

## ***Matricaria recutita* L. : Phytochemical characterization, biological activities and possibility of application in biological control.**

## ***Matricaria recutita* L. : Caractérisation phytochimique, activités biologiques et possibilité d'application dans la lutte biologique.**

**KHAWLA HADJ MOHAMED <sup>a</sup>, SAMEH SASSI AYDI <sup>b\*</sup>, SAMIR AYDI <sup>b</sup>, HABIB BOUSNINA <sup>a</sup>, MANSOUR HADDAD <sup>c</sup>**

<sup>a</sup> *Laboratoire des sols, Institut National Agronomique de Tunisie (INAT), Université de Carthage, 43, Avenue Charles Nicolle 1082 - Tunis –Mahrajène, Tunisie*

<sup>b</sup> *Laboratoire de Biodiversité et Valorisation des Bioressources en Zones Arides. Faculté des Sciences de l'Université de Gabès, Zrig 6072, Gabès, Tunisie.*

<sup>c</sup> *Laboratoire d'Arido-cultures et des Cultures Oasiennes, Institut des Régions Arides, Nahel, Gabès, 6051, Tunisie.*

**\*Corresponding author:** sameh\_sassi@yahoo.fr

**Abstract-** Chamomile (*Matricaria recutita* L.) is a perennial herb of the family Asteraceae is used in culinary, medicinal, and cosmetic use. This herb is well adapted to the conditions of production in the coastal oases of South-East of Tunisia.

The main objective of this study was to evaluate the levels of phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity as well as the application of the aqueous extract of capitula as an attempt for biological control against *Ectomyelois ceratoniae*, the most harmful pest of pomegranate.

Methodology and results: Total polyphenol content was determined by Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity by two methods: Total antioxidant activity and free radical scavenging of DPPH. The aqueous extract of chamomile contains an important phenolic content ( $412.5 \pm 19.4$  EAG / g DE) as well as significant flavonoids and tannins (respectively  $57.6 \pm 11.3$  and  $12.8 \pm 5.2$  EC / g DE). The total antioxidant activity reached  $670.8 \pm 25.2$  EAG / g DE, and the  $CI_{50}$  reached  $0.16 \mu\text{g/mL}$ . Significant antibacterial activity was detected against 6 Gram<sup>-</sup> and Gram<sup>+</sup> bacterial strains.

**Key words:** *Matricaria recutita* L.; Total phenols; Antioxydant activity; Antibacterial activity; Bio-insecticide; Pomegranate.

**Resumé-** La camomille (*Matricaria recutita* L.) est une plante herbacée vivace de la famille des Astéracées. Elle est employée en usage culinaire, médicinal, et cosmétique. Cette plante est bien adaptée aux conditions de production dans les oasis littorales du Sud-est tunisien.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les teneurs en composés phénoliques, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne ainsi que l'application de l'extrait aqueux de capitules comme une tentative pour la lutte biologique contre l'*Ectomyelois ceratoniae*, le ravageur le plus nuisible des grenadiers.

Les teneurs en phénols totaux ont été déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu et l'activité antioxydante par deux méthodes : L'activité antioxydante totale et le piégeage des radicaux libres du DPPH. L'extrait aqueux de la camomille contient des teneurs importantes en polyphénols totaux ( $412,5 \pm 19,4$  EAG/g ES) ainsi que des teneurs considérables en flavonoïdes et tanins :  $57,6 \pm 11,3$  et  $12,8 \pm 5,2$  EC/g ES, respectivement. L'activité antioxydante totale est de l'ordre de  $670,8 \pm 25,2$  EAG/ g ES. Cet extrait est doté d'une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $0,16 \mu\text{g/mL}$ . Une activité antibactérienne importante a été décelée contre 6 souches bactériennes Gram<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup>, ainsi qu'une efficacité spectaculaire dans la répulsion de la pyrale.

**Mots clés :** *Matricaria recutita* L. ; polyphénols totaux ; Activité antioxydante ; Activité antibactérienne ; Bioinsecticide ; Grenadiers.



