parmi les méthodes efficaces pour régénérer et conserver les espèces végétales surexploitées. La germination est un processus physiologique qui exige plusieurs facteurs intervenant simultanément à un moment donné pour favoriser l'émergence de la plantule. Le pourcentage de germination est l'une des caractéristiques les plus importantes de la graine destinée à la culture (Kumar et al., 2011).

Dans ce contexte, le but de ce travail est d'évaluer la teneur en huiles essentielles et phénols totaux de trois plantes médicinales qui poussent spontanément en Algérie : *Marrubium vulgare* L., *Origanum vulgare* L. et *Mentha pulegium* L. Dans ce travail, le pouvoir germinatif et l'effet de quelques substances chimiques sur la germination des graines de *Marrubium vulgare* ont été également étudiés.

Ce travail est constitué de trois parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui traite les trois plantes médicinales étudiées, et le processus de la germination.
- La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés dans l'étude expérimentale.
- La troisième partie est consacrée aux résultats et leur discussion.

Partie Bibliographique

1. Les plantes étudiées

1.1. *Marrubium vulgare* L.

1.1.1 Classification

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta.

Embranchement : Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnolipsida

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre : Marrubium

Espèce: *Marrubium vulgare* L.

1.1.2. Description botanique

Le Marrube blanc est une plante vivace de 30 à 80 cm d'hauteur blanchâtre, à une odeur désagréable forte, avec des tiges épaisses simples ou peu rameuses, des feuilles pétiolées ovales orbiculaires à la base irrégulièrement crénelées et ridées vertes, recouverte de poils.

Les fleurs sont blanches en verticilles, les bractéoles en alène glabres et crochues au sommet à feuilles plus petites blanches recouverte de poils (Quizel et Santa, 1963 ; Boukef, 1986 ; Bellakhdar, 1997). Cette plante fleurit du Mai à Septembre (Kothe, 2007).



Photo 1. Partie aérienne (feuilles et fleurs) de *Marrubium vulgare* (Tela botanica, 2013)

1.1.3. Répartition géographique

Marrubium vulgare est principalement originaire des régions méditerranéennes y compris le sud de l'Europe, nord de l'Afrique et Ouest de l'Asie. Dans l'Afrique du nord, l'espèce est commune dans les régions côtières et semi arides notamment au Maroc, Algérie et Tunisie. En Europe, la plante pousse dans toute la zone méditerranéenne comme Espagne, France, Italie, Grèce. Le marrube se trouve également en Asie occidentale, en Amérique, et Australie (Anonyme 1).

1.1.4. Composition chimique

Le Marrube blanc contient plusieurs classes de métabolites secondaires renfermant les terpènes, flavonoïdes, tanins, et huiles essentiels en faible quantité. Ces composés confèrent à la plante des propriétés antioxydantes, et antimicrobiennes (Rezgui et al., 2020).

1.1.5. Propriétés thérapeutiques

Le marrube blanc possède plusieurs propriétés médicinales :

- Expectorantes et broncho-dilatatrices : traditionnellement utilisé pour traiter les affections respiratoires (toux, bronchite, rhume), il favorise l'élimination de mucus des voies respiratoires grâce à ses composés actifs comme les flavonoïdes.
- Antioxydantes : les polyphénols comme les flavonoïdes aident à neutraliser les radicaux libres réduisant les traces oxydatifs et prévenant des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires.
- Anti-inflammatoires : le marrube est utilisé pour traiter les infections respiratoires.

Le marrube blanc présente également des propriétés hypoglycémiantes, antimicrobiennes, et antifongique dans le traitement des infections cutanées (Rezgui et al., 2020).

1.2. *Mentha pulegium* L.

1.2.1. Classification

Règne : Plante

Division : Angiosperme

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Mentha

Espèce :*Mentha pulegium* L. (Kothe,2007).



Photo 2. Partie aérienne de *Mentha pulegium* (Tela botanica, 2013)

1.2.2. Description botanique

Mentha pulegium est une plante herbacée vivace de petite taille qui atteint généralement 20 à 40 cm d'hauteur, dotée de tiges étalées, quadrangulaires et duveteuses. Elle a des feuilles arrangées en opposition de forme lancée finement dentelées, et d'une couleur verte. Les fleurs sont de petite taille et ont une couleur allant du mauve au rose, se rassemblent en épis denses, généralement situés à l'extrémité des tiges. Cette espèce fleurit de Juin à Aout, et se propage grâce à rhizomes enterrés et enfouis. Elle pousse dans les zones humides, elle est fréquemment présente dans les environnements aquatiques ou semi aquatiques (Beloued, 2005).

1.2.3. Répartition géographique

Mentha pulegium est une plante originaire des zones méditerranéennes, elle est présente dans diverses régions du Moyen-Orient (Egypte, Palestine, Liban, Syrie), Afrique du Nord, Europe. Cette espèce se trouve également dans quelques zones de l'Asie. *Mentha pulegium* pousse dans des milieux humides notamment des marais, la plante peut parfois être trouvée dans les zones tempérées ou elle est cultivée (Beloued, 2005).

