



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

FILIERE : Biotechnologie

OPTION : Biotechnologie Végétale

Thème

Induction de la callogenèse chez quelques
plantes médicinales (*Urtica dioica*,
Marrubium vulgare etc.).

Présenté par :

SAOULI Nour El Houda & BOUAMINE Madiha Ikram

Soutenu le / / 2025

devant le jury composé de :

| | | | |
|-----------|-----------------------|-------|---------------------------------|
| Président | M. ZERAIB Azzeddine | (MCA) | Univ. Abbès Laghrou – Khenchela |
| Encadreur | M. FERCHA Azzeddine | (MCA) | Univ. Abbès Laghrou – Khenchela |
| Examineur | Mlle. BOUZIANE Zahira | (MCB) | Univ. Abbès Laghrou – Khenchela |

Année universitaire 2024/ 2025

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous remercions ALLAH, le Tout-Puissant, de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements aux membres du jury, Dr ZERAIB Azzeddine et Dr BOUZIANE Zahira, qui nous ont fait l'honneur d'accepter de juger notre travail.

Nous adressons également nos profonds remerciements à notre promoteur, Dr FERCHA Azzeddine. Nous le remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, ainsi que pour les conseils qu'il nous a accordés tout au long de ce travail. Merci également pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.

Sans oublier tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abbes Laghrour Khenchela, pour leur aide, leurs conseils et leur soutien.

Nous tenons aussi à remercier toute l'équipe des laboratoires pédagogiques de l'Université Abbes Laghrour Khenchela « El Hamma ».

Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidés à l'élaboration de ce modeste travail.



Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

À ces moments-là, quand on arrive à la fin d'un long parcours rempli de nuits sans sommeil, de larmes et de sourires, il ne reste qu'une chose à faire : lever les mains vers le ciel et dire : **Alhamdulillah** .

Je remercie **Allah**, qui ne m'a jamais laissé seul dans mon chemin, mais qui a été avec moi à chaque pas, même dans les moments les plus sombres.

C'est Lui qui m'a donné la force quand mes bras se sont fatigués, qui m'a guidé quand j'étais perdu, et qui a ouvert des portes que je n'aurais jamais imaginées.

À Toi Seigneur, toute reconnaissance, car Tu as été mon véritable soutien, mon inspiration première et dernière.

Je remercie **moi-même**, cette âme qui s'est fatiguée, est tombée, puis s'est relevée encore et encore, malgré la douleur, le doute et la peur.

Le chemin n'était pas facile, mais j'ai continué, parce qu'en moi vivait une volonté inébranlable, et un rêve que je ne voulais pas voir mourir.

Merci à moi-même d'avoir cru en moi quand j'ai douté, et d'être resté debout quand le monde semblait me rattraper.

Je dédie ce travail à mon père bien-aimé, **Saouli Moussa**, qui n'était pas seulement un nom sur mon diplôme, mais un pilier dans mon existence.

Tu as été pour moi un soutien inébranlable, un cœur qui aime sans limites, une âme qui se fatigue pour moi sans jamais se plaindre.

Tu m'as appris à rêver, à être patient, à être une personne avant d'être une étudiante ou une chercheuse.

À toi mes premiers mots, et mes premières larmes de fierté.

Je remercie ma mère chérie, **Azizi Zoulikha**, celle dont l'amour fut ma première leçon, et dont les nuits blanches ont construit mon avenir.

Chaque mot d'encouragement, chaque veille pour moi, chaque sourire malgré la fatigue m'ont porté plus haut.

Quand je sentais la faiblesse, c'est ton souvenir qui me redonnait de la force.

Merci d'avoir été tout pour moi, sans jamais rien refuser, même un mot.

Je remercie mes frères bien-aimés, **Oussama** et **Wail** , qui ont marché avec moi depuis le début.

Vos rires, vos disputes, vos prières et votre soutien ont eu un énorme impact sur mon âme.

Vous êtes ceux qui m'avez appris qu'on peut avoir un dos solide derrière soi, et que la famille est le vrai refuge dans ce monde.

Je remercie ma sœur unique et chère à mon cœur, **Manal**, dont le sourire était une source de chaleur, et les mots étaient un réconfort constant.

Chaque fois que j'ai perdu espoir, tu étais là pour me rappeler que je n'étais pas seul, et que j'avais en moi une force que je n'avais pas encore découverte.

Je remercie la femme de mon frère, **Iman**, qui n'était pas éloignée, mais proche, parfois même plus proche.

Chaque mot gentil, chaque encouragement, chaque geste de respect de ta part a marqué mon cœur.

Merci d'avoir fait partie de ma famille, d'avoir été une prière pour moi, et un rayon de lumière dans ma vie.

Je remercie aussi **les petits qui viennent**, ceux dont le temps n'est pas encore venu, mais dont la présence future est ma motivation pour être meilleur.

Pour le jour où vous serez heureux grâce à ce que j'ai construit, je continue mon chemin, bâtissant un foyer de connaissance et de sécurité.

Et enfin, je dédie ces lignes à **Hadjer**, mon amie exceptionnelle, qui a été bien plus qu'une présence, mais un véritable soutien.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin , par un mot, une prière, un soutien matériel ou moral.

Je n'ai oublié personne, chacun a joué son rôle, petit ou grand, dans ce voyage.

Merci à tous, vous avez été une partie essentielle de cette journée.

Grâce à tous ces gens, et par la volonté d'Allah, ce travail est aujourd'hui entre mes mains.

Merci à tous ceux qui ont été ma lumière, mon soutien, et ma prière.

Nour El Houda Saouli

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(يرفع الله الذين آمنو منكم و الذين أوتوا العلم درجات و الله بما تعملون خبير).

Loué soit Dieu, nous n'avons atteint nos débuts que grâce à sa facilitation, nous n'avons atteint nos fins que grâce à sa direction, et nous n'avons atteint nos objectifs que grâce à sa grâce. Alors, louange à Dieu, qui m'a permis de franchir pleinement cette étape de mon parcours académique.

Avec tout mon amour, je dédie le fruit de mon travail à mon moi ambitieux, qui ne m'a jamais déçu.

À celui qui a lancé l'histoire, mon père, mon pilier, Bouamine Mabrouk, celui qui a semé dans mon âme la détermination et la fierté. À celui dont l'absence était une présence qui me remplissait, et dont la voix était une prière qui m'accompagnait. Je l'ai fait, Papa, pour que tu puisses dormir l'esprit tranquille, et pour que tu sois fier de moi parmi les habitants du ciel.

Mon premier honneur fut de porter ton nom, et me voici, le brandissant haut comme tu en rêvais. Que Dieu te fasse miséricorde, t'accorde une demeure paisible, et fasse du paradis ta maison et ton refuge éternel.

À un cœur incomparable, à celle qui fut ma patience quand les chemins se resserraient autour de moi, et ma lumière quand mon chemin s'assombrissait. À ma chère mère, Chekhab Hakima, dont j'étais la branche et l'unique espoir. Toi qui m'as donné de ton âme ce qui suffit pour toute une vie, un merci qui ne s'écrit pas, mais se ressent profondément.

À mon pilier, mon frère Rebiai Bouamine, mon soutien inébranlable, la meilleure part de mes jours et leur essence, la prunelle de mes yeux, celui qui n'a jamais hésité un seul jour à me soutenir et m'accompagner. Sa présence était une source de sérénité, et ses conseils une lumière qui guide mon chemin. Pour lui, tout mon amour et ma gratitude.

À mon frère bien-aimé Mihoub Bouamine, qui a toujours été proche de moi, partageant les moments difficiles et me soutenant avec tout son amour et son attention. Sa présence à mes côtés signifie beaucoup pour moi, et je prie Dieu de le protéger, de lui accorder une descendance vertueuse et de le récompenser pleinement pour tout le bien qu'il m'a fait.

À mes chères sœurs Hanane et Nassira, vous êtes la lumière de ma vie et mon soutien constant. Votre amour et vos encouragements m'ont toujours poussé à avancer, et je prie Dieu de remplir vos vies de joie et de bonheur.

À mon cher oncle Achour chekhab, pilier de mon rêve et source constante de force, qui croit en moi même dans les moments difficiles. Sa présence et ses encouragements ont toujours éclairé mon chemin. Je prie Dieu de le bénir et de le garder près de moi pour toujours.

Merci à mon neveu, fils de ma sœur, Zineddine Chaâbi, pour son soutien, ses encouragements et sa présence réconfortante tout au long de mon parcours.

À Tous les petits-enfants de la famille : Souhila, Iskander, Rawya, Nada, Elyes, Sadja, Toulina, et les tout-petits Anis et Watin, vous êtes la fleur de l'avenir et notre grand espoir. Je vous souhaite une vie pleine de réussite et de bonheur, et que vous préserviez toujours les liens d'amour et de fraternité qui nous unissent. Soyez toujours une source de fierté et de joie pour notre chère famille.

(و اخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين)

Résumé

L'ortie (*Urtica dioica*) et le marrube blanc (*Marrubium vulgare*) sont deux plantes médicinales présentant une richesse phytochimique remarquable. Cette étude a permis d'analyser leurs extraits aqueux, qui révèlent une teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes, ainsi qu'une activité antioxydante et antimicrobienne significative. Des essais d'allélopathie, d'antiprolifération et d'activité biologique confirment leur potentiel thérapeutique. Par ailleurs, un protocole efficace de callogenèse in vitro a été établi pour *U. dioica*, avec des taux de prolifération élevés sur milieu MS enrichi en BAP et NAA. Ces résultats soulignent l'intérêt de ces espèces tant pour la pharmacopée traditionnelle que pour la recherche biotechnologique. La conclusion appelle à une gestion durable de ces ressources végétales à travers leur conservation ex situ et la valorisation de leurs métabolites bioactifs.

Mots clés : *Urtica dioica* ; *Marrubium vulgare* ; Extraits aqueux ; Composés phénoliques ; Flavonoïdes ; Activité antioxydante ; Activité antimicrobienne ; Allélopathie ; Antiprolifération ; Callogenèse in vitro ; Conservation ex situ ; Métabolites bioactifs.

المخلص

تُعد نبتة القراص (*Urtica dioica*) والمرو الأبيض (*Marrubium vulgare*) من النباتات الطبية الغنية بالمركبات الفيتوكيميائية. تهدف هذه الدراسة إلى تحليل المستخلصات المائية لهاتين النبتتين، حيث أظهرت النتائج احتواءها على نسب مرتفعة من الفينولات والفلافونويدات، إضافة إلى نشاط مضاد للأوكسدة ومضاد للميكروبات. كما بينت الاختبارات البيولوجية نشاطاً مثبطاً لنمو الخلايا وتأثيرات أليلوباثية مهمة. من جهة أخرى، تم تطوير بروتوكول ناجح لاستحثاث الكالوس في الوسط الزراعي الاصطناعي، خصوصاً عند استخدام سيقان *U. dioica* على وسط MS مدعم بـ BAP و NAA تبرز هذه النتائج الإمكانات الدوائية والتقنية الحيوية لهاتين النبتتين، وتشدّد على أهمية حفظ التراث النباتي الجزائري عبر تقنيات الزراعة خارج موطنه وتثمين مركباته النشطة.

الكلمات المفتاحية : نبات القراص (*Urtica dioica*) ؛ المرو الأبيض (*Marrubium vulgare*) ؛ المستخلصات المائية؛ المركبات الفينولية؛ الفلافونويدات؛ النشاط المضاد للأوكسدة؛ النشاط المضاد للميكروبات؛ التأثيرات الأليلوباثية؛ تثبيط النمو الخلوي؛ استحثاث الكالوس في المختبر؛ الحفظ خارج الموطن؛ المركبات النشطة بيولوجياً

Abstract

Stinging nettle (*Urtica dioica*) and white horehound (*Marrubium vulgare*) are medicinal plants with significant phytochemical diversity. This study investigated their aqueous extracts, which were found to be rich in phenolic compounds and flavonoids, and demonstrated notable antioxidant and antimicrobial activities. Additional tests revealed allelopathic, antiproliferative, and biological effects supporting their therapeutic potential. Moreover, an efficient in vitro callus induction protocol was successfully established, for *U. dioica*, with high callogenesis rates using MS medium supplemented with BAP and NAA. These findings highlight the biomedical relevance of these plants and their importance in preserving Algeria's phytogenetic heritage. The study advocates for sustainable management of these plant resources by integrating ex situ conservation via biotechnology with the valorization of their bioactive compounds.

Keywords :

Urtica dioica; *Marrubium vulgare*; Aqueous extracts; Phenolic compounds; Flavonoids; Antioxidant activity; Antimicrobial activity; Allelopathy; Antiproliferative activity; In vitro callus induction; Ex situ conservation; Bioactive metabolites

SOMMAIRE

| | Page |
|--|------|
| Liste des Figures | |
| Liste des Tableaux | |
| Liste des Abréviations | |
| Introduction | 01 |
| Matériel et Méthodes | 09 |
| <i>Matériel végétal</i> | 09 |
| <i>Produits et matériels utilisés</i> | 10 |
| <i>Préparation des extraits aqueux</i> | 11 |
| <i>Analyses phytochimiques (qualitatives et quantitatives)</i> | 12 |
| <i>Activité antioxydante</i> | 13 |
| <i>Activité antimicrobienne</i> | 14 |
| <i>Activité d'allélopathie,</i> | 15 |
| <i>Activité antiproliférative</i> | 15 |
| <i>Induction de la callogenèse in vitro</i> | 16 |
| Résultats et Discussion | 19 |
| <i>Analyses phytochimiques</i> | 19 |
| <i>Activités biologiques</i> | 27 |
| <i>Culture in vitro (Induction de cals)</i> | 33 |
| Conclusion | 36 |
| Références | 37 |

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Broyage des plantes récoltées (photographies personnelles).

Figure 2 : Les étapes de préparation des extraits (photographies personnelles).

Figure 3 : Les étapes de l'induction de la callogenèse (photographies personnelles).

Figure 4 : Teneur des composés phénoliques totaux.

Figure 5 : Teneur des flavonoïdes totaux.

Figure 6 : Activité antioxydante (%) des deux extraits.

Figure 7 : L'impact des extraits aqueux de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* sur la germination du blé dur (en bleu) et de l'orge (en rouge).

Figure 8 : L'impact des extraits de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* sur la croissance du blé dur.

Figure 9 : Résultats détaillés des tests de croissance du blé dur sous l'effet des extraits (graphiques ou images associés).

Figure 10 : L'impact des extraits de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* sur la viabilité de la levure.

Figure 11 : Induction des cals chez *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* .

Figure 12 : Comparaison des paramètres quantitatifs des cals entre les différents milieux.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Résumé des activités biologiques de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* .

Tableau 2 : Synthèse des travaux menés sur la culture in vitro des plantes aromatiques et médicinales depuis 2015 à 2025.

Tableau 3 : Synthèse des activités biologiques de *Marrubium vulgare* (basée sur des travaux publiés entre 2020-2025).

Tableau 4 : Analyse qualitative des extraits aqueux de *Urtica dioica* (à gauche) et *Marrubium vulgare* (à droite).

Tableau 5 : L'impact des extraits de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* sur la croissance du blé dur.

Tableau 6 : Paramètres étudiés pour évaluer l'induction de la callogenèse.

Tableau 7 : Diamètre des zones d'inhibition (en mm) des souches bactériennes en présence des extraits de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* à différentes concentrations.

Tableau 8 : Pourcentage d'induction des cals.

Tableau 9 : Caractéristiques physiques des cals obtenus sur différents milieux (couleur, structure, surface, masse).

