



<http://www.remise.ma>

## ***Thymelaea lythroides* (Barr. et Murb): Approche ethnobotanique et Activité Biologique**

**N. Gmira, L Doumi, F. Bsaibis & S. Hmamouchi**

[najibgmira@yahoo.fr](mailto:najibgmira@yahoo.fr)

Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences Kénitra Maroc.

### **Résumé**

Dans le cadre de la valorisation des substances naturelles des plantes médicinales de la flore Marocaine et méditerranéenne, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une espèce ibéro marocaine, *Thymelaea lythroides* Barr. et Murb. Cet arbrisseau appartient à la famille des Thyméléacées et à notre connaissance, n'a jamais fait l'objet d'une étude phytochimique.

Après l'étude ethnobotanique de la plante, on a effectué une recherche de l'activité antifongique des substances extraites des différents organes de l'espèce, feuilles, fleurs, fruits, écorce et racines. Cette étude préliminaire a permis de mettre en évidence une activité biologique, variable suivant l'organe étudié de la plante.

**Mots clés** : *Thymelaea lythroides* Barr. et Murb ; ethnobotanique ; substances naturelles ; activité Biologique.

## Introduction

Le Maroc recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité. Parmi ces ressources naturelles, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale (Bellakhdar, 1997). Elles sont de plus en plus utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, phytothérapie, etc. Parmi les 4400 taxons recensés au Maroc, on compte plus de 800 espèces médicinales et aromatiques (Hmamouchi, 1994, 2001). Et grâce à elles, le Maroc est considéré à l'heure actuelle, comme l'un des principaux fournisseurs et producteurs des PAM. Par ailleurs le Maroc est le fournisseur exclusif de certaines huiles essentielles (Benjilali *et al.*, 1997). Nous noterons aussi le grand désir de retourner à la nature et aux plantes (Verdrager, 1978), malgré l'important développement de la chimie, de la biochimie et l'analyse organique dans le domaine thérapeutique et médical. Malheureusement, le système marocain d'exploitation et de valorisation de ces ressources naturelles reste très limité et très artisanal.

C'est dans un cadre de contribution à une valorisation de notre patrimoine naturel, que s'inscrit cette étude. La plante choisie *Thymelaea lythroides* Barr. et Murb est une espèce ibéro endémique (Fennane *et al.* 1998), très présente dans le Maroc septentrional et particulièrement dans la forêt de chêne Liège de *Maamora* « littoral Atlantique, secteur de Rabat – Kénitra ».

A part des études botaniques (ex. Ganière, 1964), l'espèce, à notre connaissance, n'a pas été étudiée et ses propriétés thérapeutiques et pharmaceutiques n'ont pas donné lieu à d'importantes recherches scientifiques. Notre première étude a porté sur un criblage phytochimique qui a permis de mettre en évidence la grande richesse de cette plante en métabolites secondaires, produits d'une importance inégale quant à leurs activités biologiques reformuler (Dohou *et al.*, 2003).

Nous essayerons donc par cette contribution d'élucider les mystères des traditions thérapeutiques confirmées dans un long usage très répondu par les guérisseurs et les utilisateurs. Ainsi par la valorisation des substances naturelles de cette plante, nous participons à une meilleure connaissance et gestion des ressources naturelles pour un intérêt futur aussi bien ethnobotanique, que pharmaceutique et phytothérapeutique.

Après une recherche ethnobotanique, le présent travail consistera donc à étudier l'activité antifongique d'extraits naturels des différents organes de la plante en question.

## **Matériel et Méthodes**

### **Matériel végétal**

L'identification précise des plantes est une règle d'or en phytothérapie. Pour cela, nous identifierons d'abord la plante choisie pour cette étude, grâce aux clés internationales de la systématique (Chadefaud et Emberger, 1960 ; Nègre, 1962 ; Quezel et Santa, 1962 ; Deysson, 1979 ; Bayer *et al*, 1990). C'est l'espèce : *Thymelaea lythroides* (Barr. et Murb)., (Photo 1<sup>e</sup> et 2) (en langue arabe nommée Metnane) Elle appartient à la famille des thymelaeacées, de l'ordre des Thymelaeales. La plante a été récoltée dans la forêt de chêne liège de Maamora (Maroc septentrional) et séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et de la chaleur, en prenant soin de trier chacun de ses organes (feuilles, fleurs, fruits, écorce et racines) qui sont ensuite conservés soigneusement jusqu'à leur étude.

