



N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Science Biologique

Spécialité : Biologie et physiologie végétale

THEME

**Etude histologique de l'appareil sécréteur de l'huile
essentielle de la plante *Melissa officinalis* L.**

Diriger par :

CHENNA Adala (M.A.A)

Présenter par :

BEN SEGHIR Fatma Zohra

GUESSOUMA Djabbaria

MEHDA Fahla

ZEGHIDI Zahra

Année universitaire 2012/2013

Remerciement

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la chance, la patience, le courage pour achever ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus profonds et les plus chaleureux à mademoiselle CHENNA Adala. Maitre assistante classe « A » à l'université d'El-Oued pour avoir suivi et dirigé notre travail, pour sa disponibilité et tous les précieux conseils qu'elle m'a prodigué tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements les plus cordiaux s'adressent aux messieurs membres de jury pour leurs conseils ainsi que d'avoir accepté d'examiner ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de nos profonds respects.

Nos remerciements aussi pour les membres du laboratoire de biologie de l'université de El -Oued pour avoir réalisé les différentes travailles anatomiques.

Enfin, Nous remercions très chaleureusement mes parents, mes sœurs, mes frères, mes collègues. Et tous les enseignants de biologie. Ainsi que toute notre promotion et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Sommaire

Introduction générale	
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Les huiles essentielles	
I.1.Historique.....	04
I.2.Définition.....	05
I.3.La biosynthèse des HEs.....	05
I.4. Localisation et lieu de synthèseles HEs.....	06
I.5.Tissus sécrétion	06
I.5.1.tissus de sécrétion externe.....	06
I.5.2.tissus de sécrétion interne.....	08
I.5.3.cellules de sécrétion intracellulaire.....	10
I.6. Propriétés physiques.....	10
I.7. Rôle physiologique.....	11
I.8.Composition chimiquedes HEs.....	11
I.8.1. Les terpènes.....	11
I.8.2.Les composés aromatiques.....	12
I.8.3. Les composés d'origine diverses.....	12
I.8.4.Notion de chémotype.....	12
I.9.Technique d'extraction des HEs.....	12
I.10.Action des huiles essentielles	14
I.11.Utilisation des huiles essentielles.....	15
I.12.Conservation des huiles essentielle.....	16
Chapitre II :LA MELISSE :<i>Melissaofficinalis</i> L	
II.1.Historique.....	18
II.2.Classification	19
II.3. Description botanique	19
II.4.Repartition géographique.....	20
II.4.1.Dans le monde.....	20
II.4.2.Dans Algérie.....	21
II.5. Culture et récolte	21
II.6.Composition Chimique de l'huile essentielle de la Melisse.....	21
II.7.Propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle de la Melisse.....	22
II .8 .Conservation de la Melisse.....	23

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I : La zone d'étude	
I.1. La région d'étude	26
Chapitre II : Matérielset Méthodes	
Objectif.....	28
II .1. Matériels	28
II.1.1. Matériel végétal.....	28
II.1.2. Matériels utilisés.....	28
II.1.3. Solutions utilisées et leurs rôles.....	28
II.2. Méthodes.....	29
II.2.1. La réalisation des coupes histologique	29
II.2.2. Les Techniques utilisées.....	30
II.2.2.1. La Technique de la double coloration.....	30
II.2.2.2. La Technique de coloration par rouge de Soudan III.....	30
II.2.3. Montage entre lame et lamelle.....	30
II.2.4. Technique d'observation	31
Chapitre III : Resultatset Discussion	
III.1. Les coupes histologiques sans coloration.....	33
III.2. La double coloration.....	35
III.3. La Coloration par rouge de Soudan III.....	37
Conclusion générale.....	41
Resumé	43
Références bibliographiques.....	45
Annexes.....	51
Resumé et mots-clés	

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure : 01	Différents types de poils sécréteurs chez la Sauge officinale.	07
Figure : 02	Poils sécréteurs : A -poilsglanduleux capités des types I, II et III ; B -poils glanduleux peltés des types I, II et III.	08
Figure : 03	Exemple de poches schizogènes chez <i>Eucalyptus globulus</i> .	09
Figure : 04	Coupe transversale d'un canal glandulaire schizogène de feuille de <i>Pinus pinaster</i> .	09
Figure : 05	Structure de la molécule d'isoprène.	11
Figure : 06	Schéma d'un appareil de distillation des plantes aromatiques à générateur de vapeur séparé de l'alambic (vapodistillation).	14
Figure : 07	La Melisse (<i>Melissa officinalis</i> L).	20
Figure : 08	Composés majeurs dans la Melisse.	22
Figure : 09	Situation géographique de wilaya d'El Oued.	26
Figure : 10	Observation microscopique de coupe transversale dans racine de <i>Melissa officinalis</i> sans coloration Gr X40.	33
Figure : 11	Observation microscopique d'une coupe transversale dans tige <i>Melissa officinalis</i> sans coloration Gr x 400.	33
Figure : 12	Localisation du poil sécréteur au niveau de la feuille <i>Melissa officinalis</i> L. a-Poil sécréteur Grx400, b- schéma d'un poil sécréteur,c – Observation microscopique d'une coupe transversale de la feuille de <i>Melissa officinalis</i> L. sans coloration Gr x100.	34
Figure : 13	Observation microscopique d'une coupe transversale de la racine de <i>Melissa officinalis</i> L après double coloration Gr x 100.	35
Figure : 14	Localisation du poil épidermique au niveau de la tige <i>Melissa officinalis</i> L a- Observation microscopique d'une coupe transversale de la tige de <i>Melissa officinalis</i> L après double coloration Gr x 100 ;b –Poil épidermique Gr x 400.	36
Figure : 15	Observation microscopique d'une coupe transversale de la feuille de <i>Melissa officinalis</i> L après double coloration Gr x 400.	37
Figure : 16	Observation microscopique d'une coupe transversale de la racine de <i>Melissa officinalis</i> L après coloration au rouge de Soudan Grx40.	37
Figure : 17	Observation microscopique d'une coupe transversale de la tige de <i>Melissa officinalis</i> L après coloration au rouge Soudan Gr x100.	38
Figure : 18	Observation microscopique d'une coupe transversale de la feuille de <i>Melissa officinalis</i> L après coloration au rouge Soudan III Grx100 ; a - Poil glandulaire Gr x400, b-section transversale de la feuille de <i>Melissa officinalis</i> L Gr x 400.	39

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau: 01	Les conditions pratiques de distillation (Avantages et limites des différents procédés de distillation)	51
Tableau: 02	Composition de l'huile essentielle de laMelisse (exprimée en pourcentage) selon différentes sources.	53

Listes des symboles et des abréviations

AFNOR	Association Française de normalisation
APG	Angiosperm Phylogeny Group = groupe phylogénétique des Angiospermes
°C	Degré celuis
Fig	Figure
Gr	Grossissement
H.E.C.T.	Huile Essentielle Chémotypée
HEs	Huiles Essentielles
PM	Plante Médicinale
%	Pourcentage

Introduction

Introduction

Tout au long de l'histoire des traitements médicaux montrent l'utilisation des plantes. Ainsi, des tablettes d'argile de l'époque sumérienne décrivent une pharmacopée riche en plantes telles que le Myrte, le Thym, la Sauge, *Melissa officinalis* ...etc. Celles-ci étaient utilisées en décoctions que l'on filtrait avant de les absorber (**Baba Aissa F., 2000**).

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Bruneton J., 1987**).

La Melisse est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle en raison de ses propriétés sédatives, carminatives, antispasmodiques, anti-inflammatoires, antivirales et surtout antioxydantes. Les propriétés de la Melisse sont attribuées principalement à l'acide rosmarinique. Son huile essentielle présente une activité antibactérienne, anti-parasitique, antihistaminique et antifongique.

Question qui pose ici quelles sont les organes et les tissus sécréteurs, le lieu de synthèse, et stockage des huiles essentielles à la Melisse (*Melissa officinalis* L) ?

Notre travail consiste à faire une étude histologique de l'appareil sécréteur de l'huile essentielle d'une plante médicinale (PM) appartenant à la famille des Lamiacées : *Melissa officinalis* L, est divisée en deux parties :

La première partie est une étude Théorique, nous avons abordé une généralité sur les huiles essentielles et description de la plante médicinale *Melissa officinalis* L.

Dans le deuxième partie est une étude Pratique, nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau des organes végétales (racine, tige et feuille) pour connaître les tissus sécréteurs des huiles essentielles de cette plante.

PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

Chapitre I :

Les huiles essentielles

Les huiles essentielles

I .1.Historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières à d'origine végétales. Ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation,... etc (**Bougura A., 2012**), L'alambic est incontestablement associé à Avicenne (930-1037), tout comme le GiovanniI- Baptista Della Porta (1540-1615), dans son célèbre ouvrage « De destillatione » parut en 1567, mentionne les connaissances avancées des Arabes dans le domaine de la distillation.

Hermann Boerhave (1668-1738) fut l'un des premiers à décrire les HEs d'un point de vue chimique (**Hellal Z., 2011**).

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances. Depuis deux décennies des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des HEs dans différents domaines (**Zhiri A., 2006**).

I .2.Définition

Une huile essentielle selon **la pharmacopée** est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux (**Florence M ., 2012**).

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme : « *un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques* » (**El kalamouni C., 2010**).

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes,...). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits de plantes (**Hamdani D., 2012**).

On distingue **trois** catégories des huiles essentielles : *les huiles brutes ou naturelles, les huiles rectifiées et les huiles fractionnées* :

- **Les huiles brutes ou naturelles** sont obtenues par distillation d'une grande quantité de matières premières broyées (branches, aiguilles, écorces, bois, etc.). Elles ne sont pas raffinées.
- **Les huiles rectifiées** sont des huiles brutes purifiées, c'est-à-dire que certains résidus laissés lors de la distillation sont éliminés par l'entraînement à la vapeur.
- **Les huiles fractionnées** sont des huiles essentielles de qualité supérieure. On les obtient en séparant les composés volatils en diverses fractions, selon leurs points d'ébullition spécifiques (**Mélanie T., 2001**).

I. 3. La biosynthèse des HEs

La biosynthèse des HEs a comme départ : la chlorophylle (laboratoire central de tout le monde végétal).

Dans la synthèse des HEs. il y a deux points importants :

- **la nature du sol**: la biosynthèse des HEs sont sous la dépendance d'enzymes à chaque étage de la chaîne dont de nombreuses métallo-enzymes, la nature physico-chimique différent d'un sol à l'autre n'offre donc pas à la plante les mêmes oligo et micro-éléments d'où composition différente (**Vassart S., 2009**).

- **Le rayonnement solaire:** I.R. dominant en bord de mer
U.V. dominant en altitude

Là aussi, les enzymes sont sensibles aux radiations lumineuses avec comme corollaire des H.E. pouvant être différentes pour le même type de plante (**Vassart S., 2009**).

I.4 . Localisation et Lieu Synthèse les HEs

Les huiles essentielles n`existent quasiment que chez les végétaux supérieurs Il ya environ 500 000 plantes sur terre 10 000 d`entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales (**Bekhechi C. et Abdelouahid D ., 2010**).

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante. Il peut s`agir de l`**écorce** (ex : *Citron, Orange, Bergamote*), de **graines** (ex : *Cardamome, Coriandre, Fenouil*), de **feuilles** (ex : *Eucalyptus, Mélisse*), de **racine** (ex : *Angélique, Vétiver*), de **fleur** (ex : *Ylang-ylang, Camomille*), de **bois** (ex : *Bois de cède, Santal*) (**Degryse A-C.et al ., 2008**).

I.5 .Tissus sécrétion

Les HEs sont synthétisés et accumulés dans des structures histologiquement spécialisées. On retrouve ces structures sur ou à proximité de la surface de la plante et dans tous les organes végétaux (**Duval L ., 2012**).

On peut distinguer :

- Tissus de sécrétion externe.
- Tissus de sécrétion interne.
- Cellules de sécrétion intracellulaire.

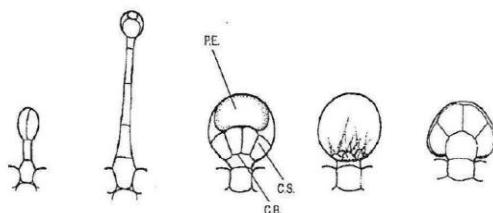
I.5.1. Les tissus de sécrétion externes

I.5.1.1 .Les papilles épidermiques :

sont des cellules épidermiques conique sécrétrices d`essence comme dans les pétales de rose , de muguet , ou de violette (**Duval L., 2012**).

I. 5 .1 .2 .Les poils sécréteurs :

Sont des éléments du trichome spécialisés dans la sécrétion ; la cellule terminale élabore une substance qui est accumulée entre cette cellule et la cuticule ; ils se rencontrent sur les tiges et feuilles de pélargonium, de primevère ou de Sauge par exemple :



CS : cellule sécrétrice

PE : poche à essence

CB : cellule basale

Figure 01 : Différents types de poils sécréteurs chez la Sauge officinale
(Franchomme P .et al ., 2003).