1.2.4. Composition chimique

La menthe pouliot est riche en différents composés bioactifs y compris des huiles essentielles, des flavonoïdes, et des acides phénoliques. La plante renferme également des tannins (Beloued, 2005).

1.2.5. Propriétés thérapeutiques

Mentha pulegium est une plante employée en médecine traditionnelle, elle a des propriétés digestives, carminatives, cholagogues, expectorantes. L'utilisation des feuilles et des sommités fleuris à des effets importants contre les vomissements, les crampes d'estomac, trouble digestifs, ballonnements, maladies rénales, et les maux de tête. L'huile essentielle de cette plante présente une notable activité antioxydante, antimicrobienne, et antispasmodique (Dousari et al., 2023).

1.3. *Origanum vulgare* L.

1.3.1. Classification

Règne : Plantae

Divion : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre : Origanum

Espèce : *Origanum vulgare* L.

1.3.2. Description botanique

L'origan commun est une plante herbacée vivace elle a la capacité d'atteindre une hauteur de 30 à 80 cm, ses tiges présentent une forme carrée, elles sont habituellement colorées en rouge, ces feuilles disposées en opposition, de forme ovale, dentées, velues et couvertes d'un tissu glanduleux. Les fleurs sont de petite taille et à forme bilabiée, se regroupent en inflorescences au bout de la tige, ayant une couleur rose ou pourpre. La plante a une odeur particulièrement forte lorsqu'elle est broyée (Anonyme 2).



Photo 3. *Origanum vulgare* (inflorescences) (Tela botanica, 2013)

1.3.3. Répartition géographique

L'origan pousse dans la zone méditerranéenne, largement étendu à grande échelle en Europe en Asie occidentale et en Afrique du nord. L'origan est une plante qui pousse spontanément mais elle est aussi cultivée pour ses vertus en cuisine et en médecine traditionnelle (Beloued, 2005).

1.3.4. Composition chimique

L'huile essentielle d'*Origanum vulgare* est riche en composés bioactifs principalement carvacrol, terpinène, p-cymène, thymol. Ces composants sont responsables de ses propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, et anti-inflammatoires (Pezzani et al., 2017).

1.3.5. Propriétés thérapeutiques

Origanum vulgare possède une immense variété d'activités pharmacologiques notamment : antioxydante, anti-inflammatoire, antidiabétique, antivirale, antimicrobienne. L'huile essentielle d'origan est utilisée en aromathérapie pour ses effets bénéfiques sur la santé digestive et respiratoire (Pezzani et al., 2017).

2. Les composés phénoliques et huiles essentielles

2.1. Définition

Les composés phénoliques sont une classe de composés chimiques organiques constitués structurellement d'un groupe fonctionnel hydroxyle directement lié à un hydrocarbure aromatique. Les composés phénoliques peuvent être simples ou polycycliques selon le nombre d'unités phénol dans la molécule.

L'huile essentielle est un liquide concentré constitué principalement de monoterpènes, sesquiterpènes, composés aromatiques, c'est une substance volatile. Les huiles essentielles sont produites par des cellules végétales spécialisées, elles sont ensuite stockées dans des organes spécifiques (Guirnard, 2000).

2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les cycles aromatiques des composés phénoliques proviennent de deux principales voies de synthèse : la voie du shikimate et la voie des polyacétates.

Cette biosynthèse favorise la création d'une vaste variété de molécules propres à une espèce de plante, un organe ou un tissu spécifique (Guirnard, 2000).

2.3. Importance des composés phénoliques et huiles essentielles

Les composés phénoliques sont importants pour de nombreuses raisons :

- Propriétés anti-oxydantes : ils possèdent la capacité de neutraliser les radicaux libres, ce qui est bénéfique pour la santé humaine.
- Protection des plantes contre les ultras violets et les herbivores.
- Application et usage industrielles : ils sont présents dans les produits cosmétiques, pharmaceutique, les colorants naturels et les conservateurs alimentaires
  (Balasusdram, et al., 2006).

Les huiles essentielles possèdent diverses propriétés biologiques importantes : antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, antidiabétiques (Pezzani et al., 2017).

3. Germination des graines de plantes

3.1. Définition

La germination est décrite comme l'ensemble de processus qui font passer la graine de son état sec à l'état germé ; ce passage commence par l'absorption de l'eau et se termine par la croissance de l'axe embryonnaire. La germination est le phénomène de transition de la vie dormante de la graine à une vie active, sous l'effet de conditions optimales (Hopkins, 2003).

La germination est un processus physiologique dont les limites vont de début de l'hydratation de la graine au déclenchement de la croissance de la radicule qui traverse ses enveloppes (Mazliak, 1982 ; Bewley, 1997).