### **Etude ethnobotanique**

Pour connaître les usages de *Thymelaea lythroides* dans la médecine traditionnelle, des tournées ont été effectuées chez des herboristes de différentes villes marocaines : Kénitra, Meknès, Agadir, Oujda et Lâayoune, pendant l'année 2000. En tout, une centaine d'herboristes ont été questionnés sur le mal ou la maladie contre lesquels elle est utilisée et la forme de son utilisation.

### **Extraction des substances naturelles**

Le matériel végétal à étudier est tout d'abord broyé. Une quantité de 50 à 100 g de chacun des organes de la plante est ensuite utilisée pour la préparation d'une cartouche qui sera extraite par 4 solvants différents, l'un après l'autre et dont la polarité est croissante : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol. Cette extraction est effectuée en utilisant un appareillage adéquat (soxlhet), dont la méthode est préconisée par la pharmacopée française. Le changement du solvant dans le soxlhet ne se fait qu'après épuisement total du matériel végétal, cela demande en général une durée de 48h à la température d'ébullition de chacun des solvants utilisés. Les extraits finaux sont obtenus après concentration et évaporation à sec du solvant au rotavapor. Pour plus de facilité, les extraits obtenus sont numérotés comme tels : de A à D pour l'écorce ; de E à H pour les fruits ; de I à L pour les fleurs ; de M à P pour les feuilles et de Q à T pour les racines.

## **Tests biologiques**

Les microorganismes utilisés dans ces tests sont trois pathogènes du riz, isolés par nos collègues dans les rizières de la région du Gharb (nord du Maroc). Il s'agit de : *Curvularia lunata* (isolat SF) ; *Helminthosporium oryzae* (isolat Hot) et *Pyricularia oryzae* (isolat FK<sub>1</sub>) en plus de l'agent responsable de la pourriture grise, *Botrytis cinerea* (cinq isolats B<sub>1</sub> ; B<sub>10</sub> ; B<sub>12</sub> ; B<sub>13</sub> et B<sub>18</sub>).

Pour les différents champignons testés, deux milieux de culture sont utilisés dans cette étude : un milieu à base de farine de riz (14g de farine de riz, 4g d'extrait de levure, 15 g d'agar-agar et 1000 ml d'eau distillée) pour *P. oryzae* et le milieu PSA (200g de pomme de terre, 20g de saccharose, 15g d'agar-agar, 1000 ml d'H<sub>2</sub>O distillée) pour les autres microorganismes.

Les substances naturelles extraites sont pesées, mises en solution dans de l'éthanol 95°, puis ajoutées incorporées à une concentration de 1000 ppm, au milieu de culture stérilisé et maintenu liquide à 45°C au bain-marie, dans des boîtes de Petri de 90mm de diamètre, à raison de 15 à 20 ml par boîte. Chaque boîte est inoculée à l'aide d'un explant mycélien de 5 mm de diamètre environ, provenant d'une culture de champignon âgée d'une semaine. Les boîtes sont ensuite incubées à 28°C à l'obscurité pendant 8 à 10 jours. Pour chaque test, trois répétitions sont ainsi réalisées.

L'efficacité de chaque substance étudiée, est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition, aussi bien de la croissance que de la sporulation du champignon testé, selon la relation de Leroux et Gredet, (1978).

## **Résultats**

### **Approche ethnobotanique**

L'étude effectuée sur *T. lythroides*, en interrogeant différents guérisseurs et herboristes de Kénitra ; Meknès ; Agadir et Layaoune, sur l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle, nous a permis de savoir que cette espèce est largement utilisée pour guérir différents maux, en particulier :

- ↳ Le mal de la vessie et des reins ;
- ↳ Les migraines ;
- ↳ Les douleurs de l'estomac, des intestins...
- ↳ L'inflammation de la prostate ;
- ↳ Les rhumatismes ;

- ↳ Le diabète ;
- ↳ Les enflures et les fractures ...etc.

Et en général, ce sont les feuilles et les fleurs qui sont le plus utilisées sous forme de tisanes ou d'infusions.