LISTE DES ABREVIATIONS

- DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- TPC : Teneur totale en composés phénoliques (Total Phenolic Content)
- RSA : Radical Scavenging Activity (Activité de piégeage des radicaux libres)
- IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %
- MS : Milieu Murashige et Skoog (Murashige & Skoog medium)
- NAA : Acide α -naphtalèneacétique (α -Naphthaleneacetic acid)
- BAP : 6-Benzylaminopurine
- PGRs : Régulateurs de croissance végétale (Plant Growth Regulators)
- UV-Vis : Ultraviolet-visible
- LED : Diodes électroluminescentes (Light Emitting Diodes)
- MHA : Mueller Hinton Agar
- DO : Densité optique (Optical Density)
- UFC/mL : Unités Formant Colonie par millilitre
- CFU/mL : Colony Forming Units per mL (unités similaires à UFC)
- TE : Équivalents Trolox (Trolox Equivalent)
- SD : Écart-type (Standard Deviation)
- CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
- ABTS : 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power (Puissance réductrice antioxydante ferrique)
- EtOH : Éthanol
- MeOH : Méthanol
- NaOH : Hydroxyde de sodium
- FeCl₃ : Chlorure ferrique
- AlCl₃ : Chlorure d'aluminium
- CuSO₄ : Sulfate de cuivre
- H₂SO₄ : Acide sulfurique
- Na₂CO₃ : Carbonate de sodium
- DMSO : Diméthylsulfoxyde
- TLC : Chromatographie sur couche mince (Thin Layer Chromatography) – implicite dans les tests phytochimiques
- ± SD : ± Écart-type (Standard Deviation)
- n=3 : Répétitions expérimentales (non toujours noté mais sous-entendu par "triplicata")
- v/v : Volume par volume (concentration volumétrique)

p/v : Poids par volume (concentration massique)

µg/mL : Microgramme par millilitre

mg/g EAG : Milligramme d'équivalent acide gallique par gramme

TE µg/mL : µg/mL en équivalent Trolox

U.D : *Urtica dioica*

M.V : *Marrubium vulgare*

ex vitro : En dehors des conditions de culture in vitro

in vitro : En milieu artificiel contrôlé (en laboratoire)

in vivo : Dans un organisme vivant (utilisé implicitement dans les études animales ou humaines)

°C : Degré Celsius

Rpm : Tours par minute

µL : Microlitre

mL : Millilitre

L : Litre

Mg : Milligramme

G : Gramme

Kg : Kilogramme

Nm : Nanomètre

Min : Minute

H : Heure



Introduction

INTRODUCTION

L'Algérie, riche d'une biodiversité floristique exceptionnelle, abrite environ 4 000 espèces végétales, dont plus de 300 espèces possèdent des propriétés médicinales et aromatiques reconnues (**Belhouala & Benarba, 2021**). Pourtant, plusieurs de ces espèces sont aujourd'hui menacées en raison de facteurs tels que la surexploitation, le surpâturage, la dégradation des habitats naturels et les stress dus au changement climatique (**Haichour & Benabdeli, 2022**). La conservation de ces plantes revêt donc une importance capitale, tant pour la préservation de la biodiversité que pour le maintien de ce potentiel thérapeutique et industriel qu'elles offrent.

Parmi les méthodes modernes de la conservation des phytoressources, la micropropagation *in vitro* s'est imposée comme une technique prometteuse (**Bettoni et al., 2024; Gashi et al., 2015**). Car non seulement elle permet la multiplication rapide et en masse des plantes, mais assure aussi la production de plants vigoureux et exempts de maladies. Cette approche est particulièrement avantageuse pour les espèces menacées et rares, car elle réduit la pression sur les populations sauvages (spontanées) en fournissant une source alternative de matériel végétal (**Kibler, 2014**).

En Algérie, plusieurs travaux ont été menés pour appliquer la culture *in vitro* à la conservation des plantes médicinales. Par exemple, dans une étude menée sur deux espèces de myrte (*Myrtus communis* et *Myrtus nivellei*), il a été démontré le potentiel de la micropropagation pour la multiplication de ces espèces (**Touaibia et al., 2012**). Dans une autre étude, quatre plantes médicinales de la famille des Lamiaceae ont fait l'objet de culture *in vitro* en vue de leur multiplication (**Mehalaine & Chenchouni, 2021**). La micropropagation offre également la possibilité de conserver des espèces endémiques du désert algérien, reconnues pour leurs usages traditionnels et leurs activités biologiques, notamment les activités antioxydantes et anticancéreuses (**Hemmami et al., 2023**).

Bien que ces avancées soulignent l'importance de la culture *in vitro* dans la préservation des phytoressources algériennes, la mise en œuvre de la micropropagation nécessite une maîtrise des protocoles de culture, une infrastructure adaptée et une compréhension approfondie des besoins spécifiques de chaque espèce. Les défis incluent l'optimisation des conditions de culture, la gestion des contaminations et l'acclimatation des plants régénérés aux conditions *ex vitro*.

Malgré ces obstacles, les bénéfiques potentiels de la micropropagation pour la conservation des plantes médicinales et aromatiques en Algérie sont indéniables.

Dans la présente étude, en plus de faire une analyse photochimique comparative entre les deux espèces sélectionnées, à savoir, *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare*, de tenter de développer un protocole efficace de callogenèse de ces deux plantes médicinales.

□ *Urtica dioica* :

L'ortie (*Urtica dioica* L.), est une plante herbacée, appartenant à la famille des Urticacées. Originaires d'Asie, d'Europe, d'Afrique et d'Amérique du Nord, reconnues depuis des siècles en médecine traditionnelle pour sa richesse en composés phytochimiques bénéfiques (Taheri, 2022). En Algérie, l'ortie pousse spontanément dans diverses régions, notamment au Nord.

L'intérêt de l'ortie est dû à sa richesse en composés phytochimiques aux applications variées (Tableau 1). Ces substances sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés bénéfiques, notamment antimicrobiennes, et trouvent également leur place dans l'élaboration de compléments alimentaires et de cosmétiques (Aziz *et al.*, 2024).

Parmi les composés phénoliques d'intérêt médicinal, les lignanes sont particulièrement remarquables. Leur concentration varie significativement selon les parties de la plante, avec des différences notables entre les parties aériennes et les racines (Martz & Kankaanpaa, 2025).

En plus de sa richesse en composés phytochimiques, l'ortie est une source prometteuse de fibres cellulose, plus spécifiquement de fibres libériennes. Ces fibres, résistantes et polyvalentes, sont exploitées dans la fabrication de bio-composites et de textiles (Viotti *et al.*, 2022).

Plus récemment, la recherche a mis en évidence un nouvel usage innovant de l'ortie : la préparation de nanoparticules de carbone à partir de ses tiges. Ces nanoparticules possèdent des propriétés physico-chimiques uniques, ouvrant ainsi la voie à une diversification des applications de cette "mauvaise herbe" souvent sous-estimée. (Nuilek *et al.*, 2019).

Malgré le potentiel médicinal et industriel considérable de l'ortie, il est étonnant de constater le manque d'informations sur l'optimisation de ses conditions de culture *in vitro* de cette ressource naturelle précieuse (Afsharipour *et al.*, 2024 ; Sarrafi *et al.*, 2024 ; Xu *et al.*, 2021 ; Zarei *et al.*, 2020).

Tableau 1 : Synthèse des Activités Biologiques d'*Urtica dioica* (basée sur des travaux publiés entre 2020-2025)

| Activité biologique | Type d'extrait/ Partie utilisée | Principales f écouvertes/Mécanismes | Références |
|---------------------------------|--|---|--|
| Antioxydante | Extrait aqueux de feuilles, extrait hydroalcoolique | Forte activité de piégeage des radicaux libres (DPPH, ABTS), pouvoir réducteur (FRAP), chélation des métaux. Riche en composés phénoliques (acide chlorogénique, rutine). Protège contre le stress oxydatif dans les tissus cérébraux et pancréatiques. | Dakhli <i>et al.</i> (2025), Chira <i>et al.</i> (2025), Abdel Rasool & Yahya (2024), Elkesh <i>et al.</i> (2024), |
| Anti-inflammatoire | Extrait aqueux, extrait éthanolique | Inhibition de la voie NF-κB, réduction des cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6). Effets neuroprotecteurs contre l'inflammation induite par le chlorpyrifos. | Chira <i>et al.</i> (2025), Vajic <i>et al.</i> (2024), Abi Sleiman <i>et al.</i> (2024) |
| Antimicrobienne | Extrait aqueux, extrait hydroalcoolique | Activité antibactérienne contre <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Escherichia coli</i> , et autres pathogènes Gram+. Altération de la structure de la paroi bactérienne observée par microscopie électronique. | Motamedi <i>et al.</i> (2014), Dakhli <i>et al.</i> (2025), Elkesh <i>et al.</i> (2024) |
| Anticancéreuse | Extrait aqueux de feuilles, infusion | Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses (HCT-116, MDA-MB-231, leucémie aiguë). Induction de l'apoptose via régulation de Bax/Bcl-2 et arrêt du cycle cellulaire (phase G2). | Hodroj <i>et al.</i> (2020), Tavanaei <i>et al.</i> (2025), Abi Sleiman <i>et al.</i> (2024) |
| Antidiabétique | Extrait hydroalcoolique, combinaison avec vitamine E | Réduction de la glycémie à jeun, amélioration du statut antioxydant. Effets synergiques avec la vitamine E sur la protection pancréatique. | Abdel Rasool & Yahya (2024), Cheri <i>et al.</i> (2023) |
| Neuroprotectrice | Extrait éthanolique | Atténuation des dommages oxydatifs dans les tissus cérébraux, amélioration des paramètres comportementaux (mémoire, anxiété) dans les modèles de neurotoxicité. | Chira <i>et al.</i> (2025), Semwal <i>et al.</i> (2023) |
| Cardio-néphroprotectrice | Extrait de feuilles | Réduction de l'albuminurie et du stress oxydatif rénal. Modulation de la pression artérielle et amélioration de la fonction endothéliale. | Vajic <i>et al.</i> (2024) |

□ ***Marrubium vulgare*** :

Le Marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.), une plante vivace commune des régions tempérées d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord, y compris l'Algérie, où il pousse spontanément. Sa réputation comme plante médicinale repose sur sa richesse en composés phytochimiques bioactifs, lui conférant de multiples propriétés curatives ou préventives (**Michalak et al., 2024**).

Le Marrube blanc est traditionnellement employé pour ses effets expectorants, antispasmodiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques et hépatoprotecteurs. Ces propriétés en font un remède populaire pour les affections respiratoires (toux, bronchite), la fièvre, les troubles digestifs et même le diabète (**Tableau 2**).

Parmi ces composés, les diterpènes labdanes, et notamment la marrubiine, sont les principaux responsables de ses activités pharmacologiques. On trouve également des flavonoïdes, des phénylpropanoïdes glycosides, et des huiles essentielles, dont la composition et l'abondance peuvent varier selon l'origine géographique et les conditions de culture de la plante (**Popoola et al., 2013**).

La recherche moderne corrobore de plus en plus les usages traditionnels du Marrube blanc. Des études scientifiques ont mis en évidence son activité antioxydante significative, sa capacité à réguler la glycémie, et ses effets protecteurs sur le foie. De plus, des travaux explorent son potentiel antimicrobien et antitumoral, ouvrant de nouvelles perspectives pour son utilisation en santé humaine (**Aćimović et al., 2020**).

Bien que le Marrube blanc soit une plante médicinale bien établie, des efforts de recherche supplémentaires sont nécessaires pour approfondir la compréhension de ses mécanismes d'action, standardiser ses extraits et évaluer son efficacité et sa sécurité dans des essais cliniques rigoureux (**Lodhi et al., 2017**).

L'optimisation de ses conditions de culture, notamment in vitro, pourrait également garantir une production durable et de qualité des composés actifs, pour une utilisation accrue dans l'industrie pharmaceutique, nutraceutique et cosmétique (**Ali et al., 2018**).

Tableau 2: Synthèse des activités biologiques de la *Marrubium vulgare* (basée sur des travaux publiés entre 2020-2025)

| Activité biologique | Type d'extrait (solvant, partie) | Méthodologie | Résultats | Composés actifs identifiés | Référence |
|---|---|----------------------------------|---|--|---|
| Antioxydante | Décoction aqueuse (feuilles) et extrait hydroalcoolique (plantent) | In vitro | - Décoction : IC50(DPPH) = 1,18 ± 0,62 mg/mL ; EC50(FRAP) = 1,5 ± 0,20 mg/mL; TAC = 50,55 ± 3,75 mg Éq. ascorb./g ext. - Extrait hydroalc.: inhibition DPPH 68,3 % et FRAP = 1,22 mmol | Catéchines, acide malique, glycosides phénylpropanoïdes (e.g. verbascoside), etc.frontiersin.org | Gourich <i>et al.</i> , 2023 Michalak <i>et al.</i> , 2024 |
| Anti-inflammatoire | Extrait éthanolique (aérien) et méthanolique (feuilles) – aérosols isolés (marrubiin, marrubionone B) | <i>In vivo</i> / <i>In vitro</i> | - <i>In vivo</i> (extrait éthanolique) : inhibition de l'œdème = 91,84 ± 3,37 % - <i>In vitro</i> : marrubiin et marrubionone B entraînent inhibition modérée des cytokines pro-inflammatoires IL-1β, TNF-α, IL-6 (Aucun effet antioxydant détecté pour ces diterpènes isolés) | Marrubiin, marrubionone B (labdanes) (effet anti-inflammatoire); phénols/flavonoïdes divers | Ouadghiri <i>et al.</i> , 2025 Kumar <i>et al.</i> , 2024 |
| Antidiabétique (antihyperglycémiant) | Décoction aqueuse (feuilles) et extrait méthanolique (feuilles) – composé isolé marrubiin | <i>In vivo</i> | - Décoction 400 mg/kg : réduction significative de la glycémie post-charge orale (60–90 min, $p < 0,01$) et aire sous courbe diminuée. Effet comparable au glibenclamide. - Marrubiin (<i>in vivo</i>) : effet antihyperglycémiant marqué chez rats diabétiques (diminution de la glycémie) | Catéchine, lutéoline, apigénine, acide salicylique (identifiés par HPLC) ; marrubiin pour l'effet antidiabétique. | Gourich <i>et al.</i> , 2023; Kumar <i>et al.</i> , 2024 |
| Antimicrobienne | Extrait aqueux (feuilles) | <i>In vitro</i> | Bactéries (Gram±) : MIC = 75 µg/mL (K. pneumoniae, E. coli, P. aeruginosa, S. epidermidis – activité élevée) ; 37,5 µg/mL (S. agalactiae – modérée) ; 18,75 µg/mL (P. mirabilis – faible). Levures/champi: MFC = 37,5 µg/mL (C. tropicalis, C. krusei, C. albicans, C. parapsilosis, S. cerevisiae) ; 9,375 µg/mL (C. parapsilosis, S. cerevisiae, Aspergillus niger) | Catéchine (principal) et divers alcaloïdes, stéroïdes, tanins, terpènes | Gourich <i>et al.</i> , 2023 |
| Antimitotique | Décoction aqueuse (feuilles) | In vitro | Inhibition de la germination : 90,18 % à 10 mg/mL et 95,37 % à 1,5 mg/mL. IC50 ≈ 3,69 mg/mL (extrait) contre 1,80 mg/mL (colchicine). Indice mitotique abaissé. | (Identifiés antioxydants/catéchine également présents) | Gourich <i>et al.</i> , 2023 |
| Antiproliférative (anticancéreuse) | Extrait méthanolique (plante entière) | <i>In vitro</i> (| IC50, = 43,5 µg/mL (MDA-MB-231), 46,5 µg/mL (MCF-7). Autres lignées : IC50 (A549, HepG2) plus élevées (jusqu'à 223,5 µg/mL). Toxicité sur zèbre : CL50 ≈ 5 µg/mL (extrêmement toxique) | Non précisé (probablement flavonoïdes et comp. phénoliques) | Ullah <i>et al.</i> , 2024 |

□ **La culture in vitro et la conservation des phytoressources**

▪ ***Culture in vitro***

La culture in vitro représente une avancée majeure en biotechnologie végétale, offrant une solution efficace pour préserver les plantes médicinales menacées par la surexploitation, la destruction de leurs habitats naturels et la faible viabilité de leurs graines. En permettant la multiplication rapide de plantes à partir de fragments de tissus végétaux dans des conditions stériles et contrôlées, cette technique favorise une conservation ex situ durable des ressources phytogénétiques.

▪ ***Multiplication et conservation des espèces menacées***

Plusieurs études menées en Afrique du Nord ont démontré l'efficacité de la culture in vitro pour la régénération et la conservation de plantes médicinales menacées. Ces recherches mettent en évidence des protocoles de micropropagation adaptés à des espèces locales, favorisant ainsi leur préservation et leur valorisation.