3.2. Facteurs qui influencent la germination

3.2.1. L'eau

L'absorption de l'eau et l'étape première et essentiel pour la réhydratation des tissus de la graine pour l'embryon et stimule le gonflement de ses cellules, ce qui provoque leur division (Hopkins, 2003).

3.2.2. Température

La température est un facteur critique pour la germination des graines. La température optimale change d'une espèce à une autre (Kumar et al., 2011).

3.2.3. Oxygène

L'oxygène est un facteur majeur de la germination des graines, il permet la respiration et la réactivation ultérieure du métabolisme lors de l'imbibition des graines, conduisant à la production de l'ATP (Corbineau, 2022).

3.3. Effets des phytohormones sur la germination

3.3.1. La gibbérelline

La gibbérelline (GA_3) favorise la germination et a le potentiel de rompre la dormance et d'accélérer la germination des graines soit en lumière blanche, soit en obscurité (Ortega-Baesaet Rojas-Aréchiga, 2006). La GA_3 joue un rôle crucial dans la mobilisation des réserves de l'albumen lors des stades précoces de la germination (Hopkins, 2003).

3.4. Effets des substances chimiques sur la germination

Pour examiner les techniques efficaces destinées à briser la dormance des graines des espèces végétales afin d'évaluer leur capacité de germination, les observations scientifiques ont démontré que l'application de l'acide sulfurique s'avère être efficace pour stimuler la germination des graines. Les acides sont utilisés pour dégrader les enveloppes robustes et imperméables des graines (Balouchi et Modarres Sanavy, 2006).

Parmi les substances chimiques appliquées, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est également utilisé pour affaiblir l'endosperme et favoriser la mobilisation des réserves (Zheng et al., 2018).

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Les trois plantes ont été récoltées de deux régions dans le nord-est de l'Algérie. Les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *M. vulgare* (cinq variétés) et *M.puligium* (une variété) ont été collectées au stade floraison de différents sites de la région de Ain Beida, wilaya de Oum El Bouaghi. Celles de *O.vulgare* (trois variétés) ont été collectées de différents sites de la région de Constantine.

Les graines de trois variétés de *M. vulgare* ont été collectées au stade fructification de leur habitat naturel dans la région de Ain Beida. Les graines ont été stockées dans des flacons en verre à la température ambiante jusqu'à leur utilisation dans l'expérimentation.

2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Trois distillations ont été réalisées de 50 g de la partie aérienne sèche (fragments de 1cm) pendant 2 heurs. Les huiles obtenues ont été séparées complètement de l'eau et le rendement a été calculé par rapport à la matière sèche végétale comme suit :

RHE (%) = M / M' × 100

RHE : rendement de l'huile essentielle de la matière sèche végétale

M' : masse de l'huile essentielle en gramme

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

Le rendement de l'huile essentielle de *M. puligium* était très faible et estimé en millilitre. Celui de *O. vulgare* (variété 1) a été estimé en millilitre et en gramme.

3. Extraction des composés phénoliques

Les parties aériennes ont été lavées à l'eau distillée et séchées à la température ambiante. Ensuite la matière végétale sèche de chaque plante a été broyée pour obtenir une poudre fine. L'extraction des polyphénols a été réalisée par macération à froid de 5g de la poudre végétale de chaque espèce dans un mélange méthanol-eau distillée (70/30) pendant 72h. Les macéras ont été filtrés, puis évaporés presque à sec sur plaque chauffante à une température 60°C. L'extrait sec a été dilué par l'eau distillée pour être utilisé dans le dosage des phénols totaux.

4. Dosage des phénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de chaque espèce végétale a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Un ml de chaque extrait de chaque plante est ajouté à 5 ml du réactif de Folin Ciocalteu, puis 4 ml de Na_2CO_3 sont ajoutés, après agitation, l'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 10 min. L'absorbance est lue à 765 nm par un spectrophotomètre.

La concentration des polyphénols totaux est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage établie par l'acide gallique (Figure 1). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec de la plante (mg EAG/g de l'extrait sec), ensuite, les valeurs ont été converties en pourcentage.

