



Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et sciences de la
nature et de la vie Département des sciences de
la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Hana GUETTAF TEMAM et Samia BOUCHERIT

Le : Lundi 28 Juin 2021

Le Thème

**Effet phytohormones sur l'accumulation des
substances bioactives chez la plante médicinale
(*Medicago Sativa* L.)**

Jury :

M.	Bilal BENAMOR	MCB	Université de Biskra	Président
Mme.	Soulef KRIKER	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	Fatima NFOUCI	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020 - 2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant qui nous données la force, le courage, la volonté, la patience et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.

Nous voudrions témoigner de nos remerciements et nos gratitude

*à nous promotrice **Kriker Soulef**.*

, pour la confiance qu'il nous a accordée, son assistance, sa disponibilité, sa compréhension et ses conseils qui m'ont beaucoup aidé à réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail et nous excusons pour tous ceux que nous avons sans doute oubliés.

*Nous tenons à remercier tout particulièrement tous les membres du laboratoire **CRSTRA** et plus particulièrement le responsable de l'Herbier, le **Mr. Fadlaoui Haroun**, pour le temps qu'il a consacré à nous assister dans nos travaux.*

*Nous exprimons notre très grande considération, et notre profond respect à tous les enseignants de la promotion master, **2020-2021** qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère reconnaissance, pour leurs apports très constructifs.*

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de la présente étude.

Dédicace

C'est, ici, l'occasion pour dédier ce travail aux

*Sources de mes joies, secret de ma force, Le support de ma vie, **Les plus chères personnes dans le monde, mes parents «Rachida « Saïd»»**; qui ont toujours fait leur maximum, en sacrifiant leur temps, Qui n'ont jamais cessé de m'encourager, de m'épauler et m'ont soutenu moralement par leur présence. C'est grâce à vous et pour vous que j'ai fait ce mémoire.*

Aucun mot sur cette page, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et le remerciement d'être mes parents.

*** Qu'Allah vous accorde longue vie dans la santé et le bonheur ***

À ma merveilleuse sœur : Chaïma.

À mes chers frères : Aymene, Mohamed Brahim.

*A mes fidèles amies : Makouf **Imen**- boucherit **Samia**-Djellab **Khanssa**- labeal **fatima**-Farhat **Manel**-Haddad **Abir** -Misaoui **Aya**- Rhalmi **Souzi**-Boudjema **Wafa**-Achour **Yasmine**-Guettal **Hala**- Derarja **Imen**- Zakar **Djihan** -Gasem **Nahla**-Mousaoui **Hdjer**-Makhloufi **Najah** -Khane **Manel**- Azouzi **imen**-Darbali **Nadia**-Souisi **Chaïma**- **Mamati ismahan** - **Souaad** - Belhadi **Ines**-Absi **Donia**-Moustiri **Khaoula**-Mghezzi **Bakhouch Soundous**- yahiaoui **wahiba**-barbas **Zahra** -Afroukh **Faten** -Atia **khaoula** et **Donia**-oummane **Khalida** –Maraoui **Mohamed**-Bourenanne **Brahim** -Guettaf **Temam** **Temam**-Slimani **Aymen**-Lassel **Elmoundher**- **Kchida** **Mohamed Driss**.*

*Ou bien aucun dédicace ne peut exprimer mes profondes sentiments à la meilleure famille que j'ai rencontré dans toute ma vie : **La famille de la casa***

CHAABANE Abdelkader** –**BOUKHALFA Djaafar**- **KOUIDRI Omar**- **KERMICHE Aymen**-**BOUCHERIT Samia

En souvenirs de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout cœur que notre amitié durera éternellement

*** Merci d'être dans ma vie ***

Hana

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que

Soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

Al 'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :

Mon cher père **Farouk**.

A la femme qui a souffert sans me laisse souffrir, qui n'a jamais dit non mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Lamia**.

*A mes chères sœurs : **Férial, Rania, Lina**.*

*A mon adorable petit frère : **Mohamad Rafik**.*

A mes grands- mères et grands- pères, mais oncles et mais tantes.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant : **Hana , Waffa ,yasmin ,Nahla, Imene , Khanssa , Abir , Chaima , Sawssan , Issemahan , Rania ,Khoulod, ,Malak , Manal , Asma , Amani , Amira**.

Eux se sont les best, c'est des personnes en or. Des amitiés fidèles, je vois oublierai jamais : **Djaafer, Omar, Kada , Aymen** , vous êtres gravés dans ma mémoire .

Sans oublier mon binôme **Hana** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension

Tout au long de ce projet.

Samia

Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	1

Partie Bibliographiques

Chapitre 01.: La plante « Luzerne »

1.1.Généralités	3
1.2.Définition	3
1.3.Origine de la luzerne.....	3
1.4.Systématique de la plante Luzerne	3
1.5.Morphologie de la luzerne	4
1.6.Description d'espèce.....	4
1.7.La composition chimique de la plante.....	4
1.7.1.Les feuilles.....	5
1.7.2.Les tiges	5
1.8. Intérêt de la luzerne.....	5
1.9. Exigence de la luzerne.....	5
1.9.1.Facteur climatique	5
<input type="checkbox"/> Température	5
<input type="checkbox"/> La lumière	5
<input type="checkbox"/> L'eau	6
1.9.2.Facteur édaphique.....	6
<input type="checkbox"/> pH du sol.....	6

Chapitre 02.Composantes Bioactives et les phytohormones

2.1. Généralités.....	7
2.2. Métabolites primaires	7
2.3. Métabolites secondaires.....	7
2.3.1.Composés phénolique	7
2.3.2.Flavonoïdes.....	9
2.3.3.Les tanins	9
2.3.4.Les terpenes et terpenoïdes.....	9
2.3.5.Alcaloïdes	9
2.4. Les phytohormones	11
2.4.1. Généralités.....	11

2.4.2.L'acide gibbérelline.....	11
2.4.2.2.Effets des gibbérellines	12
2.5. Généralités sur l'extrait de racine de réglisse.....	13
2.5.1.Définition.....	13
2.5.2.Composants chimiques	13