### **Tests biologiques**

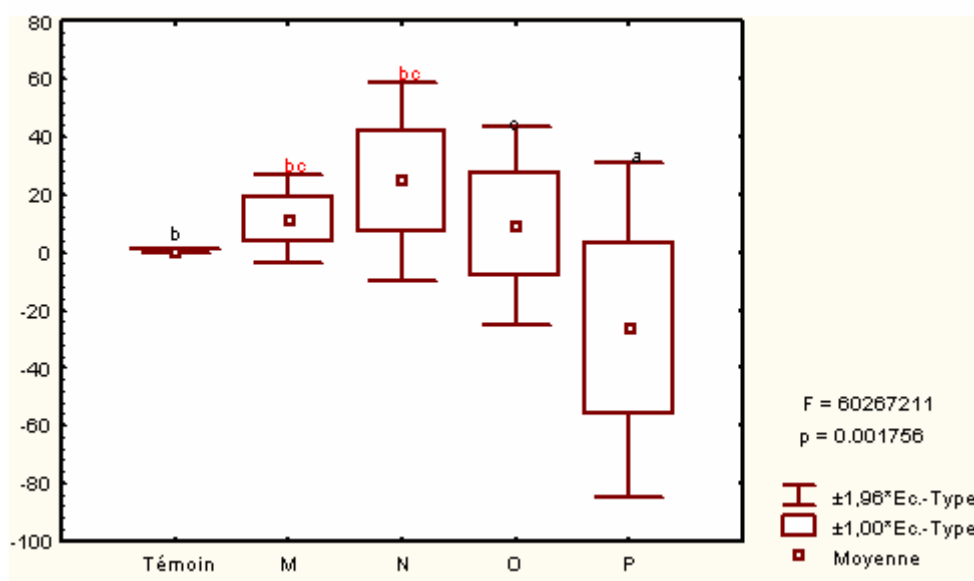
L'extraction à partir des différents organes de *T. lythroides* a fournit des extraits de substances naturelles avec des rendements très faibles. Nous avons noté que c'est le méthanol, solvant le plus polaire, qui permet d'obtenir les rendements les plus élevés. Pour valoriser les différents extraits, nous avons procédé à la recherche de leur activité antifongique *in vitro* sur différents champignons.

#### **Botrytis cinerea**

Les différents tests effectués avec les extraits naturels des feuilles de *T. lythroides* sur la croissance des cinq isolats de *Botrytis cinerea* ont permis d'obtenir les graphes représentés dans les figures de 1 à 5. L'analyse de ces figures permet de mettre en évidence l'effet inhibiteur de l'extrait chloroformique des feuilles de *T. lythroides* (extrait N) sur la croissance mycélienne de tous les isolats testés de *B. cinerea*. Par contre pour les trois autres extraits, l'effet inhibiteur est moindre. On observe parfois même un effet stimulateur de la croissance, surtout pour l'extrait méthanolique.

De ce fait, il serait intéressant d'étudier de plus près l'extrait chloroformique et même d'effectuer un screening phytochimique, pour une plus ample connaissance de ses constituants et d'essayer de connaître ses principes actifs responsables de son activité antifongique sur ce champignon responsable de la pourriture grise des agrumes. Et par à permettre d'élaborer un programme de lutte biologique et combattre ce pathogène.