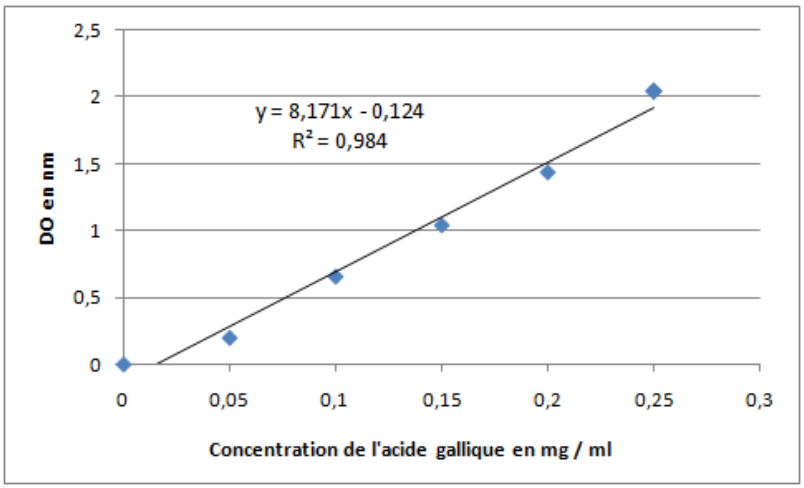


Figure 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

5. Germination *in vitro* des graines de *Marrubium vulgare*

5.1. Stérilisation des graines

Les graines de trois variétés de *M. vulgare* ont été lavées par l'eau de robinet, puis elles ont été stérilisées par l'éthanol (70%) pendant 1 minute suivie d'une stérilisation dans une solution de chlorure de mercure (0.1%) pendant 2 minutes. Par la suite, les graines stérilisées ont été rincées par l'eau distillée stérile trois fois.

5.2. Traitement par l'acide gibbérellique

Les graines stérilisées des trois variétés de *M. vulgare* ont été imbibées pendant 24 heures dans l'acide gibbérellique (GA_3, 500 mg/L), puis placées sur papier filtre stérile dans des boites de Pétri stériles et incubées à l'obscurité, à une température 30°C dans une étuve.

5.3. Traitement par l'acide sulfurique et peroxyde d'hydrogène

Les graines stérilisées des trois variétés ont été traitées indépendamment par l'acide sulfurique (0.1 N) pendant 30 min, dans le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2, 40 mM) pendant 30 min. Par la suite, elles ont été rincées à l'eau distillée stérile et placées sur papier filtre stérile dans des boites de Pétri stériles. Pour chaque traitement chimique, un témoin (graines imbibées à l'eau distillée stérile) a été effectué. Les graines ont été imbibées quotidiennement avec de l'eau distillée stérile (Prat, 2007).

Toutes les manipulations ont été effectuées devant le bec Bunsen. La lecture des graines germées a été effectuée chaque trois jours. Tous les tests de germination ont été réalisés en trois répétitions avec 10 graines dans chaque répétition.

6. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été traités statistiquement par une analyse de la variance à un facteur pour déterminer la différence dans le rendement des huiles essentielles et phénols totaux entre les trois espèces *O. vulgare*, *M. puligium*, et *M. vulgare*, et la différence de la teneur en phénols totaux entre les variétés de *M. vulgare* et *O. vulgare* indépendamment.

Les résultats obtenus de la germination ont été traités par une analyse de la variance à deux facteurs pour tester la différence entre les trois variétés de *M vulgare*, et l'effet de l'acide gibbérellique, l'acide sulfurique, peroxyde d'hydrogène sur la germination de chaque variété. Le traitement statistique a été réalisé par le logiciel Excel.

Résultats et discussion

1. Rendement des huiles essentielles

L'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative (P<0.001).

Origanum vulgare (variété 1) a présenté le meilleur rendement des huiles essentielles (1.8 ml, 1.65% de la matière sèche végétale), alors que *Mentha pulegium* a présenté une teneur très faible (0.1 ml). *Marrubium vulgare* a présenté des traces de l'huile essentielles chez les cinq variétés (Figure 2).

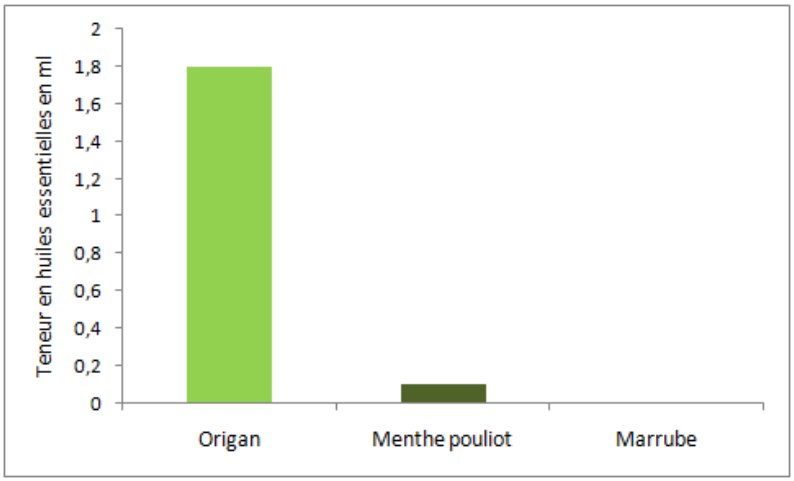


Figure 2**.** Teneur en huiles essentielles chez *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Marrubium vulgare*

Marrubium vulgare a présenté des traces non quantifiables de l'huile essentielle. Mahmoud et al. (2018) ont trouvé un rendement faible de l'huile essentielle (0.04%) chez *Marrubium vulgare.* Ils ont montré que le rendement des huiles essentielles chez cette plante varie selon les conditions d'irrigation et le stade de récolte.