Par exemple, **Mehalaine et Chenchouni (2021)** ont exploré la macropropagation et la micropropagation de quatre plantes médicinales de la famille des Lamiacées : *Thymus algeriensis*, *Rosmarinus officinalis*, *Marrubium vulgare* et *Salvia officinalis*. Leurs résultats ont montré que la culture in vitro peut être optimisée pour produire efficacement des composés bioactifs, soutenant ainsi une production durable pour les industries pharmaceutique, nutraceutique et cosmétique.

De même, **Elmaghrabi et al. (2017)** ont développé un protocole de micropropagation pour *Capparis spinosa*, une plante médicinale endémique du bassin méditerranéen. Leurs travaux ont permis d'obtenir une régénération efficace à partir d'explants foliaires, avec une induction de cals sur un milieu MS enrichi en 2,4-D et une multiplication des pousses sur un milieu contenant du BAP. Ce protocole offre une solution pour la conservation et la multiplication de cette espèce d'intérêt thérapeutique.

En plus aux techniques conventionnelles de culture in vitro, des techniques complémentaires comme la cryoconservation (conservation à ultra-basse température, généralement à -196°C dans l'azote liquide) et l'encapsulation-desiccation (formation de capsules synthétiques protégeant les tissus végétaux) ont été développées ces dernières années pour assurer une conservation à long terme des génotypes rares sans perte de viabilité (**Tableau 3**).

- ***Production de métabolites secondaires bioactifs***

Au-delà de la conservation, la culture *in vitro* permet la production contrôlée de composés pharmaceutiques, évitant ainsi les contraintes liées à la récolte en milieu naturel. Par exemple, des cultures cellulaires de *Caralluma tuberculata*, une plante rare aux propriétés antidiabétiques, ont permis de produire des quantités significatives de pregnanes glycosides, des molécules actives contre le diabète, en optimisant les milieux de culture et les régulateurs de croissance (**Tableau 3**).

De même, *Taxus spp.*, source du paclitaxel (un anticancéreux majeur), est aujourd'hui cultivé *in vitro* pour pallier la raréfaction de l'espèce dans la nature. Des bioréacteurs permettent désormais une production industrielle de métabolites secondaires, réduisant la pression sur les populations sauvages.

- ***Perspectives et limites***

Malgré ses avantages, la culture *in vitro* nécessite des protocoles spécifiques pour chaque espèce et un contrôle strict des conditions de croissance. Les coûts initiaux et la nécessité d'expertise limitent encore son déploiement à grande échelle. Cependant, les progrès en biologie moléculaire (comme l'édition génomique CRISPR pour améliorer la synthèse des métabolites) et en automatisation des cultures ouvrent de nouvelles voies pour une production durable de plantes médicinales (**Tableau 3**).

Tableau 3: Synthèse des travaux menés sur la culture in vitro des plantes aromatiques et médicinales depuis 2015 à 2025.

| Année | Plante étudiée | Objectif de l'étude | Méthode utilisée | Résultats clés | Référence |
|-------|-------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|------------------------------------|
| 2015 | <i>Ocimum sanctum</i> | Multiplication rapide | MS + BAP 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L | 8.2 pousses/explant en 6 semaines | Singh <i>et al.</i> , 2015 |
| 2016 | <i>Salvia officinalis</i> | Conservation ex situ | Culture embryonnaire | Plants acclimatés avec succès | Al-Mashhadani <i>et al.</i> , 2016 |
| 2017 | <i>Aloe vera</i> | Production de biomasse | Milieu LS + suppléments | Augmentation du poids frais | Kaur <i>et al.</i> , 2017 |
| 2018 | <i>Thymus vulgaris</i> | Régénération | Culture de nœuds floraux | Meilleur taux avec BAP 1.0 mg/L | El-Bahr <i>et al.</i> , 2018 |
| 2019 | <i>Rosmarinus officinalis</i> | Micro propagation | MS + IBA 1.0 mg/L | Coefficient de multiplication = 4.3 | Benmahioul <i>et al.</i> , 2019 |
| 2020 | <i>Withania somnifera</i> | Conservation génétique | Méristèmes apicaux | Élimination virale réussie | Pandey <i>et al.</i> , 2020 |
| 2021 | <i>Mentha piperita</i> | Multiplication rapide | MS + TDZ 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L | Callogenèse efficace | Hossain <i>et al.</i> , 2021 |
| 2022 | <i>Lavandula angustifolia</i> | Conservation de génotypes | Bourgeons axillaires | Bonne réponse morphogénétique | Lamine <i>et al.</i> , 2022 |
| 2023 | <i>Catharanthus roseus</i> | Production d'alcaloïdes | Bio-réacteurs + milieux modifiés | Synthèse in vitro d'alcaloïdes anticancéreux | Sharma <i>et al.</i> , 2023 |
| 2024 | <i>Artemisia annua</i> | Production d'artémisinine | Culture cellulaire + élévation | Stimulation de la production | Belhadj <i>et al.</i> , 2024 |
| 2025 | <i>Panax ginseng</i> | Amélioration génétique | Transformation génétique + CRISPR | Lignées transgéniques à haut rendement | Zhang <i>et al.</i> , 2025 |



Matériel & Méthodes

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude comprend des échantillons frais de l'ortie dioïque (*Urtica dioica*) et de marrube blanc (*Marrubium vulgare*), collectés dans la région de Bouhmama, située au sud-ouest de la wilaya de Khenchela (Algérie), durant le mois d'avril 2025, au stade de floraison. Après la collecte, les parties aériennes et les racines ont été soigneusement séparées. Seules les parties aériennes ont été retenues pour les analyses. Celles-ci ont été séchées à l'étuve 50 C° pendant 48h, afin de préserver les constituants bioactifs. Une fois bien sèches, elles ont été finement broyées à l'aide d'un moulin électrique et conservées dans des récipients hermétiques à l'abri de la lumière et de l'humidité, en attendant les extractions (**Bashir et al., 2024, Figure 1**).

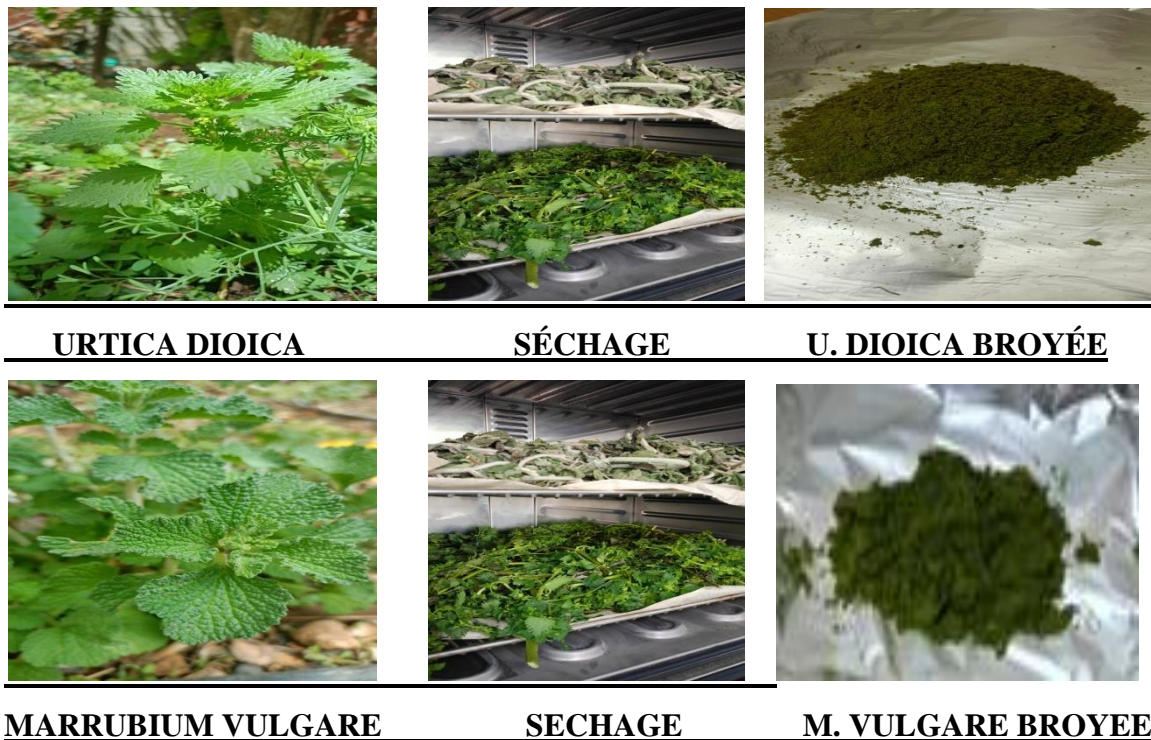


Figure 1. Broyage des plantes récoltées (photographies personnelles).

2. Matériel et produits chimiques :

L'ensemble des expériences a été réalisé à l'aide d'un matériel de laboratoire comprenant : des tubes à essai, des boîtes de Petri stériles de 90 mm, des béchers, des fioles jaugées, des filtres

Whatman (pore 0,45 μm), un bain-marie, un agitateur magnétique, une hotte à flux laminaire pour les manipulations stériles, une hotte aspirante, une étuve thermostatée, un autoclave, une balance analytique, un spectrophotomètre UV-visible (Jenway 6405), un microscope optique et des micropipettes à volume variable. Les cultures in vitro ont été incubées dans des conditions contrôlées (température : 22 ± 2 °C ; photopériode : 16 heures lumière / 8 heures obscurité) avec un éclairage assuré par des lampes LED. Les produits chimiques utilisés comprenaient, pour la culture végétale : le milieu basal MS (Murashige et Skoog), enrichi avec 3 % (p/v) de saccharose et 0,8 % (p/v) d'agar, l'acide α -naphtalèneacétique (NAA), la 6-benzylaminopurine (BAP) aux concentrations de 2 ; 1 ; 0,5 et 0,1 mg/L, ainsi que du Fluconazole (50 mg/L) comme antifongique. L'eau de Javel diluée (20 % v/v) et l'eau distillée stérile ont été utilisées pour la surface-stérilisation des explants, accompagnée d'une solution de détergent doux. Pour les analyses phytochimiques et les tests biologiques, les réactifs suivants ont été employés : acide acétique, acide sulfurique concentré (H_2SO_4), chlorure d'aluminium (AlCl_3), chlorure mercurique, iodure de potassium, nitrate de bismuth pentahydraté, chlorure ferrique (FeCl_3), hydroxyde de sodium (NaOH), sulfate de cuivre (CuSO_4), réactif de Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium (Na_2CO_3), réactifs de Molisch, Benedict, Fehling, Dragendorff, Wagner et Mayer, bleu de méthylène (2 %), méthanol, DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), acide gallique, acide ascorbique, extrait de pomme de terre, levure boulangère, sucre et eau de Javel à 50 %. Tous les produits chimiques étaient de qualité analytique ou adaptés aux protocoles expérimentaux.

3. Préparation du matériel végétal et des extraits

Pour l'extraction aqueuse des métabolites secondaires, 20 grammes de parties aériennes séchées et moulues de chaque plante ont été introduits dans 250 mL d'eau distillée (**Figure 2**). Le mélange a été porté à ébullition et maintenu en suspension pendant 2 heures. Après refroidissement, l'extrait a été filtré à l'aide de papier filtre Whatman (pore 0,45 mm). Les extraits obtenus ont été conservés à 4 °C dans des flacons stériles jusqu'à leur utilisation pour les tests phytochimiques, les dosages antioxydants et les essais biologiques (**Bashir et al., 2024**).

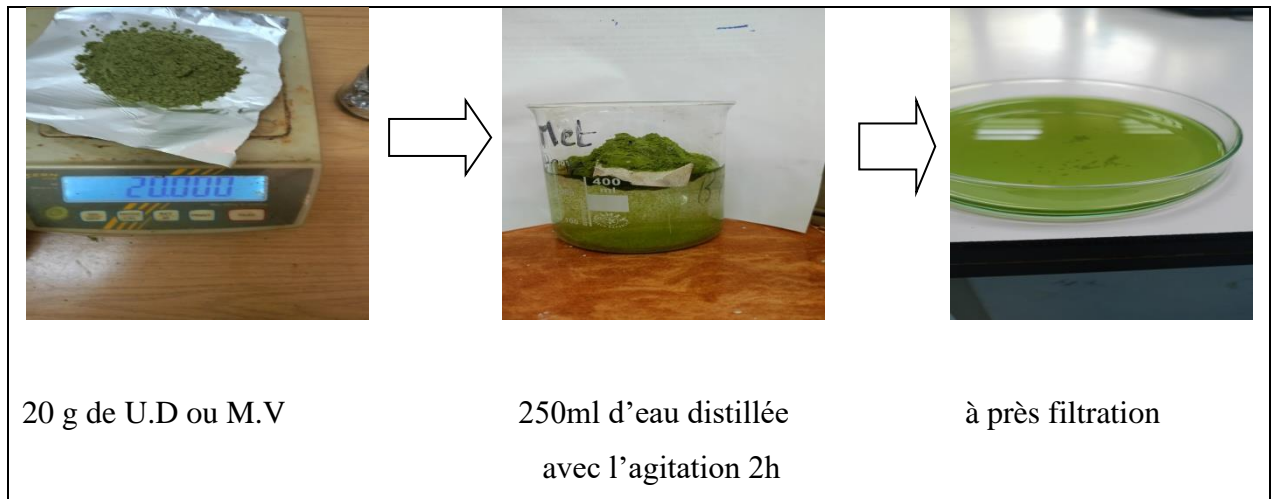


Figure 2. Les étapes de préparation des extraits (photographies personnelles).

○ **Analyse qualitative des composés phytochimiques (Panth et Mansoori, 2023)**

□ **Présence des alcaloïdes**

- Test de *Mayer* : Quelques gouttes du réactif de Mayer sont ajoutées à 1 à 5 mL d'extrait. L'apparition d'un précipité de couleur blanche à jaunâtre indique un test positif. Préparation : Dissoudre 1,358 g de chlorure mercurique dans 60 mL d'eau. Dissoudre 5 g d'iodure de potassium dans 10 mL d'eau. Mélanger et compléter à 100 mL.
- Test de *Dragendorff* : Ajouter 1 mL du réactif de Dragendorff à 2 mL d'extrait. L'apparition d'un précipité brun rougeâtre ou orange indique la présence d'alcaloïdes. Préparation : (1) 0,8 g de nitrate de bismuth pentahydraté dans 40 mL d'eau + 10 mL d'acide acétique. (2) 8 g d'iodure de potassium dans 20 mL d'eau.
- Test de *Wagner* : Mélanger 2-3 mL d'extrait avec 1 mL d'HCl dilué, puis quelques gouttes du réactif de Wagner. Un précipité brun rougeâtre indique des alcaloïdes.

□ **Présence des flavonoïdes**

- Test au *réactif alcalin* : Ajouter 2-3 gouttes de NaOH (10 %) à 2 mL d'extrait. Une coloration jaune apparaît, devenant incolore après ajout de HCl dilué, indiquant des flavonoïdes.

□ **Présence des composés phénoliques et les tanins**

- Test au chlorure ferrique : Ajouter 2 mL de FeCl_3 à 5 % à 1 mL d'extrait. Une coloration bleue, verte ou violette indique des composés phénoliques ou tanins.

❑ **Présence des protéines**

- Test de Biuret : Ajouter 2 gouttes de CuSO_4 à 3 % et quelques gouttes de NaOH à 10 % à 1 mL d'extrait. Une couleur violette ou rouge indique des protéines.
- • Test à la ninhydrine : Ajouter 2 gouttes de solution de ninhydrine à 0,2 % à 1 mL d'extrait. Une coloration violette indique la présence de protéines.

❑ **Présence des glucides**

- • Test de Molisch : Ajouter 2 gouttes de réactif de Molisch à 2 mL d'extrait, puis H_2SO_4 concentré le long du tube. Un anneau violet à la jonction indique des glucides.
- • Test de Benedict : Ajouter 8-10 gouttes d'extrait à 5 mL de réactif de Benedict, chauffer 5 min. Un précipité rouge foncé indique des glucides.
- • Test de Fehling : Mélanger 2 mL d'extrait avec Fehling A & B, chauffer 5 min. Un précipité rouge indique des glucides.

