

## Valorisation des extraits de *Melissa officinalis* Tunisienne et étude des activités antifongique et antibactérienne

Souhi Mouna<sup>1</sup>, Trabelsi Imen<sup>1</sup>, Radaoui Anis<sup>3</sup>, Khammassi Marwa<sup>4</sup>, Amri Ismail<sup>2</sup>,  
Mabrouk Yassine<sup>2</sup>

1. National Institute for Agricultural Research of Tunisia Av. Hedi Karray, Tunis

2. National Centre for Nuclear Science and Technology Technology - Sidi Thabet

3. Laboratory Service, National Bone Marrow Transplant Centre, Tunis,

4. National Research Institute for Rural Engineering, Water and Forestry

### Résumé

La multi-résistance des micro-organismes aux antibiotiques et aux molécules antimicrobiennes synthétiques évoluent de façon très inquiétante. De nouvelles pistes de recherche deviennent essentielles pour développer des alternatives. *Melissa officinalis* L. est une plante médicinale rare en Tunisie, elle est connue comme une source potentielle pour le traitement d'un large éventail de maladies. Les activités antimicrobiennes et antifongiques et la teneur en flavonoïdes a été étudiée chez les extraits méthanolique de *Melissa officinalis* de différentes origines : deux populations tunisiennes (Nefza et Tabarka) une Allemande et une Française. Les populations tunisiennes Nefza et Tabarka présentent les teneurs les plus importantes en flavonoïdes totaux qui sont de 0,026 et 0,023mg EC/g RS respectivement en comparaison avec les mélisses introduites dont les teneurs sont de l'ordre de 0,012 mg EC/g RS pour la population Allemagne et 0,008mgEC/g RS pour la population France. L'extrait méthanolique de *M. officinalis* de la population Nefza possède une bonne activité contre les bactéries *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *E. faecium*. Contrairement aux populations Tabarka, France et Allemagne, dont le pouvoir antibactérien se limite à la souche *S. aureus*. L'extrait éthanolique de *M. officinalis* de la Tunisie a montré une faible activité antifongique contre les trois souches de *Fusarium* étudiées, cette activité n'a pas dépassé 10% d'inhibition de la croissance des champignons même à des fortes doses de l'ordre de 600 et 800 µl/ml d'extrait dans le milieu de culture.

**Mots clés :** *Melissa officinalis*, flavonoïdes, antifongique, antibactérien, *Fusarium*.

## Valorization of Tunisian *Melissa officinalis* extracts and study of antifungal and antibacterial activities

### Abstract:

The bioresistance and multiresistance of microorganisms to antibiotic and synthetic antimicrobial molecules are evolving in a very worrying manner. New avenues of research are becoming essential to develop alternatives. *Melissa officinalis* is a rare herbal medicine in Tunisia, it is known as a potential source for the treatment of a wide range of diseases. *Melissa officinalis* extracts from different origins have been used for the enhancement of new antimicrobial and antifungal phytomolecules. The flavonoid contents of methanolic extracts vary from 0.026 to 0.008 mg CE / g DR. Tunisian lemon balm has the highest levels of total flavonoids which are of the order of 0.026 and 0.023 mg CE / g DR in comparison to introduced lemon balm which has a content of total flavonoids of the order of 0.012 mg EC / g DR for the German population and 0.008mgEC / g DR for the French population. The methanolic extract of *M. officinalis* L. from Nefza population has good activity against the bacteria tested (*Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *E. faecium*.) On the other hand, for the methanolic extracts from the Tabarka population, France and Germany, the antibacterial power is limited to the strain *S. aureus*. The ethanolic extract of *M. officinalis* from Tunisia showed a weak antifungal activity against the three strains of *Fusarium* studied, this activity did not exceed 10% d 'inhibition of fungal growth even at high doses of the order of 600 and 800 µl / ml of extract in the culture medium.