## 1. Introduction

Depuis plusieurs décennies, l'Homme utilisait les vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies, cette utilisation a évolué avec l'histoire de l'humanité. Afin d'isoler des nouvelles substances de plantes et de trouver de ce fait de nouvelles voies d'applications aussi bien dans les domaines de la pharmacologie que de la lutte biologique, il convient de distinguer avec soin les plantes à étudier. La camomille allemande (*Matricaria recutita* L.) est une plante herbacée, de 15 à 40 cm de hauteur, glabre et odorante. Elle couvre d'importantes étendues dans presque toute l'Europe (Ghedira *et al.*, 2009). Diverses espèces de camomille ont fait l'objet de nombreux usages médicinaux depuis l'Antiquité (Barnes *et al.*, 2002). *M. recutita* tolère de nombreux types de sols, mais elle préfère un sol siliceux, sablonneux riche, léger et bien drainé avec un pH de 7,0 à 7,5 et un environnement bien soleillé (Ghedira *et al.* 2009). De ce fait, l'introduction de la camomille allemande dans la culture oasienne en Tunisie. Cette plante introduite a montré un développement adéquat sur le sol oasien à Chenini Gabès (Hadj-Mohamed, 2014). Dans ces zones oasiennes, la culture du grenadier (*Punica granatum* L.) est très répandue. Elle est très ancienne en Tunisie. Malgré cette ancienneté, elle a gardé l'aspect plutôt traditionnel. Elle se trouve, parfois, réellement menacée de disparition. Sa réussite est liée à la résolution de certains problèmes, notamment les attaques par les ravageurs (Mars, 1995). *Ectomyelois ceratoniae* est un lépidoptère considéré comme le plus grand ennemi des grenades, pouvant causer des dégâts considérables en affectant 90% des fruits d'une récolte (Abedi *et al.*, 2019). L'utilisation de pesticides n'est pas appropriée contre *E. ceratoniae* car ses larves sont protégées à l'intérieur du fruit (Poorjavad *et al.*, 2011). Parmi les méthodes de lutte biologique, les biopesticides occupent une place de choix car ils se prêtent souvent à la production de masse requise pour l'industrie et ils s'appliquent avec un pulvérisateur conventionnel, ce qui en facilite l'adoption par les producteurs agricoles (González-Coloma, 2015). Les biopesticides peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes et d'extraits de plantes (Deravel *et al.*, 2014). L'utilisation des plantes pesticides se révèle être une pratique ancestrale en Afrique. En effet, de nombreuses plantes sont connues et utilisées pour leurs activités biocides (toxique, répulsive, anti-appétant) *vis-à-vis* d'une large gamme de bioagresseurs (Yarou *et al.*, 2017). De nombreux travaux réalisés sur différentes espèces d'*Asteracea* ont montré qu'elles contenaient en majorité des composés phénoliques ayant un fort potentiel antioxydant corroborant leurs usages traditionnels (Hajjaj, 2017). Cependant, très peu d'études se sont focalisées sur le potentiel bio-insecticide des extraits de *M. recutita*. D'où l'objectif de cette étude est d'évaluer la qualité phytochimique de l'extrait aqueux de cette espèce cultivée sur le sol oasien à Chenini, Gabès, Tunisie et de tester l'effet de cet extrait comme moyen de lutte contre *E. ceratoniae*, le ravageur le plus funeste des grenadiers dans l'oasis de Chenini.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal et extraction

Les capitules de la camomille allemande (*M. recutita* L.) utilisés lors de notre expérimentation sont issus de la parcelle expérimentale de L'institut des Régions Arides (IRA) à Chenini, Gabès, Tunisie. La récolte s'est effectuée au stade de développement des fleurs, (fleurs complètement épanouies et ouvertes) car c'est à ce moment que les principes actifs sont les plus concentrés. Seules les capitules ont été collectés au début de la matinée. Le matériel végétal a été ensuite séché à la température ambiante à l'abri de la lumière avant d'être réduit en poudre fine pour la préparation des extraits aqueux par macération. Deux cent grammes (200 g) de poudre de capitules secs ont été mélangés avec 5 litres d'eau tiède dans des bouteilles fermées et sont laissées à macérer pendant 48 h (Hajjaj 2017). Après filtration, le macérât a été conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation pour les analyses ou la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae*.

### 2.2. Déterminations des composés phénoliques

#### 2.2.1 Détermination des rendements des extraits

Après macération et filtrations de l'extrait aqueux, le filtrat est concentré à sec par un évaporateur rotatif de type «R200 BUCHI». L'extrait sec (ES) est ensuite récupéré dans un tube à hémolyse en verre puis conservé à 4 °C jusqu'à utilisation. Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction selon la formule suivante:

$$\text{Rendement} = \frac{(P2-P1)}{P3} \times 100$$

Avec : P1: Poids du ballon vide.  
P2: Poids du ballon après évaporation.  
et P3: Poids de la matière végétale sèche de départ.