Les six types de poils sécréteurs capités et peltés (Fahn 1979 ; Werker .et al. 1985) :

A. Les poils sécréteurs capités appartiennent à trois types :

- ✓ **Le type I** caractérise des poils petits et trapus, pourvus d'un court stipe unicellulaire et d'une tête sécrétrice unicellulaire arrondie. Ils sont déjà présents chez la plantule et très abondants sur les organes en voie de développement. On les trouve dans toutes les parties aériennes de la plante adulte, mais ils sont particulièrement nombreux sur la feuille et le calice.
- ✓ **Le type II** caractérise des poils pourvus d'un stipe unicellulaire ou plus fréquemment bicellulaire et d'une tête sécrétrice unicellulaire allongée. La partie apicale de la tête est surmontée de la chambre sous-cuticulaire dans laquelle se dépose le produit de sécrétion qui est de substance lipophile. La chambre sous-cuticulaire se rompt, libérant ainsi la sécrétion qui se dépose sur la surface extérieure de la cellule apicale. Chez la plantule, ces poils sont déjà formés et fonctionnels. Ils sont aussi présents dans toutes les parties de la plante adulte.
- ✓ **Le type III** caractérise des poils fins et allongés, pourvus d'un stipe de 2-5 cellules (il est particulièrement long sur la tige) et d'une tête sécrétrice unicellulaire arrondie. Ce poil sont très fréquents, sur tous les organes examinés de la plante adulte (Nelly A .et Bice B., 1993).

B. Les poils peltés appartiennent aussi à trois types :

- ✓ **Le type I** caractérise des poils pourvus d'un stipe court, unicellulaire, et d'une tête sécrétrice formée de 12 cellules dont l'aspect est régulier. Ils sont présents sur tous les organes examinés : observés sur la tige, ils sont nombreux surtout sur l'épiderme inférieur de la feuille et sur le calice, mais moins nombreux sur la corolle.
- ✓ **Le type II** caractérise des poils pourvus d'un stipe unicellulaire très allongé et d'une tête sécrétrice formée de 8 à 12 cellules. Ils sont présents sur presque tous les organes examinés, mais sont surtout fréquents et nombreux sur le calice, rares sur la tige et absents des feuilles.
- ✓ **Le type III** caractérise des poils pourvus d'un stipe très réduit et d'une tête sécrétrice formée de 8 à 12 cellules d'aspect irrégulier, toutes disposées en éventail autour du stipe. Ils présentent en général un large espace sous-cuticulaire où se dépose la sécrétion d'huile essentielle. Ils ne se trouvent pas sur la plantule alors que dans la plante adulte ils sont présents partout, mais surtout très fréquents sur le calice, la corolle et la face inférieure de la feuille ; ils sont plutôt rares sur la tige (Fig 02) (Nelly A .et Bice B ., 1993) .

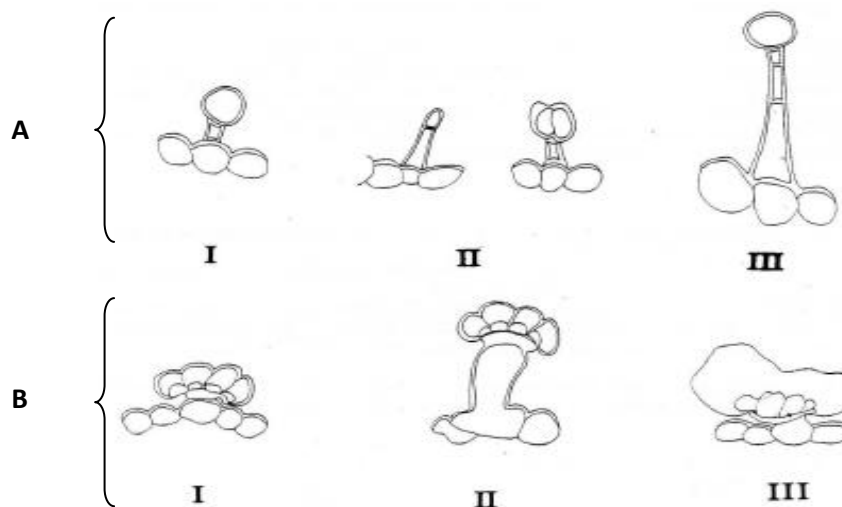


Figure 02 : Poils sécréteurs : A- poils glanduleux capités des types I, II et III ; B- poils glanduleux peltés des types I, II et III (Nelly A .et Bice B ., 1993).

I .5 . 2. Les tissus de sécrétion internes

I.5.2.1. Les poches schizogènes (ou poches sécrétrices)

Elles sont formées par un massif de cellules sécrétrices qui entourent une cavité où se déverse le produit de sécrétion (fig 03), Selon l'origine de la cavité, on distingue :

- *les poches schizogènes* : résultant de l'agrandissement du méat formé à l'origine entre les quatre premières cellules dérivées de l'initiale de la poche ; cet agrandissement du méat se produit par l'écartement des cellules qui se divisent par des cloisons uniquement radiales (poches des Myrtacées)
- *les poches schizolysiqènes* : qui se forment d'abord selon le mode précédent ; mais les cellules se divisent également par des cloisons tangentielles, et les plus internes sont désagrégées (poches des Rutacée) (Gayral P.et Vindt J., 1961)

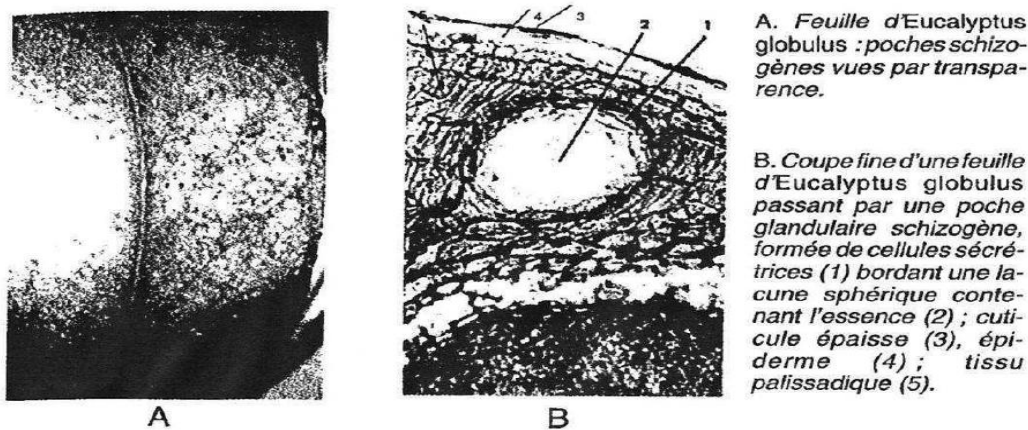
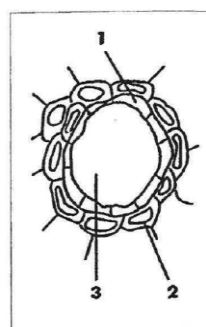


Figure 03 : Exemple de poches schizogènes chez *Eucalyptus globulus* (Franchomme P .et al ., 2003).

I. 5 .2.2. Les canaux sécréteurs

Ces sont des poches schizogènes très allongées ; tous les intermédiaires existent entre poche et canal. Ils sont particulièrement abondants chez certains groupes (Ombellifères, Coniférales) (fig 04) (Gayral P.et Vindt J., 1961).



- 1 : Cellules sécrétrices
 2 : Cellules adjacentes transformés en fibres lignifiées constituant une gaine protectrice
 3 : lumière du canal.

Figure 04 : Coupe transversale d'un canal glandulaire schizogène de la feuille de *Pinus pinaster* (Franchomme P .et al ., 2003).

I.5.3. Les cellules de sécrétion intracellulaire

I.5.3.1. Les cellules sécrétrices isolées

Quelques cellules se spécialisent et accumulent des produits à l'intérieur de leurs vacuoles. Elles meurent souvent lorsque la concentration du produit est maximale.

Exemples:

- ✓ Cellules de cannelle (*Cinnamomum ceylanicum*).
- ✓ Feuilles de Laurier (*Laurus nobilis*).
- ✓ Rhizome du calmed (*Acorus calamus*).

Ces différents types d'éléments sécréteurs libèrent leur contenu en se déchirant à la suite d'une variation hygrométrique ou par action mécanique. la fonction biologique des essences est mal connue mais pourrait avoir un rôle d'autoprotection dans le domaine des interactions végétales (inhibition de germination) et des interactions végétales / animales (protection contre les prédateurs et attraction des pollinisateurs)(**Duval L., 2012**).

I.6. Propriétés physiques

Selon (**Bardeau F ., 1976; Legrand ,1978 ;Lemberg ,1982; Bruneton J .,1999**), les huiles essentielles possédant en commun un certain nombre de propriétés physique :

- Elles sont soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie 160°C à 240°C.
- leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (les huiles essentielles de sassafra, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, phosphore et réduisent certains sels
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinolides, très odorants et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huiles essentielles à azulène de coloration (**Bekhechi C. et Abdelouahid D., 2010**).

I.7. Rôle physiologique HEs

Beaucoup des plantes produisent les HEs en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu.

Selon (Bakkali .,2008), les HEs peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante: repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables (Hellal Z ., 2011).

I.8. Composition chimique des HEs

Peut varier considérablement :

- dans une même plante selon les organes (feuille, fleur, fruit, bois)
- dans l'année selon la saison pour une même plante,
- selon les conditions de cultures pour une même espèce végétale (ensoleillement humidité, longueur du jour, fertilité du sol),
- selon les races chimiques (ou chemotypes) pour une même espèce (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques) (El kalamouni C., 2010).

I.8.1. Les Terpénoïdes :

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires, végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C₅H₈), communément appelée isoprène (fig 05).

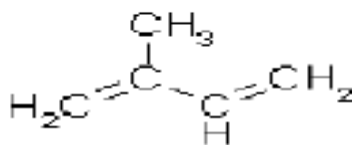


Figure 05 : Structure de la molécule d'isoprène (Khenaka K., 2011).

Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en monoterpénoïdes (10C), sesquiterpénoïdes (15C) et diterpénoïdes (20C).

Les mon-et sesquiterpénoïdes sont ,avec les cinnamates, les composants principaux des huiles essentielles (Khenaka K ., 2011).

I.8.2. Les composés aromatique

Les dérivés du phénylpropane C6-C3 sont moins fréquents. Souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes et des dérivés méthoxylés. Certaines lactones dérivées des acides cinnamiques (coumarines) peuvent aussi exister dans certaines HEs. des acides cinnamiques (coumarines) peuvent aussi exister dans certaines HEs (**Anonyme., 2010**).

I.8.3. Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et α -linoléique en (3-cis hexanol, decanal, β -ionone) (**Hellal Z., 2011**).

I.8.4. Notion de chémotype

Le chémotype d'une HE est une référence précise qui indique le composant Biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer des HEs extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les HEs pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les HEs à chemotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (**Hellal Z., 2011**).

I.9. Technique d'extraction des HEs

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les HEs, les tanins), le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Benjilali B., 2004**).

I.9.1. Distillation

Dans l'industrie, il existe trois méthodes de base pour l'obtention des huiles essentielles : la distillation par l'eau ou "l'hydrodistillation", la distillation à la vapeur d'eau

ou "la vapo-hydrodistillation" et la distillation à la vapeur directe produite par un générateur séparé " vapo-distillation ".

Ces trois modes reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (**Benjlali B ., 2004**).

I .9.1.1. L'hydrodistillation

Dans ce procédé la matière première à traiter est entièrement immergée dans l'eau, qui est ensuite portée à ébullition. La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'essence recherchée. Le mélange vapeur essence est ensuite récupéré par condensation.

Les installations utilisées pour la conduite de ce procédé sont très simples de construction. Ils sont souvent exploités de façon extensive par les petits producteurs. Le chauffage est le plus souvent réalisé sur un feu ouvert, ce qui comporte des difficultés pour le contrôle de la bonne conduite de la distillation. En particulier des difficultés liées à l'apparition de zones de surchauffe entraînant une détérioration qualitative de l'essence obtenue constituent une contrainte majeure. Un autre inconvénient de ce consiste en la nécessité de chauffer de grandes quantités d'eau, ce augmente les coûts énergétiques d'extraction. Cependant ce procédé est bien indiqué pour l'extraction de l'essence de certaines fleurs (rose,etc) (**Siaka K ., 2001**).

I .9 .1 .2. Distillation à la vapeur d'eau dans un alambic à double fond : "Vapo-hydrodistillation"

Le matériel végétal, dans ce cas, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante. Comme dans le cas précédent, l'évaporation de l'eau peut être obtenue par chauffage direct (alambic à feu nu) ou par injection de vapeur surchauffée dans la chemise formant le fond de l'alambic. À l'intérieur de l'alambic, il y a production d'une vapeur d'eau saturée (mouillée) à pression faible qui traverse la masse du végétal du bas en haut (**Benjlali B., 2004**).

I.9.1.3. Distillation à la vapeur directe : "générateur séparé" ou "vapodistillation"

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ».