**Key Words:** *Melissa officinalis*, flavonoids, antifungal, antibacterial, *Fusarium*.

<sup>1</sup> Corresponding author: [souhimouna@gmail.com](mailto:souhimouna@gmail.com)

## INTRODUCTION

La mélisse (*Melissa officinalis* L.) est connue depuis des siècles en tant que plante médicinale dont les utilisations traditionnelles ont été validées par des études pharmacologiques modernes. Les extraits bruts et les composés purs isolés de *M. officinalis* ont révélé de nombreux effets pharmacologiques. Tel que les activités anxiolytiques, antivirales et antispasmodiques ainsi que des effets sur l'humeur, la cognition et la mémoire qui ont été démontrés lors d'essais cliniques (Herodezet et al., 2003 ; Dastmalchi et al., 2008, Shakeri et al., 2016). Le développement de l'utilisation de la mélisse pour la santé humaine est indéniable. En plus des effets pharmacologiques révélés, d'autres utilisations, notamment dans le domaine de l'agriculture et des produits phytosanitaires ont été reportées. En effet, depuis l'antiquité, l'homme s'est servi des plantes pour lutter contre certains végétaux, insectes, phytopathogènes, rongeurs et autres "nuisibles". Mais ces pesticides et fongicides naturels ont laissé place aux produits de synthèse au cours de la Seconde Guerre Mondiale, car les matières premières végétales ne pouvaient pas fournir un rendement suffisant. Cependant, depuis quelques années, les produits naturels sont de nouveau sur le devant de la scène par souci écologique principalement, respect de l'environnement, impact sur la santé humaine, mais aussi parce que l'emploi des produits de synthèse a provoqué beaucoup de résistance chez les insectes et champignons par exemple (Regnault-Roger et al., 2012). Ainsi, différents extraits de la mélisse ont été utilisés en tant qu'herbicide, insecticide, et antifongique (Kato-Noguchi et Ino 2001 ; Ebadollahi et al., 2016). *Melissa officinalis* appartient aux 49 espèces rares et menacées d'extinction en Tunisie (Ben Brahim et al., 2014), elle n'a pas fait l'objet d'aucune étude approfondie en Tunisie en dépit des intérêts multiples aussi bien dans le domaine médical qu'environnemental. Dans le présent travail le dosage des flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de mélisse ont été étudiés.

## MATERIEL ET METHODES

**Les flavonoïdes totaux :** Les feuilles séchées et broyées des quatre populations de mélisse (Tabarka, Nefza, France et Allemagne) ont été extraites par du méthanol 80% pour le dosage des flavonoïdes. 20g de la poudre de la mélisse ont été macérés pendant 3 h dans 400 ml de méthanol. Les extraits ont été filtrés avec filtre Whatman N°1 puis évaporé sous vide et séché jusqu'à un poids constant du résidu sec. La quantification des flavonoïdes a été effectuée selon la méthode de Zhishen et al., (1999) Ainsi, dans un premier temps 500µl de l'extrait méthanolique ont été mélangés avec 2 ml d'eau distillée puis avec 150 µl de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5%. 5 min plus tard, 100 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% (m/v) a été ajouté au mélange qui a été incubé à la température ambiante, et additionné 6 min plus tard par 1 ml de NaOH 1M. L'absorbance a été déterminée à 510 nm contre blanc. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine de concentration massique croissante allant de 0.01 à 0.09 mg/ml préparées dans le méthanol à 80 %. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine par gramme de résidu sec (mg EC/g de RS).

**Activité antibactérienne :** L'effet antimicrobien des extraits méthanolique de *Melissa officinalis* L. de différentes origines (Tabarka, Nefza, Allemagne et France) ont été testés sur quatre souches bactériennes multi-résistantes de référence aimablement fournies par le service microbiologie de la Banque du Sang de Tunis (tableau 1).

**Tableau 1.** Les souches bactériennes utilisées dans les essais des activités antibactériennes

Nom	Catégorie	Référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC27853
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+	ATCC29213
<i>Enterococcus faecium</i>	Gram+	ATCC 29212

La sensibilité des souches aux extraits méthanolique des feuilles des mélisses étudiées a été réalisée par la technique de disque en milieu gélosé. Une suspension bactérienne diluée au 1/10 dans de l'eau physiologique de chaque bactérie testée est ensemencé dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive. Des disques de papier Wattman de 6mm de Ø, imprégnés de 10 µl de solution de l'extrait méthanolique (dissouts dans le diméthylsulfoxyde (DMSO)), ont été déposés à la surface des boîtes de pétri ensemencées par les souches à tester. Les boîtes sont incubées à une température de 37°C pendant 24 heures. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque, en mm (Cohen et Grimprel, 2013). L'activité antibactérienne des extraits méthanolique de mélisse est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait méthanolique à tester vis-à-vis des germes pathogènes après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C (Ponce et al., 2003), (tableau 2).