### 2.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constituée d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de cette couleur bleue renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans un mélange (Dewanto *et al.*, 2002).

Pour doser les polyphénols totaux dans l'extrait aqueux, une aliquote de 125  $\mu\text{L}$  ES dilué dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) est mélangé avec 500  $\mu\text{L}$  d'eau distillée, suivi de 125  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu. Immédiatement, le mélange est agité afin d'homogénéiser le contenu. Après un repos de 3 minutes, 1,25  $\mu\text{L}$  de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7% (m/v) est rajouté au mélange avec 1 mL d'eau distillée. Après 90 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante ( $23\pm 3$  °C), l'absorbance est déterminée à 760 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg GAE/g ES).

### 2.2.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode adaptée par Zhishen *et al.* (1999), avec le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la soude.  $\text{AlCl}_3$  forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et  $\text{NaOH}$  forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm. Une aliquote de 500  $\mu\text{L}$  de l'extrait de la plante est mélangée avec 1500  $\mu\text{L}$  d'eau distillée, suivie de 150  $\mu\text{L}$  de nitrite de sodium à 5%. Après 5 min, 150  $\mu\text{L}$  de trichlorure d'aluminium à 10% (m/v) est rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500  $\mu\text{L}$  d'hydroxyde de sodium à 4% sont additionnés. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un blanc. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif. La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait de plante étudiée est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'ES (mg EC/g ES).

### 2.2.4. Les tanins condensés

Les tanins condensés ont été déterminés par la méthode à la vanilline décrite par Price *et al.* (1987). En effet, cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide chlorhydrique concentré pour produire un complexe coloré (anthocyanidole de couleur rouge). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 500 nm. Une prise de 50  $\mu\text{L}$  de l'extrait est additionnée à 3 mL d'une solution de vanilline (4%) et par 1500  $\mu\text{L}$  d'acide chlorhydrique (HCl) concentré. Le mélange est ensuite incubé pendant 15 minutes à une température ambiante et à l'obscurité. Puis la densité optique a été mesurée à une longueur d'onde égale à 500 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à des concentrations différentes. Les teneurs de tanins condensés de l'extrait sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES).

## 2.3. Evaluation des activités biologiques

### 2.3.1. Mesure de l'activité antioxydante

#### 2.3.1.1. L'activité antioxydante totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo(V) de couleur verte (Prieto *et al.*, 1999). Une aliquote de 0,1 mL d'extrait est combinée dans un tube avec 1 mL de solution composée d'acide sulfurique (0,6 M), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95 °C pendant 90 min. Après un repos de 6 minutes à température ambiante, l'absorbance est déterminée à 695 nm. Une gamme étalon contient l'acide gallique à la place de l'extrait. Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG  $\text{g}^{-1}$  MS)

### 2.3.1.2. Test DPPH

La réduction du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényle-1-picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006).

L'activité de piégeage des radicaux DPPH a été déterminée comme décrit par Maataoui *et al.* (2006). Un volume de 500 µL de l'échantillon a été mélangé avec 500 µL de DPPH à 0,02% dans de l'éthanol à 99,5%. Le mélange a été ensuite conservés à la température ambiante à l'obscurité pendant 30 minutes. Le radical DPPH a été mesuré à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (T70, Spectromètre UV-Vis, PG Instruments Ltd.). Le contrôle a été effectué de la même manière, en utilisant de l'eau pour l'étalonnage. L'acide gallique a été utilisé comme contrôle positif.

L'activité de piégeage des radicaux du DPPH a été calculée comme suit :

$$\text{AAR \%} = [(\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

- AAR % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.
- Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.
- Abs contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif.

### 2.3.2. Etude des activités antibactériennes

#### 2.3.2.1. Souches testées

Différentes souches ont été utilisées au cours de cette étude pour l'évaluation des activités antibactériennes des extraits aqueux. Des souches Gram négatif (*Salmonella typhimuniu (sal)*, *Listeria monocytogenes (li)*, *Escherchia coli (E. coli)*, *Micrococcus luteus (Mic.)* et *Enterococcus feacalis (E. fec)*) ainsi qu'une souche Gram positif (*Bacillus cereus (Bc)*).

#### 2.3.2.2. Milieux de cultures

Les milieux de cultures sont stérilisés par autoclavage pendant 20 minutes à 121 °C.

Concernant le Milieu LB «Luria Bertani» liquide: 10 g tryptone, 10 g NaCl, 5 g extrait de levure; q.s.p 1 L d'eau. Le pH est ajusté à 7 avant stérilisation. Il sert à préparer des pré-cultures lors du test d'activité antibactérienne.