Mentha pulegium a présenté une quantité très faible de l'huile essentielle. Mollaei et al. (2020) ont estimé une concentration de l'huile essentielle varie de 0.3% à 1.7% chez différentes populations de *Mentha pulegium* réparties dans diverses régions de l'Iran.

Ils ont montré aussi que la température, l'altitude, et la précipitation ont un effet significatif sur le rendement des huiles essentielles et leur composition chimique.

Le rendement de l'huile essentielle de *Origanum vulgare* est proche des résultats obtenus par Ozdemir et al. (2017) qui ont évalué des quantités d'huiles chez deux espèces : *Origanum vulgare* et *Origanum onites* de 2.53% et 1.96%, respectivement. En outre, les conditions de séchage, la nutrition minérale, l'irrigation affectent considérablement la teneur en huiles essentielles (Azizi et al., 2008 ; Ozdemir et al., 2017).

2. Concentration des phénols totaux

L'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative (P<0.001) entre les trois espèces végétales. *Origanum vulgare* a montré la meilleure concentration (2.53%) suivi de *Marrubium vulgare* (0.79%) et *Mentha pulegium* (0.77%) (Figure 3).

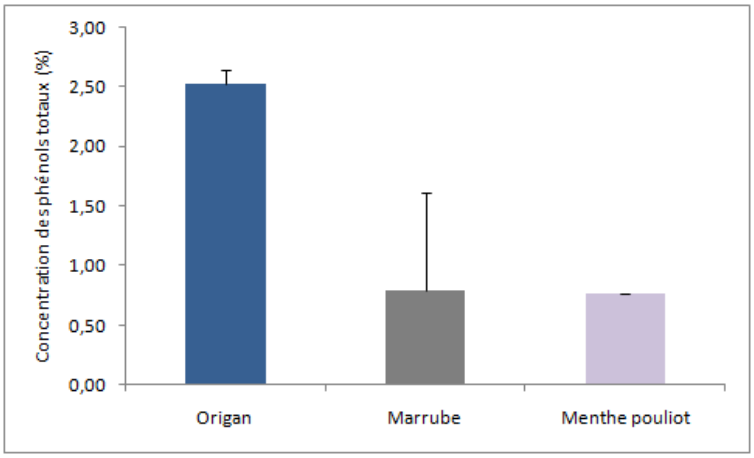


Figure 3. Concentration des phénols totaux chez *Origanum vulgare*, *Marrubium vulgare*, *Mentha pulegium*

Le traitement statistique a montré aussi une différence hautement significative (P<0.01) entre les trois variétés de *Origanum vulgare*. Origan V1 et origan V2 ont enregistré des teneurs plus élevées de phénols totaux (2.56%, 2.62%) respectivement, alors que origan V3 a présenté une teneur moins élevée (2.40%) (Figure 4).

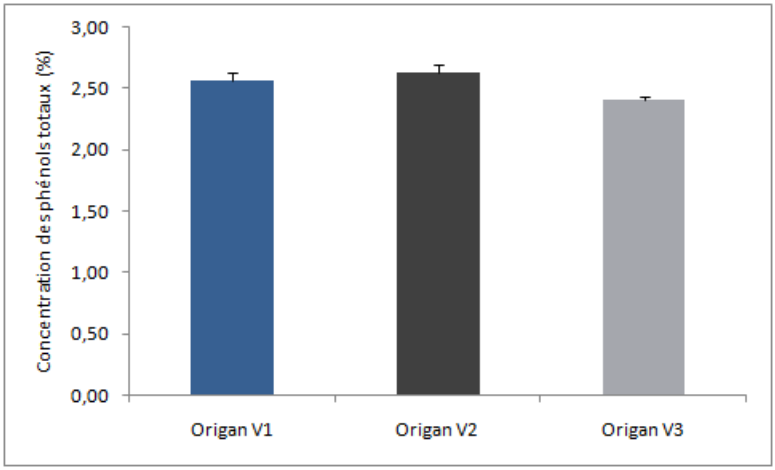


Figure 4. Concentration des phénols totaux chez les trois variétés de *Origanum vulgare*

Le traitement statistique a montré une différence très hautement significative (P<0.001) entre les cinq variétés de *Marrubium vulgare*. Marrube V1 a enregistré la concentration la plus élevée (2.21%), suivi de marrube V2 et marrube V5 qui ont enregistré des teneurs de 0.65% et 0.59%, respectivement. Alors que marrube V3 et marrube V4 ont présenté des teneurs faibles (0.19%, 0.29%) respectivement (Figure 5).