Deuxième partie: Partie expérimental

Chapitre 03. Matériels et Méthodes

3.1. Matériel.....	14
3.1.1Présentation de la zone d'étude.....	14
3.1.1.2.Climat.....	14
a.Températures.....	15
b.Précipitations	15
c.Diagramme ombrothermique.....	16
d.Indice d'aridité de Martonne.....	16
e.L'humidité relative de l'air	16
3.2. Méthodes	18
3.2.1. Échantillonnage	18
3.2.2. Traitements appliqués.....	18
3.2.3. Etude qualitative (Criblage phytochimique).....	20
3.2.3.2. Alcaloïdes.....	21
3.3. Préparation de matériel biologique	21
3.3.1. Préparation des extraits.....	21
3.3.1.2.Poudre	22
a. Dosage des certains composants actifs.....	24
3.3.2. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux.....	24
3.3.2.1. Dosages des polyphénols.....	24
a. Principe.....	24
b. Mode opératoire	25
3.3.2.2. Dosages des flavonoïdes.....	25
a Principe.....	26
b.Mode opératoire.....	26

Chapitre 04. Résultats et discussions

4.1. Etude qualitative (Criblage phytochimique).....	26
4.1.1. Luzerne traitée avec l'eau distillée (témoin)	27
4.1.2. Luzerne traitée avec gibbérelline (50 mg / 1L et 100 mg / 1L).....	27
4.1.3. Luzerne traitée avec l'extraits de racine de réglisse (5 g / 1 L et 10 g / 1 L).....	27
4.2. Rendement d'extraction.....	28
4.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes	30
4.3.1. Teneurs en Polyphénols totaux.....	30

4.3.2. Teneurs en flavonoïdes totaux.....	30
4.4. Analyse de corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et les polyphénols	33
Conclusion.....	34
Références.....	35
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Représente la description de la plante <i>Medicagosativa</i> selon (Mauriés, 2003).	4
Tableau 2. Les températures moyennes de la région de Biskra de 1989 à 2019	15
Tableau 3. Les précipitations moyennes de la région de Biskra de 1989 à 2019.....	15
Tableau 4. Les températures moyennes de la région de Biskra de 1989 à 2019	17
Tableau 5. montrant la signification des codes placés sur les pots.	19
Tableau 6. Résultats du criblage phytochimique dans la plante de luzerne.....	26
Tableau 7. Résultats des couleurs des extraits dans la plante de luzerne.	28
Tableau 8. Rendement (%) obtenu de l'extrait aqueux.....	28
Tableau 9. Résultats du dosage des polyphénols (mg EAG/g d'extrait sec).....	30
Tableau 10. Résultats du dosage des flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait sec).....	30

Liste des figures

Figure 1. Morphologie de la luzerne (<i>Medicagosativa L.</i>). (Childers.2008).....	4
Figure 2. Acide gibbérellique ou AG ₃ .	Figure 3. Gibbérelline active ou GA ₁ . 12
Figure 4. Site du commun d'EL Hadjeb (Houda et al. ,2012).	14
Figure 5. Diagramme ombrothermique de la région de Biskra (1989-2019).	16
Figure 6. Les étapes d'extraction.....	23
Figure 7. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	25
Figure 8. Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	26
Figure 9. Les rendements des extraits aqueux sur la plante luzerne (<i>Medicago sativa L.</i>).	29
Figure 10. Les teneurs totales des polyphénols et flavonoïdes de différents extraits de Luzerne traité par gibbérelline et les racines de réglisse.....	31
Figure 11. Graphique de la régression représentant des polyphénols et flavonoïdes de différents extraits de Luzerne traité par gibbérelline et les racines de réglisse.....	33

Liste des abréviations

C : Carbone

GA : Gibbérelline

M : Masse en gramme du matériel végétal à traité.

M0 : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

Mg EAG : mg Equivalent Acide Gallique

Mg EQ: mg équivalent quercétine

R% : Rendement en %.

S : Luzerne traitée avec de l'eau distillée (témoin).

SG1 : Luzerne traitée avec de Gibbérelline (50mg /1L).

SG2: Luzerne traitée avec de Gibbérelline (100mg /1L).

SR1 : Luzerne traitée avec de l'extrait de racine de réglisse (5g/1L)

SR2 : Luzerne traitée avec de l'extrait de racine de réglisse (10g/1L).

Introduction

Partout dans le monde, l'être humain a su tirer de son environnement des remèdes à des maladies diverses via les expériences cumulées au fil des années. Dans les grandes civilisations qui ont marqué l'humanité, se trouve une bonne partie de l'histoire de l'utilisation des plantes en tant que remède. La civilisation arabo-musulmane a marqué son empreinte dans le domaine des plantes médicinales et a boosté l'exploitation des plantes pour l'usage médicinal (Elhaci, 2015).

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (Kansole, 2009).

Les gibbérellines sont des hormones endogènes essentielles présentes dans les plantes et les champignons qui contrôlent la croissance des plantes en régulant de nombreux mécanismes physiologiques (Hooley, 1994).

Les gibbérellines peuvent stimuler l'élongation des tiges et des racines, l'étirement des feuilles, la floraison, le vieillissement des fruits, la germination ou la dormance des graines (Hedden et Suppel, 2015).

À la lumière des dommages causés par les produits chimiques avec lesquels les plantes sont traitées, il est devenu nécessaire de rechercher une alternative à celles-ci et, par conséquent, des expériences scientifiques ont découvert que certains extraits de plantes agissent comme des hormones végétales, et parmi ces extraits naturels de plantes se trouve l'extrait de racine de réglisse (*Glycyrrhiza glabra* L.). C'est plante de la famille de légumineuses. L'utilisation de cet extrait dans de nombreuses études pratiques comme alternative botanique pour extraire les régulateurs de croissance naturels et les fabricants aide à améliorer la croissance et la production des plantes. Il contient également de la glycyrrhizine, qui sont les sels de calcium et de potassium de l'acide glycyrrhizique (Newall et al., 1996).

Dans ce contexte, nous proposons une étude qui nous montre l'efficacité de l'extrait de racine de réglisse par rapport à la gibbérelline. Dans cette étude, nous avons utilisé une plante médicinales, à savoir: la luzerne (*Medicago sativa* L.) de famille Fabacées.

Le but de ce travail est d'étudier la quantité de polyphénols et flavonoïdes dans la plante luzerne traitée avec gibbérelline et l'extrait de racine de réglisse avec des concentrations différentes.

Ce modeste travail est divisé en deux parties :

- ✓ La première partie sous forme d'une partie bibliographique qui regroupe les principales généralités sur la plante luzerne (*Medicago sativa* L.), les métabolites secondaires et les phytohormones.
- ✓ La deuxième partie expérimentale qui est subdivisée en deux chapitres ;
 - Le premier chapitre décrit le matériel et la méthodologie de travail.
 - Les principaux résultats obtenus suivis par des discussions sont présentés dans le deuxième chapitre.
- ✓ Enfin une conclusion sous forme de réflexion achève ce travail englobant tous les résultats.