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Lucchesi M-E., 2005**).

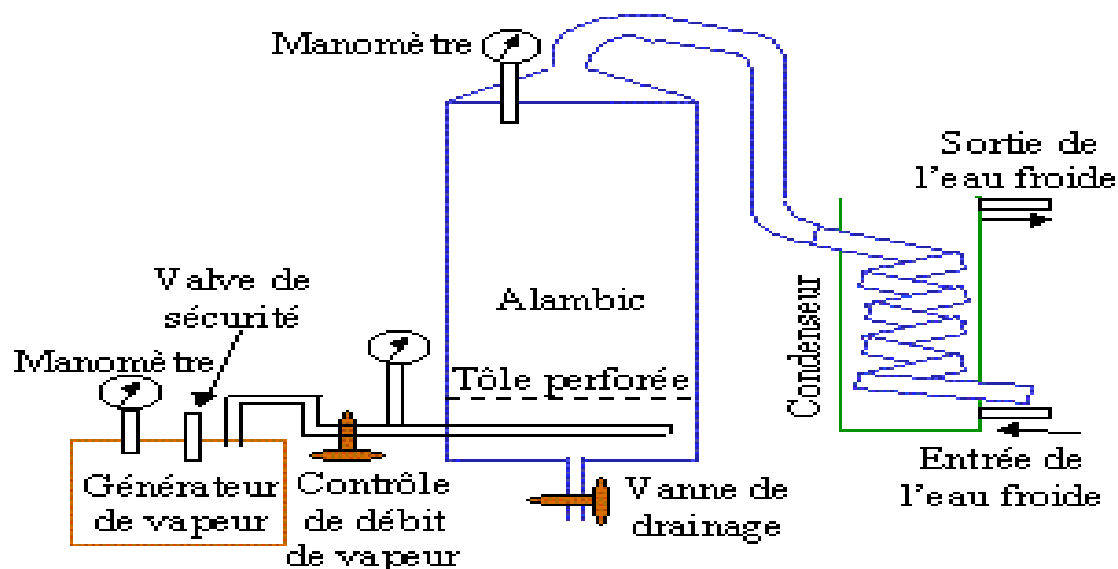


Figure 06: Schéma d'un appareil de distillation des plantes aromatiques à générateur de vapeur séparé de l'alambic (vapodistillation) (**Benjilali B., 2004**).

Les conditions pratiques de distillation (Avantages et limites des différents procédés de distillation) (**Benjilali B., 2004**). (voir Annexe 01)

I.10. Action des huiles essentielles

Les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovicide, larvicide et adulticide à l'égard de différents ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés poly-phénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (**Hamdani D., 2012**).

Selon (Ngamol I. et Hance T., 2007), les constituants des huiles essentielles sont sources potentielles d'insecticides botaniques. Plusieurs constituants sont insecticides. Le safrole et l'eugénol ont des fortes activités insecticides sur les ténébrions et surtout le *T. castaneum* ainsi que sur le bruché du haricot (Hamdani D., 2012).

I.11. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains. Elles peuvent être utilisées pour usage externe (inhalations, compresses, massage, bains aromatisés, soins des cheveux, diffusion d'arôme, etc.) ou interne (infusions, sirops, pastilles, etc.).

Chaque huile essentielle a ses caractéristiques et ses fonctions qui lui sont propres. Par exemple, elle extraite du sapin baumier est un excellent antiseptique atmosphérique par diffusion. Elle permet de purifier, d'aromatiser l'air et de se prémunir ainsi contre les infections. En massage, elle fluidifie les sécrétions respiratoires et elle soulage les douleurs musculaires (Mélanie T., 2001).

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que:

I .11 .1. En pharmacie :

Les HEs peuvent être utilisés comme :

- ✓ L'aromatisation des médicaments destinées à la voie orale.
- ✓ Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille).

(Hameurlaine S ., 2009).

I.11 .2. Dans l'industrie:

I .11.2.1. Parfumerie et cosmétologie:

Des nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines HEs constituent des bases des parfums. Exemples: Rose, Jasmine, Vétiver, ... etc (Hameurlaine S ., 2009).

I .11.2.2. Alimentation:

Les HEs (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des HEs reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate nécessitant la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques (Hameurlaine S., 2009).

I.12. Conservation des huiles essentielles

- Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de *Citrus* se gardent un peu moins longtemps (trois ans).
- Elles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons.
- Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque 20°C.
- Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (**norme AFNOR NF T 75-001, 1996**) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HEs (**norme NF 75-002, 1996**) (Florence M., 2012).

Chapitre II :

Chapitre II :

LA Melisse : *Melissa officinalis* L.

II .1.Historique

La Melisse est connue depuis des siècles en tant que plante médicale. Le philosophe, écrivain et médecin perse Avicenne (980 - 1037) recommandait la Melisse pour renforcer le cœur. Les moines et nonnes en France ainsi que le médecin suisse Paracelse (1493 – 1541) préparaient des boissons fortifiantes (toniques) appelées « élixir de la vie » contenant de la mélisse. L'écrivain anglais John Evelyn (1620 - 1541) a décrit la Melisse comme une plante qui structure le cerveau, renforce la santé mentale et supprime la mélancolie (**Penchev P., 2010**).

Médecins arabes ont vanté les vertus de cette plante antispasmodique de grande réputation .Avicenne lui attribuait la vertu de rendre le cœur joyeux .Au XVII^e siècle, elle était l'arme des médecins pour lutter contre la dépression nerveuse ,qui apparaît , par conséquent ,ne pas avoir été seulement la maladie de notre siècle .La Melisse est la base de célèbre « eau de carmes » qui au XVII^e siècle, était véritable « or portable »de frère Ange (**Gérard D.et al ., 2009**).

La Melisse de jardin était déjà une herbe médicinale très estimée aux alentours du premier millénaire en Europe et dans les pays arabes, où l'on s'en servait pour soigner les maladies cardiaques, fortifier le cerveau et redonner vigueur aux malheureux qui dépérissaient. On rapporte d'Angleterre qu'un dénommé John Hussey, qui buvait tous les matins une tasse de tisane de Melisse citronnelle avec du miel, aurait atteint l'âge mémorable de 116 ans. Aujourd'hui, cette plante parfumée et calmante peut se révéler efficace dans le traitement de l'herpès (**Anonyme ., 2001**).

II .2. Classification

La Place de la Melisse dans la classification phylogénétique APG III* (2009) est la suivante (Perrot E et Paris R., 1971 ; Meyer et al ., 2008 ; Thoby C., 2009).

Règne	Végétal,
Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Melissa</i>
espèce	<i>officinalis</i>

Il existe trois sous-espèces : *officinalis*, *inodora* et *altissima*, mais c'est la sous-espèce *officinalis* qui est utilisée en thérapeutique (Pineau S., 2012).

Elle possède plusieurs appellations vernaculaires: Le nom latin *Melissa* trouve ces racines dans le nom grec *Melias* (du mot grec *Meli*, *Melitos*, *Miel*), et provient de l'attrance importante des abeilles pour cette plante en français telles que ; sont Melisse citronnelle, Citronne, Herbe au citron, Melisse des boutiques, Piment des abeilles ou des Ruches, Céline, ponchirade, Thé de France (Penchev P., 2010), en arabe ; Touroudjan, Tindjan , Bararendjabouya (Beloud A., 2001). En anglais ; elle porte le nom de Lemon balm, Sweet Lemon ou Cure-all (Pineau S., 2012).

II .3. Description botanique:

La Melisse (Fig07a) est une plante herbacée vivace, à la tige quadrangulaires (Fig 07g), rameuses et très feuillées, en touffes de 30 à 80 cm (Baba Aissa F., 2011).

Les feuilles (Fig07f), pétiolées, sont réparties de façon opposée et décussée sur la tige (Pineau S., 2012), Elles sont ovales-cordiformes; leur limbe, de 3 cm à 4 cm de longueur est mince, à bords grossièrement dentés en scie ou crénelés, rugueux, vert vif sur la face supérieure, plus clair sur la face inférieure; les nervures forment un réseau entre les branches duquel le limbe est saillant ce qui lui donne un aspect gaufré caractéristique sur la face inférieure (Pharmacopée française., 2003).

Les fleurs blanchâtres ou jaunâtres, 6 à 12 en verticilles axillaires, espacées (Fig07c), brièvement pédonculées et bien plus courtes que les feuilles. Calice poilu (Fig07e), tubuleux en cloche à 13 nervures, à tube aplati sur le dos à lèvre supérieure plane et tridentée, l'inférieure bifide, corolle bilabée à tube saillant arqué (Fig07b), ascendant, à lèvre supérieure dressée concave, échancrée, l'inférieure à 3 lobes inégaux, 4 étamines (Fig07d) (Beloud A., 2001), Elles s'épanouissent de juin à septembre. (Lucienne., 2010).

Les fruits en forme de tétrakènes ; odeur aromatique citronnée, devenant moins agréable en fin de cycle (Baba Aissa F., 2011).

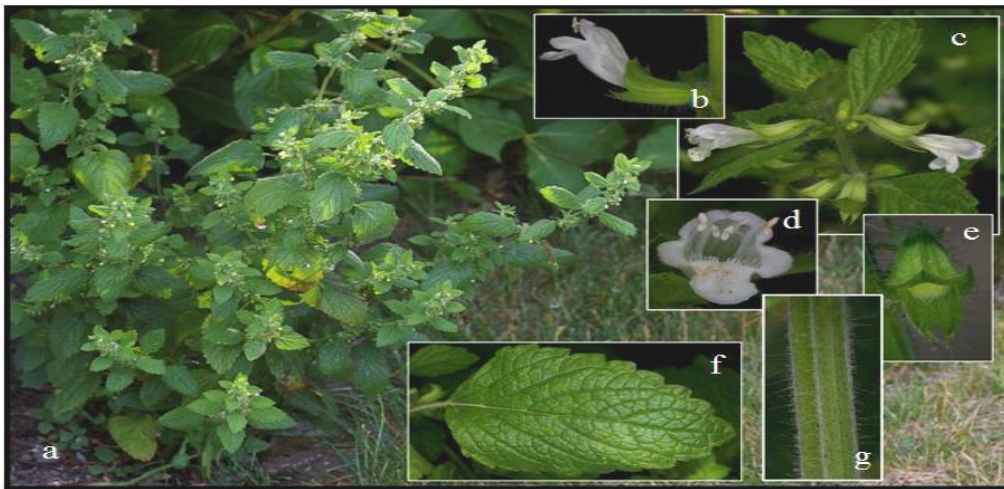


Figure 07 : La Melisse (*Melissa officinalis* L)

(Anonyme B., 2013).

a : plante entière ; **b :** fleur zygomorphe ; **c :** fleurs disposées en verticilles à la base des feuilles ; **d :** quatre étamines ; **e :** calice bilabé et pubescent ; **f :** feuille ; **g :** tige carrée.

II. 4. Répartition géographique

II. 4.1. Dans le monde

Originare d'Europe méridionale, d'Asie occidentale, d'Afrique du Nord, (Anonyme., 2001) et Haïes, buissons, bois, çà et là dans presque toute la France et en Corse (Anonyme A., 2013). La Melisse pousse à présent dans le monde entier. On la cultive par semis ou par boutures au printemps. On cueille les parties aériennes dès le début de l'été et juste avant que les fleurs éclosent (Anonyme. 2001).

II. 4.2. En Algérie

Plante commune dans toute l'Algérie ou elle pousse dans les lieux incultes chauds, ombragés, sur les terrains riches en humus, en marge des forêts, ainsi qu'aux alentours des maisons. Elle est largement cultivée (**Lucienn A-D., 2010**). Ravins humides des montagnes. Babors, Djurdjura, Mouzaia (**Beloud A., 2001**).

II .5. Culture et récolte

La première récolte normale ne se fait qu'après la deuxième année de culture (**Wichtl M .et Anton N., 2003**). En effet, la première année, le producteur ne peut espérer que 25 % d'un rendement normal. Les feuilles et les tiges sont ramassées avant la floraison c'est-à-dire fin juin à début juillet. Une deuxième récolte peut avoir lieu fin août à début septembre. A l'origine, le ramassage se faisait à la faucille mais désormais il existe des récolteuses mécaniques, utilisées surtout lorsque la surface du champ est importante (**Pineau S., 2012**). Le séchage de la plante doit être effectué sitôt la cueillette terminée car la plante s'abîme très rapidement (**Anonyme., 2003**).

En 2008, la culture de la Melisse représentait 55,24 ha en France, soit 1,6 % des terres cultivées pour les plantes aromatiques et médicinales (**Krausz M ., 2009**)

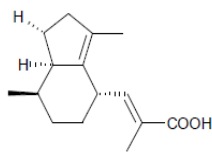
En 2009, l'exploitation des terres pour cette plante était constante, c'est-à-dire 50 ha dont 40 en agriculture biologique. Près de 50 % de la production de Melisse est transformée en huile essentielle.

En 2010, la culture de la Melisse a doublé, 98 ha y sont consacrés. Une trentaine d'hectares est située en Anjou (**Pineau S., 2012**).