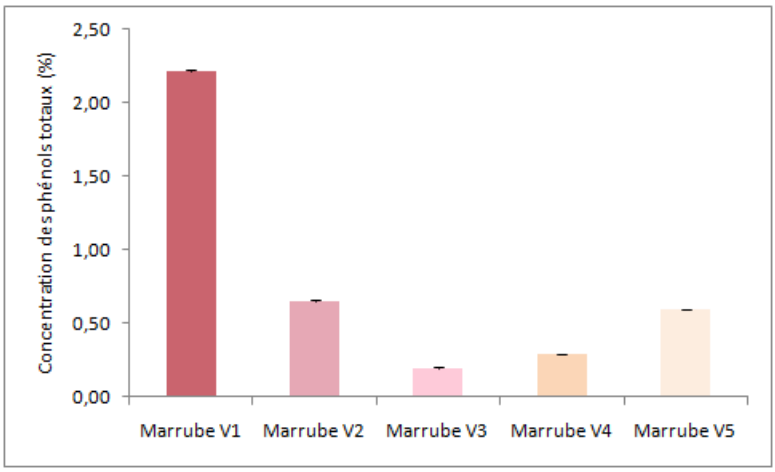


Figure 5. Concentration des phénols totaux chez les cinq variétés de *Marrubium vulgare*

Nos résultats obtenus des composés phénoliques chez les cinq variétés de *Marrubium vulgare* sont inférieurs à ceux enregistrés par Bouterfas et al. (2016) qui ont évalué une quantité de composés phénoliques des feuilles de *Marrubium vulgare* plus élevée. Ils ont montré que la quantité de polyphénols est attribuée à la localisation géographique et le type de solvant utilisé dans l'extraction.

Notre résultat des composés phénoliques extraits de *Mentha pulegium* est très faible en comparaison avec celui obtenu par Yakoubi et al. (2021) qui ont montré que les extraits obtenus par n-butanol montrant une concentration beaucoup plus élevée, et la méthode d'extraction et le solvant polaire donnent un rendement élevé de phénols totaux.

La teneur en composés phénoliques des trois variétés de *Origanum vulgare* sont proches de celles enregistrés par Modnicki et Balcerek (2009) sur 4 échantillons de *O. vulgare* collectés de Pologne (2%, 2.22%, 2.59%, et 3.53%). Ils ont rapporté que la quantité de composés phénoliques présente dans les plantes dépend du génotype, mode de stockage, et conditions environnementales.

3. La germination *in vitro* des graines de *Marrubium vulgare*

L'analyse statistique a montré des différences très hautement significatives entre les trois variétés (P<0.001), les traitements chimiques (P<0.001), et l'interaction variété × traitements chimiques (P<0.001). Le traitement des graines par l'acide gibbérellique a enregistré le meilleur taux de germination chez la variété 2 (86.6%), suivi du témoin (16.6%), l'acide sulfurique a présenté un très faible taux de germination (3.3%), alors que les graines traitées par le peroxyde d'hydrogène n'ont pas germé. Chez la variété 1, les graines traitées par l'acide gibbérellique et le témoin ont présenté le même taux de germination (16.6%), l'acide sulfurique a donné un très faible taux de germination (3.3%), et le peroxyde d'hydrogène n'a pas stimulé la germination. Les graines de la variété 3 traitées par le peroxyde d'hydrogène et le témoin ont présenté des taux très faibles (6.6%), alors celles traitées par l'acide sulfurique et l'acide gibbérellique n'ont pas germé (Photo 4, Figure 6).

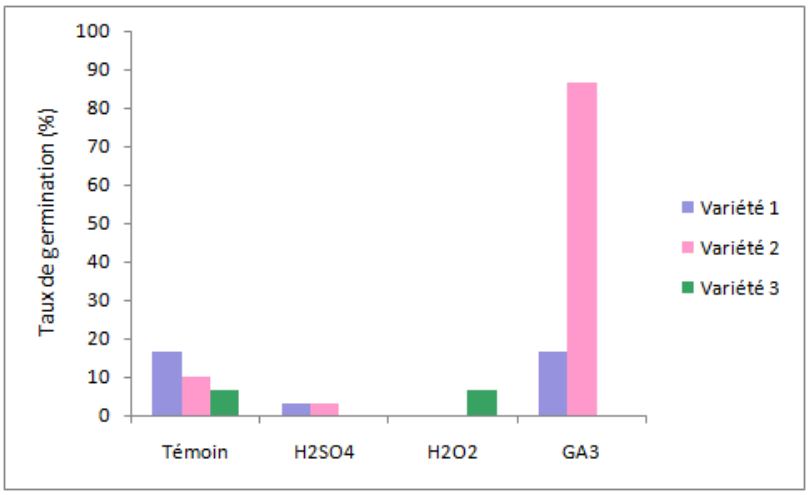


Figure 6. Effets de l'acide sulfurique, peroxyde d'hydrogène et acide gibbérellique sur la germination des graines des trois variétés de *Marrubium vulgare*