Partie
Bibliographiques

Chapitre 01.

La plante « Luzerne »

Chapitre 01: La plante « Luzerne »

1.1. Généralités

Le nom Anglais donné à la luzerne « alfalfa » est d'origine arabe qui signifie « meilleur fourrage ». Les Italiens continuent à l'appeler ainsi. Les Espagnols l'appellent parfois mielga (Delgado, 2006).

La luzerne appartient à la famille des légumineuses, Il est cultivée pure ou en association avec une graminée, qui est le plus souvent le dactyle (*Dactylis glomerata* L.) (Mauriès, 1994).

1.2. Définition

La luzerne est la plante fourragère la plus répandue dans le monde. Elle jouit d'un regain d'intérêt lié notamment à sa richesse en protéines. Elle offre ainsi le rendement en protéines le plus élevé des plantes fourragère. Elle possède capacité à fixer l'azote de l'air. La luzernière qui produit 15 tonnes de matière sèche al' hectare fournit 2,6 tonnes de protéines. (Mauriera, 2004; Waligora, 2010).

La luzerne peut s'adapter à de nombreux types de sol mais elle tolère mal les sols acides (pH inférieur à 5) ou très humides, qui sont plus propices au trèfle violet. Sa préférence va aux sols sains et profonds qui lui permettent de développer son enracinement pivotant.

1.3. Origine de la luzerne

Selon Waligora, 2010 et Mauriès, 1994, la culture de la luzerne est très ancienne, elle est originaire du sud-ouest de l'Asie dans les hauts plateaux de Caucase, Iran, Afghanistan et la Turquie d'où elle se serait répandue dans le monde entier.

1.4. Systématique de la plante Luzerne

D'après (Quezel et Santa, 1962), l'espèce est classée comme suit :

- ✓ Embranchement : Spermaphytes
- ✓ Sous-embranchement : Angiospermes
- ✓ Classe : Dicotylédones
- ✓ Sous-classe : Dialypétales
- ✓ Ordre : Rosales

- ✓ Famille : Légumineuse
- ✓ Genre : *Medicago*
- ✓ Espèce : *Medicago sativa* L

1.5. Morphologie de la luzerne

Childers, 2008 présente *Medicago sativa* L, avec les différents organes de la plante depuis la graine, la fleur, la fleur épanouie, la fleur ouverte, le pétale, l'inflorescence en stade fructification, la gousse, la graine, et la coupe longitudinale d'une graine.



Figure 1. Morphologie de la luzerne (*Medicago sativa* L). (Childers.2008).

- 1 : Fleur.
- 2 : Fleur épanouie.
- 3 : Fleur ouverte.
- 4 et 5 : Un pétale.
- 6 : Une inflorescence en stade fructification.
- 7 : Une gousse.
- 8 : Une graine.
- 9 : Coupe longitudinale d'une graine

1.6. Description d'espèce

Légumineuse tétraploïde, allogame, à pollinisation entomophile. (Acta, 1972).

Tableau 1. Représente la description de la plante *Medicago sativa* selon (Mauriés, 2003).

Espèce	Racine	Port	Tige	Folioles	Fleurs	Gousse	Graines
<i>Medicago Sativa</i>	Pivotantes	Dressé	Fortes	Ovoïdes	Violettes	Spiralées	Réniformes

1.7. La composition chimique de la plante

Les feuilles et les tiges de Luzerne n'ont pas la même composition chimique:

1.7.1. Les feuilles

Ont une composition chimique très constante, leurs teneurs matières azotées et en cellulose brute sont respectivement voisines de 30 et 12 % quel que soit leur âge, et leurs teneurs en lignine corrigée restent comprises entre 3 et 5 %.

1.7.2. Les tiges

Sont plus pauvres que les feuilles, en matières azotées, plus riches en cellulose brute et leur composition chimique évolue avec l'âge. Quand la plante vieillit, la teneur en matières azotées diminue de 19,0 à 10,0 % environ, la teneur en cellulose brute augmente de 30 à 45% environ et la teneur lignine corrigée augmente de 5 à 12 %.

1.8. Intérêt de la luzerne

La luzerne est par excellence la plante fourragère qui résiste le mieux à la sécheresse, ainsi que leur association avec une graminée de type dactyle, permettant une utilisation plus souple (Fauche et pâture) avec une valeur alimentaire (énergie et azote) plus équilibrée pour une fertilisation azotée limitée (Itcf, 1998).

Cette culture a aussi d'autres intérêts agronomiques et économiques, elle permet d'améliorer la structure et la fertilité du sol. Elle peut garantir, même en absence d'élevage sur la ferme, des revenus importants c'est le cas pour la vente des bottes de luzerne (Chaabena et Abdelguerfi, 1999).

1.9. Exigence de la luzerne

1.9.1. Facteur climatique

➤ Température

Dans un lit de semence bien préparé et suffisamment humide, la germination intervient si la température est au minimum de 7°C, l'optimum étant de 25°C (Chaabena, 2001).

La croissance des jeunes semis est rapide entre 20 et 30°C. Cette température optimale diminue ensuite pour se situer à 15-25°C chez les plantes plus âgées. En dessous de 10°C et au-delà de 37°C, la croissance est fortement réduite (Mauriès, 2003).

➤ La lumière

Le photopériodisme modifié la morphologie et la production de la matière sèche. Les durées d'éclairement croissantes provoquent un allongement des feuilles au détriment de leurs largeurs (Hnatyszyn et Guais, 1988). La plante-abri diminue considérablement la disponibilité

en eau et surtout en lumière limitant ainsi les possibilités de croissance aériennes et souterraines de la jeune plantule (Moule, 1971).

➤ **L'eau**

Selon Chaabena (2001), la luzerne est très exigeante en eau pour élaborer un gramme de matière sèche, il faut 800 à 1000 grammes d'eau. Elle exige entre 12000 à 13000m³/ha pour une année de culture. Son enracinement pivotant, qui peut atteindre 2 m de profondeur, lui permettant de résister à la sécheresse.

1.9.2. Facteur édaphique

➤ **pH du sol**

Les sols les plus favorables pour la luzerne sont des sols sains, bien drainés, aérés, et à une bonne réserve en eau. Le pH doit être basique ou supérieur à 6.5 (Hnatyszyn et Guais, 1988). La germination de la luzerne peut s'effectuer à un pH très bas, mais la croissance de la plantule est fortement ralentie (Moule, 1971).