❑ **Présence des glycosides**

- • Test de Keller-Killiani : Mélanger 0,5 mL d'acide acétique + 2-3 gouttes de FeCl_3 à 2 mL d'extrait, puis ajouter H_2SO_4 . Une couleur bleue indique des glycosides cardiaques.

❑ **Présence des saponines**

- Test de la mousse : Ajouter une goutte de Na_2CO_3 à 5 mL d'extrait. Après agitation, une mousse >1 cm indique des saponines.

❑ **Présence des triterpénoïdes**

- Test de Horizon : Ajouter 2 mL d'acide trichloroacétique à 1 mL d'extrait. Un précipité rouge indique des triterpénoïdes.

❑ **Présence des stéroïdes**

- Test de Salkowski : Agiter l'extrait avec du chloroforme, puis ajouter H_2SO_4 concentré. Une couleur rouge indique des stéroïdes.

❑ **Présence de l'amidon**

- Test à l'iode : Ajouter 2 mL de solution d'iode avec KI à 2 mL d'extrait. Une coloration bleue indique de l'amidon.

❑ **Présence des glycosides cardiotoniques**

Mettre 5ml de l'extrait organique et une goutte de FeCl_3 , et ajouter 1 ml de solution de H_2SO_4 , ensuite en ajouter acide acétique glacial. Anneau brun-rouge à l'interface.

4. Dosage des flavonoïdes totaux (FT):

Le test des flavonoïdes est réalisé en ajoutant 500 microlitres de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2 % à 500 microlitres de l'extrait végétal. Après avoir bien mélangé la solution, celle-ci est placée dans un endroit sombre pendant 10 minutes afin de permettre la réaction des composés. À la fin du temps de réaction, les résultats sont lus à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 360 nanomètres pour déterminer la concentration des flavonoïdes dans l'échantillon.

5. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT)

La teneur totale en composés phénoliques des deux extraits a été déterminée à l'aide d'une méthode spectrophotométrique standard, basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu, selon la méthode décrite par **Sánchez-Rangel *et al.* (2013)**.

Pour ce faire, un volume de 20 μL de chaque extrait et des solutions étalons d'acide gallique (aux concentrations de 50, 100, 150, 200 et 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) ont été mélangés avec 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu, préalablement dilué dix fois avec de l'eau distillée. Ensuite, 8 mL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 % (Na_2CO_3) ont été ajoutés au mélange, puis agités soigneusement.

Après une incubation de 30 minutes à température ambiante (environ 20 °C), l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide gallique a servi de standard pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Les résultats de la teneur totale en composés phénoliques ont été exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ EAG).

Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata, et les données ont été présentées sous forme de moyennes \pm écart-type (\pm ET).

6. Activité antioxydante (AA)

La capacité des composés phénoliques à donner un atome d'hydrogène a été mesurée sur la base de leur aptitude à piéger le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), selon la méthode décrite par **Zebib et Merah (2017)**, avec quelques modifications mineures.

Des solutions mères des extraits ont été préparées à une concentration de 1,0 mg/mL. Des dilutions successives ont ensuite été réalisées pour obtenir des concentrations de 10, 20, 40 et 80 µg/mL. Ensuite, 50 µL de chaque concentration d'extrait ont été ajoutés à 1950 µL d'une solution de DPPH à 0,025 g/L dans le méthanol. Le mélange a été agité, puis maintenu à température ambiante (20 °C) pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm. Un échantillon contenant uniquement du méthanol et tous les réactifs (sans extrait) a été utilisé comme témoin (blanc). Il est évident que l'absorbance maximale (100 %) correspond à la solution de DPPH seule.

L'acide ascorbique a été utilisé comme standard de référence à différentes concentrations (5, 10, 25, 50 et 75 µM). Les mesures ont été réalisées en triplicata sur des plaques microtitration de 96 puits, pour chaque échantillon et chaque concentration du standard.

L'activité de piégeage du radical DPPH, exprimée en pourcentage (%), a été calculée à l'aide de la formule suivante (Équation 1) :

$$\text{Activité de piégeage du DPPH (\%)} = [(A \text{ blanc} - A \text{ essai}) / A \text{ blanc}] \times 100$$

Où A blanc est l'absorbance du blanc, et A essai est l'absorbance de l'extrait testé.

La concentration de l'extrait provoquant une inhibition de 50 % (IC50) a été déterminée à partir de la courbe dose-réponse dans la plage linéaire, en traçant la concentration de l'extrait en fonction de l'effet antioxydant correspondant (Jothy et al. 2011). Les données ont été présentées sous forme de moyennes ± écart-type (M± ET).

7. Activité antimicrobienne :

Le protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux commence par la préparation du milieu Mueller Hinton Agar (MHA). Pour cela, 38 g de poudre MHA sont pesés et dissous dans un litre d'eau distillée stérile, puis chauffés sous agitation jusqu'à dissolution complète. Le mélange est ensuite stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Après refroidissement à environ 50°C, environ 20 mL de milieu sont versés dans chaque boîte de Pétri stérile, sous une hotte à flux laminaire. Les boîtes sont laissées à température ambiante jusqu'à ce que le milieu se solidifie, puis conservées à 4°C ou utilisées immédiatement. Ensuite, l'activation des souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi*) est réalisée en ensemencant une colonie isolée dans 5 mL de bouillon nutritif ou Mueller Hinton Broth, suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 heures sous agitation douce (150 tr/min). La turbidité de la suspension obtenue est vérifiée à l'œil nu. Pour standardiser la concentration bactérienne, la turbidité est comparée à l'échelle de McFarland 0,5 ($\approx 1 \times 10^8$ UFC/mL) ou mesurée par spectrophotométrie à 600 nm (DO de 0,08 à 0,1), et ajustée avec une solution saline stérile si nécessaire.

L'ensemencement des boîtes MHA consiste à déposer 100 μL de la suspension ajustée sur la surface de la gélose, puis à étaler uniformément à l'aide d'une spatule stérile. Après séchage sous flux laminaire pendant 10 à 15 minutes, les disques de papier stériles (5 mm de diamètre) imprégnés de 20 μL des extraits végétaux (*Urtica dioica* et *Marrubium vulgare*, à 10% et 25%) sont préparés. Les disques sont ensuite déposés sur la surface gélosée à l'aide d'une pince stérile, en veillant à maintenir une distance d'au moins 2 cm entre eux pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Un léger appui permet d'assurer un bon contact. Les boîtes sont retournées (couvercle en bas) et incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les zones d'inhibition sont observées à l'œil nu et mesurées en millimètres à l'aide d'un réglet. Toutes les mesures sont notées sans interprétation. Enfin, l'ensemble de l'expérience est réalisé en triplicata pour chaque condition afin d'assurer la reproductibilité des résultats (**Société française de microbiologie, 2014**).

8. Activité d'allélopathie :

Cette expérience a débuté par la préparation d'extraits végétaux (**Kumar et al., 2025**). Par la suite nous faisons tremper les graines de radis, de blé ou d'orge dans une solution d'eau de Javel (50%) pendant 5 minutes, puis nous les rinçons à l'eau distillée pendant cinq minutes pour éliminer tout résidu d'eau de Javel, puis les graines sont séchées et mise à germer dans des boîtes de Pétri dont le fond est recouvert de deux couches de papier filtre à raison de 10 graines par boîte. Ensuite, chaque boîte est arrosée avec 10 ml de l'un des extraits végétaux à l'une des trois concentrations (1 %, 10 % et 25 %). Par la suite, les boîtes sont fermées hermétiquement à l'aide de ruban para film pour prévenir l'évaporation et maintenir l'humidité. Le comptage des graines germées, les mesures des poids frais et secs, et la longueur des plantules ont été faites une semaine après.

9. Activité antiproliférative :

Préparation de l'extrait de pomme de terre et de levure :

On lave soigneusement 200 grammes de pommes de terre, puis on les coupe en tranches. Ces tranches sont ajoutées à 1 litre d'eau distillée et portées à ébullition pendant une heure. Après l'ébullition, le mélange est filtré pour obtenir l'extrait de pomme de terre. Cet extrait est ensuite placé dans des récipients appropriés et stérilisé à l'aide d'un autoclave à 121°C pendant 30 minutes. Une fois stérilisé, l'extrait est refroidi et conservé au réfrigérateur.

Après refroidissement, on ajoute 20 grammes de sucre à l'extrait de pomme de terre, puis on complète le volume avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un litre. Le mélange est agité à l'aide d'un agitateur pendant 5 minutes pour assurer une homogénéisation complète des composants. Ensuite, 1 gramme de levure est ajouté à 20 millilitres de l'extrait de pomme de terre préparé.

Ce mélange est laissé dans un endroit sombre pendant 30 minutes avant d'être utilisé dans ce protocole.

Nous préparons quatre tubes à essai. Dans le premier tube, 2 ml d'extrait végétal à une concentration de 10 % sont mélangés avec 0,5 ml de l'extrait de pomme de terre et de levure à 1 %. Dans le deuxième tube, la même quantité d'extrait végétal est utilisée, mais à une concentration de 25 %, avec le même volume de l'extrait de pomme de terre et de levure. Ensuite, les deux tubes sont incubés dans un bain-marie à 37 °C pendant 30 minutes et Après la période d'incubation, Colorent de bleu de méthylène à 2 % est ajoutée 2 µl à chaque tube, puis les tubes sont agités. Les échantillons sont ensuite laissés à température ambiante pendant 5 minutes.

Par la suite, de petites quantités de chaque tube sont prélevées et placées sur des lames de microscope, puis examinées au microscope optique(x40).

En plus des échantillons principaux, deux tubes supplémentaires sont préparés comme témoins. Dans le troisième tube(T+), 2 ml d'eau oxygénée sont mélangés avec 0,5 ml de l'extrait de pomme de terre et de levure à 1 %.

Dans le quatrième tube(T-), 2 ml d'eau distillée sont mélangés avec le même volume de l'extrait de pomme de terre et de levure à 1 %.

Les mêmes étapes d'incubation, d'ajout de colorant, d'attente et d'observation microscopique sont suivies pour ces échantillons témoins (**Saboo et al., 2007**).

10. Induction de la callogenèse

Comme première étape vers l'établissement d'un protocole optimal pour la callogénèse, différentes concentrations des régulateurs de croissance α -acide naphthalèneacétique (NAA) et 6-benzyl aminopurine (BAP) ont été testées. Ces régulateurs de croissance appartiennent respectivement aux familles des auxines et des cytokinines et ont été choisis car ils sont connus pour réguler la formation de callosités par des interactions coopératives et antagonistes (**Rahman et al., 2019**).

Pour déterminer la concentration optimale de BAP et de NAA pour l'induction de callosité, la combinaison de différentes concentrations ont été examinées dans des boîtes de Pétri de 90 mm. Diverses concentrations de BAP et d'ANA (0,1 et 0,5 mg/L de NAA contre 1 et 2ppm de BAP) ont été utilisées pour obtenir un total de 4 combinaisons (**Tableau 4**).

Ces combinaisons BAP-NAA ont été ajoutées au milieu de base MS avec 3 % (p/v) de saccharose et 0,8 % (p/v) de gélose.

Tableau 4. Les combinaisons des régulateurs de croissance appliquées

| NAA | 0,1ppm | 0,5ppm |
|-------------|---------------|---------------|
| BAP | | |
| 2ppm | MS1 | MS2 |
| 1ppm | MS3 | MS4 |

Les explants de tiges ou feuilles ont été placés horizontalement sur le milieu et cultivés dans une salle de culture sous des lumières à diodes électroluminescentes (LED) avec un cycle lumière/obscurité de 16/8 h à une température constante de 22 °C (deux boîtes de Pétri par condition).

Les explants ont été prélevées sur des plants d'ortie ou marrube sains et vigoureux poussant à l'état sauvage. Les explants ont d'abord été lavées avec un détergent (c.-à-d. de l'eau avec quelques gouttes de savon) pendant 10 min, puis immergées dans de l'eau de Javel commerciale à 20 % (v/v) pendant 10 min, suivies de trois rinçages avec de l'eau distillée stérilisée (**Figure 3**).

Pour prévenir la contamination fongique, après autoclavage du milieu de culture et avant sa distribution dans les boîtes de culture, l'antifongique **Fuconazole** a été ajouté à une concentration de 50 mg/L.

Les échantillons ont été incubés à une température de 22°C +/- 2 pendant 2 mois.

Paramètres étudiés :

Les caractéristiques liées aux callosités, y compris la durée pour l'induction des cals, le pourcentage de callogenèse, le poids des calos, leur couleur et leur texture ont été analysées.

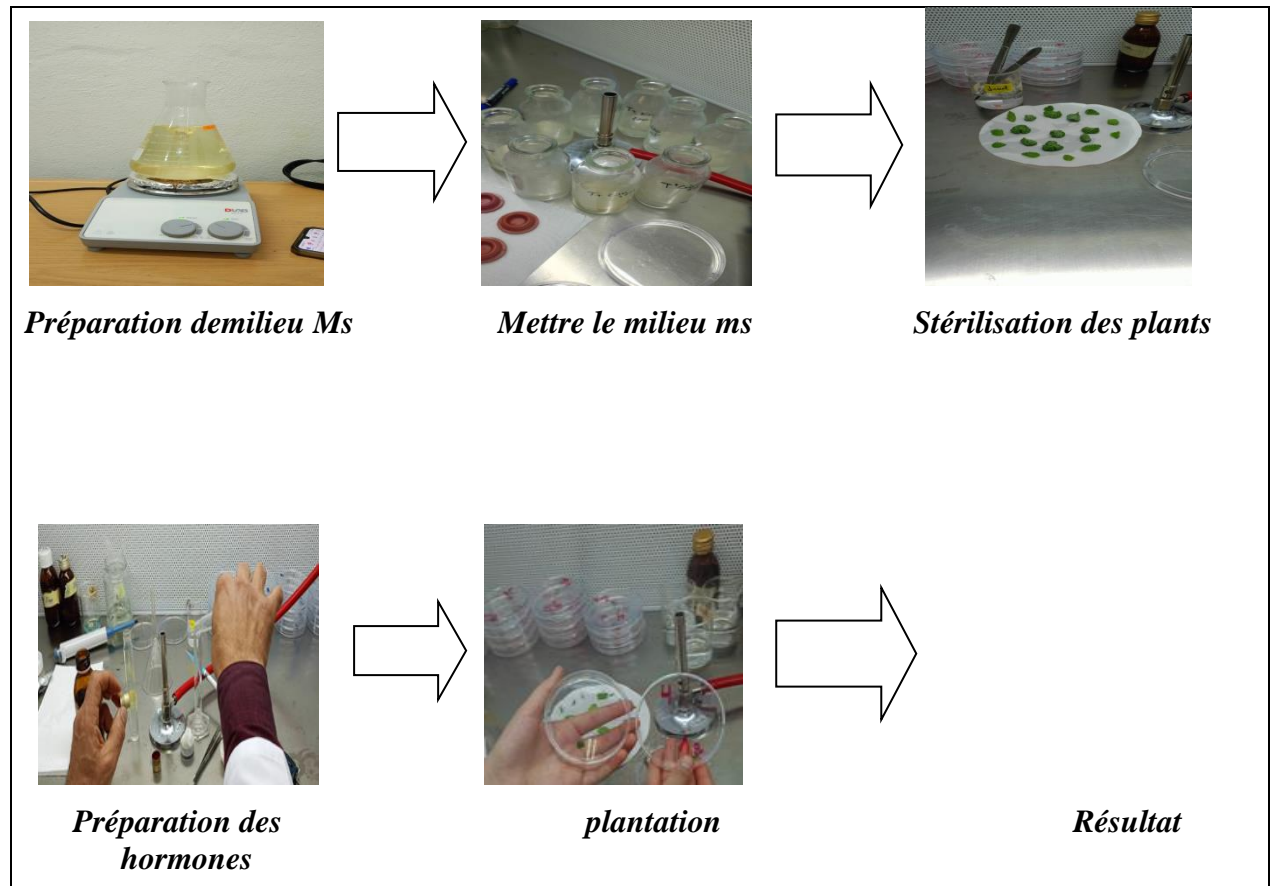


Figure 3. Les étapes de l'induction de la callogenèse (photographies personnelles).