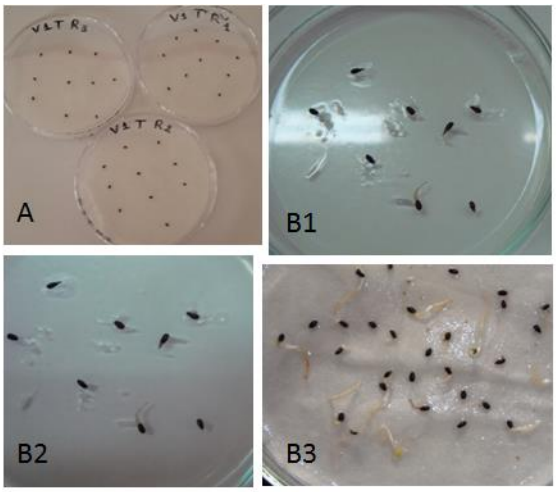


Photo 4. Germination *in vitro* des graines de *Marrubium vulgare* (variété 2)
(A) : Avant la germination ; (B1, B2, B3) : après la germination

La variété 2 de *Marrubium vulgare* a présenté un taux de germination élevé et proche de celui obtenu par Javaid et al. (2018) chez *Marrubium vulgare* (92%). Route et al. (2017) ont montré que les doses de la GA_3 appliquées affectent le taux de germination chez *Cassia fistula*, et la GA_3 améliore la germination des graines, car cette hormone a la capacité de réduire l'effet des inhibiteurs présents dans les graines.

Nos résultats montrent des taux de germination faibles chez les graines des trois variétés traitées par l'acide sulfurique et le peroxyde d'hydrogène.

Barba-espin et al. (2010) ont trouvé que le traitement des graines de *Pisum sativum* par 20 mM de peroxyde d'hydrogène pendant 24h augmente le taux de germination à 90% et améliore la croissance des plantules. Selon Kheloufi et Mansouri (2017), l'augmentation de la durée du traitement des graines d'Acacia *nilotica* par l'acide sulfurique améliore significativement le taux de germination à 95%.

Les acides sont fréquemment utilisés pour dégrader les enveloppes résistantes et imperméables des graines. La durée du traitement et la température de l'acide affectent le taux de germination (Balouchi et Modarres Sanavy, 2006).

Conclusion

Conclusion

Dans ce travail, nous avons étudié la teneur en huiles essentielles et phénols totaux chez trois espèces végétales qui poussent spontanément dans le nord-est algérien : *Marrubium vulgare, Origanum vulgare,* et *Mentha pulegium*. Nous avons aussi étudié l'effet de quelques substances chimiques sur la germination des graines de trois variétés de *Marrubium vulgare*. Les résultats obtenus ont montré que :

- *Origanum vulgare* a présenté le meilleur rendement des huiles essentielles (1.65%), et la meilleure concentration de phénols totaux (2.53%). Les variétés 1 et 2 de *Origanum vulgare* ont enregistré des teneurs plus élevées de phénols totaux (2.56%, 2.62%) que la variété 3.
- La variété 1 de *Marrubium vulgare* a enregistré une concentration plus élevée de phénols totaux (2.21%) que les variétés V2, V3, V4, et V5.
- Les graines de la variété 2 de *Marrubium vulgare* traitées par l'acide gibbérellique ont présenté le meilleur taux de germination (86.6%). Les variétés 1 et 3 ont présenté des taux faibles. Le traitement des graines par l'acide sulfurique et le peroxyde d'hydrogène n'a pas significativement amélioré la germination chez les trois variétés.

Dans des études ultérieures, l'effet d'autres substances chimiques pourront être testé sur la germination des graines des trois variétés de *Marrubium vulgare*, et d'autres protocoles expérimentaux seront développés pour augmenter leur taux de germination.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

(A)

Anonyme 1 : EMA:Monographie comunotaire sur le *Marrubium vulgare* (2015).

Anonyme 2: https://www.tela-botanica.org/eflore.

Azizi, A., Yan, F., Honermeier, B (2008). Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. Industrial crops and products 2 9, 554–561.

(B)

Balasusdram, S., Sundram, K., Samman, S (2006). Phénolic coumponds in plantes : Antyoxydant act occurrence,and potential uses. Journal of Food and Nutrition Sciences.

Balouchi, R.B., Modarres Sanavy, S.A.M (2006). Effect of giberellique acide, Sulfuric acid and Potassium Nitrate on seed germination and dormancy of Annual Medics.Pakistan Journal of Biological sciences 9 (15) :2075-2880.

Barba-espin, G., Diaz-vivancos, P., Clemente-Moreno, M. J. et al. (2010). Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings. Plant, Cell and Environment : 33, 981–994.

Bellakhdar, J (1997). La pharmacopée marocaine tradionnelle, la pharmacopée.medcine arabe ancienne et savoir populaire. Ibis Press, Paris.

Beloued, A (2005). Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, Alger.

Bewley, J.D (1997). Seed germination and dormancy. Plant Cell 9, 1055-1066.

Boukef, M (1986). Les plants dans la médecine traditionnelle tunisienne. Paris.

Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M.M et al. (2016). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoids content variations of leavesextracts of white Horehound (*Marrubium vulgare* Linné) from three geographical origins.