Tableau 2. Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Ponce et al., 2003)

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre < 8mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20 mm

**Activité antifongique :** Le pouvoir antifongique a été étudié à partir des extraits éthanoliques des feuilles séchées et broyées des deux populations tunisiennes de *Melissa officinalis* L. Tabarka et Nefza selon la technique décrite par Delespaul (2000). En effet, les extraits ont été dissous dans le solvant Diméthylsulfoxyde (DMSO) D'autre part des boîtes de Pétri ont été remplies par de milieu PDA+ extraits éthanolique de mélisse suspendues dans la solution de DMSO avec les concentrations suivantes (0, 200, 400, 600, 800 mg/ml). Trois répétitions par population de mélisse et par concentration de l'extrait éthanolique ont été réalisées.

Les souches de champignons utilisées pour ce travail sont *Fusarium solani*, *F. culmorum* et *F. redolens* (tableau 3). Les trois souches de *Fusarium* appartiennent à la collection du mycothèque du Laboratoire de Protection des Végétaux de l'INRAT.

Tableau 3. Les trois souches fongiques pathogènes testées

Numéro des pathogènes	Nom des pathogènes
F1	<i>F. solani</i>
F2	<i>F. culmorum</i>
F3	<i>F. redolens</i>

**Traitement des données et analyses statistiques :** L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SAS, Analyse de la variance à un facteur pour l'ensemble des paramètres étudiés (ANOVA). La comparaison des moyennes et la définition des groupes homogènes à 5%.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Les flavonoïdes totaux

La richesse de l'extrait méthanolique en composées phénoliques a conduit au dosage des flavonoïdes. Les teneurs des extraits méthanolique en flavonoïdes chez les mélisses varient 0,008 0,026 à mg de catéchine / g RS selon leur origine (Fig. 1). Les mélisses tunisiennes présentent significativement les teneurs les plus importantes en flavonoïdes totaux., Elles sont de l'ordre de 0,026 et 0,023mg EC/g RS respectivement pour les populations Nefza et Tabarka alors que les mélisses introduites présentent respectivement 0,012 mg EC/g RS et 0,008mg EC/g RS pour la population allemande et la population française. Les mélisses tunisiennes sont deux fois plus riches en flavonoïdes totaux en comparaison avec la mélisse Allemande et de trois fois plus riche en ces molécules par rapport à la mélisse de la France.