Chapitre 02. Composantes Bioactives et phytohormones

Chapitre 02. Composantes Bioactives et les phytohormones

2.1. Généralités

Les plantes contiennent de nombreuses molécules issues de leur métabolisme ou du milieu extérieur. Ces différentes molécules ont des fonctions variées dans la plante et certaines peuvent avoir des applications thérapeutiques. On distinguera les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Bruneton, 1999).

2.2. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules qui existent dans toutes les cellules végétales et sont nécessaires à la vie de la plante. Ce sont les glucides, les lipides et les acides aminés, les protides et les protéines. C'est à partir de ceux-ci que les métabolites secondaires sont formés, par différentes réactions chimiques (Bruneton, 1999).

Ils jouent aussi un rôle essentiel dans la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement de la plante (Croteau et *al.*, 2000).

2.3. Métabolites secondaires

Les plantes produisent divers composés organiques, dont la grande majorité ne semble pas participer directement à leurs croissance et développement. Ces substances, traditionnellement appelées métabolites secondaires, sont souvent distribuées différemment parmi des groupes taxonomiques limités dans le règne végétal (Hanson, 2003).

Ils sont responsable des activités biologiques des plantes médicinales (Croteau et *al.*, 2000; Hanson, 2003). Sur la base de leurs origines biosynthétiques, les métabolites secondaires des plantes peuvent être divisés en trois grands groupes : les composés polyphénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (Crozier et *al.*, 2008).

2.3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont caractérisés par au moins un cycle aromatique substitué par un ou plusieurs groupes hydroxyles. Plus de 8000 structures de composés phénoliques ont été rapportées dans la littérature et elles sont largement dispersées dans les plantes (Strack et *al.*, 1992).

Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de l'agencement de leurs atomes de

carbone et sont communément substitués par des sucres et des acides organiques (Crozier *et al.*, 2008). Les composés phénoliques peuvent être classés en deux groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes.

2.3.1.1. Effets biologiques des polyphénols

Des travaux plus anciens ont montré que le phénol seraient associés à de nombreux processus physiologique : croissance cellulaire, différenciation, organogénèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (Mohammed, 2006).

Le rôle des composés phénoliques est reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux. Ils peuvent en effet intervenir dans :

- Certains aspects de physiologie du plant (lignification, régulation de la croissance, interaction moléculaire avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...)
- l'interaction des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV), Soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux.
- Les critères de qualité couleur, une qualité nutritionnelle.
- Les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques.
- La protection de l'homme vis à vis de certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et leurs propriétés antioxydantes (composé phénolique).

Les composés phénoliques possèdent une activité antimicrobienne, par exemple que il a été montré que les catéchines des feuilles du thé, inhibent la croissance de micro-organismes en entrant en fonction membranaires des pathogènes (Boudjouref, 2011).

2.3.1.2. Facteurs de variabilité de la teneur en polyphénols

a. Facteurs externes

Le métabolisme phénolique est particulièrement sensible à l'action des facteurs externes comme la lumière, la température, les microorganismes pathogènes et les traitements appliqués par l'homme (Dinelli *et al.*, 2006).

2.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes dérivent de la flavone. Les structures des flavonoïdes sont constituées de deux anneaux de benzène séparés par une unité de propane. Ils sont généralement hydrosolubles.

On les trouve généralement dans les plantes sous forme glycosilées. Les différentes classes dans le groupe se distinguent par des anneaux hétérocycliques contenant de l'oxygène et des groupes hydroxyles. Il s'agit notamment des chalcones, des flavones, des flavonols, des flavanones, des anthocyanines et des isoflavones (Williams et Grayer, 2004).

2.3.2.1. Rôles chez les plantes

Les flavonoïdes jouent un rôle dans : la protection contre les rayonnements UV (270 et 290 nm) et contre les stress oxydants, la défense contre les pathogènes, la régulation endogène du transport des auxines, messagers secondaire dans l'interaction plante-microorganismes et l'attraction des insectes pollinisateurs par l'accumulation des anthocyanes et des flavonols (Amallesh et *al.*, 2011).

2.3.3. Les tanins

Les acides tanniques sont des composés organiques complexes. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles. Usagée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir (Dangles et *al.*, 1992). Ils sont solubles dans l'eau, avec des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Dalton (Bruneton, 1999), d'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tanins sont distingués : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

2.3.4. Les terpènes et terpenoïdes

Les terpènes, ou isoprénoides, sont l'une des classes les plus diverses de métabolites secondaires. Leur squelette carboné est constitué d'unités isopréniques reliées, c'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles. (Briemann et *al.*, 2006).

Ils sont des arômes et des parfums, des antibiotiques, des hormones végétales et animales, des lipides membranaires, des attracteurs d'insectes, des anti alimentaires et des médiateurs des processus essentiels de transport d'électrons (Crozier et *al.*, 2008).

2.3.5. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés à faibles poids moléculaires, contenant de l'azote dérivés principalement d'acides aminés et trouvés dans environ 20% des espèces végétales (Roberts, 2013).

Les alcaloïdes jouent un rôle défensif dans la plante contre les herbivores et les agents pathogènes.

En raison de leurs activités biologiques puissantes, bon nombre d'alcaloïdes connus ont été exploités comme produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et poisons (Wink, 1998).

2.4. phytohormones

2.4.1. Généralités

Les hormones végétales sont des substances chimiques d'origine endogène qui circulent dans la plante dans les directions précises et vers des points précis. Ce sont des messagers qui, vecteurs d'une ou plusieurs informations. Ils sont destinés à provoquer une réaction dans une région donnée, en réponse à un stimulus externe ou interne. (Lafon et *al.*, 1988).

Les phytohormones sont habituellement réparties en cinq groupes : Les auxines (AIA), les gibbérellines (GA), les cytokinines (Ck), l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène (Et). En plus de cinq principaux groupes, deux autres groupes semblent exercer une activité de régulation de la croissance des plantes, les brassinostéroïdes et les polyamines (Charonnat et Deblay, 1997 ; Heller et *al.*, 2000).

2.4.2. L'acide gibbérelline

Les gibbérellines ont été mises en évidence à la suite de l'observation d'un fonctionnement pathologique. Elles ont en effet été caractérisées à la suite de l'étude d'une maladie du riz. Ce sont des substances synthétisées par les plantes, elles furent décelées sur un ascomycète parasite du riz, *Gibberella fujikuroi* ou *Fusarium moniliforme* quand le champignon est cultivé in vitro (Heller et *al.*, 2000 ; Raven et *al.*, 2000 ; Hopkins, 2003).

Elles agissent à la fois sur la mèresse et l'auxine des cellules. Certaines variétés naines des plantes (Haricot, pois, maïs) (Tourte et *al.*, 2005).