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip on top, both featuring rounded ends and a grey shadow effect.

Résultats & Discussion

RESULTATS ET DISCUSSION

1. ANALYSES PHYTOCHIMIQUES :

□ *Analyse qualitative :*

Les résultats de l'analyse phytochimique qualitative des extraits aqueux des plantes *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* ont révélé la présence de plusieurs composés bioactifs, notamment les alcaloïdes, les stéroïdes, les phénols, les flavonoïdes, les protéines et les carbohydrates. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études récentes qui ont confirmé le riche profil phytochimique de ces espèces végétales traditionnellement utilisées dans la médecine populaire.

Concernant les alcaloïdes, les tests de Mayer, Dragendorff et Wagner ont montré des résultats positifs pour *Urtica dioica*, ce qui suggère une forte teneur en ces composés (**Tableau 5**). Ce résultat est cohérent avec les travaux de **Merah et al. (2021)**, qui ont rapporté la présence de composés bioactifs, notamment des alcaloïdes, dans différentes parties du *Urtica dioica*, contribuant à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. En revanche, pour *Marrubium vulgare*, seuls les tests de Dragendorff et Wagner ont été positifs, ce qui concorde avec les observations de **Šic Žlabur et al. (2022)**, indiquant que la concentration en alcaloïdes peut varier selon les parties de la plante et les conditions environnementales.

Pour les stéroïdes, le test de Salkowski a donné un résultat positif uniquement pour *Urtica dioica* (**Tableau 5**). Cette observation soutient celle de **Afsharipour et al. (2024)**, qui ont identifié plusieurs stéroïdes dans les extraits de cette espèce, connus pour leurs effets hypocholestérolémiants. Cependant, l'absence de stéroïdes chez *Marrubium vulgare* pourrait être liée aux méthodes d'extraction ou à la saison de récolte, comme cela a été souligné par **Šic Žlabur et al. (2022)**.

En ce qui concerne les phénols, le test au chlorure ferrique a montré une coloration vert foncé pour *Urtica dioica*, confirmant sa richesse en composés phénoliques (**Tableau 5**). Ces résultats corroborent ceux de **Sehari et al. (2020)**, qui ont mis en évidence une forte activité antioxydante associée à ces composés. Par contre, pour *Marrubium vulgare*, le test a été négatif, ce qui contraste avec certaines études, mais peut s'expliquer par des différences dans les techniques analytiques ou la variabilité génétique des échantillons.


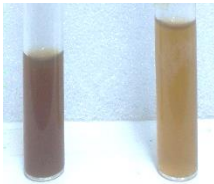

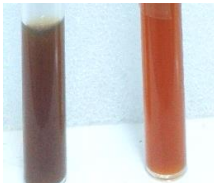

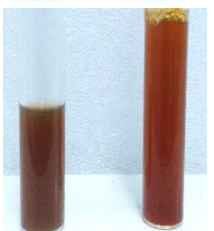


Les flavonoïdes ont été détectés uniquement chez *Urtica dioica* via le test du réactif alcalin, ce qui est conforme aux données de **Karima et al. (2022)**, signalant la prédominance de ces composés dans les feuilles. L'absence de flavonoïdes chez *Marrubium vulgare* pourrait être due à la méthode utilisée, car

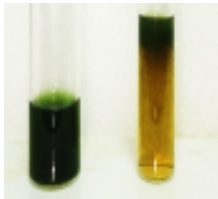


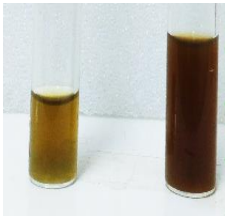
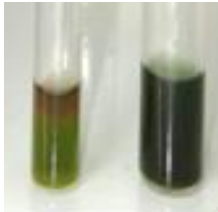
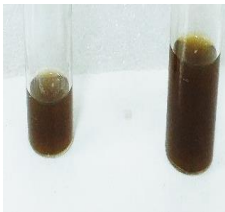
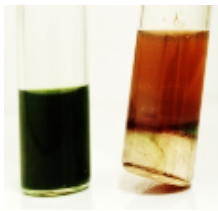
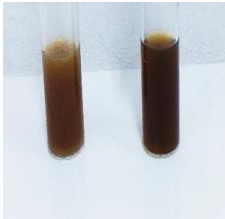
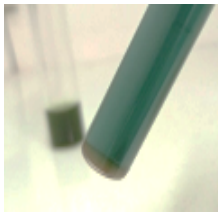
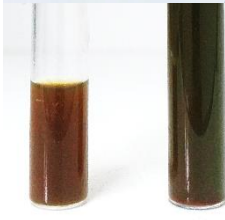
d'autres auteurs (**Karima et al., 2022**) ont rapporté leur présence en utilisant des techniques plus sensibles.

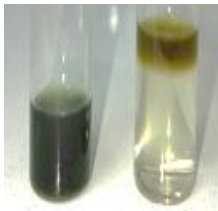
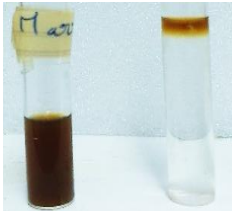
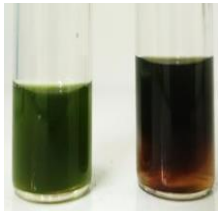

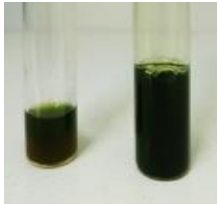


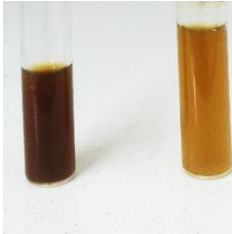
Les protéines ont été absentes chez les deux espèces, ce qui peut être lié à la nature aqueuse des extraits, ne permettant pas l'extraction optimale de ces macromolécules. Ce point mérite une investigation plus approfondie, notamment en utilisant des solvants organiques ou des méthodes enzymatiques, comme proposé par **Sarrafi et al. (2024)**.

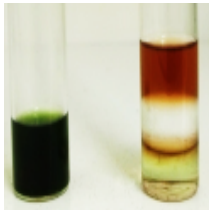
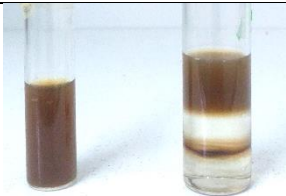
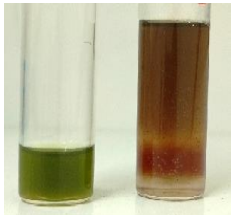

Enfin, les carbohydrates ont été détectés chez *Urtica dioica* par les tests de Molisch, Fehling et Benedict, confirmant leur rôle structural et énergétique dans la plante (**Tableau 5**). Ces résultats rejoignent ceux de **Merah et al. (2021)**, soulignant l'intérêt nutritionnel de cette espèce. Les résultats montrent aussi que *Urtica dioica* présente un profil phytochimique plus riche que *Marrubium vulgare*, ce qui pourrait expliquer son utilisation plus fréquente dans les formulations thérapeutiques. Toutefois, des études complémentaires, notamment quantitatives et chromatographiques, seraient nécessaires pour identifier précisément les molécules actives et évaluer leur potentiel pharmacologique.

Tableau 5 : analyse qualitative des extraits aqueux de *l'Urtica dioica* (à gauche) et *Marrubium vulgare* (à droite)

| Type de composé | Test | Observation | Photo | Résultat | Observation | Photo | Résultat |
|-----------------|-------------|--|--|----------|---|---|----------|
| Alcaloïdes | Mayer | L'apparition d'un précipité de couleur jaunâtre. |  | + | L'apparition d'une couleur jaune |  | - |
| Alcaloïdes | Dragendorff | Précipité rouge-orange en bas. |  | + | Formation d'un précipité rouge orangé indiquant la présence d'alcaloïdes |  | + |
| Alcaloïdes | Wagner | Apparition d'un précipité brun rougeâtre. |  | + | Formation d'un précipité brun rougeâtre indiquant la présence d'alcaloïdes" |  | + |
| Phénoliques | Alcaline | Apparition d'un couleur jaune. |  | - | Formation d'un précipité d'une couleur jaune |  | - |

| | | | | | | | |
|---------------|-----------------|---|--|---|---|---|---|
| Phénoliques | Ferric chloride | L'apparition d'une couleur vert foncé haut, et la couleur vert clair apparait en bas |  | + | L'apparition d'une couleur noir, apparition de mousse. |  | - |
| Protéines | Biuret | Apparition de plusieurs allons du vert vers le noir au centre, avec un précipité blanchâtre. |  | - | L'apparition d'une couleur brun foncé. |  | - |
| Protéines | Ninhydrine | Apparition d'une couleur vert foncé. |  | - | Aucune couleur n'apparaît |  | - |
| Carbohydrates | Molisch | Remarquez les gradients, nous commençons par une couleur brune à transparente, séparée par une couleur rouge-violet et verte. |  | + | L'apparition d'une couleur Marron clair |  | - |
| Carbohydrates | Fehling | L'apparition de couleur bleu et Le précipité rouge/rouge foncé en bas. |  | + | Formation d'un précipité rouge indiquant la présence d'alcaloïdes |  | + |

| | | | | | | | |
|--------------------------|-----------|---|---|---|--|--|---|
| Carbohydrates (glucides) | Benedict | L'absence de précipité rouge et l'apparition de trois couches vertes, jaune et transparentes. |  | - | Apparition d'une couche jaune en haut du tube |  | + |
| Glycosides | Keller | L'absence du couleur bleu profonde, l'apparence de couleur vert noircie et couleur rouge-orangé en bas. |  | - | L'apparition d'une couleur brune caramel et Formation d'un précipité jaune clair |  | + |
| Saponines | Saponines | L'absence de mousse |  | - | Mousse >1 cm |  | + |
| Triterpenoïdes | Horizon | La couleur orange et formation d'un cristal rouge. |  | + | L'Apparition d'un couleur jaune |  | - |

| | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|---|--|---|---|---|---|
| Stéroïdes | Salkowski | L'apparition de plusieurs couches, dont la première est brun clair, transparente, rouge et un peu vert clair et transparente, |  | + | Formation d'un anneau marron |  | - |
| Glycosides cardiaques | Glycosides cardiaques | L'apparition de plusieurs couches de vert foncé, jaune, brun et la dernière couche est transparente. |  | + | L'apparition de deux couches : une couche brune et une couche transparente. |  | + |

□ **Analyse quantitative :**

Les résultats de l'analyse phytochimique quantitative montrent que les extraits aqueux des deux plantes étudiées, *U. dioica* et *M. vulgare*, contiennent des composés secondaires biologiquement actifs, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, connus pour leurs propriétés antioxydantes et anticancéreuses.

Teneur en composés phénoliques totaux (CPT) et en flavonoïdes (FT):

Selon les **Figures 4 et 5**, *U. dioica* a montré une teneur plus élevée en CPT (15,65 µg EAG/mL) par rapport au *M. vulgare* (9,68 µg EAG/mL). Néanmoins, les deux espèces ont montré des teneurs comparables quant aux flavonoïdes totaux 6,49 mg EC/mL pour l'*U. dioica* et 6,18 mg EC/mL pour la *M. vulgare*.

Ces résultats indiquent que *U. dioica* possède une teneur plus élevée en composés phénoliques. En revanche, *M. vulgare* présente une teneur légèrement inférieure en phénols mais un niveau similaire de flavonoïdes.

Ces observations sont cohérentes avec celles rapportées par **Parente et al. (2024)**, selon lesquels le contenu en phénols et flavonoïdes influence directement l'activité biologique des extraits végétaux.

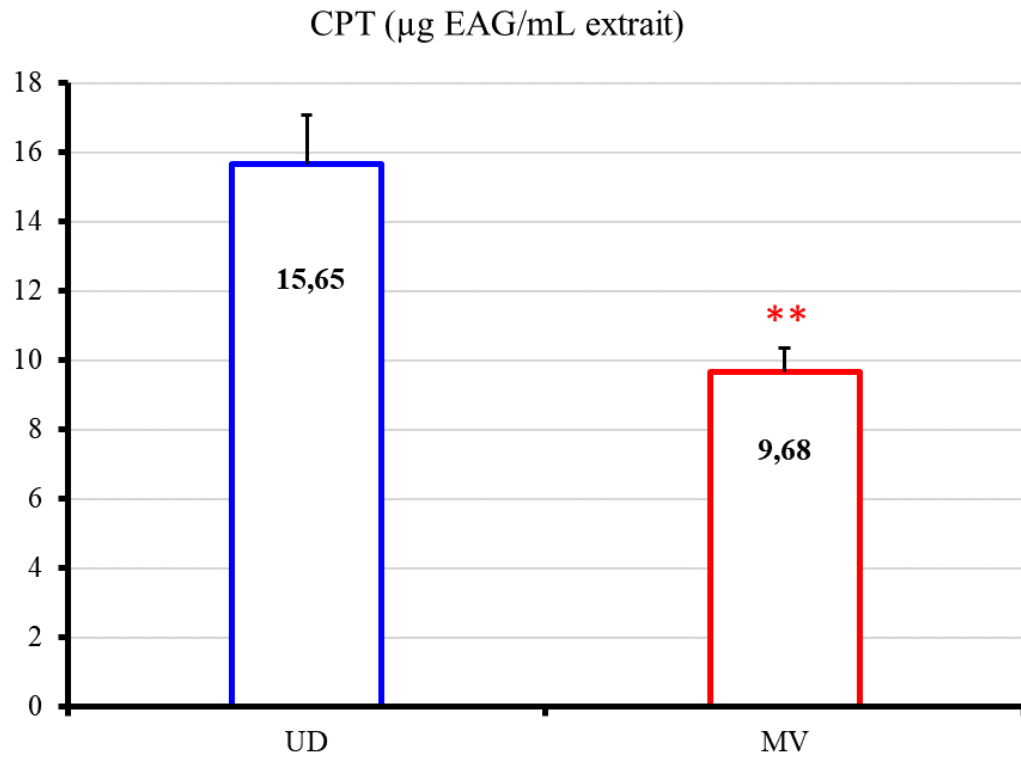


Figure 4. Teneur des composés phénoliques totaux.

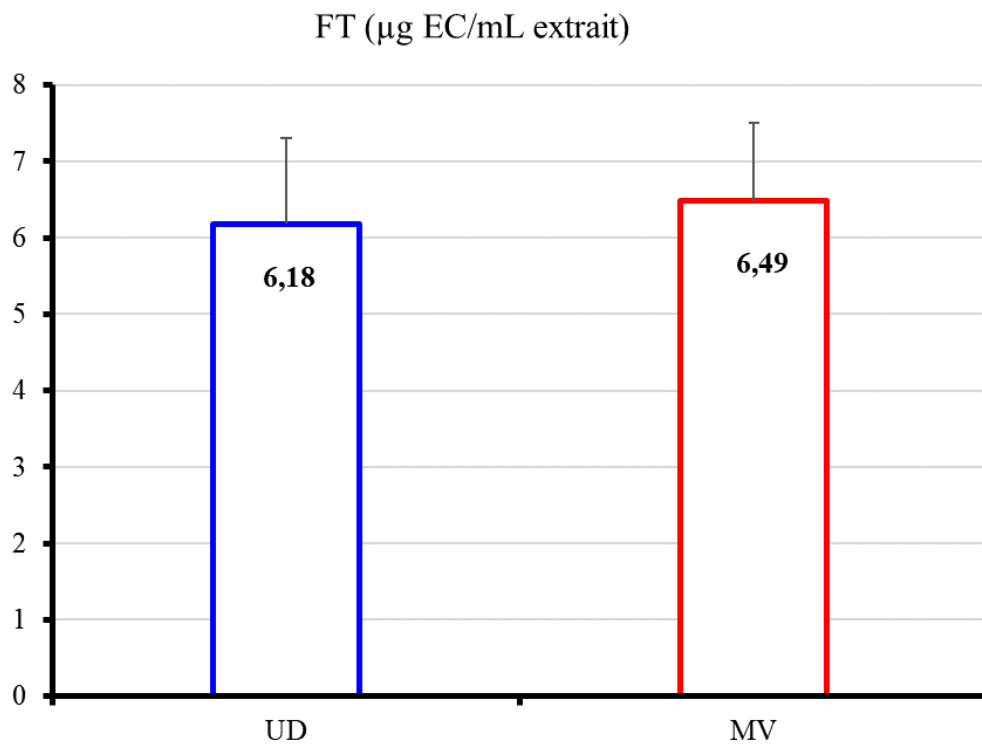


Figure 5. Teneur des flavonoïdes totaux.