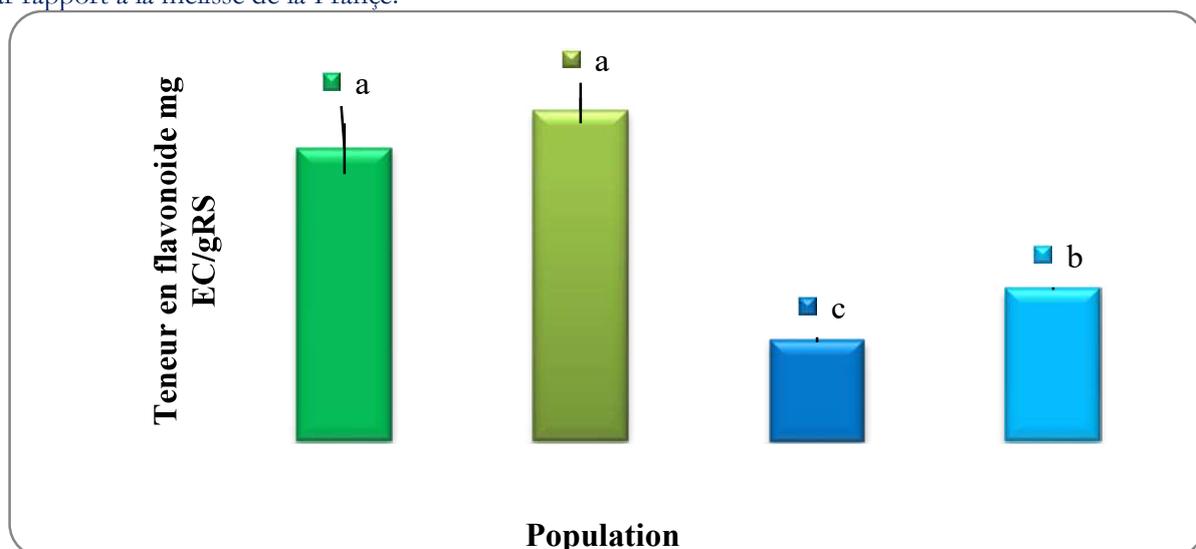


Fig. 1. Teneurs en flavonoïdes totaux exprimées en mg EC/g RS chez les quatre populations de mélisse. Les valeurs (moyennes de trois répétitions) suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Les teneurs en flavonoïdes des mélisses étudiées sont très faibles en comparaison avec d'autres mélisses de différentes origines. On cite par exemple, le taux moyen des flavonoïdes de la mélisse d'origine algérienne, marocaine et égyptienne qui sont de l'ordre de 3,295 mg EC / g de RS, de 16,4 mg EC / g de RS et de 72,38 mg EC/g de RS respectivement (Brahmi *et al.*, 2015 ; Bounihi, 2016 et Hassan *et al.*, 2019).

**Activité antibactérienne :** L'activité antimicrobienne des bactéries Gram négatif (*E. coli* et *P.aeruginosa*) et Gram positif (*E. faecium* et *S. aureus*) a été évaluée chez les extraits méthanolique. Les résultats des tests d'inhibition de la croissance microbienne sont illustrés dans le tableau 3.

L'analyse des résultats du test antibactérien ont montré une sensibilité des souches étudiées contre les extraits testés (Figure 2). L'extrait méthanolique de la population Nefza, a montré l'effet antibactérien le plus élevé sur la souche *S. aureus*, traduit par un diamètre de 15 mm et de 12 mm pour *P. aeruginosa*, alors que pour les souches *E. coli* et *E. faecium* 11 mm d'inhibition ont été observé. Contrairement à l'extrait de la population Nefza, les extraits méthanoliques des populations Tabarka, France et Allemagne, ne montrent pas un pouvoir antibactérien contre les trois souches *E. coli*, *P. aeruginosa* et *E. faecium*. Elles présentent un diamètre d'inhibition de 6 mm, alors que pour la souche de *S. aureus* 10 mm de diamètre d'inhibition a été noté. (tableau 3).

Bien qu'on n'ait pas utilisé un antibiotique de référence comme la gentamicine, le pouvoir antibactérien de l'extrait de mélisse est bien visible pour les extraits méthanolique de *M. officinalis* L. de la population Nefza qui possède une bonne activité contre les bactéries testées. Par contre, pour les extraits méthanolique des populations Tabarka, France et Allemagne, l'effet antibactérien se limite à la souche *S. aureus*. En effet, l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *M. officinalis* dépend de l'origine de mélisse d'une part et d'autre part de la souche bactérienne elle-même, ce qui a été avancé par les travaux de Kalemba et Kunicka (2003). Les bactéries à Gram+ sont plus sensibles que les bactéries à Gram- (Poole, 2001). Ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes et la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contiennent une double membrane (Burt, 2004). L'activité antibactérienne observée pour les différentes mélisses est expliquée aussi par la teneur en flavonoïdes totaux préalablement déterminée. La population de Nefza a monté la valeur la plus importante des flavonoïdes qui confèrent des propriétés antibactériennes connues chez la plante, et leur absence pourrait donc expliquer le faible pouvoir antimicrobien observé (Iwalewa *et al.*, 2008). Ce qui explique le faible pouvoir antibactérien des extraits de mélisse introduites puisqu'elles ont présenté des taux de flavonoïdes relativement faibles.

Dans d'autres études même les extrait éthanolique de la mélisse ont présenté un effet antimicrobien contre *E. coli* et *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de la croissance de 50 mm et 14 mm respectivement pour les deux souches (Adimi, 2018). Les souches de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* sont aussi très sensibles à l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* L. de la famille des Lamiacées, avec un diamètre d'inhibition de croissance qui atteint 15,5 mm (Jafari-Sales et Hossein-Nezhad, 2020).

Tableau 3. Diamètres (mm) des zones d'inhibition induites par l'extrait méthanolique des quatre populations de mélisse étudiées.