2.4.2.1. Nature chimique

Les gibbérellines (GA) sont des di terpènes tétra cycliques possédant toutes un noyau gibbérelline. Les gibbérellines possèdent en principe 20C. L'une des premières gibbérellines découvertes est l'acide gibbérellique ou AG3 présente dans le champignon *Gibberella fujikuroi*. Les autres formes n'en diffèrent que par des transformations mineures (Porte de -OH, saturation du cycle, déplacement d'une double liaison), on compte plus de 130 GA différentes Chez les végétaux. Les formes les plus courantes sont GA1 (maïs, épinard, riz) et GA4 (Fig. -3 - et - 4 -) (Morot- Gaudry et Prat, 2009).

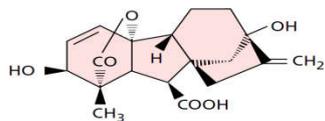


Figure 2. Acide gibbérellique ou AG₃.

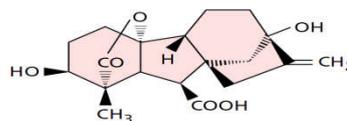


Figure 3. Gibbérelline active ou GA₁.

(Taiz and Zeger, 2010)

2.4.2.2. Effets des gibbérellines

Les gibbérellines aident à l'allongement de hypo cotyle et des nœuds d'herbe et augmente à la fois l'élongation cellulaire et la division cellulaire, comme en témoignent les augmentations de la longueur des cellules et le nombre de cellules en réponse aux demandes de GA (Taiz et Zeger, 2010).

➤ Croissance des fruits

Effet commun avec les auxines, mais les gibbérellines agissent sur des espèces pour lesquelles l'auxine n'a pas d'action (Rosacées, pêcher, pommier, raisins). La parthénocarpie (Sans fécondation) peut être obtenue avec des gibbérellines (Hopkins, 2003 ; Morot-Gaudray et Prat, 2009).

➤ Levée de dormance

L'application des gibbérellines à des bourgeons dormants permet la levée de dormance et leur débourrement. Même effet sur la levée de dormance des graines (Paquin, 1961 ; Hopkins, 2003).

➤ Initiation de la floraison

Pour des espèces ayant des exigences photopériodiques ou de vernalisation pour fleurir, la transformation d'un méristème végétatif en méristème floral peut être obtenue dans des nombreux cas par application de gibbérellines. Sans que l'on sache si ces hormones sont directement impliquées dans le processus physiologique normal (Hopkins, 2003).

2.5. Généralités sur l'extrait de racine de réglisse

2.5.1. Définition

(*Glycyrrhiza glabra* L.) C'est une Plante vivace de la famille des Fabaceae aux racines aromatiques. Elle est originaire du sud de l'Europe et de l'Asie. Elle pousse dans un sol riche et humide et elle a besoin d'un climat chaud (sud des USA, Moyen-Orient, Afrique du Nord et Méditerranée (Petit, 2011).

2.5.2. Composants chimiques

La racine de (*Glycyrrhiza glabra* L.) contient une grande variété de composés comme le saccharose (jusqu'à 18%), les flavonoïdes, les stérols, les acides aminés, l'amidon, les essences d'huile et les saponines. Le triterpène principal est l'acide glycyrrhizique ou glycyrrhizine (C₄₂ H₆₂ O₁₆) qui est composé de deux molécules d'acide glucuronique et d'une molécule d'acide glycyrrhétinique (Blumenthal, 2000; Jiang, 2004).

Le sel de glycyrrhizine peut être sous forme de potassium ou de calcium (Sabbioni et al., 2005). Cette substance, en tant que substance la plus importante de la racine de réglisse, est environ 50 fois plus sucrée que le sucre (Hayashi et al, 1998).

La quantité de cette substance dans la racine varie selon la variété végétale et les conditions climatiques du lieu de culture et se situe entre 5 et 20%. (Douglas et al , 2004). Le niveau de cette substance augmente après l'augmentation de l'âge, de sorte que la racine a l'acide glycyrrhizique le plus élevé au cours des dernières années (Ong et Len, 2003).

Deuxième partie:
Partie expérimental

Chapitre 03.

Matériels et Méthodes

Chapitre 03: Matériels et Méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Présentation de la zone d'étude

3.1.1.1. Situation géographique

Selon anonyme (1995), La commune d'El Hadjeb est située au sud-ouest de la willaya de Biskra, à une quinzaine de kilomètre de la ville de Biskra. Elle est limitée (Fig.4) :

- Au nord par la commune d'El Outaya.
- Au nord-est par la commune de Biskra.
- Au sud-est par la commune d'Oumache.
- Au sud-ouest par la commune de Bouchagroune.
- Au nord-ouest par la commune Tolga.

3.1.1.2. Climat

Cette région se caractérise par un climat aride comme le climat de Biskra, sec en été et froide en hiver (Anonyme, 1995).

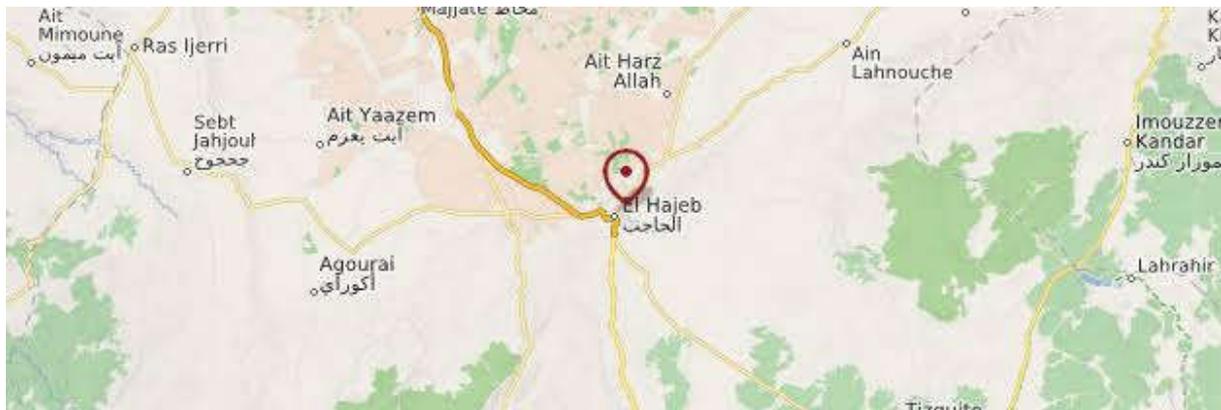


Figure 4. Site du commun d'EL Hadjeb (Houda et *al.* ,2012).