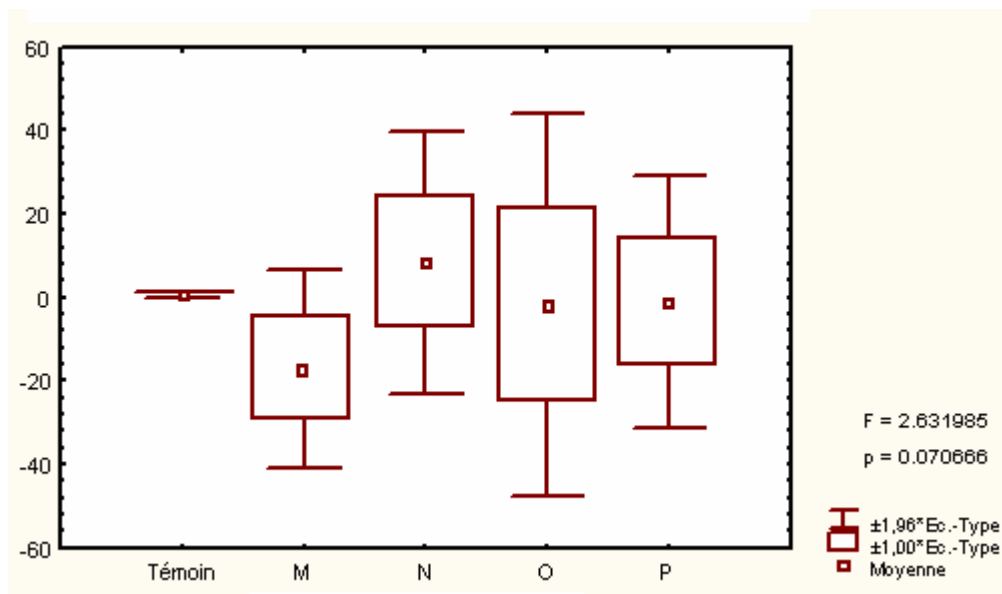
**Pourcentage d'inhibition (%)**



*Extraits de T. lythroides.*

**Fig. 1 :** Inhibition de la croissance de l'isolat B<sub>1</sub> de *B. cinerea* par les extraits naturels de *T. lythroides*.

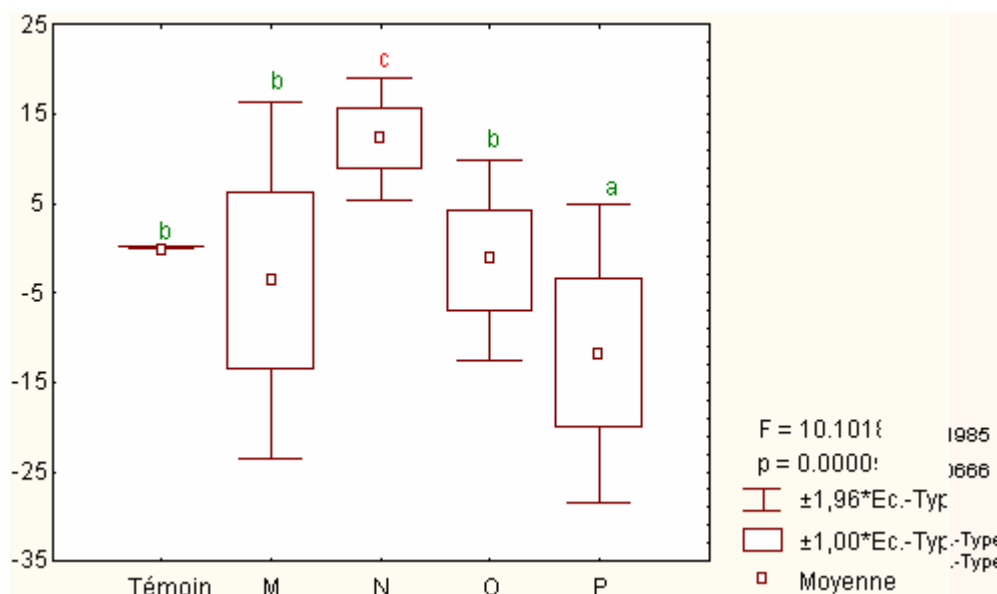
**Pourcentage d'inhibition (%)**



*Extraits de T. lythroides.*

**Fig. 2 :** Inhibition de la croissance de l'isolat B<sub>10</sub> de *B. cinerea* par les extraits naturels de *T. lythroides*.