	<i>E. Coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecium</i>
	ATCC25922	ATCC27853	ATCC29213	ATCC
Nefza	11 mm a	12 mm a	15 mm a	11mm a
Tabarka	Contact (6mm) b	Contact (6mm) b	10mm b	Contact (6mm) b
Allemagne	Contact (6mm) b	Contact (6mm) b	10mm b	Contact (6mm) b
France	Contact (6mm) b	Contact (6mm) b	10mm b	Contact (6mm) b

Sur la même colonne, les moyennes reliées par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

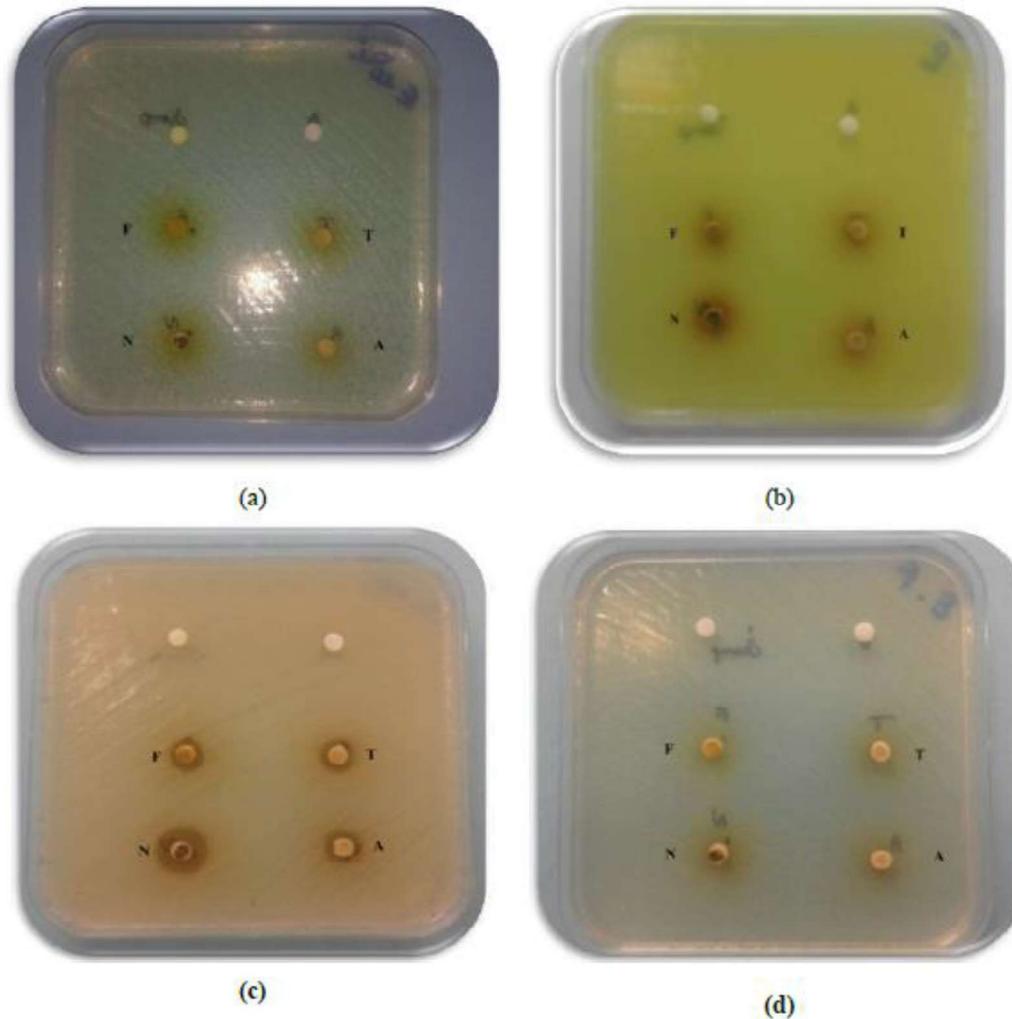


Fig. 2. Effet de l'extrait méthanolique des quatre populations de mélisse étudiées F: France; T: Tabarka, N: Nefza et A: Allemagne) sur la croissance de l'E. coli (a) , P. aeruginosa (b) , de S. aureus(c ) et de E. faecium (d)