2. ACTIVITES BIOLOGIQUES

□ *Activité antioxydante :*

L'analyse de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a révélé que les extraits aqueux des deux plantes possèdent une activité modérée à élevée, avec des valeurs d'IC₅₀ de : 208,25 µg/mL pour l'*Urtica dioica*, et 191,13 µg/mL pour la *Marrubium vulgare*.

Ces résultats (**Figure 6**) montrent que *Marrubium vulgare* présente une activité légèrement supérieure, malgré sa teneur inférieure en polyphénols totaux. Cette différence pourrait s'expliquer par un effet synergique entre plusieurs composés présents dans l'extrait, notamment les flavonoïdes et les terpénoïdes.

La relation linéaire observée entre la concentration et le pourcentage d'inhibition radicalaire ($R^2 > 0.9$) confirme la stabilité de l'effet antioxydant, ce qui soutient leur utilisation potentielle comme sources naturelles d'antioxydants.

Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par **Raheel et al. (2017)** pour des extraits végétaux utilisés dans les traitements anticancéreux, où l'effet antioxydant est souvent associé à la présence de flavonoïdes, myricétine, quercétine et autres métabolites secondaires.

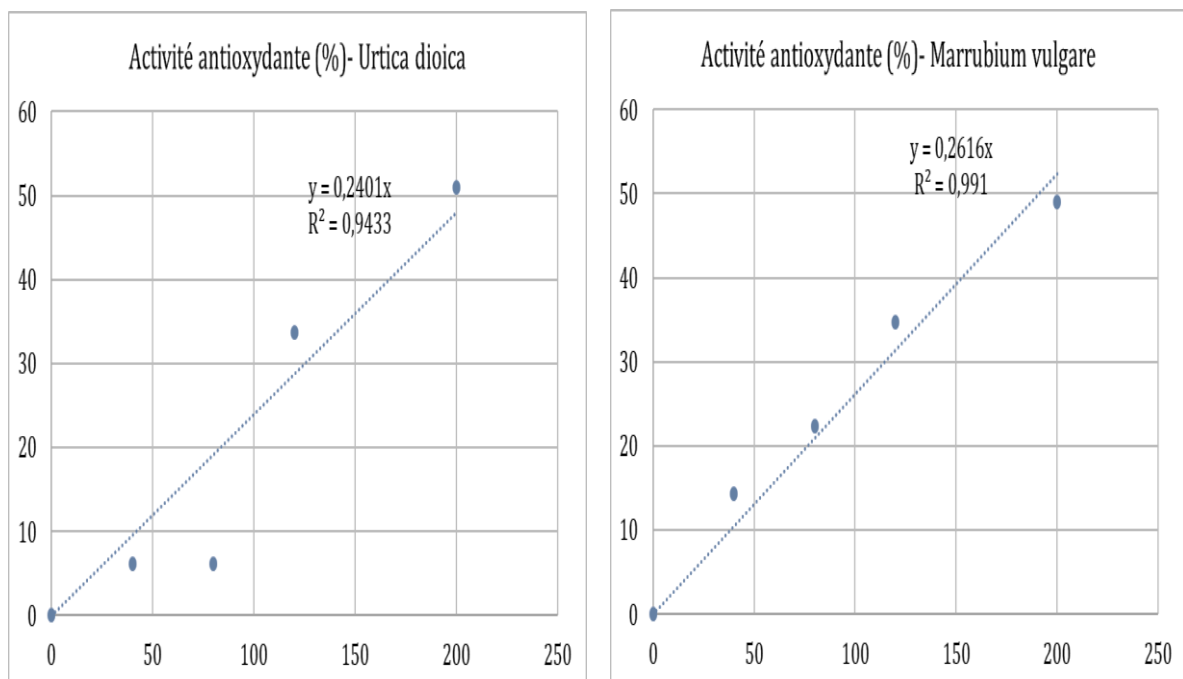


Figure 6. Activité antioxydante (%) des deux extraits.

□ **Activité d'allélopathie :**

▪ **Test de germination**

Les tests menés sur les graines de blé (*Triticum aestivum*) et d'orge (*Hordeum vulgare*) ont montré que seul l'extrait aqueux de *Marrubium vulgare* a 10 et 25% de concentration a exercé un effet inhibiteur significatif sur la germination de l'orge (**Figure 7**).

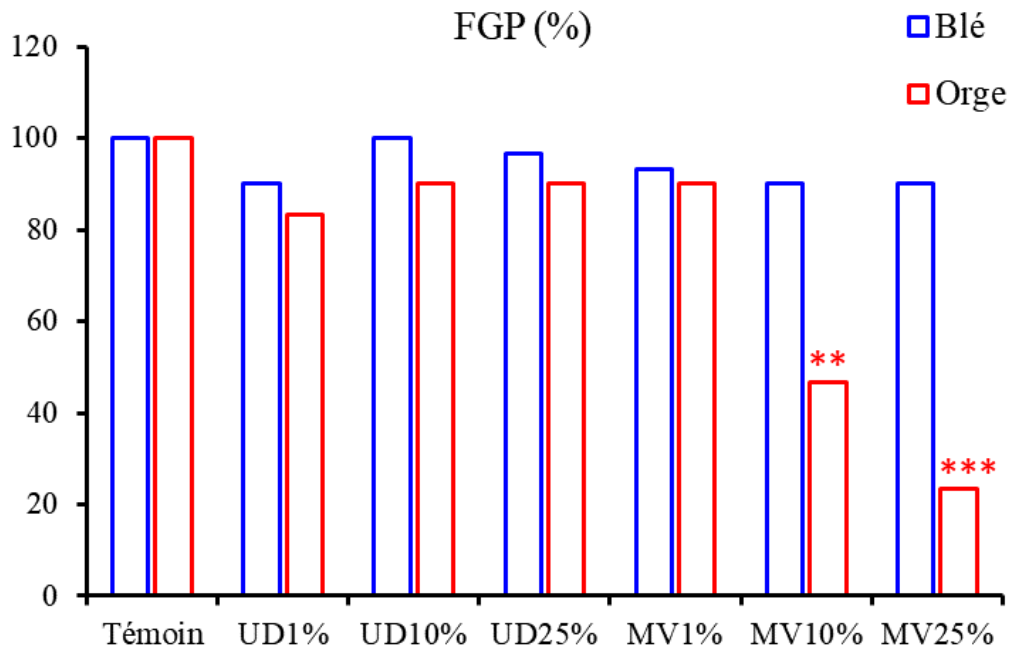


Figure 7. L'impact des extraits aqueux de *U. dioica* et *M. vulgare* sur la germination du Blé dur (en bleu) et de l'orge (en rouge). (P= 0,0002 ; n=3)

▪ **Test de croissance**

Selon les **Figures 8-9** et les **Tableaux 5-6**, dans l'ensemble le poids frais (PF), le poids sec (PS) et la longueur du plumule (LP) diminuent fortement sous l'effet des extraits de *Marrubium vulgare* chez le blé dur, ce qui témoigne d'un impact direct sur la division cellulaire et le métabolisme des semis.

Cet effet peut être attribué à la présence de composés tels que les flavonoïdes et les terpénoïdes, capables de perturber la synthèse des protéines ou l'absorption de l'eau (**Kumar et al., 2025 ; Shaikh et Patil, 2020**).

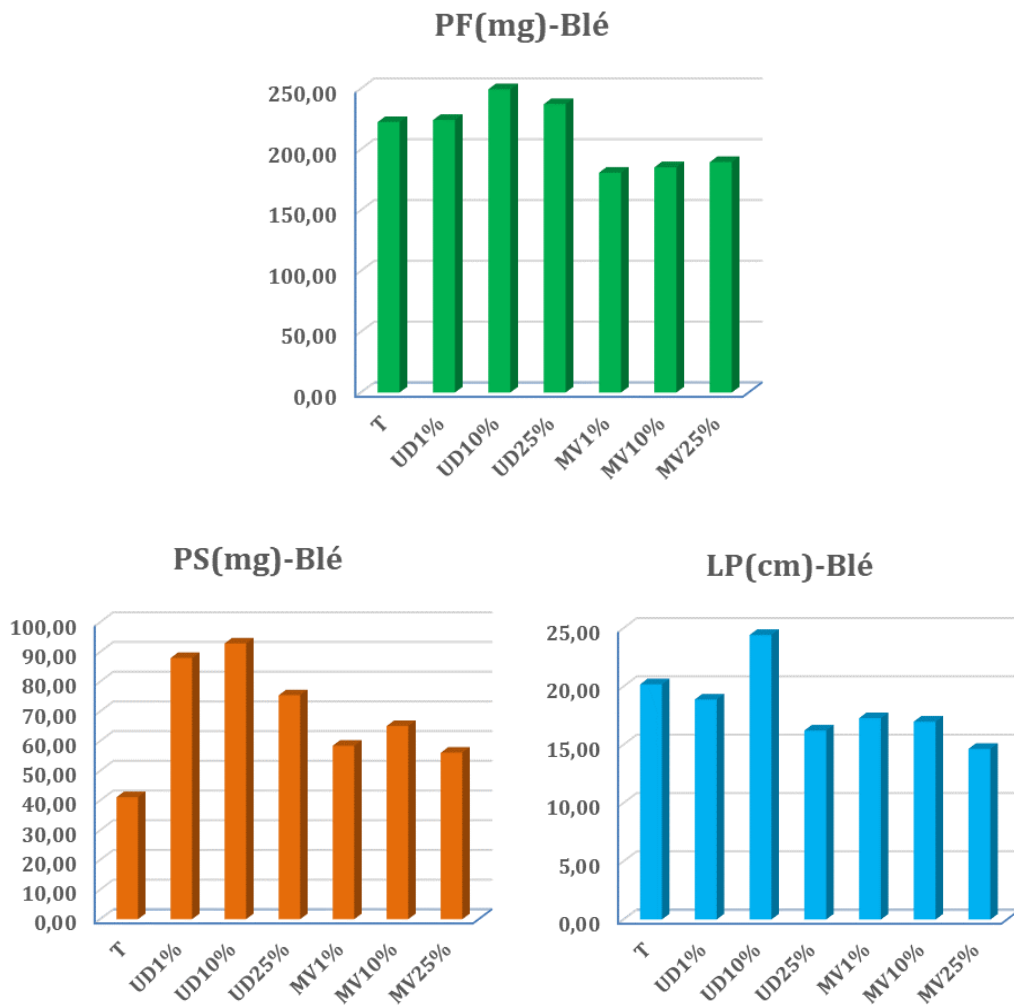


Figure 8. L'impact des extraits de *U. dioica* et *M. vulgare* sur la croissance du Blé dur.

Tableau 5: L'impact des extraits de *U. dioica* et *M. vulgare* sur la croissance du Blé dur.

| | | PF (mg) | | PS (mg) | | LP (cm) | |
|---------|-----|---------|-------|---------|-------|---------|------|
| | | Moyenne | ET | Moyenne | ET | Moyenne | ET |
| CON | 0% | 217,97 | 95,74 | 34,73 | 10,91 | 19,33 | 2,52 |
| | 1% | 214,47 | 44,57 | 83,73 | 30,83 | 19,67 | 0,93 |
| UD | 10% | 223,73 | 72,14 | 84,83 | 21,65 | 17,83 | 3,23 |
| | 25% | 186,50 | 61,10 | 51,17 | 31,64 | 13,50 | 1,22 |
| MV | 1% | 143,93 | 41,39 | 34,67 | 13,65 | 16,23 | 2,87 |
| | 10% | 182,90 | 16,62 | 73,07 | 14,32 | 19,07 | 2,66 |
| | 25% | 180,73 | 56,09 | 43,00 | 3,61 | 19,60 | 2,52 |
| F | | 0,66 | | 3,53 | | 2,71 | |
| P-value | | 0,69 | | 0,0244 | | 0,059 | |

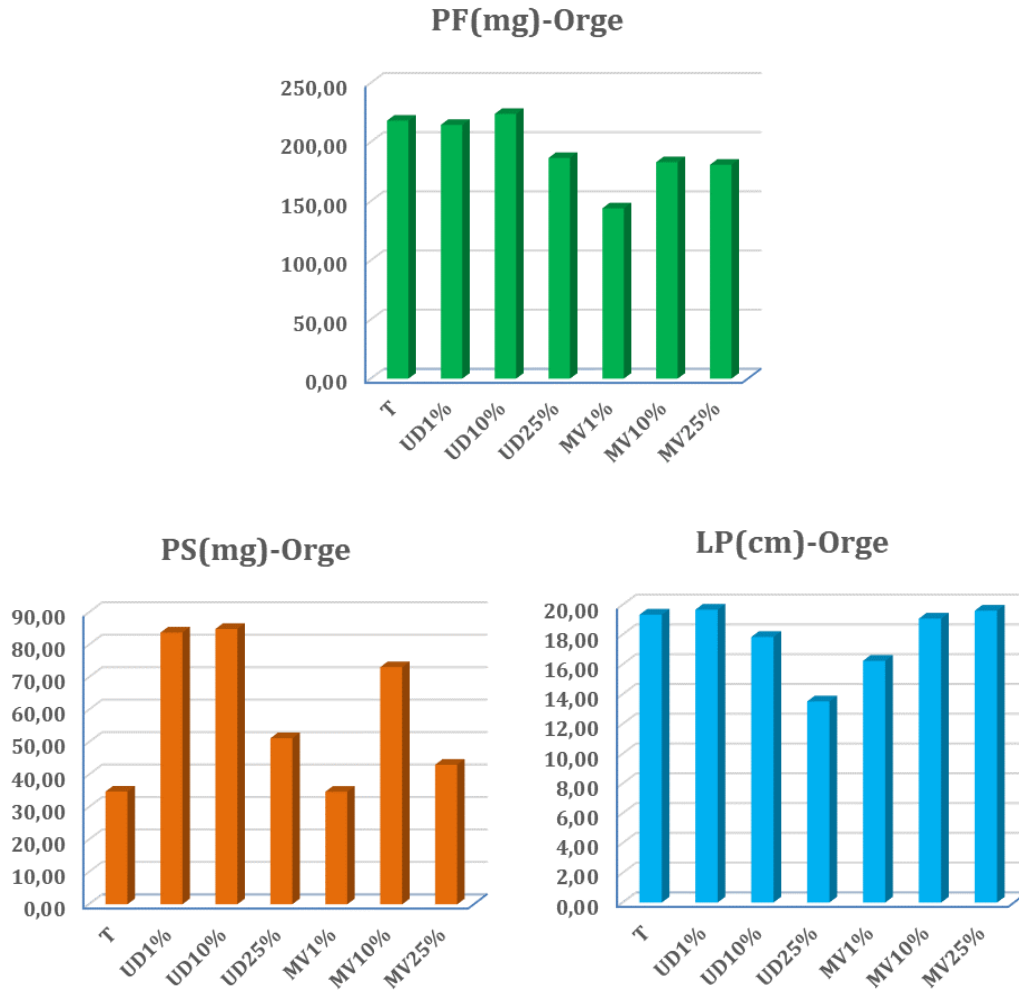


Figure 9. L'impact des extraits de *U. dioica* et *M. vulgare* sur la croissance de l'orge.