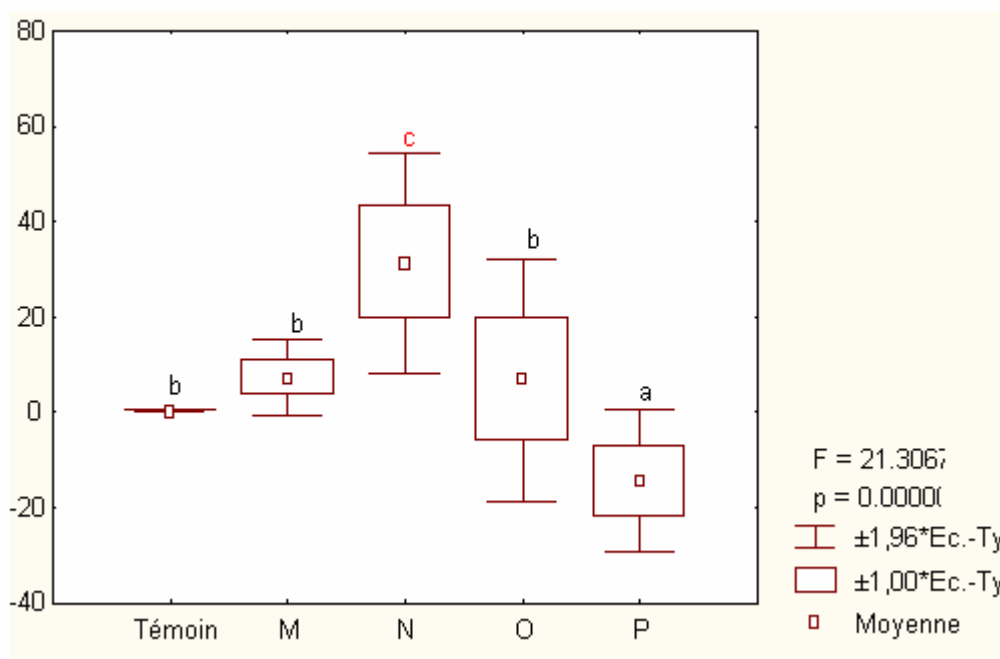
**Pourcentage d'inhibition (%)**



*Extraits de T. lythroides.*

**Fig.3 :** Inhibition de la croissance de l'isolat B<sub>12</sub> de *B. cinerea* par les extraits naturels de *T. lythroides*.

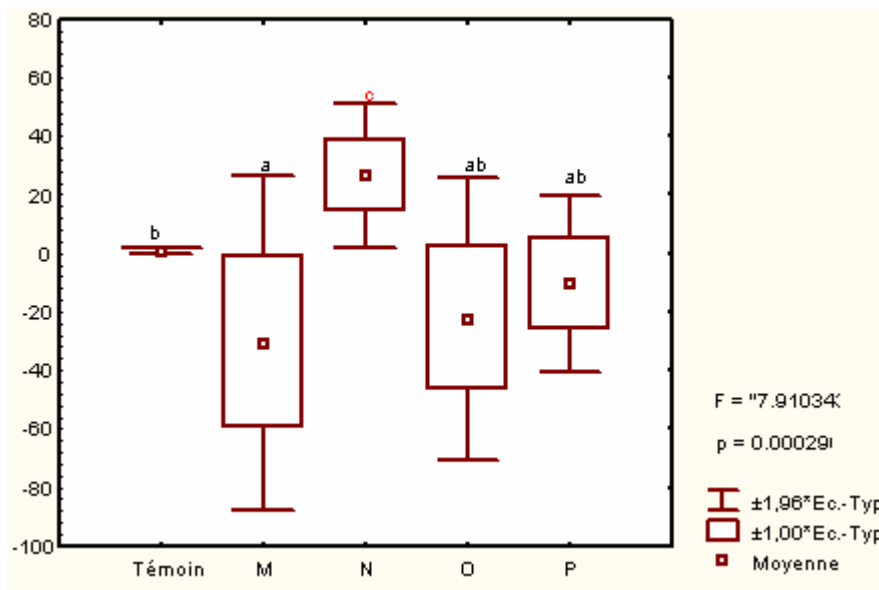
**Pourcentage d'inhibition (%)**



*Extraits de T. lythroides*

**Fig.4 :** Inhibition de la croissance de l'isolat B<sub>13</sub> de *B. cinerea* par les extraits naturels de *T. lythroides*.