Concernant le Milieu LB solide: Ce milieu a été utilisé pour la culture, la maintenance des souches bactériennes et l'évaluation des activités antibactériennes de l'extrait. Il correspond au LB liquide au quel on a ajouté l'agar à raison de 20 g/L.

Les activités antibactériennes ont été évaluées en présence de l'extrait aqueux de la camomille et du DAP (Di Ammonium Phosphate) contre une multitude de souches bactériennes. La méthode utilisée est celle de la diffusion du surnageant de culture dans les puits, dont le protocole, décrit par Bssaibis *et al.* (2009), est le suivant:

- ✓ Etaler 100 µL d'une pré-culture de la souche indicatrice sur milieu LB solide et l'incuber une nuit à 37 °C;
- ✓ Creuser des puits au fond de la gélose. Déposer 100 µL d'extraits dissout dans le DMSO. Un contrôle négatif est réalisé en déposant 100 µL de DMSO ;
- ✓ Incuber les boîtes 2 h à 4°C pour diffusion des substances bioactives puis incuber une nuit à 37 °C jusqu'à apparition des halos d'inhibition ;
- ✓ Vérifier la présence ou l'absence d'halos d'inhibition.

### 2.4. Test bio-contrôle (lutte biologique) :

#### 2.4.1. Dispositif expérimental

Des bouteilles en plastique de la même taille ont été collectées et les parties supérieures ont été éliminées, pour former des pièges. Deux trous ont été creusés de part et d'autre du piège pour faciliter l'entrée des insectes. Les bouteilles ont été remplies par l'extrait, à raison de 200 mL/piège puis à l'aide d'un fil résistant, les pièges ont été fixés sur les arbres de grenadier, âgés de dix ans. L'expérimentation a été effectuée sur trois parcelles différentes sises à l'oasis de Chenini, Gabès, Tunisie. Dans chaque parcelle expérimentale, 3 pièges ont été utilisés à base de camomille et 3 pièges à base de DAP (un produit conventionnel attractif). L'utilisation de ce produit est permise dans l'agriculture biologique lorsqu'il est utilisé dans les pièges des ravageurs. Il est utilisé dans cette étude comme control positif. Les pièges ont été placés au hasard sur 6 grenadiers. Trois grenadiers ont été laissés sans pièges, pour servir de témoin.

Le suivi des pièges s'est effectué d'une façon hebdomadaire. Compte tenue des températures élevées et l'évaporation de l'extrait, une intervention hebdomadaire a été nécessaire pour ajuster la quantité d'extrait dans chaque piège et dans chaque parcelle expérimentale. Et ceci jusqu'à la fin de

l'expérimentation qui a eu lieu en mois d'octobre, mois de la cueillette des grenades. Le suivi est réalisé aussi pour dénombrer les grenades infestées dans chaque arbre.

#### 2.4.2. Détermination du taux d'infection

Dans chaque parcelle expérimentale, le nombre de grenades infestés a été relevé durant toute la campagne agricole, au niveau de chaque grenadier en présence (traité) et en l'absence de pièges (témoin). Le taux d'infestation est calculé en pourcentage par rapport au nombre total des grenades dans chaque arbre. Ce taux est calculé à la fois pour les grenades attaquées par la pyrale et la *Virachola*. Les résultats sont présentés en pourcentage d'infestation par rapport au nombre total des grenades, comme suit :

$$\text{Taux d'infestation} = \frac{\text{Nombre de grenades infestés}}{\text{Nombre total des grenades}} \times 100$$

Les insectes piégés par chaque type d'extraits sont comptés et identifiés.

#### 2.5. Analyse statistique

L'analyse statistique des différentes données obtenues a été effectuée par le calcul des moyennes et l'examen des variances et des déviations standards de ces moyennes pour persuader la signification ( $P < 0.05$ ) des différences entre les divers traitements. Cette analyse a été réalisée par le logiciel XLSTAT "Microsoft office excel 2010".

### 3. Resultats et discussion

#### 3.1. Teneurs en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de Singleton et al. (1999) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et des nourritures (Diouf et al., 2009). L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg GAE/g ES).

Le tableau 1 rapporte que le rendement de l'extrait aqueux de la camomille est de l'ordre de 1,3%. Concernant les polyphénols totaux, les teneurs sont de l'ordre de  $412,5 \pm 19,4$  EAG/ g ES. Haghi et al. (2014) ont rapporté la présence de diverses composés phénoliques dans les extraits aqueux de la camomille spontanée récoltée de la région d'Ouargla au mois d'avril 2013.