Tableau 6: L'impact des extraits de *U. dioica* et *M. vulgare* sur la croissance de l'orge.

| | | PF (mg) | | PS (mg) | | LP (cm) | |
|---------|-----|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | | Moyenne | ET | Moyenne | ET | Moyenne | ET |
| CON | 0% | 222,33 | 96,73 | 41,07 | 16,90 | 20,17 | 4,25 |
| | 1% | 224,03 | 14,17 | 87,90 | 44,39 | 18,87 | 2,06 |
| UD | 10% | 249,27 | 12,46 | 92,80 | 30,22 | 24,40 | 12,82 |
| | 25% | 237,07 | 34,70 | 75,37 | 28,97 | 16,20 | 3,25 |
| MV | 1% | 180,70 | 35,21 | 58,37 | 41,92 | 17,27 | 2,87 |
| | 10% | 185,17 | 29,28 | 65,03 | 24,13 | 16,97 | 1,72 |
| | 25% | 189,40 | 39,20 | 56,03 | 26,45 | 14,63 | 2,90 |
| F | | 1,08 | | 1,01 | | 1 | |
| P-value | | 0,421 | | 0,457 | | 0,466 | |

□ *Activité antiproliférative*

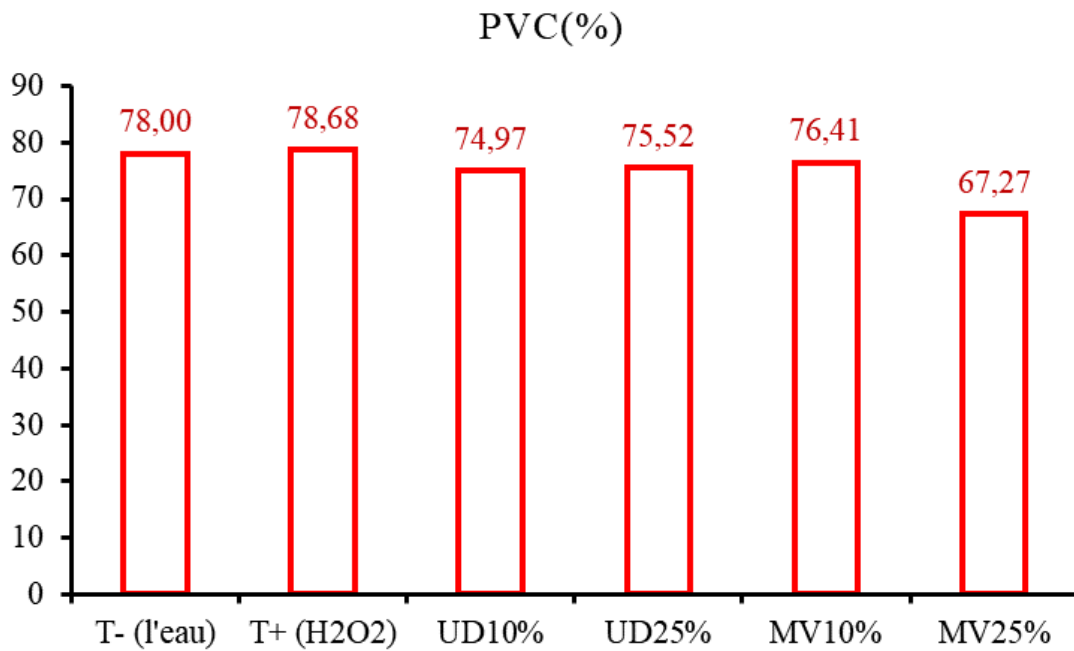


Figure 10. L'impact des extraits de *U. dioica* et *M. vulgare* sur la viabilité de la levure.

L'effet antiprolifératif mesuré par le test de viabilité cellulaire a révélé que les extraits aqueux des deux plantes inhibent la prolifération cellulaire, avec des valeurs d'IC50 respectivement de 78,68 $\mu\text{g/mL}$ pour *U. dioica* et 76,41 $\mu\text{g/mL}$ pour *M. vulgare* (**Figure 10**).

Ces valeurs suggèrent une activité modérée mais prometteuse, comparable à celle rapportée par **Swathi et al. (2024)** pour des extraits de plantes utilisées dans les traitements anticancéreux.

La présence de composés comme les alcaloïdes, les flavonoïdes et les terpénoïdes pourrait expliquer ces effets via divers mécanismes, notamment la modulation des voies apoptotiques ou l'interférence avec la réplication de l'ADN.

□ *Activité antimicrobienne*

Les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux des feuilles d'*U. dioica* et de *M. vulgare* présentent une activité antimicrobienne modérée contre quatre souches bactériennes représentatives, à savoir : *Bacillus subtilis* (Gram-positif) ; *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-négatif) ; *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) ; *Salmonella typhi* (Gram-négatif) (**Tableau 7**).

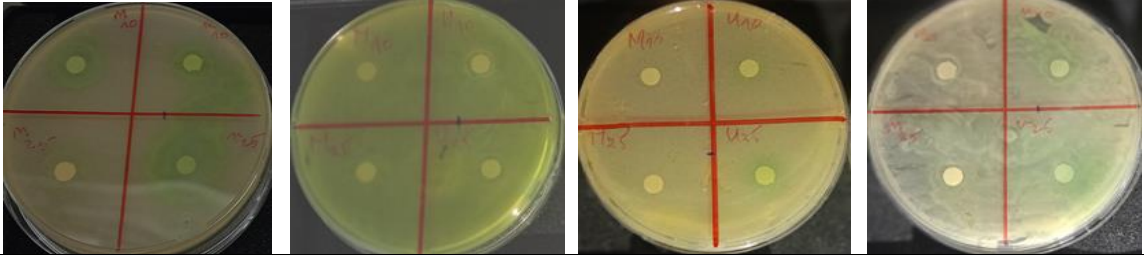
L'effet inhibiteur est exprimé en diamètres des zones d'inhibition (en mm), mesurés à deux concentrations : 10% et 25%. Les valeurs maximales observées sont de $16,08 \pm 5,56$ mm pour *B. subtilis* avec *U. dioica* à 10%, et $9,59 \pm 0,90$ mm pour *S. typhi* avec *M. vulgare* à 25%.

Sehari et al. (2020) ont démontré que l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* inhibe efficacement *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 15–18 mm, ce qui correspond approximativement aux valeurs trouvées ici.

En revanche, **Seliya et Kothiyal (2014)** ont signalé une activité antibactérienne plus marquée de *Marrubium vulgare* sur *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition atteignant 14 mm, ce qui dépasse nos observations.

D'autres travaux comme ceux de **Karima et al. (2022)** montrent que les extraits méthanoliques de plantes médicinales, y compris celles appartenant au genre *Marrubium*, peuvent atteindre des zones d'inhibition supérieures à 20 mm sur des souches similaires.

Tableau 7: Diamètre des zones d'inhibition (en mm) des souches bactériennes en présence des extraits de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* à différentes concentrations.



| | UD10% | UD25% | MV10% | MV25% |
|---------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Ba | $16,08 \pm 5,56$ | $15,28 \pm 7,09$ | $13,70 \pm 3,71$ | $15,05 \pm 12,27$ |
| Ps | $10,27 \pm 1,66$ | $7,74 \pm 0,47$ | $8,53 \pm 1,39$ | $7,55 \pm 2,03$ |
| St | $8,06 \pm 1,95$ | $6,73 \pm 0,92$ | $7,30 \pm 1,13$ | $7,08 \pm 0,62$ |
| Sa | $8,05 \pm 2,05$ | $8,20 \pm 1,90$ | $7,57 \pm 1,36$ | $8,39 \pm 2,17$ |
| F | 3,69ns | 3,34ns | 5,72* | 1,05ns |
| P-value | 0,0622 | 0,0767 | 0,0217 | 0,4235 |

Ba : *Bacillus subtilis* (Gram-positif) ; *Ps* : *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-négatif) ; *St* : *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) ; *Sa* : *Salmonella typhi* (Gram-négatif).

3. CULTURE IN VITRO (induction de cals)

Selon les **Figures 11 et 12 et les Tableaux 8-9**, le milieu MS3 (**0,1 ppm NAA et 1ppm BAP**) domine largement en surface et poids, ce qui en fait le meilleur milieu pour la callogenèse de l'ortie. MS2 (**0,5ppm NAA et 2ppm BAP**) suit avec des valeurs intermédiaires, mais une structure prometteuse pour l'organogénèse. MS1 (**0,1ppm NAA et 2ppm BAP**) produit des cals compacts de taille modérée., tandis que MS4 (**0,5ppm NAA et 1ppm BAP**) est nettement moins performant.

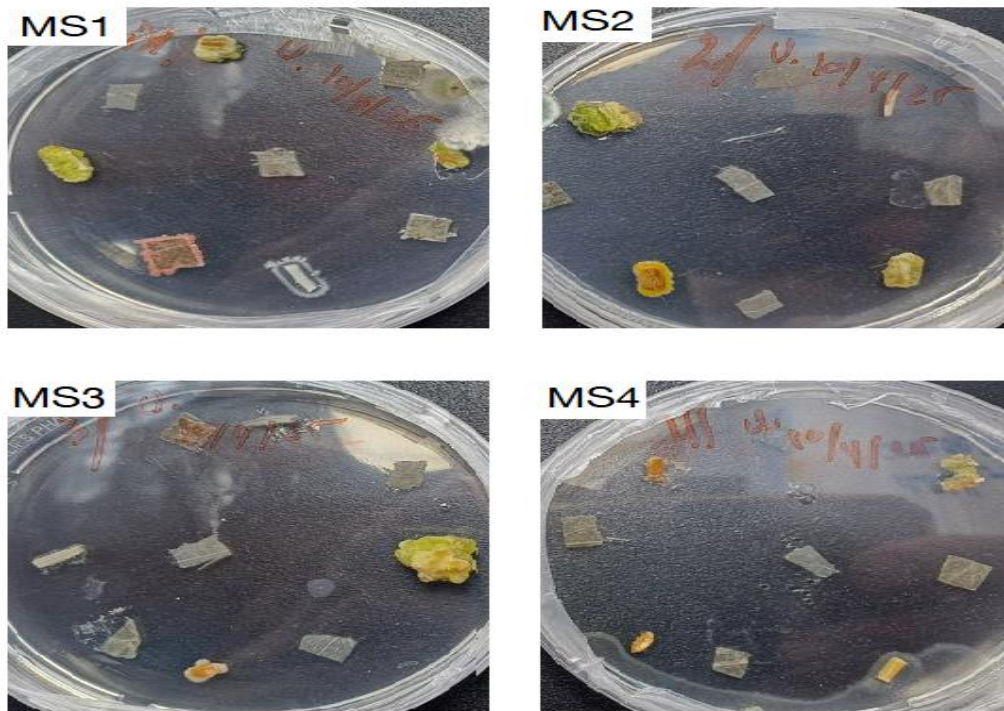
Les résultats obtenus montrent que l'utilisation d'explants foliaires de *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare* sur différents milieux nutritifs n'a pas conduit à l'induction de calus après 45 jours de culture. En revanche, une réponse morphogénique a été observée au niveau des segments de tige chez l'ortie, avec un pourcentage variable selon le milieu de culture adopté.

Ce constat suggère que la réponse régénérative des explants dépend à la fois du type de tissu et de la composition du milieu de culture.

Par exemple, le milieu MS1 s'est révélé le plus efficace pour induire les calls chez les segments de tige de *Urtica dioica*, avec un taux d'induction de 75%, tandis que les milieux MS2 et MS3 ont donné des résultats similaires (50%) et le milieu MS4 a montré une faible activité (25%).

Comme mentionné par **Nezami-Alanagh et al. (2017)**, la compétence morphogénétique des explants dépend aussi de leur origine génétique et de leur statut développemental.

Urtica dioica (45 jours de culture)



Marrubium vulgare (45 jours de culture)

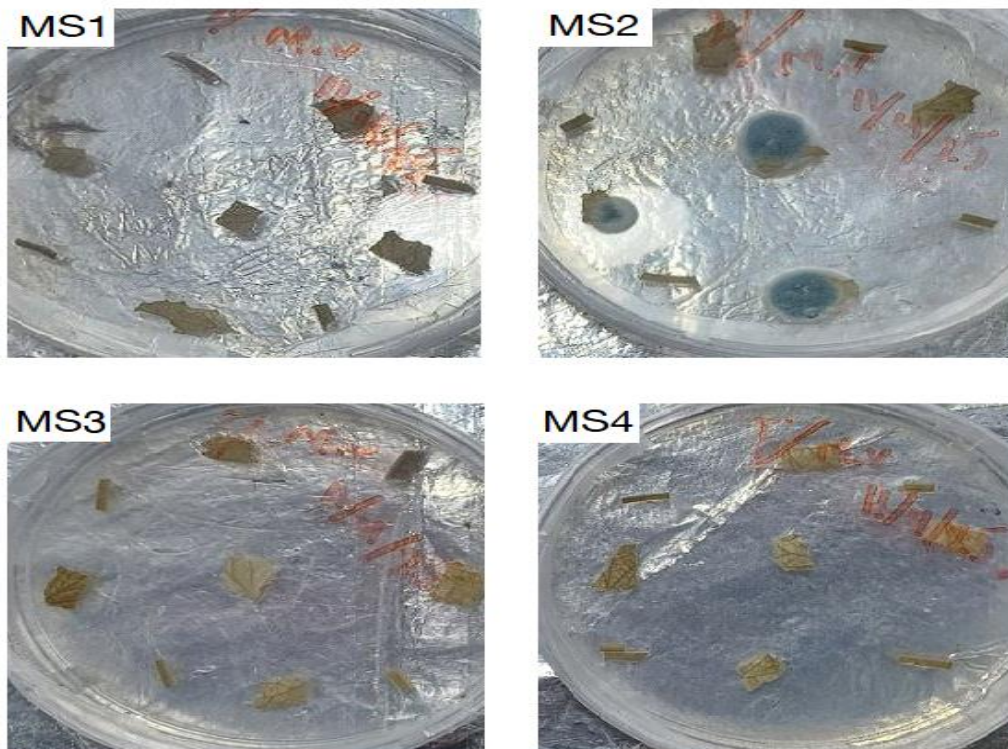


Figure 11. Induction des cals chez *Urtica dioica* et *Marrubium vulgare*. Pour la composition des milieux de culture consulter la section ‘matérielle et méthodes’.

Tableau 8. Pourcentage d'induction des cals :

| Milieu | <i>Urtica dioica</i> / feuilles | <i>Urtica dioica</i> / tiges | <i>Marrubium</i> vulgare /feuilles | <i>Marrubium</i> vulgare /tiges |
|--------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| MS | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MS1 | 0 | 75% | 0 | 0 |
| MS2 | 0 | 50% | 0 | 0 |
| MS3 | 0 | 50% | 0 | 0 |
| MS4 | 0 | 25% | 0 | 0 |

Tableau 9. Paramètres qualitatifs et quantitatifs des cals

| Milieu | Surface (cm ²) | Masse (g) | Couleur | Structure | Interprétation |
|-------------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------------|----------------------------|---|
| MS1 | 0,39 | 0,08 | Jaune-vert pâle | Compact à lisse | Développement modéré, bonne induction |
| MS2 | 0,51 | 0,10 | Jaune avec teinte orangée | Semi-friable, bosselée | Signe possible d'organogenèse |
| MS3 | 0,96 | 0,20 | Vert clair avec bords blancs | Friable, irrégulier | Prolifération active, excellent potentiel de différenciation |
| MS4 | 0,20 | 0,04 | Vert pâle | Très compact, dense | Croissance faible, peu de prolifération apparente |
| <i>Moyenne</i> | 0,52 | 0,11 | | | |
| <i>Ecart-type</i> | 0,32 | 0,07 | | | |

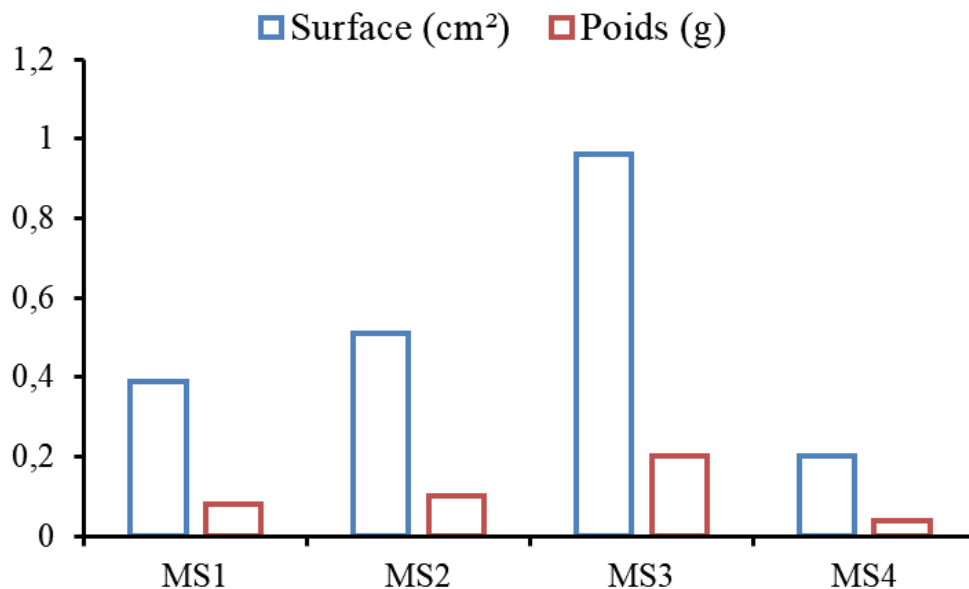


Figure 12. Comparaison des paramètres quantitatifs des cals entre les différents milieux. Pour la composition des milieux de culture consulter la section "matérielle et méthodes".