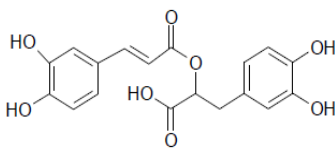
II .6.Composition chimique de l'huile essentielle de la Melisse

La plante contient une grande variété de composés dont les principaux :

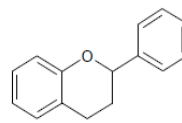
Huile essentielle ; Composés flavonoïdes (Cynaroside , Cosmosin , Rhamnocitrin , Isoquercitrin) ; **Dérivées du Luteolin ; Dérivées hydroxycinnamique ; Cires ; Stérols ; Chlorophylles ; Acides phénoliques** (Acide rosmarinique, Acide protocatechique , Acide caffeique , Acide P-hydroxybenzoïque , Acide gentisique ,Acide carsonique) ; **Acides de triterpene** (Acide ursolique , Acide olénoïque) (**Pineau S., 2012**).

Terpénoïdes

Acide valérénique

Acide – phénols

Acide rosmarinique

flavonoïdes

Noyau flavone

Figure 08 : Composés majeurs dans de Melisse (Pineau S., 2012).

L'huile essentielle ne représente en moyenne que 0,05 pour cent des feuilles de mélisse sèches. Cette faible quantité explique son prix élevé bien que la concentration en huile essentielle soit en fait très variable : de 0,02 à 0,8 pour cent (Babulka P., 2005 ; Gruenwald J. et al ., 2007). L'huile essentielle, de couleur jaune pâle, est riche en composés terpéniques volatils qui lui confèrent une légère odeur citronnée (Pineau S., 2012), Les composés principaux de l'huile essentielle sont le citral (représenté par les deux stéréo-isomères néral et geranial), le caryophyllène et le citronellal.

D'autres composés sont présents en petits quantités tels que germarcène D, ocimène, citronellol, oxyde de caryophyllène, néral acétate, linalol, geraniol (Penchev P., 2010).

L'huile essentielle de Melisse présente des activités antibactériennes, anti-parasitiques, antihistaminiques et antifongiques (Penchev P., 2010). La composition de l'huile essentielle de mélisse selon trois sources et deux différentes techniques d'extraction (hydrodistillation et extraction au CO2 supercritique).(voir Annexe 02) (Penchev P., 2010).

II .7. Propriétés thérapeutiques et utilisation traditionnelle de la Melisse

La Melisse est depuis l'Antiquité une plante utilisée dans les cas de nervosité et de troubles mineurs du sommeil, ainsi qu'en cas de troubles gastro-intestinaux telles les flatulences et les douleurs abdominales. C'est de façon empirique que ces propriétés lui ont été attribuées (Gérard D. et al ., 2009).

- ✓ **Les fleurs de la Melisse** excitant la sécrétion hépatique augmentant le flux biliaire: il n'ya donc rien d'étonnant à ce qu'elle agisse aussi dans les troubles nerveux, si souvent liés à une insuffisance hépatobiliaire; sédatif; cordial; vulnéraire; syncopes; vertiges; hypocondrie; palpitations du coeur; stomachique; carminatif; diaphorétique; action tonique sur le cerveau, cœur, utérus, appareil digestif; stimulant physique et intellectuel; sudorifique; vermifuge; migraine, névralgies; palpitation; nervosité (Gérard D. et al ., 2009).

- ✓ **L'eau de la Melisse** des Carmes Boyer® existe depuis 1611. C'est une solution alcoolisée à base de Melisse, et contenant également neuf épices et treize autres plantes. Elle est présentée comme un produit aux multiples vertus, notamment celles de diminuer le stress et la fatigue, de faciliter la digestion et d'apaiser le mal des transports (**Perrot E. et Paris R ., 1971**).
- ✓ **Feuilles en tisane** : sédatif; tonique; maux de tête ; indigestions; nausées; extraits: antiviraux ; détruisent les germes portés par l'oxygène et peuvent éviter l'infection des plaies en cicatrisation .
- ✓ **Huile essentielle**: rafraîchissant; antidépresseur; eczémas; allergies; relaxant. Bactériostatique ;Eupeptique ; Sédatif du système nerveux; Spasmolytique ; Cholérétique ;Vulnéraire Anti-inflammatoire des muqueuses digestives et bronchiques Sympatholytique (**Penchev P., 2010**).

La Melisse possède une action antivirale, sans doute due aux acides –phénols. Sous forme de pommade à base d'extrait, elle combat efficacement l'herpès et diminue la fréquence des éruptions. On l'emploie également contre la varicelle et le zona. Par ailleurs, la mélisse équilibrerait le fonctionnement de la glande thyroïde (**Gérard D.et al ., 2009**).

II .8 .Conservation de la Melisse

Faire sécher rapidement a l'ombre dans un lieu venté, a l'abri de l'humidité et de la poussière, mettre en récipients fermés (**Lucienne A-D ., 2010**).

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Chapitre I :
Chapitre I :

La zone d'etude
La zone d'etude

I. La région d'étude :

La région de Oued Souf, appelée aussi région du bas Sahara à cause de la faible altitude est située au sud-est du pays. Est limite par les différentes wilayas à savoir :

Tébessa au Nord –est, kenchela au nord mais Biskra au nord –ouest, Djelfa ouest Ouargla au Sud –Ouest et la Tunisie en Est (**Belgith S .et Amara S ., 2006**).

Une région située au centre du grand Erg oriental qui occupe la totalité du Souf de Est et Sud .Le zone d'Oued Souf dominée par la ville d'El Oued et les oasis de Guémar, Hassi khelifa , Debila et Magrane (**Chetehouna M .et Dou F ., 2006**).

- ✓ Le climat est de type saharien et désertique, et se caractérise par des variations très importantes de températures .les précipitation sont très faibles, la moyenne pluviométrique annuelle est de 35mm.
- ✓ Les températures sont très élevées en été (45 C° dans le Souf) et peuvent descendre jusqu'à 1C° en hiver (**Chetehouna M .et Dou F ., 2006**).

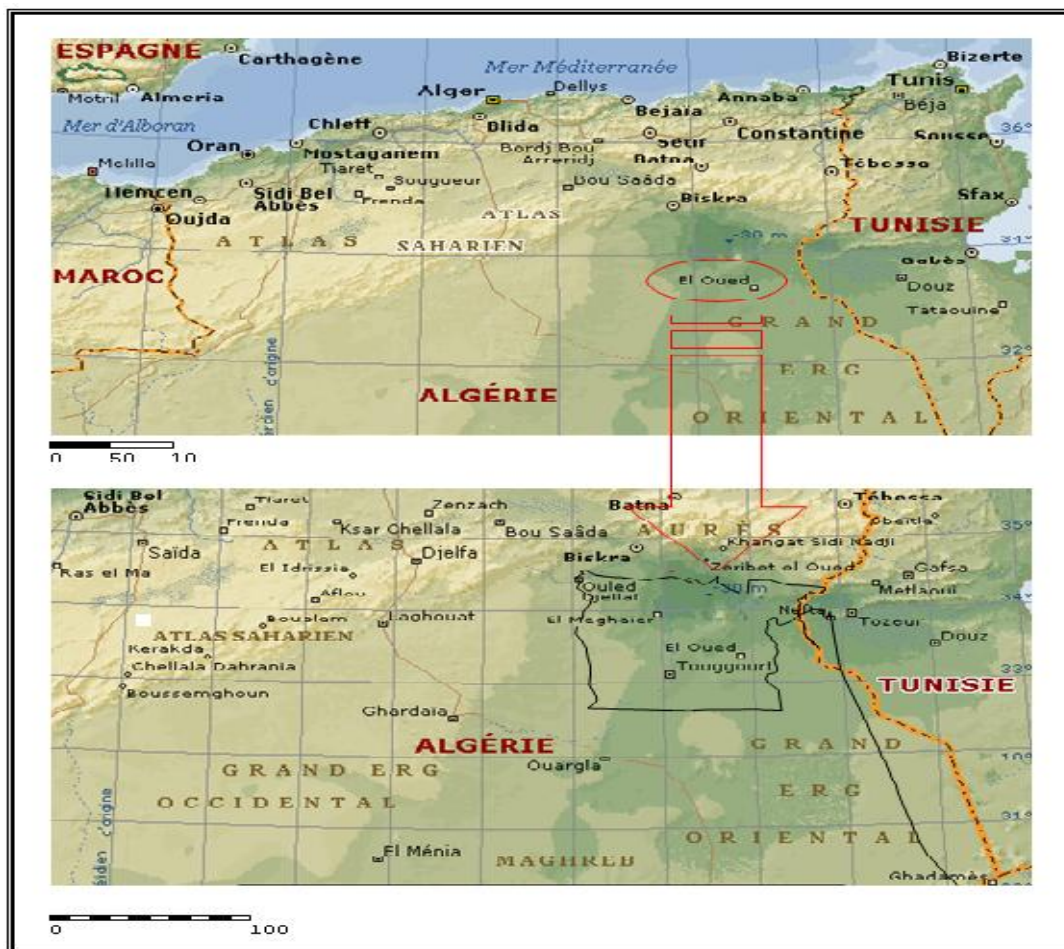


Figure 08 : Situation géographique de wilaya d'El Oued (**Anonyme C., 2013**).

Chapitre II:

Chapitre II:

Matériels et Méthodes

Objectif :

L'objectif de notre pratique est :

- Réalisé des sections au niveau des différents organes (racine, tige, feuille) de la *Melissa officinalis* L.
- La double coloration pour connaître les différents tissus de cette plante. (selon la forme des parois et leurs colorations).
- La coloration par rouge Soudan III pour répondre au problème posé d'avoir l'organe sécrétrice, lieu de synthèse et de stockage des huiles essentielles.

I - Matériels**I. 1. Matériels végétal**

La Melisse : (*Melissa officinalis* L)

I. 2. Matériels utilisés :

- Boite de pétri en verre.
- Boite de coloration (verre de montre).
- Lames et lamelles.
- Lames de rasoir neuves.
- Filtre.
- Microscope avec appareil photo numérique.

I. 3. Solutions utilisées et leurs rôles :

- **Eau distillée** : Pour le rinçage et la conservation des coupes.
- **Eau de javel** : Pour destruction des contenus cytoplasmique cellulaire : il ne reste que les parois squelettiques (**Bellakhal R. et Hamdi S., 2011**).
- **Acide acétique à 20%** : Pour neutralise l'excès de l'eau de javel et facilite la fixation ultérieure des colorants. et traitement pour acide acétique glacial, fait le disparition de la coloration rouge obtenu avec le rouge de Soudan III (**Nelly A. et Bice B., 1993**).
- **Solution de vert de méthyle** : Pour colorer les parois lignifiées ou subérifiées en vert ou en bleu ou en violet selon le degré de modification de la paroi, parmi lesquelles ; les parois du xylème, les fibres ligneuses et du sclérenchyme (**Zoubir M., 1991**).
- **Solution de rouge de Congo (C₂₂H₁₆N₄O)** : Pour colorer les parois (qui ne sont pas encore lignifiées) en rouge, et colorer les parois celluloseux en rose parmi les

quelles ; les parois du parenchyme, de l'épiderme, du phloème, du collenchyme et des fibres cellulósiques (Zoubir M., 1991).

- **Alcool dilué à 75% :** Mettre les échantillons 48 heures dans l'alcool pour nous permettre de réaliser des coupes aussi fines que possible après l'extraction de la chlorophylle (Zoubir M., 1991).
- **Rouge de Soudan III :** utilisé en coloration histologique pour fait ressortir les substances lipophile et les huiles essentielles . Il agit par transfert car il n'est pas soluble dans l'eau et est donc préparé sous forme d'une solution alcoolique (Nelly A. et Bice B., 1993).

II. Méthodes

II .1 .La réalisation des coupes histologique.

Pour obtenir des coupes fines au niveau racine, tige et feuilles de (*Melissa officinalis*), nous avons respecté les règles suivantes :

II.1.1. Méthode de coupure de tige et racine

On a mobilisé la lame de coupure avec pression doucement sur l'échantillon (tige et racine) et on contenue le mouvement en sens unique jusqu'à la fin de coupure. Complètement de l'échantillon (la premier section regule la surface de l'échantillon et puis en néglige cette section).

On refaire ce travail dans la même sens et de même méthode avec control de l'épaisseur de la section avec la conservation de la lame et l'échantillon inbibés souvent de l'eau.

A l'accumulation des nombreuses sections sur la port lame ou deplace ces section par un capteur au filtre des boite pétri constituant faible quantité d'eau distillée pour empêché la déshydrations des coupes.

Puis on prend ces sections à la coloration par la méthode de double coloration et coloration rouge Soudan III (Martoja M .et Martoja R ., 1967).

II.1.2.Méthode de coupure le feuille :

- Utiliser une lame de rasoir pour obtenir des coupes plus minces et mieux orientées.
- Tenir l'organe à couper de façon à obtenir des coupes transversales.
- Poser les avants bras sur la pailleasse afin d'éviter les tremblements.

- Mettre les coupes dans un verre de montre de performance avec l'eau distillée pour éviter le dessèchement.