Le climat saharien est caractérisé notamment par la faiblesse et l'irrégularité des précipitations, une luminosité intense, une forte évaporation et de grands écarts de température. Du fait de la pureté de leur atmosphère et souvent aussi de leur position continentale, les déserts présentent de forts maximums de température et de grands écarts thermiques (Ozenda, 1991).

Les oasis de Ziban sont parmi les zones arides caractérisées par un climat toujours peu pluvieux et parfois sec avec une pluviosité très irrégulière et inférieure à 200 mm/an (Dubost, 2002).

La température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade, 2003).

L'insuffisance de pluies sahariennes est accompagnée d'une irrégularité très remarquable du régime pluviométrique et d'une variabilité inter-annuelle considérable, ce qui accentue la sécheresse (Ozenda, 1991).

a. Températures

Tableau 2. Les températures moyennes de la région de Biskra de 1989 à 2019

(O.N.M.Biskra, 2019).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
T (C°)	11,78	13,1	17	20,85	25,18	32,43	34,93	34,33	29,28	23,7	16,18	14,13

D'après le tableau, on peut noter que la température maximale moyenne la plus élevée est enregistrée durant le mois de juillet 34,93 °C et la température minimale moyenne la plus basse durant le mois de janvier 11,78 °C. Donc, le mois le plus chaud est Juillet et le plus froid est Janvier.

b. Précipitations

Tableau 3. Les précipitations moyennes de la région de Biskra de 1989 à 2019

(O.N.M.Biskra, 2019).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
P(mm)	8,74	5,18	11,57	23,46	14,21	8	1,41	4,16	18,33	9,28	12,52	10,18

D'après le tableau, on peut noter que le taux de précipitation le plus élevé est enregistré pendant le mois d'avril 23,46 mm, et un faible taux a été enregistré au mois de juillet 1,41

mm. Donc, le mois plus humide est avril et le plus sèche est Juillet.

c. Diagramme ombrothermique

La figure suivante présente le diagramme ombrothermique de la région d'étude (Biskra). Ce diagramme montre d'une période sèche s'étale pour tous les mois de l'année, alors que la région de Biskra se caractérise par un climat sec au cours des saisons de l'année.

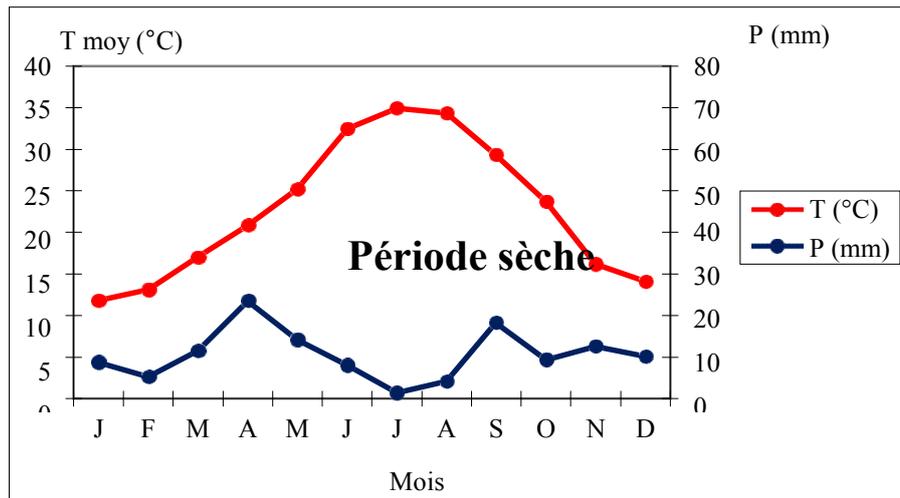


Figure 5.Diagramme ombrothermique de la région de Biskra (1989-2019).

d. Indice d'aridité de Martonne

Il est donné par la formule suivante :

Dans laquelle, P sont les précipitations annuelle (mm), et T (°C) est la température moyenne annuelle. Cet indice est d'autant plus faible que le climat est aride.

- ☑ $I < 5$: climat hyper-aride ($I = 0$: desert absolu) ; $5 < I < 10$: climat aride ; $10 < I < 20$: climat semi-aride; $20 < I < 28$: climat sub-humide ; $28 < I < 35$: climat humide et $I > 35$: climat très humide (Dajoz, 2006.).

- ☑ $I_{\text{Biskra}} = 127,04 / (22,74 + 10) = 3,88$.

La région de Biskra est dotée d'un type de climat hyper-aride, vu qu'elle possède un indice d'aridité très faible de l'ordre de 3,88.

e. L'humidité relative de l'air

f.

Tableau 4. Les températures moyennes de la région de Biskra de 1989 à 2019
(O.N.M.Biskra, 2019).

Mo is	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	D é c
H (%)	54,37	48,75	42,54	40,41	29,48	26,48	26,1 6	31,44	40,2	54,2 4	53,46	56, 87

D'après le tableau, on peut noter que le taux d'humidité le plus élevé est enregistré pendant le mois décembre 56,87 %, et un faible taux à été enregistré au mois de juillet 26,16%. Donc, le mois plus humide est décembre et le plus sèche est Juillet.

3.1.1.3. Le sol

Comme tous les sols des régions arides du monde, les sols de saharienne d'Algérie contiennent des quantités relativement importantes de sels solubles.

Le paysage saharien est composé généralement d'une partie amont des sols sableux éoliens peu profond, à croute gypseuse et d'une partie aval des sols sableux éoliens (Boumaaraf, 2003).

Le sol d'El-hadjeb présente, dans certains secteurs, une croute de roche dure gypso calcaire, qui recouvre des sables recelant une nappe phréatique à 2 ou 3 m de profondeur.

Le pH du sol est de l'ordre de 7,5 à 8.

3.1.1.4. L'eau

Au Sahara à cause de la sécheresse, l'homme a de tout temps conçu, réalisé, maîtrisé des ouvrages hydro-agricole et des technique d'irrigation et d'extraction d'eau souterraine (Massar, 1996).

3.2. Méthodes

3.2.1. Échantillonnage

L'expérience a été menée à la Faculté de biologie de l'Université de Mouhammed Khider, Biskra ElHajeb. Dans cette expérience, nous avons utilisé les les graines de la plantes luzerne.

Ce types plante a été choisi parmi d'autres plantes pour plusieurs raisons, notamment:

- Le début de la plantation est en octobre, novembre ou décembre.
- La vitesse de croissance végétative de cette plante.
- La période de floraison est au printemps.
- La structure de cette plante facilite le processus d'observation et de prise de résultats.