**Activité antifongique :** L'activité antifongique des extrait éthanolique des populations de mélisse Tabarka et Nefza a été testée sur trois espèces de *Fusarium* : *F. redolens*, *F. culmorum* et *F. solani*. L'extrait éthanolique de *M. officinalis* de Tabarka a montré une faible activité antifongique pour les trois espèces étudiées. L'inhibition de la croissance de *F. redolens* a été révélée à partir de 600  $\mu\text{l/ml}$  et atteint le 4,25% d'inhibition avec 800  $\mu\text{l/ml}$  d'extrait. Pour la souche *F. culmorum* on marque une inhibition de 5,37% avec 800  $\mu\text{l/ml}$ . L'inhibition de la souche *solani* atteint le 4,34 % avec 800  $\mu\text{l/ml}$  (Figure 6 a). Pour l'extrait éthanolique mélisse de Nefza, la croissance de la souche de *F. redolens*, est touchée à partir de 600  $\mu\text{l/ml}$ , et ne dépasse pas le 5% avec 800  $\mu\text{l/ml}$  d'extrait. Pour l'espèce *culmorum*, l'effet de l'extrait éthanolique de Nefza est négligeable (1,32% d'inhibition avec 800  $\mu\text{l/ml}$ ). Cet extrait a pu inhiber la croissance de *F. solani* atteint le 7,45% d'inhibition à 800  $\mu\text{l/ml}$ . Cette espèce *F. solani* est donc la plus sensible à l'extrait éthanolique de mélisse de Nefza (Figure 6 b). L'effet antifongique de l'extrait éthanolique dépend de la souche étudiée, ceci est confirmé par les résultats trouvés par Adimi (2018) où la mélisse du Maroc ne présente aucun effet sur la croissance de *Aspergillus niger*, alors qu'il inhibe la croissance de *Candida albicans*. En revanche, Abdellatif (2014) a montré que les huiles essentielles de *M. officinalis* présente un pouvoir antifongique plus puissante que la nystatine (fongicide de référence utilisé) vis-à-vis *Fusarium ssp*. Ces activités importantes peuvent être liées aux principaux composés oxygénés (monoterpènes et sesquiterpènes) comme le citral, le citronellal et l'oxyde de caryophyllène, qui contient le HE de la *M. officinalis* en quantité appréciable (Abdellatif et al., 2014). *M. officinalis* d'origine Italienne est parmi les plantes ayant une activité antifongique vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* (Rongai et al., 2012).