Lors de cette étude, l'extraction des polyphénols totaux a été effectuée par l'eau (extrait aqueux). En fait, la méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique. L'eau, les mélanges aqueux de l'éthanol, du méthanol et de l'acétone sont généralement utilisés pour l'extraction (Sassi-Aydi *et al.*, 2020). La solubilité des composés phénoliques est en fonction de leur degré de polymérisation, l'interaction avec les autres constituants et le type de solvant utilisé.

Plusieurs études ont été réalisées pour extraire et analyser les polyphénols à partir de la matière végétale comme les fruits, les légumes, le café, le thé, les herbes, les céréales et les fabacées. Ces composés phénoliques sont généralement extraits à partir de la matière végétale desséchée ou lyophilisée et broyée, ou directement à partir de plantes fraîches par simple immersion dans des solvants d'extraction. Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (Maurent, 2017.). En fait, les teneurs et la composition en polyphénols varient selon l'espèce et l'organe de la plante. Cela est probablement dû à différents facteurs comme la complexité de ces composés, la variété des plantes (différentes familles), le type et la concentration du solvant, la différence de la période et la région de récolte. De plus, la méthode d'extraction et du dosage influence les teneurs en composés phénoliques (Bourgou *et al.*, 2016). Egalement, les polyphénols ont suscité durant les trois dernières décennies un intérêt grandissant considérant leur rôle crucial dans l'écologie et la physiologie végétale (Poonam *et al.*, 2015). En effet, ces composés sont parmi les métabolites secondaires qui participent aux interactions des plantes avec leur environnement (Poonam *et al.*, 2015). En outre, ils constituent des molécules de signalisation impliquées dans la reconnaissance *vis-à-vis* de certains pathogènes et confèrent la résistance à diverses agressions environnementales (Zhang *et al.*, 2016).

**Tableau 1:** Qualité phytochimique de l'extrait aqueux de *M. recutita* (EAC). Résultats exprimés en mg équivalent par g extrait sec de capitules de fleurs de camomille

Type d'extrait	Rendement (%)	Polyphénols (mgEAG/gES)	Flavonoïdes (mgEC/gES)	Tannins (mgEC/gES)
EAC	1,3	412,5±19,4	57,6±11,3	12,8±5,2

### 3.2. Teneurs en flavonoïdes

Pour ce qui est des flavonoïdes, les extraits aqueux de la camomille présentent des teneurs de l'ordre de 57,6±11,3 mg EC/g ES.

Des études similaires sur *M. recutita* et *M. chamomilla* ont permis également de mettre en évidence des flavonoïdes aglycones (Sureda et Sharifi-Rad, 2018)). L'analyse spectroscopique a permis d'assigner les structures de ces composés. Il s'agit de la rutine et la quercétine (Haghi *et al.*, 2018).

### 3.3. Teneurs en tanins

Les teneurs en tanins ont été aussi mesurés. Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé (Bravo 1998). Ce sont des polyphénols de masse molaire moléculaire élevée. Les résultats révèlent des teneurs de l'ordre de 12,8±5,2 mg EC/g ES. Ceci confirme les résultats obtenus par Sharifi-Rad *et al.* (2018) sur plusieurs espèces de *Matricaria*.

### 3.4. Activités biologiques des extraits

#### 3.4.1. Activités antioxydantes

L'activité antioxydante des extraits aqueux de la camomille a été estimée par deux tests différents à savoir l'activité antioxydante totale (AAT) et l'activité antiradicalaire (DPPH). En effet, les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique de l'extrait pourrait mener à différents résultats selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant de l'extrait serait plus instructif et même nécessaire (Maizi *et al.*, 2019).

#### 3.4.2. Activité antioxydante totale (AAT)

Elle a été évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (V)  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Price *et al.*, 1987). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES). Le tableau 2 montre une teneur de l'ordre de 670,8±25,2 mg EAG/g ES.

#### 3.4.3. Activité antiradicalaire (DPPH)

Une autre méthode de détermination de l'activité antioxydante a été testée dans le but de confirmer les résultats précédents. Le test adopté est l'activité antiradicalaire par le test DPPH c'est à dire le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie. La détermination graphique de  $\text{CI}_{50}$  se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité antioxydante de l'extrait (Tableau 2).