3.2.2. Traitements appliqués

Dans cette étude, nous avons utilisé deux types d'hormones végétales avec deux concentrations différentes (Tab.5), l'acide gibbérellique comme hormone synthétique et l'extrait de racine de réglisse comme hormone naturelle, et nous avons utilisé de l'eau distillée pour les plantes témoins (Marssoumi, 1999).

3.2.2.1. Protocole de préparation de la solution

Nous avons préparé les solutions avec lesquelles nous traitons les plantes, en suivant les étapes suivantes:

3.2.2.2. Pour préparer l'acide gibbérellique

- Nous avons mesurée deux quantités d'acide gibbérellique (50 mg et 100 mg).
- Dissoudre l'acide gibbérellique à l'aide d'éthanol et bien agiter.
- Mélanger l'acide gibbérellique dissous dans un litre d'eau distillée.
- On obtient deux solutions d'acide gibbérellique, la première 50 mg dans 1L et la seconde 100 mg dans 1L.
- Couvrir chacun des récipients de papier d'aluminium et les conserver au réfrigérateur jusqu'à ce que les deux solutions soient utilisées.

3.2.2.3. Pour préparer l'extrait de racine de réglisse

D'abord nous apportons la racine de réglisse puis on sèche les racines.

- Nous écrasons bien les racines avec du mortier jusqu'à ce que nous obtenions une poudre lisse.
- Nous pesons deux quantités de poudre de racine, les premières 5g et 10g.
- Mélanger les deux quantités avec 1 litre d'eau distillée dans deux récipients de 1 litre de capacité.
- Nous chauffons les deux solutions sous agitation, puis la laissons dans un endroit à l'abri de la lumière pendant 24 heures.
- Ensuite nous avons filtrée les deux solutions dans du papier filtre.

Enfin, on obtient un extrait de racine de réglisse, les 5 premiers g dans 1 L et les seconds 10 g dans 1 L.

Nous avons préparé une serre afin de créer un environnement approprié pour les plantes de l'expérience, après cela nous avons préparé les pots en plaçant une couche de gravier puis en le remplissant de terre provenant d'un sol fertile, puis en plaçant une dernière couche de sol noir (la tourbe), Nous avons utilisé des pots d'un diamètre de 30 cm et la hauteur du pot est de 50 cm .

Après avoir préparé les pots et une fois qu'ils étaient prêts pour la plantation, Nous avons traité les graines au laboratoire, où elles ont été trempées dans des solutions contenant les concentrations mentionnées dans le tableau 5 pendant 24 heures. , puis les avons plantées dans les pots et avons placé le code approprié pour elles (Tab.5).

Tableau 5. Montrant la signification des codes placés sur les pots.

	H ₂ O	Gibbérelline		Racine de Réglisse	
		50mg /1L	100mg /1L	5g/1L	10g/1L
La luzerne	S	SG1	SG2	SR1	SR2

- **S** : Luzerne traitée avec de l'eau distillée (témoin).
- **SG1** : Luzerne traitée avec de Gibbérelline (50mg /1L).
- **SG2** : Luzerne traitée avec de Gibbérelline (100mg /1L).
- **SR1** : Luzerne traitée avec de l'extrait de racine de réglisse (5g/1L).
- **SR2** : Luzerne traitée avec de l'extrait de racine de réglisse (10g/1L).

Le processus de macération des grains avec des solutions préparées à partir d'acide gibbérelline et d'extrait de racine de réglisse est tous les deux jours jusqu'à l'imbibition des grains et ce que les plantes poussent dans les boîtes de pétrie en transfère dans le pot et pour éviter que les plantes ne se fanent et ne meurent, La quantité d'eau d'irrigation est de 1 L dans un pot.

Le processus de nettoyage des pots des mauvaises herbes se déroule pendant chaque processus d'arrosage, tandis que le processus de ventilation a lieu le matin de sept à cinq heures du soir.

Nous avons régulièrement surveillé le sol et les plantes contre les insectes nuisibles et avons empêché l'eau de s'accumuler dans les pots et à l'intérieur de la serre.

L'implantation a eu lieu le 24 novembre 2019.

3.2.3. Etude qualitative (Criblage phytochimique)

La plante séchée à l'ombre puis pulvérisée. Obtenus par pulvérisation dans un moulin à l'aide de plantes des séchées feuilles.

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi qu'à des examens en lumière ultraviolette. Ces techniques permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal.

3.2.3.1. Tanins

Nous avons pris 05ml de l'infusé, nous avons ajouté goutte à goutte 1ml d'une solution de Chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% : l'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des Tanins cathéchiques, bleu noirâtre, Tanins galliques.

Aux 30ml de l'infusé, nous avons ajouté 15ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + HCl Concentré 3-1 V/V), après chauffage de 30mn au bain-marie, l'observation d'un Précipité orange indique la présence des tannins cathéchiques (Solfo, 1973).

3.2.3.2. Alcaloïdes

Nous avons mélangé 5g de la poudre séchée avec 50ml d'HCl à 1% dans un bécher. Après macération, nous avons filtré le mélange à l'aide d'un papier filtre et additionné au filtrat quelques gouttes de réactif de Mayer (1,36g de HgCl₂+5g de KI dissout dans 100ml d'H₂O distillée), l'apparition d'un précipité blanc indique leur présence (Bouquet, 1972).

3.2.3.3. Flavonoïdes

Nous avons macérée 10g de la poudre pulvérisée dans 150ml d'HCl à 1% pendant 24h, après filtration nous avons procédé au test suivant :

10ml du filtrat après l'avoir rendu basique par l'ajout du NH₄OH, après 3h, l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (Okmu, 2005).

3.2.3.4. Terpènes et Stérols

Nous avons macéré 5g de poudre dans 20ml d'éther de pétrole, après avoir filtré et évaporé la phase organique dans un bain de sable à T°90°C ,le résidu est dissout dans 0,5ml d'acide acétique, en ajoutant 1ml d'H₂SO₄ concentré, dans la zone de contact entre les deux liquides un cercle violé ou marron indique la présence des stérols et Terpènes (Dohou et *al.*, 2003).

3.3. Préparation de matériel biologique

3.3.1. Préparation des extraits

3.3.1.1. Principe

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. En conséquence, beaucoup d'auteurs ont étudié

L'influence de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale.

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongée un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante. (Hammoudir, 2012).

3.3.1.2. Poudre

La plante séchée à l'ombre puis pulvérisée. Obtenus par pulvérisation dans un moulin à l'aide de plantes des séchées feuilles.