(C)

Corbineau, F (2022). Oxygen, a key signalling factor in the control of seed germination and dormancy. Seed Science Research 32, 126–136.

(D)

Dousari, A.S., Hosseininasab, S.S., Akbarizadeh, M.R et al. (2023). *Mentha pulegium* as a source of green synthesis of nanoparticles with antibacterial, antifungal, anticancer, and antioxidant applications. Scientia Horticulturae : Volume 320, 112215.

(G)

Guirnard, J (2000).Biochimie végétal. Edition Dunod, Paris.

(H)

Hopkins, W.G., (2003). Physiologie végétale. Traduction de la 2ème édition Américaine par Serge, R. Edition de Boeck.

(J)

Javaid, M.M., Florentine, S.K., Ali, H et al. (2018). Environmental factors affecting the germination and emergence of white horehound (Marrubium vulgare L.): a weed of arid-zone areas. The rangeland Journal, 40, 47–54.

(k)

Kheloufi, A et Mansouri, L.M (2017). Effet de l'acide sulfurique sur la germination d'un arbre fourrager *Acacia nilotica* (L.) subsp *tomentosa.* Livestock research for rural development, 29 (2).

Kothe, H.W (2007). 1000 Plantes aromatique et médicinales. Terres éditions, Toulouse.

Kumar, B., Verma, S.K., Singh, H.P (2011). Effect of temperature on seed germination parameters in Kalmegh (*Andrographis paniculata* Wall. ex Nees). Industrial crops and products 34, 1241– 1244.

(M)

Mahmoud, A.A., Gendy, A.S.H., Said-Al Ahl, H.A.H et al. (2018). Impacts of harvest time and water stress on the growth and essential oil components of horehound (*Marrubium vulgare*). Scientia Horticulturae 232 :139–144.

Mazliak, P (1982). Croissances et développement, physiologie végétale II. Edition Paris.

Merghem, R (2009). Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine Edition, Algérie.

Modnicki, D., Balcerek, M (2009). Estimation of total polyphénols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. commercial samples .Herba polonica Vol. 55 No 1 :36-42.

Mollaei, S., Ebadib, M., Hazratic, S et al. (2020). Essential oil variation and antioxidant capacity of Mentha pulegium populations and their relation to ecological factors. Biochemical Systematics and Ecology 91,104084.

Monalisa., Fakih, M., Perbawati, C (2022). Relevance of WHO traditional medicine strategy (2014-2023) with traditional health care policy in the perspective of national law and international law. Journal of Asian legal studies, vol. 1, no. 1, 25 – 34.

(O)

Ortega-Baesa, P.A., Rojas- Aréchiga, M.B (2006). Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. Journal of Arid Environments 69 (2007) 169–17.

Ozdemir, N., Ozgen, Y., Kiralan, M et al. (2017). Effect of diferent drying methods on the essential oil yield,composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L .and *Origanum onites* L. Journal of food measurement and characterization.

(P)

Pezzani, R., Vitalini, S., Iriti, M (2017). Bioactivities of *Origanum vulgare* L. : an update. Phytochem Rev 16, 1253–1268.

Prat, R (2007). Expérimentation en biologie et physiologie végétale. Hermann, Editeurs des sciences et des arts. Edition Quae.

(Q)

Quezel, P., Santa,S (1963). Nouvelle flore de l'Algerie et ses régions désertiques méridionales.

(R)

Rahman, M.H., Haque, M.S et al. (2006). Effects of Gibberellic Acid (GA_3) on breaking dormancy in garlic (*Allium sativum* L) : Department of crop botany and agronomy, Bangladesh agricultural university, Mymensingh 2202, Bangladesh. International journal of agriculture & biology 1560–8530,08–1–63–65.

Rezgui, M., Majdoub, N., Mabrouk, B et al. (2020). Antioxidant and antifungal activities of marrubiin, extracts and essential oil from *Marrubium vulgare* L. against pathogenic dermatophyte strains. Journal de mycologie médicale. Volume 30, Issue 1, 100927.

Rout, S., Beura, S., Khare, N et al. (2017). Effect of seed pre-treatment with different concentrations of gibberellic acid (GA3) on seed germination and seedling growth of Cassia fistula L. Journal of Medicinal Plants Studies; 5(6): 135-138.

(S)

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D et al. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. African journal of traditional, complementary and alternative medicines : 8 (1):1-10.

(Y)

Yakoubi, R., Megateli, S., Sadok, T.H., Gali, L (2021). Photoprotective, antioxidant, anticholinesterase activities and phenolic contents of different Algerian *Mentha pulegium* extracts. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 34, 102038.

(Z)

Zheng, Y., Yin, X., Ma, H (2018). Effects of hydrogen peroxide on seed germination seedling groth and physiologiacal characteristics of *Bombax Ceiba* after heat shock. Pakistan Journal of Botany 50(4): 1327-1333.