**Pourcentage d'inhibition (%)**

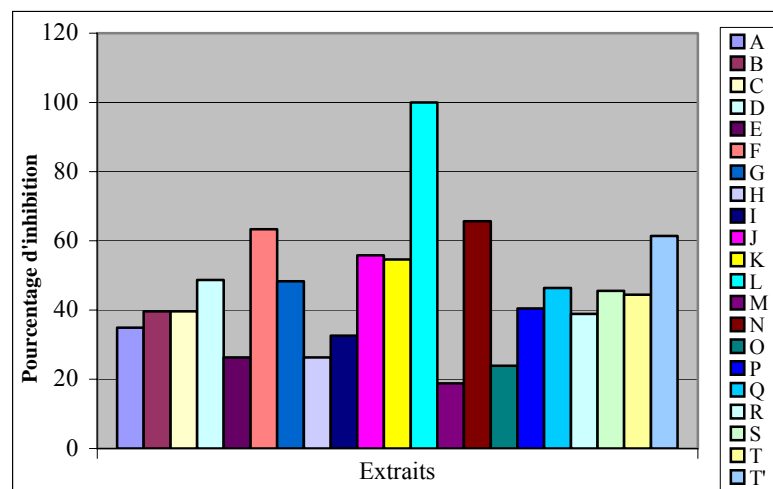


*Extraits de T. lythroides*

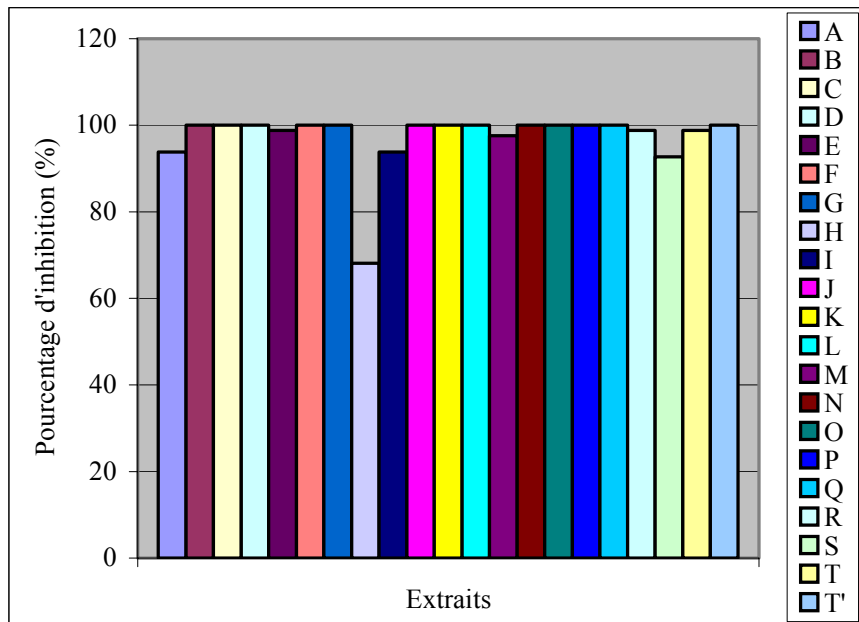
**Fig.5 : Inhibition de la croissance de l'isolat B<sub>18</sub> de *B. cinerea* par les extraits naturels de *T. lythroides*.**

**Helminthosporium oryzae**

L'ensemble des résultats obtenus pour ce test est représenté dans les figures 6 et 7. Leur analyse a permis d'obtenir une inhibition à degré variable sur la croissance du champignon, à la différence de l'action sur la sporulation. En effet, pour la croissance, plus de 14 extraits ont agit efficacement ( $\geq 40\%$ ) et l'extrait La même permis d'obtenir une inhibition totale. Par contre, l'analyse statistique n'a pas donné de différences significatives entre les extraits et sur les 21 produits testés, 13 ont inhibé totalement la sporulation du champignon.



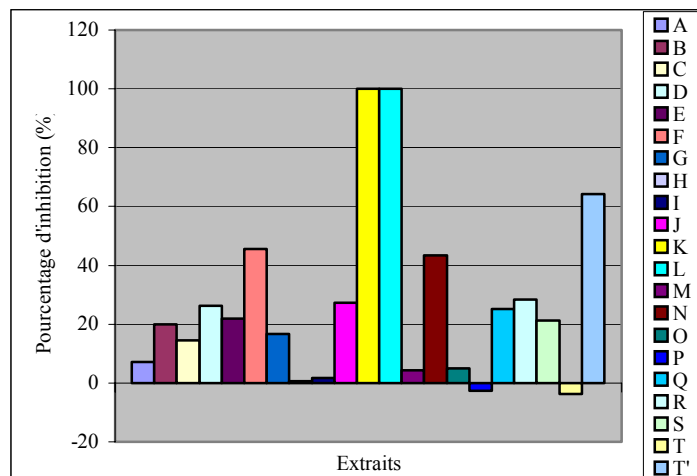
**Fig. 6 : Inhibition de la croissance de *Helminthosporium oryzae* par les extraits naturels de *T. lythroides* (en %).**



**Fig. 7 : Inhibition de la sporulation de *Helminthosporium oryzae* par les extraits naturels de *T. lythroides* (en %).**