Conclusion

CONCLUSION

L'ortie (*Urtica dioica*) et le marrube blanc (*Marrubium vulgare*) se distinguent par une forte variabilité phytochimique. Leurs extraits aqueux, particulièrement riches en polyphénols, révèlent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes significatives, confirmant ainsi leur intérêt dans la pharmacopée traditionnelle. L'établissement réussi d'un protocole de culture in vitro par induction de cals chez *U. dioica* constitue une avancée prometteuse pour la conservation et la multiplication de cette espèce. Ce travail met en lumière le potentiel biomédical de ces deux plantes et leur importance dans la préservation du patrimoine phytogénétique algérien. Il appelle à une gestion durable de ces ressources végétales, en conjuguant biotechnologies pour la conservation ex situ et valorisation de leurs métabolites bioactifs.



Références

REFERENCES

- [1] ABDEL RASOOL, A. & YAHYA, S. K. (2024). The synergistic impacts of *urtica dioica* and vitamin e on hyperglycemia, oxidative stress and histological changes in diabetic albino rats. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 70(183), 611-627.
- [2] Abi Sleiman, M., Younes, M., Hajj, R., Salameh, T., Abi Rached, S., Abi Younes, R., ... & Rizk, S. (2024). *Urtica dioica*: Anticancer Properties and Other Systemic Health Benefits from In Vitro to Clinical Trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 7501.
- [3] Afsharipour, F., Mahmoodnia Meimand, M., Dahajipour Heidarabadi, M., & Dehghani, M. R. (2024). Increasing the content of flavonoid compounds and changing the antioxidant enzyme activities in chitosan-elicited callus culture of nettle plant. *Cell and Tissue Journal*, 15(4), 317-335.
- [4] Aziz, N., Vinod, Y. R., Sarkar, D., Wal, A., Verma, V., & Wal, P. (2024). *Urtica dioica* (Stinging Nettle): A Comprehensive & Concise Review on its Nutritional Profile and Therapeutic Applications. *Current Traditional Medicine*, 10(7), 119-130.
- [5] Bashir, H., Sadia, S., Saddiqe, Z., Munir, M., Bai, X., Jia, M., & Ahmad, K. S. (2024). Application of microscopy and spectroscopy in investigating anti-cancer potential of *Achyranthes aspera* L. leaves. *Microscopy Research and Technique*, 87(4), 1–13.
- [6] Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal plants used by traditional healers in Algeria: A multiregional ethnobotanical study. *Frontiers in pharmacology*, 12, 760492.
- [7] Bettoni, J. C., Wang, M. R., & Wang, Q. C. (2024). In Vitro Regeneration, Micropropagation and Germplasm Conservation of Horticultural Plants. *Horticultrae* 2024, 10, 45.
- [8] Chehri, A., Yarani, R., Yousefi, Z., Shakouri, S. K., Ostadrahimi, A., Mobasseri, M., ... & Araj-Khodaei, M. (2023). The Effects of *Urtica dioica* (Nettle) and *Vaccinium myrtillus* (European Blueberry) on Blood Glucose Parameters and Lipid Profile in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. *International Journal of Drug Research in Clinics*, 1(1), e5-e5.
- [9] Chira, A., Dridi, I., Rahmouni, F., Ben Amor, I., Gargouri, B., Kallel, C., ... & Saoudi, M. (2025). Neuroprotective and antioxidant effects of *Urtica dioica* extract against chlorpyrifos-induced toxicity: an in vivo study. *3 Biotech*, 15(4), 1-15.
- [10] Dakhli, N., López-Jiménez, A., Cárdenas, C., Hraoui, M., Dhaouafi, J., Bernal, M., ... & Medina, M. Á. (2025). *Urtica dioica* Aqueous Leaf Extract: Chemical Composition and

- In Vitro Evaluation of Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1220.
- [11] Elkelish, A., Abu-Elsaoud, A. M., Alqahtani, A. M., El-Nablaway, M., Al Harthi, N., Al Harthi, N., ... & Labib, M. (2024). Unlocking the pharmacological potential of Brennesselwurzel (*Urtica dioica* L.): an in-depth study on multifaceted biological activities. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 413.
- [12] Farkas, D., Csabai, J., Kolesnyk, A., Szarvas, P., & Dobránszki, J. (2025). In vitro micropropagation protocols for two endangered *Dianthus* species-via in vitro culture for conservation and recultivation purposes. *Plant Methods*, 21(1), 13.
- [13] Gashi, B., Abdullai, K., Sota, V., & Kongjika, E. (2015). Micropropagation and in vitro conservation of the rare and threatened plants *Ramonda serbica* and *Ramonda nathaliae*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21, 123-136.
- [14] Gourich, A. A., Touijer, H., Drioiche, A., Asbabou, A., Remok, F., Saidi, S., ... & Zair, T. (2023). Insight into biological activities of chemically characterized extract from *Marrubium vulgare* L. in vitro, in vivo and in silico approaches. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1238346.
- [15] Haichour, S., & Benabdeli, K. (2022). L'écosystème forestier algérien face aux pressions anthropiques et climatiques. *Geo-Eco-Trop*, 46(1), 109-124.
- [16] Hemmami H, Seghir BB, Zeghoud S, Ben Amor I, Kouadri I, Rebiai A, Zaater A, Messaoudi M, Benchikha N, Sawicka B, Atanassova M. Desert Endemic Plants in Algeria: A Review on Traditional Uses, Phytochemistry, Polyphenolic Compounds and Pharmacological Activities. *Molecules*. 2023 Feb 15;28(4):1834. doi: 10.3390/molecules28041834. PMID: 36838819; PMCID: PMC9959599.
- [17] Hodroj, M. H., Al Bast, N. A. H., Taleb, R. I., Borjac, J., & Rizk, S. (2020). Nettle tea inhibits growth of acute myeloid leukemia cells in vitro by promoting apoptosis. *Nutrients*, 12(9), 2629.
- [18] Jayswal, S., Fernandes, A., & Mankad, A. (2018). Qualitative Screening Of Selected Onion Varieties. *Global Journal of Research Analysis*, 7(1), 436-439.
- [19] Jothy, S. L., Zuraini, Z., & Sasidharan, S. (2011). Phytochemicals screening, DPPH free radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activities of *Cassia fistula* seeds extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(10), 1941-1947.
- [20] Karima, M. D., Radia, D., Nawal, Z., & Nesrine, H. (2022). Phytochemical study and evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of the methanolic extract of *Urtica dioica*. *Plant Archives* (09725210), 22(2).

- [21] Kibler, A. (2014). Establishment of an efficient protocol for the micropropagation of Holy Basil (*Ocimum sanctum* L.) (Doctoral dissertation, University of Guelph).
- [22] Kumar, P., Dar, S. A., Manhas, O., Bhushan, A., Gupta, P., Madishetti, S., & Ahmed, Z. (2024). Anti-diabetic and anti-inflammatory activities of Marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*: Indications of its interaction with PPAR γ . *Phytomedicine Plus*, 4(4), 100664.
- [23] Kumar, N., Kumar, S., Rana, K., Bhorla, R., Kumari, A., & Rawat, S. (2025). Allelopathic influence of *Urtica dioica* L. weed on seed germination and seedling growth of *Glycine max* (L.) Merr. and *Linum usitatissimum* (L.). *Allelopathy Journal*, 64(2).
- [24] Martz, F., & Kankaanpää, S. (2025). Stinging Nettle (*Urtica dioica*) Roots: The Power Underground—A Review. *Plants*, 14(2), 279.
- [25] Mehalaine, S., & Chenchouni, H. (2021). New insights for the production of medicinal plant materials: Ex vitro and in vitro propagation of valuable Lamiaceae species from northern Africa. *Current Plant Biology*, 27, 100216.
- [26] Merah, O., Djazouli, Z. E., & Zebib, B. (2021). Aqueous extract of algerian nettle (*Urtica dioica* L.) as possible alternative pathway to control some plant diseases. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 45, 463-468.
- [27] Michalak, M., Stryjecka, M., Zagórska-Dziok, M., & Żarnowiec, P. (2024). Biological Activity of Horehound (*Marrubium vulgare* L.) Herb Grown in Poland and Its Phytochemical Composition. *Pharmaceuticals*, 17(6), 780.
- [28] Michalak, M., Stryjecka, M., Zagórska-Dziok, M., & Żarnowiec, P. (2024). Biological Activity of Horehound (*Marrubium vulgare* L.) Herb Grown in Poland and Its Phytochemical Composition. *Pharmaceuticals*, 17(6), 780.
- [29] Motamedi, H., Seyyednejad, S. M., Bakhtiari, A., & Vafaei, M. (2014). Introducing *Urtica dioica*, a native plant of Khuzestan, as an antibacterial medicinal plant. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 9(4), e15904.
- [30] Nezami-Alanagh, E., Garoosi, G. A., Maleki, S., Landín, M., & Gallego, P. P. (2017). Predicting optimal in vitro culture medium for *Pistacia vera* micropropagation using neural networks models. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 129, 19-33.
- [31] Ouadghiri, Z., El Faqer, O., Wahnou, H., Soudassi, A., Marnissi, F., Rais, S., & Mtairag, E. M. (2025). In Vivo and In Vitro Assessment of *Marrubium vulgare*: Chemical, Antioxidant and Anti-inflammatory Profiles. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 1-13.

- [32] Panth, P., & Mansoori, M. H. (2023). Quantitative tests for preliminary phytochemical analysis. *International Journal of Scientific Research and Engineering Development (IJSRED)*, 6(1), 328–335.
- [33] Parente, R., Paiva-Santos, A. C., Cabral, C., & Costa, G. (2024). Comprehensive review of *Urtica dioica* L.(Urticaceae) phytochemistry and anti-inflammatory properties. *Phytochemistry Reviews*, 1-38.
- [34] Popoola, O. K., Elbagory, A. M., Ameer, F., & Hussein, A. A. (2013). Marrubiin. *Molecules*, 18(8), 9049-9060.
- [35] Raheel, R., Saddiqe, Z., Iram, M., & Afzal, S. (2017). In vitro antimutagenic, antiproliferative and antioxidant activity of stem bark extracts of *Ficus benghalensis* L. *South African Journal of Botany*, 111, 248-257.
- [36] Rahman, N. N. A., Rosli, R., Kadzimin, S., & Hakiman, M. (2019). Effects of auxin and cytokinin on callus induction in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Fundamental and Applied Agriculture*, 4(3), 928–932. <https://doi.org/10.5455/faa.54779>.
- [37] Saboo, S., Deore, S. L., Khadabadi, S. S., & Deokate, U. A. (2007). Evaluation of antimutagenic and anticancer activity of the crude extracts of *Pterospermum acerifolium* Wild leaves (Sterculiaceae). *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*, 11, 76–79.
- [38] Sarrafi, M., Mahmoodnia Meimand, M., Dahajipour, M., & Dehghani, M. R. (2024). Optimization of nettle (*Urtica dioica* L.) callogenesis and the effect of methyl jasmonate elicitor on biochemical properties of callus. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 40(2), 331-351.
- [39] Sehari, M., Kouadria, M., Amirat, M., Sehari, N., & Hassani, A. (2020). Phytochemistry and antifungal activity of plant extracts from Nettle (*Urtica dioica* L.). *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 1-6.
- [40] Seliya, M., & Kothiyal, P. (2014). *Urtica dioica* (stinging nettle): a review of its chemical, pharmacological, toxicological and ethnomedical properties. *International Journal of Pharmacy*, 4(1), 270-277.
- [41] Semwal, P., Rauf, A., Olatunde, A., Singh, P., Zaky, M. Y., Islam, M. M., ... & Ribaud, G. (2023). The medicinal chemistry of *Urtica dioica* L.: from preliminary evidence to clinical studies supporting its neuroprotective activity. *Natural Products and Bioprospecting*, 13(1), 16.
- [42] Société française de microbiologie, (2014). Détermination de la sensibilité aux antibiotiques Méthode EUCAST de diffusion en gélose Version 4.0. <https://www.sfm->

microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/French-Disk_method_description_v-4.0_June-2014.pdf

- [43] Ullah, R., Alqahtani, A. S., Shahat, A. A., Nasr, F., Wadaan, M. A., & Farooq, M. (2024). The antiproliferative effects of *Marrubium vulgare*, and toxicity screening in zebrafish embryos. *Journal of King Saud University-Science*, 36(7), 103241.
- [44] Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International journal of chemical studies*, 8(2), 603-608.
- [45] Šic Žlabur, J., Radman, S., Opačić, N., Rašić, A., Dujmović, M., Brnčić, M., ... & Voća, S. (2022). Application of ultrasound as clean technology for extraction of specialized metabolites from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Frontiers in nutrition*, 9, 870923.
- [46] Swathi, N., Kumar, A. G., Parthasarathy, V., & Sankarganesh, P. (2024). Isolation of *Enteromorpha* species and analyzing its crude extract for the determination of in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(3), 3753-3762.
- [47] Taheri, Y., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Merghany, R. M., ... & Cho, W. C. (2022). *Urtica dioica*-derived phytochemicals for pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 4024331.
- [48] Tavanaei, F., Mohammadgholi, A., & Moghaddam, N. A. (2025). *Urtica dioica* Mediates Zinc-Copper Doped Nanoparticles as Potent Anticancer Agents against Human Breast Cancer MDA-MB-231 Cell Line. *Advanced Biomedical Research*, 14(1), 30.
- [49] Touaibia, M., Chaouch, F. Z., & Cherif, H. S. (2012). Introduction in vitro de deux plantes médicinales : *Myrtus communis* L. et *Myrtus nivellei* Batt et Trab. *Agrobiologia*, 2(1), 38-43.
- [50] Vajic, U. J., Mihailovic-Stanojevic, N., Karanovic, D., Zivotic, M., Ivanov, M., Jovovic, D., ... & Miloradovic, Z. (2024). *Urtica dioica* L. Leaf Extract Dose-Dependently Modulates Oxidative Stress in the Kidney and Exerts Anti-Fibrotic and Anti-Inflammatory Properties by the Molecular Mechanisms Independent of NRF-2 Signalization Mirroring the Effects of Losartan in SHR. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13272.
- [51] Viotti, C., Albrecht, K., Amaducci, S., Bardos, P., Bertheau, C., Blaudez, D., ... & Chalot, M. (2022). Nettle, a long-known fiber plant with new perspectives. *Materials*, 15(12), 4288.

- [52] Zarei, A., Salajeghe, F., & Kamalizadeh, M. (2020). Effect of Different Plant Growth Regulators, Explant Types and Light on Callogenesis Traits of Medicinal Plant Nettle (*Urtica dioica* L.). *Plant Productions*, 43(2), 255-266.
- [53] Zebib, B., & Merah, O. (2017). *Satureja myrtifolia* (Boiss. & Hohen.) Lebanese wild plant, as a resource of natural antioxidants. *Trends in Phytochemical Research (TPR)*, 1(2), 103-106.