Puis on prend ces sections à la coloration par la méthode de double coloration et coloration rouge Soudan III (**Martoja M .et Martoja R ., 1967**).

II .2. Techniques utilisées :

II. 2 .1 . Technique de la double coloration :

Parmi les techniques de coloration de la membrane cellulaire seule, est plus utilisées et qui permet de réaliser la différenciation de certains tissus, est la technique dite : techniques du double coloration, au vert de méthyle et rouge Congo. Elle comprend les étapes suivantes :

- Le traitement L'eau de javel du commerce diluée a 1/2 doit se prolonger pendant 15 à 20 minutes.
- 2 rinçages dans l'eau distillée additionnée à quelques gouttes d'acide acétique.
- **Première coloration** : toujours en verre de montre, par le réactif du vert de méthyle durant 1a 3 minutes.
- **Deuxième coloration** : par le réactif de rouge de Congo pendant **15** minutes.

NB : Rinçage à l'eau distillée après chaque d'étape (**Houeibib M .et Ahmed louly A., 2008**).

II. 2 .2 .Technique coloration par rouge de Soudan III : (méthode Beakbane A-B .et Boulos S-T., 1971).

- Faire des coupe aussi que possible et légèrement au niveau de feuille, tige et racine.
- Laver à l'alcool.
- Les plonger quelque minites dans une coloration de rouge Soudan III.
- Montre entre lame et lamelle dans une goutte d'eau glycinée.
- Montre entre lame et lamelle ajouté quelque goutte d'acide acétique.
- Observation au microscopique les régions les plus fines de la section.

II. 3. Montage entre lame et lamelle :

Les préparations sont examinées dans le liquide de montage : L'eau distillée, quand elles doivent être examinées immédiatement et recouvertes d'une lamelle dont on place un coté au contact de lame, puis on rabat lentement sur la préparation à la manière d'un volet : Ceci évite la formation de bulle d'air.

Observation au microscope optique (**Martoja M .et Martoja R ., 1967**).

II .4 .Technique d'observation :

Nous avons utilisé pour l'observation de nos échantillons le microscope optique (OPTICA) et nous avons pris les photos grâce à un appareil photo numérique incorporé.

Chapitre III :

Chapitre III :

Résultat et Discussion

Résultat et Discussion

III .Résultats et discussion

III. 1. Les coupes histologiques sans coloration

III .1.1.La racine

L'observation microscopique de la coupe transversale de la racine maîtresse, en évidence les caractéristiques de l'intérieur vers l'extérieur. On a trouvé un cylindre central occupant une grande surface suivi de large cortex, et l'épiderme unicellulaire (fig 10).

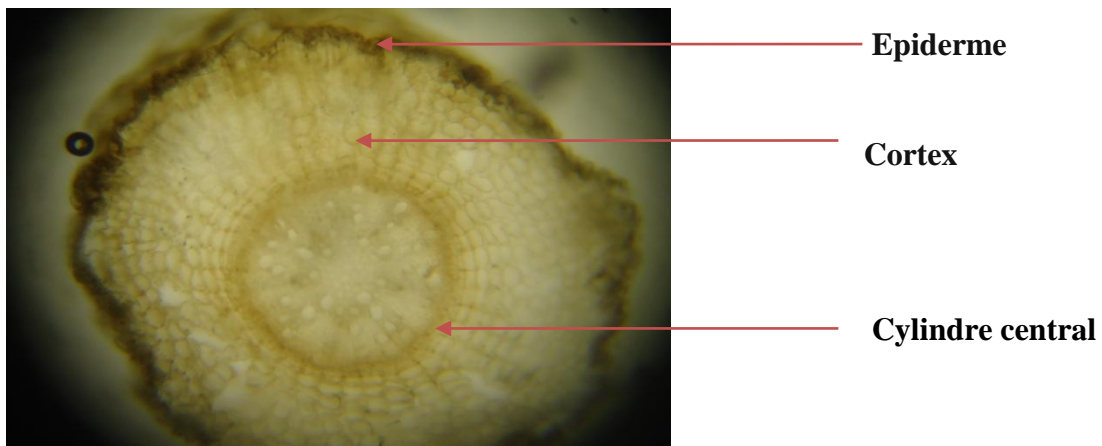


Figure 10 : Observation microscopique d'une coupe transversale au racine de *Melissa officinalis* L sans coloration. Gr X40

III .1.2.La tige :

L'observation microscopique de la coupe transversale de la tige, a mis en évidence les caractéristiques d'une la forme carrée est spécifique des Lamiacées, on a trouvé une épiderme unicellulaire, avec massifs de collenchyme dans les angles, suivi de cortex, on observe la moelle au centre (fig 11).

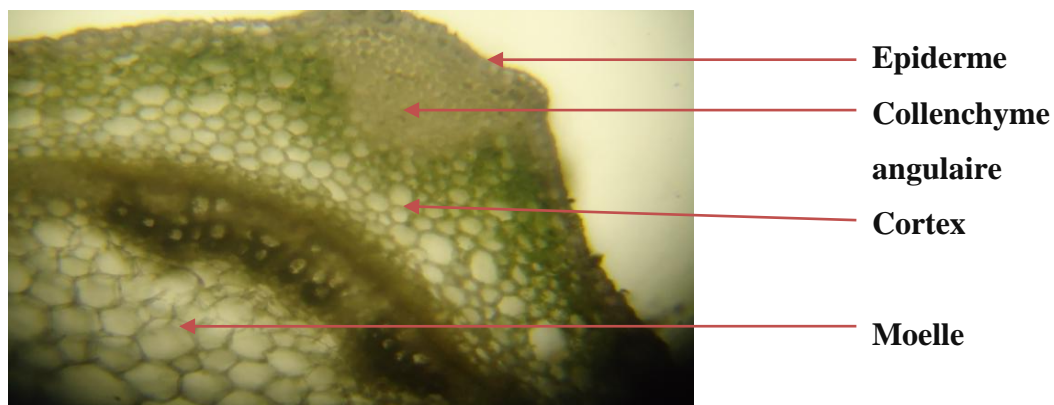


Figure 11: Observation microscopique d'une coupe transversale au tige de *Melissa officinalis* L sans coloration. Gr x 400.

III .1.3.La feuille :

L'observation microscopique des coupes transversales effectuée au niveau de la feuille (sans coloration) a montré que l'épiderme a une structure asymétrique ou bifaciale (supérieure et inférieure) ; selon (Nelly A .et Bice B., 1993) , la face supérieure ou adaxiale . Avec une épiderme supérieur unistratifié, à paroi cutinisée dont la surface est recouverte par des poils tecteurs et des poils sécréteurs capités et peltés ; et une face inférieure on observe la présence des poils épidermiques de type poil glandulaire. selon Fahn A. , (1979) ; Werker E.,al .(1985) ces poils sont peltés de type I caractérisé par la présence d'un stipe court, unicellulaire, et d'une tête sécrétrice formée de 12 cellules dont l'aspect est régulier. L'épiderme Suivi par un parenchyme palissadique est formé de cellules allongées perpendiculairement à la surface et très riches en chloroplastes (fig12).

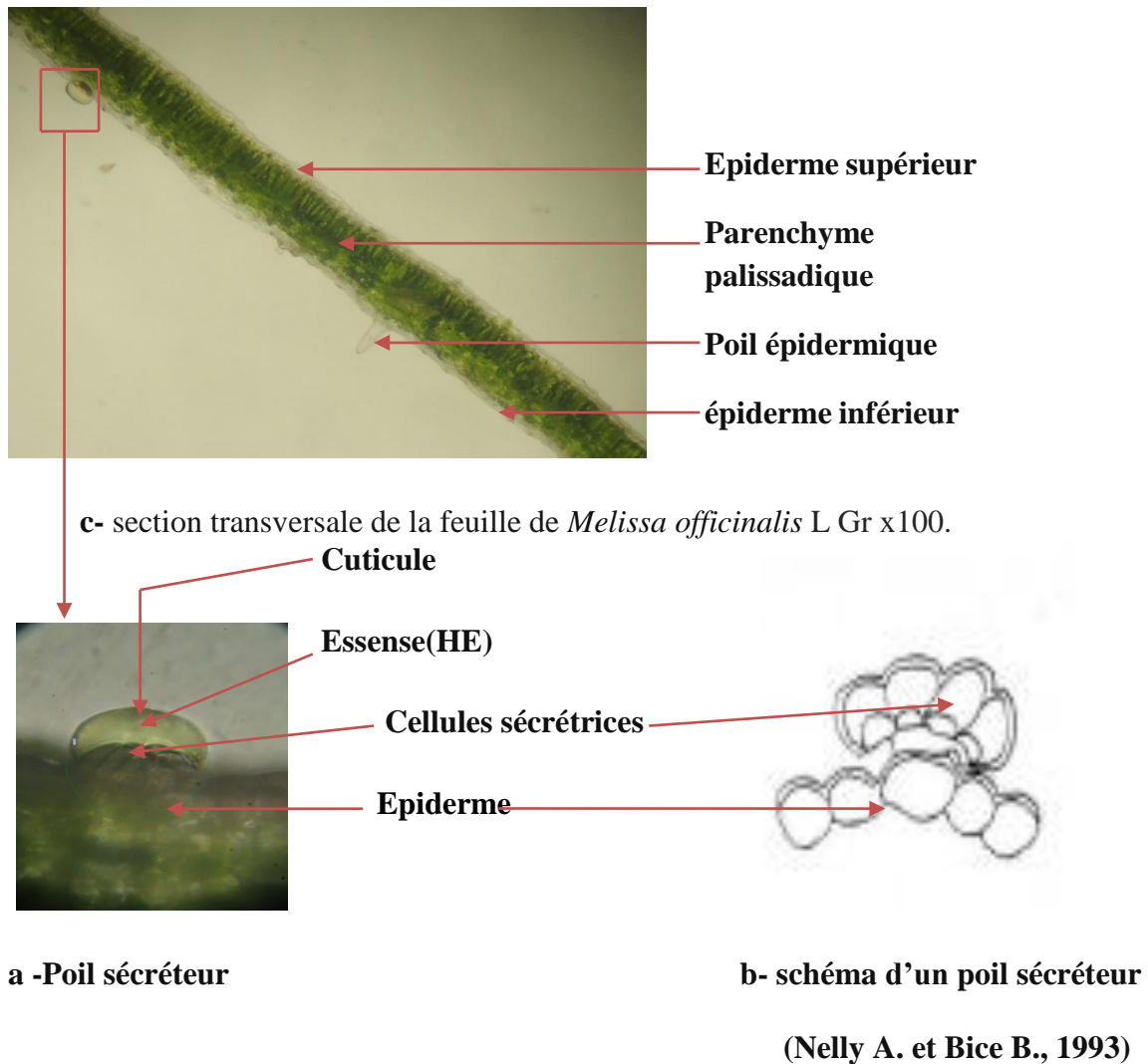


Figure 12 : Localisation du poil sécréteur au nivau de la feuille *Melissa officinalis* L
 (a)-**Poil sécréteur** Gr x400 ,(b)- **schéma d'un poil sécréteur** ; **c –** Observation microscopique d'une coupe transversale de la feuille de *Melissa officinalis* L sans coloration Gr x100.

III.2.Double coloration

III .2.1.La racine

Après la double coloration de la tige , on a remarqué de l'extérieur vers l'intérieur, une couche appelé cortex, est un ensemble des tissus périphériques sont exoderme, mésoderme endoderme. suivi par le Cylindre central est contient ensemble des tissus centraux (péricycle, xylème, phloème, parenchyme, sclérenchyme) (fig 13).