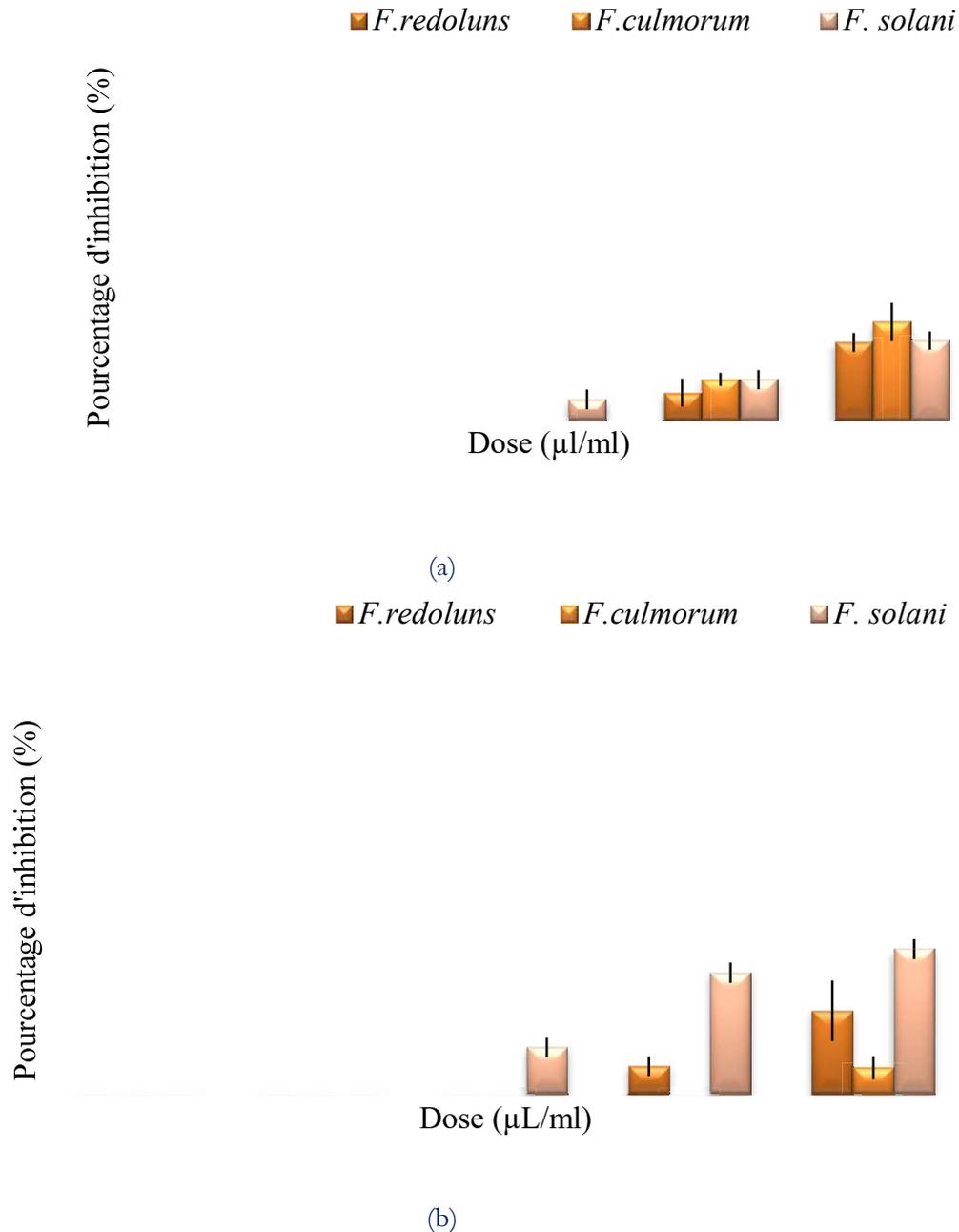


Fig. 3. Pourcentage d'inhibition de la croissance des souches en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique de la mélisse. (a): Tabarka (b) : Nefza

## CONCLUSION

L'exploration des ressources phylogénétiques natives est l'un des principaux buts du programme des plantes médicinales et aromatiques entrepris à l'INRAT qui vise aussi l'évaluation et la conservation des ressources phylogénétiques spontanées rares et tout particulièrement les espèces menacées dans leur milieu naturel. Les extraits méthanolique de *Mélissa officinalis* tunisiennes sont deux fois plus riches en flavonoïdes que les l'extrait méthanolique des populations introduites (France et Allemagne). L'évaluation du pouvoir antifongique des extraits éthanolique de *Mélissa officinalis* L. des populations tunisiennes sont testés contre trois phytopathogènes du genre *Fusarium*. L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de mélisse contre les quatre souches bactériennes multi-résistantes (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *E. faecium*). L'extrait de population Nefza a montré les diamètres d'inhibition les plus élevés qui varient entre 15 et 11mm, ce qui traduit la présence un effet antibactérien contre les quatre souches testées. Les molécules actives responsables de l'activité antibactérienne peuvent étre l'objet d'une alternative des antibiotiques.