Les résultats des  $\text{CI}_{50}$  sont groupés dans le tableau 2. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence. Les résultats des activités antioxydantes sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant une grande propriété antioxydante (Sassi-Aydi *et al.*, 2020). Ils révèlent des valeurs de l'ordre de 0,16 µg/mL. Ces résultats appuient celles de l'AAT et montrent que les extraits de camomilles sont dotés d'une activité antiradicalaire importante. Cependant cette activité reste inférieure à celle de l'acide ascorbique ( $\text{CI}_{50} = 0,04$ ).

Ces résultats pourraient indiquer une éventuelle accumulation des anthocyanes au niveau des extraits de camomille, puisque plusieurs études ont affirmé que les proanthocyanidines constituent de puissants antioxydants jouant un rôle nutritionnel, physiologique et pharmacologique (Sassi-Aydi *et al.*, 2020).

**Tableau 2:** Estimation des activités antioxydantes de l'extrait aqueux de *M. recutita* (EAC). AAT: activité antioxydante totale; DPPH: activité antiradicalaire; ASC: Acide ascorbique

Type d'extrait	AAT (mg EAG/ gES)	DPPH ( $\text{CI}_{50}$ )
EAC	670,8±25,2	0,16
ASC		0,04

### 3.4.4. L'activité antimicrobienne

Les extraits obtenus par extraction avec des solvants organiques de poudre végétale sèche constituent des alternatives assez intéressantes d'agents antimicrobiens. L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant les extraits à tester. L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la camomille a été évaluée contre une multitude de souches pathogènes: Les souches étudiées sont des souches Gram négatif: *E. coli*, *Salmonella typhimurium* (*Sal*), *Listeria monocytogenes* (*Li*), *Enterococcus faecalis* (*E. fec*) et *Micrococcus Luteus* (*Mic*). ainsi qu'une souche Gram positif *Bacillus cereus* (*Bc*). L'activité antimicrobienne de l'extrait a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant les extraits à tester. Les résultats obtenus par la méthode de diffusion dans les puits sont regroupés dans le tableau 3. Les diamètres des halos d'inhibition varient avec la souche testées. Nos résultats montrent que l'extrait aqueux de la camomille présente des halos d'inhibition avec toutes les souches bactériennes testées. Les diamètres des halos d'inhibitions varient de 13 à 29 mm. Le diamètre d'inhibition le plus important a été mesuré avec la souche *Mic*. ( $29 \pm 2$  mm) alors que le diamètre le plus faible a été mesuré avec *E. coli* ( $13 \pm 1$  mm). Selon Sassi-Aydi et al. (2020), il est très important de constater l'action sélective de ces métabolites en fonction de la nature membranaire de la bactérie cible.

D'autres résultats ont aussi rapporté que l'huile essentielle de *Matricaria chamomilla* L. est active contre 3 souches de *Staphylococcus aureus* et les souches de *Candida* et peut être utilisée dans le traitement de l'otite externe aiguë (Curty et al., 2014).

**Tableau 3** : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *M. recutita*.

Gram	Les souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
			EAC
Positif Négatif	<i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> )		13±1
	<i>Salmonella typhimurium</i> ( <i>Sal</i> )		25±2
	<i>Micrococcus Luteus</i> ( <i>Mic</i> )		29±2
	<i>Listeria monocytogenes</i> ( <i>Li</i> )		18±1
	<i>Enterococcus faecalis</i> ( <i>E. fec</i> )		14±1
	<i>Bacillus cereus</i> ( <i>Bc</i> )		27±2

### 3.5. Lutte biologique

Dans les conditions d'expérimentations au champ, l'efficacité des extraits de plantes est généralement mesurée à travers l'abondance des populations des ravageurs ou la sévérité des dégâts (Yarou et al., 2017).

#### 3.5.1. Taux d'infection selon la nature d'extrait dans les pièges

Nos résultats ont montré que chez les grenadiers témoins (ne contenant pas de pièges), le taux d'infection par *Ectomyelois* est de l'ordre de  $13,23 \pm 1,1$  %. Le traitement par le DAP et l'extrait aqueux de la camomille diminue le taux d'infection par ce ravageur par rapport aux arbres témoins (tableau 4).

Il reste à noter que le taux d'infection le plus faible a été mesuré au niveau des grenadiers avec des pièges contenant l'extrait aqueux de la camomille ( $1,69 \pm 0,1$  %). Le traitement par l'extrait chimique DAP diminue le taux d'infection par rapport aux grenadiers témoins ( $2,83 \pm 0,5$  %).