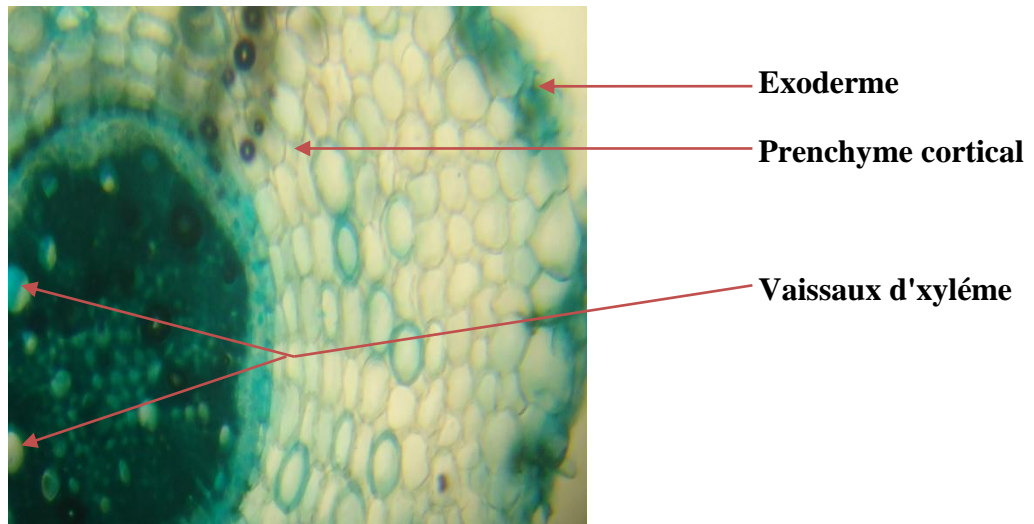
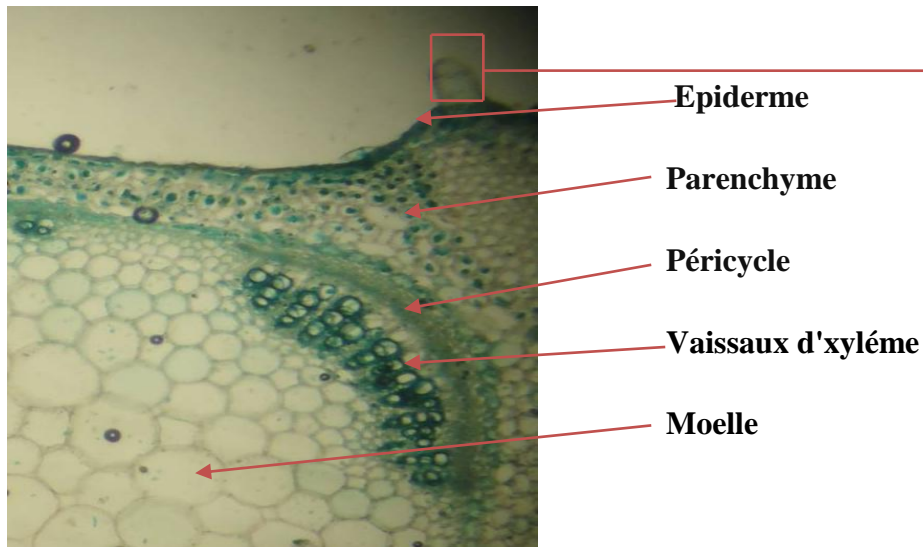


Figure 13 : Observation microscopique d'une coupe transversale de la racine de *Melissa officinalis* L après double coloration Gr x 100.

III .2.2.La tige :

La double coloration des coupes montrées que la tige contient une partie externe délimitée par l'épiderme, La surface monostratifiée, recouverte par la cuticule, présente de nombreux poils épidermiques, vers l'intérieur se trouve le parenchyme cortical pluristratifié suivi par le cylindre central. Ce dernier occupe la majeure partie des coupes ; il est formé par le péricycle, vaisseaux conducteur d' xylèmes est située à la tige des angles quadrangulaire. La moelle se trouve au centre (Fig14).



a- section transversale de la tige de *Melissa officinalis* L Gr x 100.



b-Poil épidermique Gr x 400

Figure 14 : Localisation du poil épidermique au niveau de la tige *Melissa officinalis* L

a- Observation microscopique d'une coupe transversale de la tige de *Melissa officinalis* L après double coloration Gr x 100 ; **b -** Poil épidermique. Gr x 400.

III .2.3.La feuille :

L'observation microscopique des coupes transversales de la feuille, a mis en évidence la structure asymétrique ou bifaciale typique des Dicotylédones.Elle présente une face supérieure ou adaxiale avec un épiderme supérieur unistratifié, à paroi cutinisée dont la surface est recouverte par les poils épidermiques.

Selon **Nelly A et Bice B., (1993)** de la feuille se trouve des poils tecteurs et des poils sécréteurs capités et peltés ; et une face inférieure ou abaxiale avec une épiderme inférieure se différencie du supérieure par une paroi faiblement cutinisée et selon **Gayral P et Vindt J.,(1961)** la présence de nombreux stomates diacytique en général , suivi le parenchyme palissadique et homogène (Fig15).

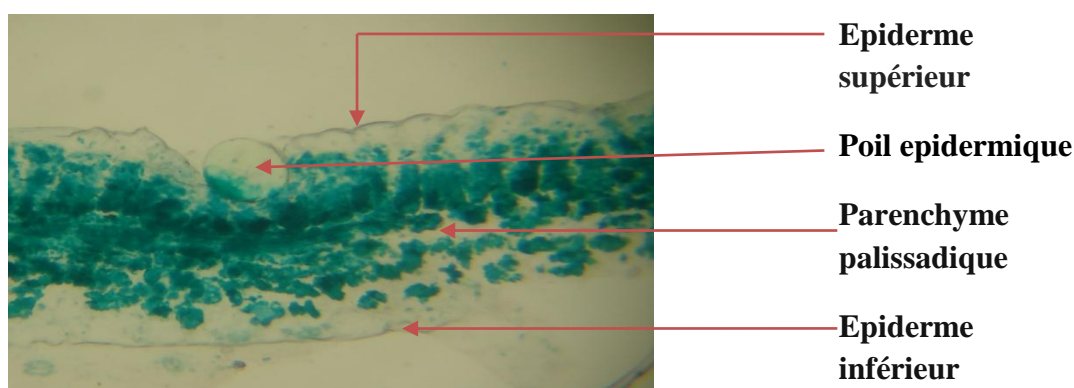
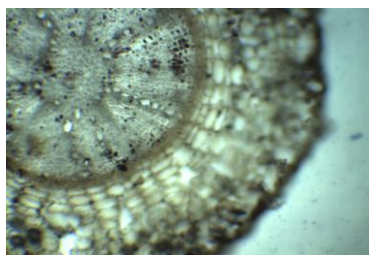


Figure15 : Observation microscopique d'une coupe transversale de la feuille de *Melissa officinalis* L après double coloration Gr x 400.

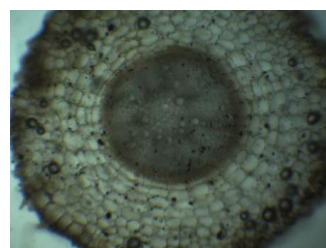
III.3.Coloration par rouge de Soudan III

III .3 .1.Le Racine :

Après coloration au rouge Soudan III, nous observons les tissus ne sont pas colorée en rouge parce qu'ils ne possèdent pas les substances Lipophiles (lipides) et les huiles essentielles(Fig16).



Avant l'ajout acide acétique



Après l'ajout acide acétique

Figure 16 : Observation microscopique d'une coupe transversale de la racine de *Melissa officinalis* L après coloration au rouge de Soudan III Gr x40.

III .3 .2.La tige :

Après coloration au rouge Soudan III on observe une coloration rouge à la surface de l'épiderme parce qu'il possède des substances Lipophiles (lipides) et des huiles essentielles selon Nelly A et Bice B., (1993), la plante de familles des Lamiacées six types de poils caractérisé par sécréteurs capités et peltés. La disparition de la coloration rouge obtenue avec le Soudan III suite au traitement par l'acide acétique glacial, nous permet de confirmer que ces poils sécréteurs jouent un role dans la sécrétion de l'huile essentielle (fig17).

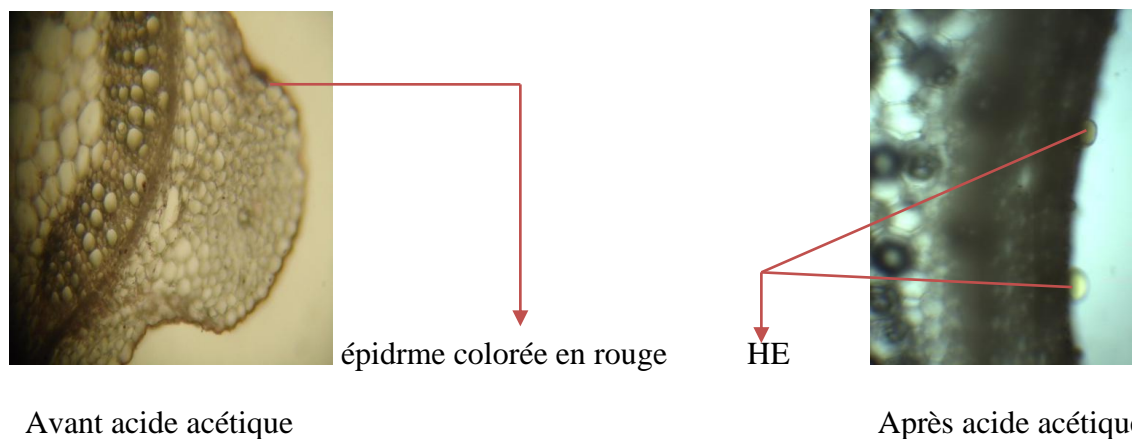
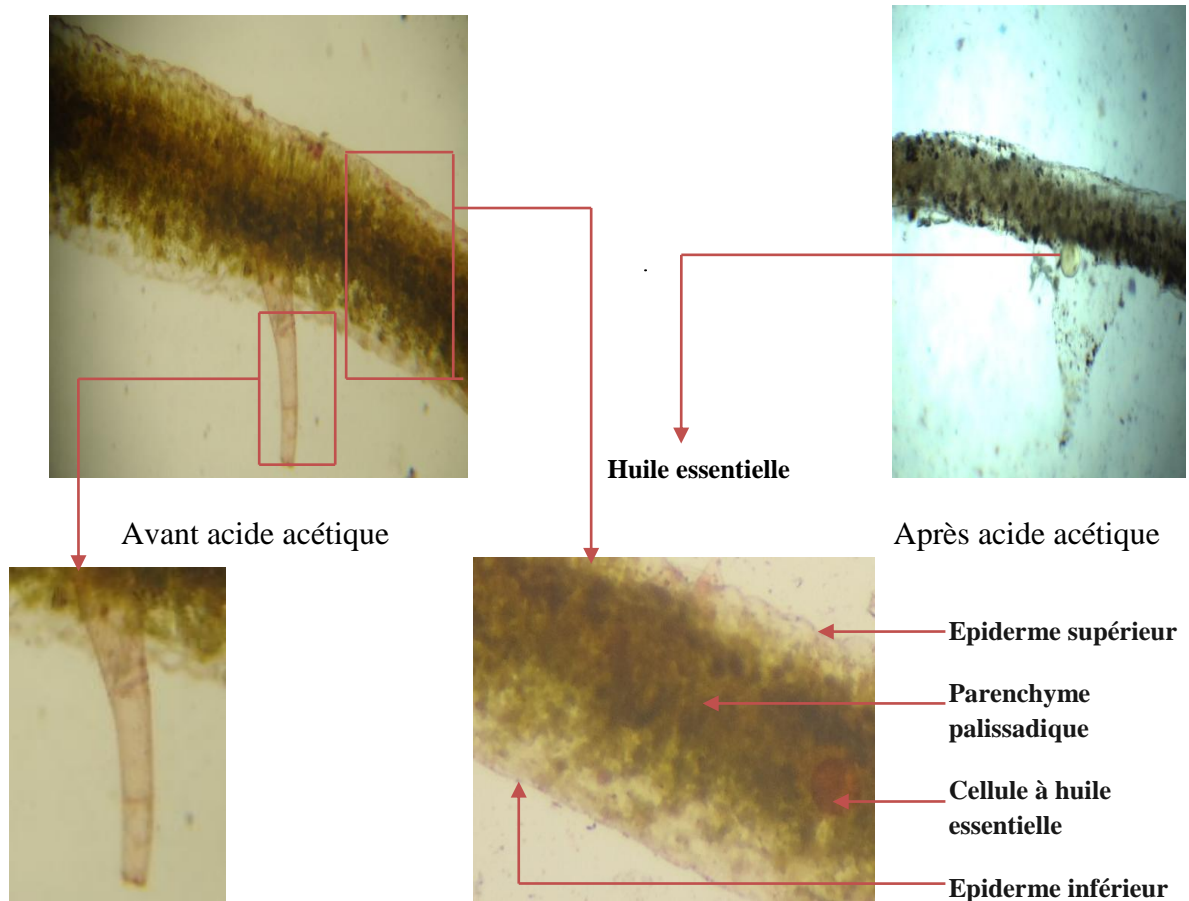


Figure 17 : Observation microscopique d'une Coupe transversale de la tige de *Melissa officinalis* L après coloration au rouge Soudan III Gr x100.

III. 3 .3.La feuille :

Après coloration au rouge Soudan III. L'épiderme inférieur apparu en couleur rouge parce qu'il possède des poils sécréteurs (Fahn 1979 ; Werker .et al., 1985), est Le poil sécréteur capités de type II, caractérisé par des poils pourvus d'un stipe unicellulaire ou plus fréquemment bicellulaire et d'une tête sécrétrice unicellulaire allongée. La partie apicale de la tête est surmontée de la chambre sous-cuticulaire dans laquelle se dépose le produit de sécrétion qui est de substance lipophile (lipide). La chambre sous-cuticulaire se rompt, libérant ainsi la sécrétion qui se dépose sur la surface extérieure de la cellule apicale. Chez la plantule, ces poils sont déjà formés et fonctionnels. Ils sont aussi présents dans toutes les parties de la plante adulte.