***Pyricularia oryzae***

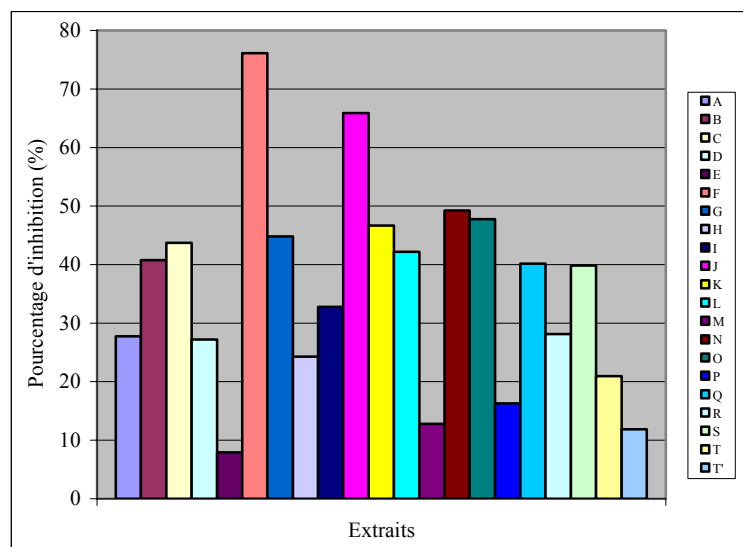
Pour ce champignon (figure 8), la croissance mycélienne a été totalement inhibée par deux produits : K et L des feuilles. Les autres extraits ont agi modérément. Concernant le stade de la sporulation, ce champignon s'est révélé très sensible puisqu'il n'a pas pu sporuler en présence des extraits.



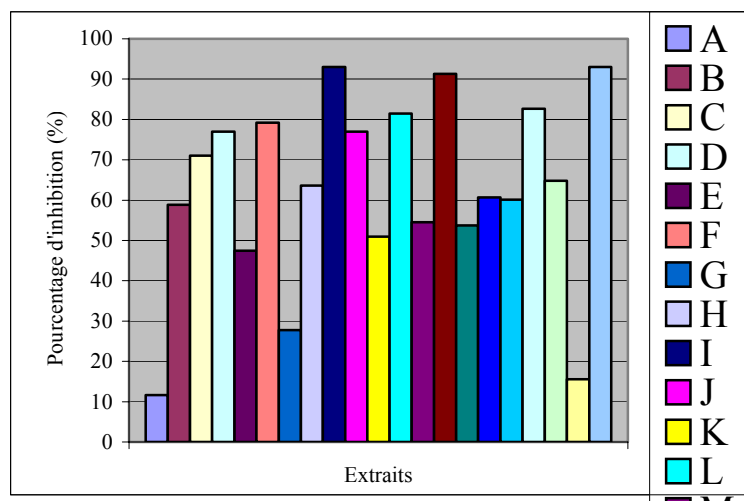
**Fig. 8 : Inhibition de la croissance de *Pyricularia oryzae* par les Extraits naturels de *T. lythroides* (en %).**

**Curvularia lunata**

Les différents produits testés présentent une action inhibitrice aussi bien sur la croissance mycélienne que sur la sporulation de ce champignon, avec des degrés variables en fonction du matériel végétal et du solvant utilisés (figures 9 et 10). Pour la croissance, 11 extraits ont agi efficacement ( $\geq 40\%$ ) et le maximum d'inhibition est obtenu avec les produits F des fruits et J des fleurs (rendements respectifs de 76.1 et 65.9 %). Alors que pour la sporulation, il est obtenu avec les extraits I des fleurs, N des feuilles et T' des racines (rendements respectifs de 93.07, 91.33 et 93.07 %). L'inhibition totale demanderait dans ce cas là des concentrations plus élevées en produits.



**Fig 9 : Inhibition de la croissance de *Curvularia lunata* par les extraits naturels de *T. lythroides* (en %).**



**Fig. 10 : Inhibition de la sporulation de *Curvularia lunata* par les extraits naturels de *T. lythroides* (en %).**

## Discussion et conclusion

Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'existence d'une grande activité antifongique de l'extrait chloroformique des feuilles de *Thymelaea lythroides*, sur la croissance de *Botrytis cinerea*, à la différence des autres extraits de cette plante. L'activité biologique des extraits naturels de plantes médicinales est due à la présence de molécules actives, dont l'étude nécessite des travaux pharmacologiques et phytochimiques très approfondies (Benjilali *et al*, 1997).

Par contre, pour *Helminthosporium oryzae*, *Pyricularia oryzae* et *Curvularia lunata*, cette étude a permis de montrer que tous les produits naturels extraits à partir de la plante, présentent plus ou moins une activité antifongique sur les trois agents pathogènes testés. Ce sont surtout les fleurs qui se sont distinguées pour cette activité, suivies des feuilles et des fruits. Auparavant, des études ethnobotaniques ont permis de connaître les usages en médecine traditionnelle de cette plante qui s'est révélée être très utilisée et ce sont particulièrement les fleurs et les feuilles qui sont les plus utilisées pour leurs activités pharmacodynamiques.