**Tableau 4**: Taux d'infection des grenades (%) par *Ectomyelois*.

DAP	EAC	Témoin
2,83±0,5	1,69±0,1	13,23±1,1

DAP: Di-Ammonium Phosphate; EAC: Extrait aqueux de Camomille; Témoin: Arbre sans pièges

#### 3.4.6. Dénombrement des espèces ravageurs dans les pièges

Les résultats du dénombrement des espèces ravageurs des grenadiers dans les pièges sont regroupés dans le tableau 5. Les espèces ravageuses retrouvées dans les pièges sont : les Pyrales (*Ectomyelois*), des mouches méditerranéennes, des abeilles et des fourmis. Le nombre des ravageurs le plus élevé est affiché au niveau des trois parcelles, dans les pièges contenant l'extrait chimique DAP, avec une abondance remarquable des Pyrales et des mouches méditerranéennes. Concernant les grenadiers contenant les pièges avec l'extrait aqueux de la camomille, le nombre total de ravageurs ne dépasse pas 3 ravageurs par piège par parcelle. L'abondance d'abeilles dans la parcelle III est due essentiellement à

la présence d'une apiculture à proximité. Ces résultats témoigneraient que l'extrait aqueux de la camomille est capable de réduire considérablement l'abondance de populations ravageuses dans les parcelles traitées par son effet répulsif quant au ravageur le plus nocif des cultures de grenadiers. Nos résultats corroborent celles de Kambou et Guissou (2011) sur des insectes ravageurs du haricot suite à l'utilisation d'extraits aqueux de substances épicées. D'autant plus, Tounou et al. (2011) ont démontré que des extraits aqueux de *Ricinus communis* L. (*Euphorbiaceae*) sur des larves de *P. xylostella* causent la mortalité (54 à 71 %), la déformation (ailes et pattes) des adultes à l'émergence et réduit l'oviposition.

**Tableau 5** : Dénombrement des espèces ravageurs dans les pièges. (DAP) Di ammonium phosphate, (EAC) extrait aqueux de camomille

Pièges	Espèce	Parcelles		
		I	II	III
Piège DAP	<i>Ectomyelois</i>	14	16	12
	Mouches méditerranéennes	11	15	10
	Fourmies	0	3	0
	Abeilles	0	0	3
	<b>Total</b>	<b>26</b>	<b>33</b>	<b>25</b>
Piège EAC	<i>Ectomyelois</i>	1	1	0
	Mouches méditerranéennes	1	0	0
	Fourmies	0	1	0
	Abeilles	0	0	3
	<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>3</b>

#### 4. Conclusion

La présente étude a permis de mettre en évidence la richesse de l'extrait aqueux de *M. recutita* en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoides et tanins condensés). Cet extrait est aussi doté d'une activité antioxydante importante ainsi qu'une activité antibactérienne contre 6 souches bactériennes Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>. Ceci permet de considérer cette plante comme une source potentielle d'antioxydants d'origine naturelle qui justifie son utilisation traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections lié au stress oxydatif. L'extrait aqueux de la camomille allemande semble avoir un effet répulsif spectaculaire quant au ravageur le plus nocif des cultures de grenadiers dans le périmètre oasien de Chenini, Gabès, Tunisie. La camomille pourrait être introduite dans les parcelles oasiennes, en vue de son utilisation pour la lutte biologique contre l'espèce *Ectomyelois*.

#### 5. Références:

- Abedi Z, Golizadeh A, Soufbaf M, Hassanpour M, JafariNodoushan A, Akhavan HR (2019)** Relationship between performance of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) and phytochemical metabolites in various pomegranate cultivars. *Front Physiol* 10: 1425
- Barnes J, Anderson A, Linda A, Phillipson D.J (2002)** Herbal Medicines. Pharmaceutical Press, Grande-Bretagne, second edition.
- Bourgou S, Serairi-Beji R, Medini F, Ksouri R (2016)** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* 28(12): 1649-1655.
- Bravo L (1998)** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-333.
- Bssaibis F, Gmira N, Meziane M (2009)** Antibacterial activity of *Dittrichia viscosa*, W. Creuter. *Rev Microbiol Ind San and Environ.* 3: 44-55.
- Curty NFR, da Silva MLF, Ito CAS, Schafranski M, Brites DA, Busato CR (2014)** Morbimortality study of infection in patients undergoing different types of dialysis in a renal replacement therapy center. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 18 (3)2014: 281-286, <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2013.08.007>.
- Deravel J, Krier F, Jacques P (2014)** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol Agron Soc Environ* 18(2): 220-232
- Dewanto V, Adom Wu X, Liu RH (2002)** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
- Diouf PN, Stevanovic T, Cloutier A (2009)** Antioxidant properties and polyphenol contents of trembling aspen bark extracts. *Wood Sci Technol* 43: 457-470.
- Ghedira K, Gotez P, Le Jeune R (2009)** *Matricaria recutita* L., Rauschert (Asteraceae) Camomille allemande, matricaire. *Phytothérapie* 7: 316-322.