La disparition de la coloration rouge obtenue avec le Soudan III suite au traitement par l'acide acétique glacial nous permet de confirmer que ces poils glandulaires (fig18-a) jouent un rôle dans la sécrétion de l'huile essentielle (fig18).



a- Poil glandulaire Gr x 400 **b - section transversale de la feuille de *Melissa officinalis* L** Gr x 400

Figure 18 : Observation microscopique d'une coupe transversale de la feuille de *Melissa officinalis* L après coloration au rouge soudan III Gr x100 ; **a - Poil glandulaire** Gr x 400, **b - section transversale de la feuille de *Melissa officinalis* L** Gr x 400.

Conclusion générale

Conclusion générale

Enfin de cette étude, on a conclu que les huiles essentielles sont mélangées de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans la tige, la feuille. Leur biosynthèse issue du métabolisme secondaire par la photosynthèse, qu'elles sont synthétisées et accumulées dans des structures histologiquement spécialisées. On retrouve ces structures à proximité de la surface de la plante et dans tous les organes végétaux.

Après notre étude histologique, au niveau de la racine, la tige et la feuille de la plante *Melissa officinalis* L.

Les résultats obtenus montrent que les structures anatomiques sécrétrices sont présentes au niveau de la tige et la feuille).

Ces structures sont localisées précisément à la surface épidermique. Surtout les six types des poils sécrétrices capités et peltés, mais dans notre travail explicités deux types de poils sécrétrices :

- Les poils sécrétrices capités de type II est unicellulaire ou plus fréquemment bicellulaire.
- les poils sécrétrices peltés de type I est unicellulaire, et d'une tête sécrétrice formée de **12** cellules dont l'aspect est régulier, au niveau de l'épiderme de la feuille et tige.

Soulignons l'existence, de certains types de poils qui se distinguent sur les plantes aussi bien morphologiquement qu'histochimiquement et qui ont une sécrétion différente.

Il existe une variabilité au niveau de la fréquence des poils tecteurs et sécrétrices dans les différents (la racine, la tige et la feuille) des espèces, mais en général, il n'existe pas entre elles, des différences substantielles ni au niveau anatomique, ni dans les formations épidermiques (poils de recouvrement et poils sécrétrices), ni dans leur distribution.

Il faut approfondir cette étude par une étude à l'aide d'un microtome. Aussi par Microscopie électronique à balayage pour maîtriser cette étude en évidence, c'est orienté par l'étude de l'influence de la zone d'étude sur la morphologie (la tige et la feuille), de *Melissa officinalis* L.

Résumé

Résumé :

Les huiles essentielles sont des substances actives, ont des propriétés physiques et chimiques, mais leurs sécrétions par des structures spécialités. Parmi ces plantes sécrétrices des huiles essentielles on a choisis la Melisse « *Melissa officinalis* L ». Par l'étude histologique a niveau de la racine, la tige et la feuille de la plante a montré qu'il y'a deux type de poils sécréteurs.

Après notre étude histochimique par Rouge de soudan III. Nous avons trouve :

La feuille de *Melissa officinalis* L contient des structures sécréteurs externes caractérisé par deux types de poils de sécrétion ; poils sécréteur capités de type II et peltés de type I.

Au niveau de la tige on trouve des structures sécréteurs externes. Caratérisé par un seul type de poil de sécrétion ; poil sécréteur capités a de type II.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

✓ Référence en Française et en Anglais

- **Anonyme** .(2003). La Melisse officinale : Guide de production sous régie biologique. Sherbrooke. Filière des plantes médicinales biologiques du Québec .16 p (cité par **Pineau S.**,2012).
- **Anonyme**. (2010). Recommandations relatives à l'évaluation du risque lié à l'utilisation des huiles essentielles dans les produits cosmétiques. Ed. A.F.S.S.A.P.S, Paris. 20p.
- **Anonyme**.(2001). Encyclopédie des plantes médicinales, identification, répartition. soins. Ed. Larousse, 115p.
- **Baba Aissa F.** (2011). Encyclopédie des plantes utiles . Ed. 10 , avenue Abderrahmane Mira BEO Alger. 221-222p.
- **Babulka P.** (2005). La Melisse (*Melissa officinalis* L.) - Phytothérapie, 3 - 114 -117p. (cité par **Pineau S.**,2012).
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D et Idaomar M.** (2008). Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology, **46**. 446-475p. (cité par **Hellal Z.** ,2011)
- **Bardeau F.** (1976). La médecine par les fleurs . Ed . Robert Laffont. (citeé par **Bekhechi C.**, **Abdelouahid D-E.** ,2010).
- **Beakbane, B.A ., Boulos, S.T.**(1971) . A chemical method for separating leaves epidermis from mesophyll tissues. - U. A. R. J. Boç. 14: 317-321.
- **Bekhechi C.**, **Abdelouahid D-E.** (2010). Les huiles essentielles. Ed. I.S.B.N, Office des Publications Universitaires .54p.
- **Belgith S., Amara S.** (2006). anaglys microbiologique de lait de la chever locale dans la wilaya d'EL-OUED. projet de fin d'étude, Centre Universitaire EL-TARF, 73 ,76-78p.(cité par **Hassi M et Laoure J.**,2012).
- **Beloud A.** (2001). Plante médicinales d'Algérie .Ed. office des publications universitaires. 134p.
- **Benjlali B.** (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales Cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements .Ed . Rabat, Maroc. 43p.
- **Bouguerra A.** (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire .Thèse magister : Biotechnologies alimentaire. Constantine : Mentouri. 62p.
- **Bruneton J.**(1999) . Huiles esseentielles , In Pharmacognosie – phytochimie plantes médicinales . 3^{ème} Ed. Doc. et Tec lavoisier.(cité par **Bekhechi C., Abdelouahid D-E.** 2010).

- **Brunton J.** (1987). Elément de phytochimie de pharmacologie. Ed. Lavoisier Paris. 585p.
- **Carnat A-P., Carnat A., Fraisse D., Rioux L et Lamaison J-L.** (1998). The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. *subsp. Officinalis* L) tea, Pharmaceutica Acta Helvetiae, 72 (5). 301-305p.
- **Chetehouna M ., Dou F.** (2006).Le dromadaire et le parasitisme par les tiques : Etude critique sur la conduite de l'élevage et l'inventaire des ixodidae dans la région d'EL-OUED . projet de fin d'étude , Centre Universitaire EL-TARF,95 ,97- 101p.(cité par **Hassi M et Laoure J.**,2012).
- **Degryse A-C ., Delpla I ., Voinier M-A.**(2008) . Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Thèse Ingénieur : Génie sanitaire. EHESP. 87p.
- **Duval L.** (2012). Les huiles essentielles à l'officine .Thèse Doctorat : Pharmacie. Rouen : UFR de médecine et de pharmacie. 154p.
- **El kalamouni C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse doctorat : Sciences des Agroressources : Toulouse. 263p.
- **Fahn A.** (1979). Secretary tissues in plants. - London, New York and San Francisco.(cité par **Nelly A et Bice B .,** 1993).
- **Florence M.** (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse doctorat : Pharmacie : Lorraine .107p.
- **Franchomme, P., Penoël, D et Jollois R.** (2003). L'aromathérapie exactement. Éditions Jollois (cité par **Duval L .,** 2012).
- **Ganter P et Jolles G.**(1970) . Histochimie normale et pathologie .Ed : Gauthier .Vol :2 .1573-1576p.
- **Gayral P ., Vindt J.** (1961).Anatomie des végétaux vasculaires .Ed .D.O.I.N, Paris. 147p.
- **Gérard D., François C., Pierre V et Délia V.**(2009) .petit la Rousse de plante médicinales. Ed. La Rousse, paris .316-317p.
- **Gruenwald J., Brendler T. et Jaenicke C.** (2007). Physiiciens Desk Référence (PDR) for herbal medicines - 4^{ème} édition - Montval : Thompson. 1026 p. (cité par **Pineau S.** ,2012)
- **Hamdani D.** (2012). Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques du bruche du Haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae) . Thèse magister : Sciences Biologiques. Tizi-Ouzou : Mouloud Mammeri. 126p.

- **Hameurlaine S.** (2009). Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa . Thèse magister : Chimie Organique .Ouargla : Kasdi Merbah . 86p.
- **Hassi M., Laoure J.** (2012). La bio activiyé de l'huile essentielle *d'Organum majorana* L . mémoire de fin d'étude .biologie physiologie végétale en El- oued .centre université d' El-oued . 40p.
- **Hellal Z .**(2011) .Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Thèse magister : Biologie. Tizi-Ouzou : Mouloud Mammeri. 120p.
- **Houeibib M ., Ahmed louly A.** (2008). Fascicule de travaux pratiques de biologie végétal . université de nowrk chott, faculté des sciences et technique départements de biologie . 16p.
- **Jantet E.** (2004). L'utilisation des plantes médicinales dans la popution Créole de Guyane Française, Université d'Orleans, 27p.
- **Khenaka K.** (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse magister : Microbiologie Appliqué. Constantine : Mentouri .81p.
- **Krausz M.** (2009). Inventaire des superficies françaises en plantes aromatiques et médicinales : Résultats 2008 - France : Comité des Plantes à Parfum Aromatiques et Médicinales. 12 p. (cité par **Pineau S.** ,2012)
- **Legrand G.**(1978).Manuel préparatoire en pharmacie .8^{ème}éd .Masson . .(cité par **Bekhechi C., Abdelouahid D-E.** 2010).
- **Lemberg S.** (1982). « Armoise » *Artémisia herba alba* .perfumer flavorist. 58-63p. (cité par **Bekhechi C., Abdelouahid D-E.** 2010). .
- **Lmouaci A.** (2005). Etude histologique de la partie aérienne d'une plante médicinale de la famille des Capparidacées : *Capparis Spinoza* L. Mémoire de une DES en biologie végétale. Département de biologie. Université d'Annaba. 13, 18 p.
- **Lucchesi M-E.** (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse doctorat : Chimie. HAL : Reunion .146p
- **Lucienne A-D.** (2010). Les plantes médicinales d'Algérie .2^{ème} Ed : BERTI, Alger. 168-169p.
- **Martoja M ., Martoja R.** (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed. Masson et Cie.185p.

- **Mélanie T.** (2001). Profil des produits forestiers première transformation huiles essentielles. Ed. I.S.B.N, Canada. 21p.
- **Meyer S., Reeb C. et Bosdeveix R.** (2008). Botanique : Biologie et physiologie végétales - 2ème édition - Paris : Editions Maloine , 490 p.
- **Nelly A ., Bice B .** (1993) . Observations morpho-anatomiques et histochimiques *Salvia willeana* (Holmboe) Hedge et *Salvia fruticosa* dans les Mill. de Chypre. Flora Mediterranea 3 . Ed : I.S.S.N 1120-4052. 283 – 297p.
- **Ngamo I., Hance T.** (2007). Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. Tropicultura. 215-220p. . (cité par **Hamdani D.**, 2012)
- **Penchev P.** (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, Thèse doctorat, Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse,
- **Perrot E ., Paris R.** (1971). Les plantes médicinales - Tome 2 - France : Presses Universitaires de France - 117 p.
- **Pharmacopée française.** (2003). *Melisse* pour préparations homéopathique Ed .A.N.S.M. 4p.
- **Pineau S.** (2012). Mécanismes d'action cellulites' et physiologiques des composés de la Melisse (*Melissa officinalis L.*) et de la valériane (*Valeriana officinalis L.*) Caractérisation et perspectives d'applications pharmaceutiques et phytosanitaires.Thèse doctorat, Université angers, 33- 77p.
- **Rozzi N-L., Phippen W., Simon J-E et Singh R-K.** (2002) .Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals, Lebensm.-Wiss. U.-Technol., 35. 319 –324p.
- **Sadraei H., Ghannadi A et Malekshahi K.** (2003). Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions, Fitoterapia , 74 (5), 445-452p.
- **Siaka K.** (2001). Extraction des huiles essentielles par distillation . Ed .I.N.F.G.A.T.E, Germany. 6p.
- **Thoby C.** (2009). La mélisse officinale, *Melissa officinalis L.* - Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes, n°18 - 136 p.
- **Vassart S.** (2009). Les Huiles Essentielles. Ed. I.P.I, Besançon. 92p.
- **Werker E., Ravid U. et Putievsky E.**(1985). Structure of glandular hairs and identification of the main components of the secreted material in some species of the *Labiatae*. - Israel J. Bot. 31-45p (cité par **Nelly A et Bice B .**, 1993).

- **Wichtl M., Anton R.** (2003). Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique -2éme édition - Paris : Editions Tec et Doc - 691 p (cité par **Pineau S.**,2012).
- **Zhiri A.** (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra News. Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix, 12, 8p

✓ Référence en Arabe

- **بلکل ر و حمدي س . , (2011)-** دراسة مرجعية تحديثية للأعمال التطبيقية في علم الحياة النباتية " التشريح النباتي " . مذكرة مقدمة لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي .المدرسة العليا للأساتذة القبة الجزائر,77ص.
- **زوبير م . , (1991) .** علم النبات " الشكل الظاهري و تشريح النبات " .ديوان المطبوعات الجامعية. القبة – الجزائر, 395ص.