## Références

- [1] Abdellatif F., Boudjella H., Zitouni A., Hassani A. 2014. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L.. Excli journal. 13, 772-781. DOI : 10.17877/DE290R-6927
- [2] Adimi L. Z. 2018. Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la mélisse (*Melissa officinalis*). Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif 1.
- [3] Al-Dhabi N. A., Ponmurugan K., Jegannathan P. M. 2017. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. Ultrasonics sonochemistry, 34, 206-213. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.05.005
- [4] Ben Brahim N. E. M., Chaabane A., Toumi L., Sebei H. 2014. Les plantes rares de la Tunisie septentrionale et centrale. Annales de l'INRAT, 87, 128. En ligne <http://www.inrat.agrinet.tn/Annales/Annales-INRAT-Volume-90-2017.pdf>
- [5] Bounihi A. 2016. Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de doctorat national. Université Mohammed V, faculté de médecine et de pharmacie, Rabat
- [6] Brahmi F., Madani K., Chibane M. 2015. Impact du séchage conventionnel des feuilles de la mélisse officinale de la région de Bejaia sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de leur extrait méthanolique. 5ème Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage
- [7] Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International journal of food microbiology. 94(3), 223-253. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- [8] Cohen R., Grimprel E. 2013. Rationnel ou irrationnel de l'utilisation de l'azithromycine. Archives de pédiatrie, 20, 104-107. DOI: 10.1016/S0929-693X(13)71418-0
- [9] Crozie A., Del Rio, D., Clifford M. N. 2010. Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. Molecular aspects of medicine, 31(6), 446-467. DOI: 10.1016/j.mam.2010.09.007
- [10] Dastmalc K., Dorman, H. D. Oinonen, P. P. Darwis Y. Laakso I., Hiltunen R. 2008. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. LWT-Food Science and Technology 41(3): 391-400. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.03.007
- [11] Delespaul Q., de Billerbeck V. G., Roques C. G., Michel G., Marquier-Viñuales C., Bessière, J. M. 2000. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. Journal of essential oil research, 12(2), 256-266. DOI:10.1080/10412905.2000.9699510
- [12] Ebadollahi A., AshrafiParchin R., Farjaminezhad M. 2016. Phytochemistry, toxicity and feeding inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. essential oil against a cosmopolitan insectpest; *Tribolium castaneum* Herbst. Toxin Reviews, 35(3-4), 77-82. DOI: 10.1080/15569543.2016.1199572
- [13] Gargouri S. 2003. Evaluation de l'incidence de la pourriture du pied du blé et de la structure des populations des espèces de *Fusarium* associées à la maladie, Thèse en Biologie végétale, Faculté des sciences de Tunis, Tunis, Tunisie.
- [14] Garnero P., Sornay Rendu E., Claustrat B., Delmas P. D. 2000. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in post menopausal women: the ofely study. Journal of Bone and Mineral Research, 15(8), 1526-1536. DOI:10.1016/b978-012369443-0/50034-x
- [15] Hassan R.A., Abotaleb S., Hamed H., Eldeen, M. 2019. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm) Extracts. Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology. 10(9), 183-187. DOI: 10.21608/jacb.2019.56823
- [16] Herodež S., Hadolin S., Škerget M., Knez Ž. 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. Food chemistry, 80(2), 275-282. DOI :10.1016/s0308-8146(02)00382-5
- [17] Iserin P., Masson M., Restellini J. P. 2007. Encyclopédie des plantes médicinales. (Eds.). France: Larousse.
- [18] Iwalewa E. O., Suleiman M. M., Mdee L. K., Eloff, J. N. 2009. Antifungal and antibacterial activities of different extracts of *Harungana madagascariensis* stem bark. Pharmaceutical biology. 47(9), 878-885. DOI: 10.1080/13880200903029316
- [19] Jafari-Sales A., Hossein-Nezhad, P. 2020. Antimicrobial effects of *Rosmarinus officinalis* methanolic extract on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in laboratory conditions. Journal of Medicinal and Chemical Sciences. 3(2), 103-108. DOI: 10.26655/JMCEMMSI.2020.2.2
- [20] Kalembe D. A. A. K., Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current medicinal chemistry. 10(10), 813-829. DOI: 10.2174/0929867033457719
- [21] Kato-Noguchi H., Ino T. 2001. Assessment of allelopathic potential of root exudate of rice seedlings. Biologia Plantarum 44(4): 635-638. DOI :10.1023/A:1013731828945
- [22] Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C., Roura S. I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT- Food Science and Technology, 36(7), 679-684. DOI : 10.1016/S0023-6438(03)00088-4
- [23] Poole K. 2001. Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. Journal of molecular microbiology and biotechnology. 3(2), 255-264. En ligne : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11321581>
- [24] Regnault-Roger C., Vincent C., Arnason J. T. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. Annual review of entomology. 57. DOI: 10.1146/annurev-ento-120710-100554
- [25] Rongai D., Milani F., Sciò, E. 2012. Inhibitory effect of plant extracts on conidial germination of the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. 12(3), 1693-1698. DOI: 10.4236/ajps.2012.312207
- [26] Shakeri A., Sahebkar A., Javadi, B. 2016. *Melissa officinalis* L. A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of ethnopharmacology, 188, 204-228. DOI: 10.1016/j.jep.2016.05.010.
- [27] Zhishen J., Mengcheng T., Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4), 555-559. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2