- González-Coloma A (2015)** Biopesticides: biotechnology and natural products chemistry. Rev. Protección Veg. 30
- Hadj Mohamed K (2014)** Etude de la possibilité d'introduction de la camomille allemande dans le système de cultures, Mémoire pour l'obtention de diplôme de Master. Institut Nationale Agronomique de Tunisie. Université de Carthage.
- Haghi G, Hatami A, Safaei A, Mehran M (2014)** Analysis of phenolic compounds in *Matricaria chamomilla* and its extracts by UPLC-UV. Res Pharm Sci 9: 31–37.
- Hajjaj G (2017)** screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricaria chamomilla* L. et de l'*Ormenis mixta* L. (asteraceae). Mémoire de thèse. Faculté de Médecine et de Pharmacie – Rabat Université Mohammed V – Rabat.
- Kambou G, Guissou IP (2011)** Phytochemical composition and insecticidal effects of aqueous spice extracts on insect pests found on green beans *Phaseolus vulgaris* in burkina faso. Tropicicultura 29: 212-217.
- Maataoui BS, Hmyene A, Hilali S (2006)** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal 7: 3-8.
- Maizi Y, Meddah B, Tir Touil Meddah A, Gabaldon Hernandez JA (2019)** Seasonal variation in essential oil content, chemical composition and antioxidant activity of *Teucrium polium* L. growing in Mascara (North West of Algeria). J Appl Biotechnol Rep 6(4): 151-157 doi:10.29252/JABR.06.04.04.
- Mars M (1995)** La culture du grenadier (*Punica granatum* L.) et du figuier (*Ficus carica* L.) en Tunisie. Cahiers Options Méditerranéennes 13: 85-95.
- Maurent K (2017)** Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde : évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2017. Français. fNNT : 2017TOU30255ff.
- Poonam Y, Ravdeep K, Renu B, Geetika S (2015)** Castasterone regulated polyphenolic metabolism and photosynthetic system in *Brassica juncea* plants under copper stress. J Pharmacogn Phytochem 4: 282–289.
- Poorjavad N, Goldansaz SH, Hosseininaveh V, Nozari J, Dehghaniy H, Enkegaard A (2011)** Fertility life table parameters of different strains of *Trichogramma* spp. collected from eggs of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae*. Entomol Sci 14: 245–253
- Price ML, Van Scoyoc S, Butler LG (1987)** Critical evaluation of the vanillic reaction as an assay for tannin in sorghum grain. J Agric Food Chem 26: 1214–1218.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999)** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem 269: 337–341.
- Sharifi-Rad M, Nazaruk J, Polito L, Morais-Braga MFB, Rocha JE, Coutinho HDM, Salehi B, Tabanelli G, Montanari C, Contreras MM, Yousaf Z, Setzer WN, Verma DR, Martorell M, Sureda A, Sharifi-Rad J (2018)** *Matricaria* genus as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications. Microbiological Research 215: 76-88.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999)** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol 299: 152-178.
- Tounou AK, Mawussi G, Amadou S, Agboka K, Gumedzoe YMD, Sanda K (2011)** Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. J Appl Biosci 43: 2899-2914.
- Sassi-Aydi S, Aydi S, Ben Abdallah Kolsi K, Haddeji N, Rahmani R, Ktari N, Bouajila J (2020)** CO<sub>2</sub> enrichment: Enhancing antioxidant, antibacterial and anticancer activities in *Arthrospira platensis*. Food Bioscience 35: 100575, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100575>.
- Yarou BB, Silvie P, Assogba Komlan F, Mensah A, Alabi T, Verheggen F, Francis F (2017)** Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). Biotechnol Agron Soc Environ. 21: 288-304.
- Zhang X, Niu J, Liang Y, Lui X, Yin H (2016)** Metagenome-scale analysis yields insights into the structure and function of microbial communities in a copper bioleaching heap. BMC Genet. doi: 10.1186/s12863-016-0330-4.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999)** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 64: 555–559.