La présence de métabolites secondaires dans la plante est très importante. En effet, ils peuvent jouer un rôle dans la chimiotaxonomie (Feng *et al*, 2003), comme ils peuvent être responsables de différentes activités biologiques (Bate-Smith, 1954 ; Lebreton *et al*, 1967 ; Ribéreau-Gayon, 1968).

*T. lythroides* fait partie des plantes médicinales, mais malheureusement à part quelques études et surtout botaniques, la plante n'a pas encore été étudiée. Pour cela, une recherche de l'efficacité des différents extraits obtenus de la plante sur certains agents pathogènes, présentant un grand intérêt dans la lutte biologique, étant donné que ce sont des produits naturels efficaces et biodégradables, à l'inverse des fongicides de synthèse. De même, le pouvoir antifongique mis en évidence ici mérite d'être étudié avec plus de détails.

## Références bibliographiques

- Bate-Smith, E. C. (1954)** : “The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance”. J. Linn. Soc. of London . Vol. 58, (371) p. 95.
- Bayer, E. ; Buttler, K.P. ; Finkenzeller, X. ; Gran, J. 1990** : Guide de la flore méditerranéenne. Caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces. Editions Delachaux et Niestlé, S.A. Neuchâtel (Switzerland).
- Bellakhdar, J. 1997** : La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press.
- Benjilali, J. ; Ettalibi, M. ; Ismaili-Alaoui, M. & Zrira, S. 1997** : Plantes aromatiques et médicinales, et leurs huiles essentielles. Proceedings, Editions Actes. Institut, Rabat.
- Chadefaud, M. & Emberger, L. 1960** : Traité de Botanique, Systématique. Tome II. Les végétaux vasculaires, par L. Emberger. Fascicule II. Editions Masson & Cie – Paris VI.
- Deysson, G. 1979** : Organisation et classification des plantes vasculaires. 2<sup>ème</sup> partie : Systématique, in G. Deysson, cours de botanique générale, 4<sup>ème</sup> série, Tome II, Paris.
- Dohou, N. ; Yamni, K. ; Tahrouch, S. ; Idrissi Hassani, L.M. ; Badoc, A. & Gmira, N. (2003)** : Screening phytochimique d’une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroïdes*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, Vol. 142, pp : 61-78.
- Dohou, N. ; Gmira, N. & Hassani I. (2004)** : Etude des Polyphénols de *Thymelaea lythroïdes* une thymeleaceae du Maroc septentrional. Acta botanica malacitana 29 : 233-239
- Fennane, M. ; Ibn Tattou, M. ; Raimondo, F.M. & Valdés B. (1998)** : « Catalogue des plantes vasculaires rares, menacées ou endémiques du Maroc » Edited by Francesco M. Raimondo, Benito Valdés, Palermo : Published under the auspices of OPTIMA by the Herbarium Mediterraneum Panormitanum «Boccone», ISSN 1120 – 4060, 8, 243 p.
- Ganière, S. (1964)** : « Etude anatomique des *Thymelaea* du Maroc ». Cahiers de la Fac. des Sciences de l’Université Med V. Série de Biologie Végétale. Rabat. N° 5, 67 p.
- Hmamouchi, M. 1994** : La production des plantes médicinales et aromatiques. Premier colloque national sur la chimie de substances naturelles. 15 - 16 Novembre, Casablanca.

- Hmamouchi, M. 2001** : Les plantes Médicinales et Aromatiques Marocaines. Utilisation, Biologie, Ecologie, Chimie, Pharmacologie, Toxicologie, Lexiques. 2<sup>ème</sup> Edition, 450 p.
- Lebreton, Ph. ; Jay, M. & Voirin, B. (1967)** : « Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoides ». Chimie analytique. Vol. 49, (7) pp : 375 – 383.
- Leroux P. & Gredet A., 1978.** Document sur l'étude de l'activité des fongicides, INRA, Versailles, 26 p.
- Nègre, R. 1962** : Petite flore des régions arides du Maroc occidental. Tome II. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique - Paris VII.
- Quezel, P. & Santa, S. 1962** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique - Paris VII.
- Ribéreau-Gayon, J. (1968)** : Les composés phénoliques des végétaux. Traité d'œnologie. Edition Dunod, Paris, 254 pages.
- Verdrager, J. 1978** : Ces médicaments qui nous viennent des plantes. Editions Maloine. S.A. Editeurs, Paris.