✓ Siteé Internet

- **Anonyme A.** (2013). (Page consultée le27/01/2013)
<http://www.herbierimages.be.,com>
- **Anonyme B.** (2013).(page consulter le13/02/2013).
<http://www.tela-botanica.org.,>
- **Anonyme C.** (2013). (Page consultée le 29/05/2013).
[http://ns35.hosteur.com/~eloued/wilaya.Htm.](http://ns35.hosteur.com/~eloued/wilaya.Htm)

Annexes

Annexes

ANNEXE

Annexe 01 :

Tableau 01 :Les conditions pratiques de distillation (Avantages et limites des différents procédés de distillation) (**Benjilali B ., 2004**).

	A) Distillation à l'eau ou hydrodistillation	B) Distillation à l'eau et à la vapeur ou vapo-hydrodistillation	C) Distillation à la vapeur directe ou vapodistillation
Type de l'alambic	Simple, de faible coût, portable, peuvent être facilement installés dans les régions de production.		De grande dimension, pour augmenter la cadence de distillation.
Type du matériel végétal	Indiqué pour certain type de matériel végétal : les fleurs. N'est pas adapté pour les végétaux contenant des composés saponifiables, hydrosolubles ou des constituants à points d'ébullition élevés (>100 °C).	Convient bien pour la distillation des plantes entières et feuillage.	Convenant pour n'importe quelle charge sauf matériel finement broyé. Particulièrement indiqué pour des huiles essentielles exigeant des températures relativement élevées (>100 °C) pour leur entraînement.
Mode de chargement	Le matériel végétal doit être complètement couvert par l'eau.	Le matériel doit être chargé, à l'intérieur de l'alambic de manière la plus homogène possible, pour éviter des chemins préférentiels pour la vapeur.	
Conditions de diffusion	Bonne, si le matériel est proprement chargé et s'il est mobile dans l'eau	Bonnes.	Bonnes, si la vapeur est légèrement mouillée.

	bouillante.		
Pression de vapeur dans l'alambic	Toujours autour de la pression atmosphérique.		Peut être modifiée selon la nature du matériel végétal.
Température dans l'alambic	Autour de 100 °C, risques de brûlures des plantes par contact direct du végétal avec l'alambic.	Autour de 100 °C (diminue avec l'altitude : 93 °C à 2 500 m).	Peut être modifiée (vapeur saturée ou surchauffée) suivant la nature du matériel végétal.
Vitesse de distillation	Relativement faible.	Assez bonne.	Élevée.
Hydrolyse des constituants d'huile	Condition toujours non favorable. La vitesse d'hydrolyse d'ester est élevée.	Problème amoindri dû à la séparation du matériel végétal de l'eau.	Bonne condition. L'hydrolyse est en général faible.
Rendement d'huile	Souvent relativement faible : hydrolyse et perte par solubilisation dans l'eau.	Bon, s'il n'y a pas une mouillabilité excessive de la plante.	Bon, si les conditions de travail sont bien conduites.
Qualité de l'huile	Dépend des conditions de l'opération de distillation.	Toujours bonne.	Bonne, si l'opération est proprement conduite.

Annexe 02

Tableau 01: Composition de l'huile essentielle de mélisse (exprimée en pourcentage) selon différentes sources et deux différentes techniques d'extraction (Hydrodistillation et extraction au CO2 supercritique)(**Penchev P., 2010**) .

Référence	Carnat A-P et al., (1998)	Sadraei H et al ., (2003)	Rozzi N et al ., (2002)	Rozzi N et al ., (2002)
Technique	Hydro-Distillation	Hydro-Distillation	Hydro-Distillation	ESC
Composé				
Octen-3-ol	1 ,3	-	-	-
6-methyl-hepten-2one	0,3	0,35	-	-
Trans- β -ocimene	0,5	0,3	-	-
Linalool	0,9	0,56	-	
Para-menth-3-en-8-ol	0,2	-	-	-
Citronellal	12,9	39 ,47	5	2,87-3,53
Citronellol	6,2	0,63	-	-
Néral	24,5	20,40	33,63	21,77-23,3
Geraniol	0,7	0,18	-	-
Geranial	35,3	27,84	47,06	61,40-63,23
α -Cubebène	0,2	-	-	-
Eugénol	0,1	-	-	-
Acétate de Geranyl	7,1	0,58	-	-
Caryophyllène	4,9	2,37	1,23	6,63-8,47
Germacrène	0,2	-	-	-
Acétate d'Eugenol	0,1	-	-	-
Oxyde de caryophyllène	2 ,7	0 ,67	3,56	0,9-2 ,63
Acétate de néral	-	-	N/A	0-1 ,57
α -pinène	-	0,11	-	-
Cis- β -ocimène	-	0,1	-	-
Oxyde de cis- linalool	-	0, 39	-	-

GLOSSAIRE

- **Cellule sécrétrice** : cellule à aspect parenchymateux, se spécialisant en accumulant un produit (résine, oxalate de calcium...) dans ses vacuoles. Elle meurt à la concentration maximale du produit.
- **Chlorenchyme** : parenchyme chlorophyllien spécialisé dans la photosynthèse.
- **Chloroplaste** : plaste contenant les chlorophylles, siège de la photosynthèse.
- **Coiffe** : tissu parenchymateux en forme de capuchon recouvrant le méristème apical de la racine. La coiffe protège le méristème, lubrifie le sol en libérant des mucilages et oriente la croissance de la racine.
- **Collenchyme** : tissu de soutien homogène, peu spécialisé, composé de cellules vivantes à paroi cellulosique épaissie, fréquent dans les tiges jeunes et dans les feuilles.
- **Cortex** : (= cylindre ou manchon cortical = écorce) : dans la racine, ensemble des tissus périphériques (rhizoderme ou assise pilifère, exoderme, parenchyme cortical, endoderme).
- **Cuticule** : pellicule imperméable constituée de cutine (polyester d'acides gras hydroxylés) et de cire recouvrant la paroi externe de l'épiderme.
- **Cylindre central** : (= stèle) : dans la racine, ensemble des tissus centraux (péricycle, xylème, phloème, parenchyme, sclérenchyme).
- **Cylindre cortical** : (= écorce = manchon cortical = cortex) : dans la racine, ensemble des tissus périphériques (rhizoderme ou assise pilifère, exoderme, parenchyme cortical, endoderme).
- **Cytoplasme** : contenu cellulaire (sans le noyau) composé du cytosol et d'organites.
- **Duramen** : bois non fonctionnel situé au centre des troncs et des tiges ligneuses.
- **Ecorce** : dans les tiges, ensemble des tissus externes au bois (cambium, liber et périodermes). Dans les racines, ensemble des tissus périphériques (rhizoderme ou assise pilifère, exoderme, parenchyme cortical, endoderme).
- **Epiderme** : tissu de protection externe des tiges et des feuilles, composé d'une seule couche de cellules jointives, vivantes, non chlorophylliennes à paroi cellulosique. L'épiderme peut comporter des stomates et des poils.
- **Faisceau conducteur** : dans la tige, le pétiole et la feuille, structure associant l'ensemble des tissus conducteurs (xylème, phloème) ainsi que le cambium chez les

dicotylédones et entourée d'une gaine fasciculaire améatique de parenchyme ou de fibres.

- **Fibre** : cellule sclérenchymateuse fusiforme allongée à paroi secondaire très épaisse et lignifiée, morte à maturité. S'imbriquant étroitement, les fibres forment souvent des massifs ou des anneaux continus assurant une grande rigidité aux organes.
- **Gaine fasciculaire** : tissu améatique parenchymateux ou fibreux, composé d'une ou de plusieurs couches de cellules jointives et entourant complètement le faisceau pour en assurer son étanchéité.
- **Laticifère** : élément uni- ou pluricellulaire ramifié, conducteur de latex.
- **Lacune** : grand espace intercellulaire formé par la jonction de plusieurs méats ou par la dégénérescence de cellules, rempli d'air ou de déchets cellulaires.
- **Méat** : espace intercellulaire de petite taille se formant suite à la disparition de la lamelle moyenne (= mitoyenne) et à la séparation des parois primaires des cellules.
- **Mésophylle** : parenchyme chlorophyllien situé entre les épidermes supérieur et inférieur de la feuille.
- **Métaxylème** : partie du xylème primaire se différenciant après le protoxylème lorsque la croissance est terminée. Il est constitué de trachéïdes chez les gymnospermes et les ptéridophytes et de vaisseaux chez les angiospermes.
- **Nervure** : dans la feuille, faisceau conducteur entouré de tissu de soutien.
- **Parenchyme** : tissu fondamental composé de cellules peu différenciées à parois minces. Il joue essentiellement un rôle de remplissage, auquel peuvent être associés d'autres rôles tels que l'assimilation et le stockage des matières de réserve.
- **Parenchyme central** : parenchyme présent dans le cylindre central de la racine.
- **Parenchyme cortical** : parenchyme présent dans le cylindre cortical de la racine.
- **Parenchyme lacuneux** : parenchyme présent dans le limbe de la feuille et présentant de grands espaces intercellulaires (lacunes).
- **Parenchyme palissadique** : parenchyme présent dans le limbe de la feuille, peu méatique, formé de cellules allongées perpendiculairement à la surface et très riches en chloroplastes.
- **Paroi primaire** : paroi mince de nature essentiellement cellulosique qui se dépose sur la lamelle moyenne durant la croissance de la cellule.
- **Poche sécrétrice** : lacune dans laquelle s'accumule le produit de sécrétion issu des cellules qui la bordent.
- **Poil épidermique** : excroissance des cellules de l'épiderme de la tige ou de la feuille.

- **Poil absorbant** : excroissance des cellules de l'épiderme de la racine qui augmente la surface d'absorption de celle-ci.
- **Protoderme** : dans les tiges et les racines, méristème primaire donnant naissance au tissu de protection.
- **Sclérenchyme** : tissu de soutien mécanique composé de cellules à paroi secondaire épaisse et lignifiée, mortes à maturité. Il est constitué de fibres ou de sclérites.
- **Stomate** : structure épidermique des tiges et des feuilles formée de deux cellules de garde entourant une ouverture (ostiole) permettant les échanges gazeux.
- **Tissu cortical** : tissu parenchymateux situé entre le rhizoderme et la stèle (= cylindre central de la racine). Il est limité intérieurement par l'endoderme.
- **Vacuole** : sac membraneux présent dans le cytoplasme de la cellule végétale et contenant une solution liquide aqueuse : le suc vacuolaire.
- **Vaisseau** : éléments conducteurs du xylème formés de la superposition d'éléments courts, à paroi transversale inexistante et à paroi longitudinale ornée de ponctuations. Ils ne sont complètement différenciés et fonctionnels qu'au terme de la croissance du végétal ; ils constituent le métaxylème. Ils assurent la conduction de la sève brute et jouent aussi un rôle de soutien.
- **Xylème** : tissu constitué de trachées, de trachéides et/ou de vaisseaux, conducteurs de la sève minérale chez les plantes vasculaires.

Résumé :

Les huiles essentielles sont des substances actives, ont des propriétés physiques et chimiques, mais leurs sécrétions par des structures spécialisés. Parmi ces plantes sécrétrices des huiles essentielles on a choisi la Melisse « *Melissa officinalis* L ». Par l'étude histologique au niveau de la racine, la tige et la feuille de la plante a montré qu'il y'a deux type de poils sécréteurs.

Après notre l'étude histochimique par rouge de Soudan III. Nous avons trouvé :

La feuille de *Melissa officinalis* L contient des structures sécréteurs externes caractérisé par deux types de poils de sécrétion ; poils sécréteur **capités** de type II et **peltés** de type I.

Au niveau de **la tige** on trouve structure sécréteur externes caratérisé par un seul type de poil de sécrétion ; poil sécréteur capités de type II.

Mots clés : Les huiles essentielles, la Melisse (*Melissa Officinalis* L), L'histologie, Racine, Tige, Feuille, Poils sécréteurs, rouge Soudan III.

ملخص

الزيوت الطيارة مركبات نشطة لها خصائص فيزيائية وكيميائية. تفرز من خلال بنية متخصصة ' ومن بين النباتات المفرزة للزيوت الطيارة اخترنا نبات الترنجية (*Melissa officinalis* L) من خلال ذلك قمنا بدراسة تشريحية على مستوى الجذر الساق. الأوراق هذه النبتة من اجل توضيح النوعين من الشعيرات الإفرازية.

بعد الدراسة النسيجية من خلال المعاملة تحصلنا على أن أوراق نبات الترنجية (*Melissa officinalis* L) تتكون من بنية مفرزة خارجية تتميز بنوعين من الشعيرات الإفرازية شعيرات إفرازية منتفخة الأعلى من النوع الثاني وشعيرات إفرازية درقية من النوع الأول و بنية مفرزة خارجية نوعها خلايا زيتية أما الساق وجدنا البنيات الخارجية تتميز بنوع واحد من الشعيرات الإفرازية شعيرات إفرازية منتفخة الأعلى من النوع الثاني.

الكلمات المفتاحية : الزيوت الطيارة ' نبات الترنجية (*Melissa officinalis* L) ' الدراسة التشريحية ' الجذر ' الساق ' الورقة ' الشعيرات الإفرازية , rouge Soudan III .