3.3.1.3. Extraction par macération

La préparation des extraits aqueux de chaque plantes sont réalisée Selon (Falleh et *al.*, 2008) avec une légère modification. Dans le présent travail, nous avons ciblé les métabolites secondaires (essentiellement des composés phénoliques). Les extraits aqueux sont préparés par macération de 10g de la poudre végétale de *Medicago Sativa* dans 100ml l'eau distillée (100% eau) pendant 24h à l'obscurité à température ambiante.

Les extraits sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman. Les résidus obtenus sont repris pour une deuxième et troisième fois d'extraction avec des différents volumes d'un même mélange pour augmenter le rendement des extraits. Les trois filtrats sont récupérés par l'évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C. Les extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leurs utilisations (fig.6).

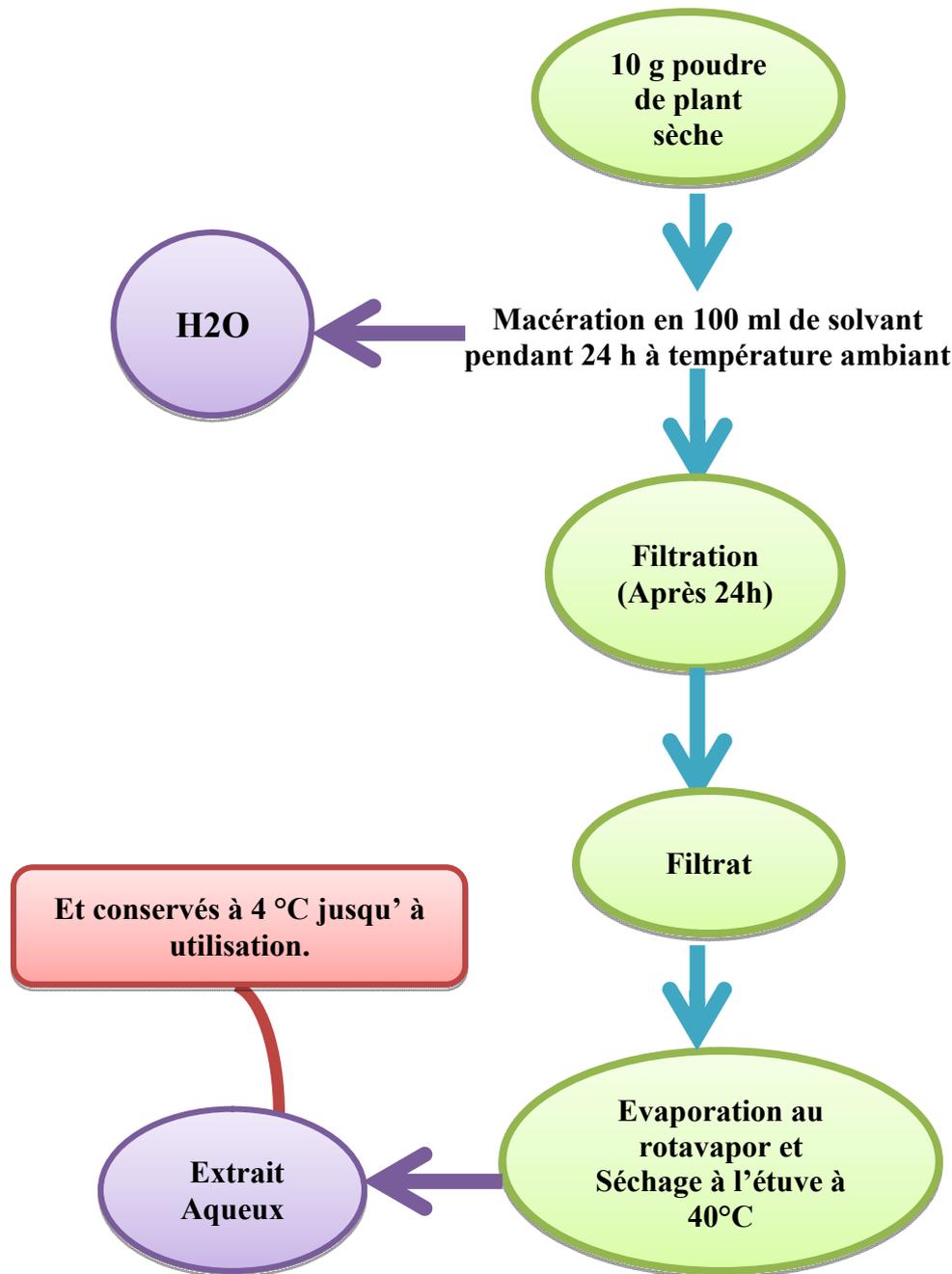


Figure 6. Les étapes d'extraction

3.3.1.4. Calcul de rendement

Le rendement en pourcentage(%) de l'extrait de plante de luzerne a été calculé par la formule qui écrit par Koffi Akessé & Ahoua Angora (2018).

$$R(\%) = (M_2 - M_1) / M_0 \times 100$$

- ✓ **R(%)** : Rendement exprimé en %.
- ✓ **M₀** : Masse en gramme du l'échantillon.
- ✓ **M₁** : Masse en gramme de boîte de pétrie vide.
- ✓ **M₂** : Masse en gramme de boîte de pétrie plein par l'extrait

3.3.1.5. Analyses quantitatives

a. Dosage des certains composants actifs

Le dosage des composants a actif est basée sur la méthode spectrale (spectrophotométrique) que la spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus ces espèces concentrées plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.

La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier. Lorsqu'une lumière d'intensité I_0 passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). L'intensité I de la lumière transmise est donc inférieure à I_0 . L'absorbance de la solution est définie comme suit :

$$A = \log_{10} (I_0 / I)$$

$$\text{Ou } A = -\log T$$

$$T = I / I_0$$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible (Hamidi, 2013).

3.3.2. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux

3.3.2.1. Dosages des composés phénoliques

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de (Djeridane *et al.*, 2006) utilisant le réactif de Folin Ciocalteu .

a. Principe

Le réactif utilisé est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_4$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène et de molybdène de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ribéreau, 1968).

b. Mode opératoire

Avec une légère modification. Un volume de $20\mu\text{l}$ pour chaque extrait est introduits dans des tubes à essai, le mélange $100\mu\text{l}$ du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois (1ml de FCR concentré + 9ml H_2O) additionné, Les tubes sont agités et conservés durant 1 min à la température ambiante. Après 1 min $75\mu\text{l}$ de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% est ajouté. Durant 2 heures à la température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage (fig.7) à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

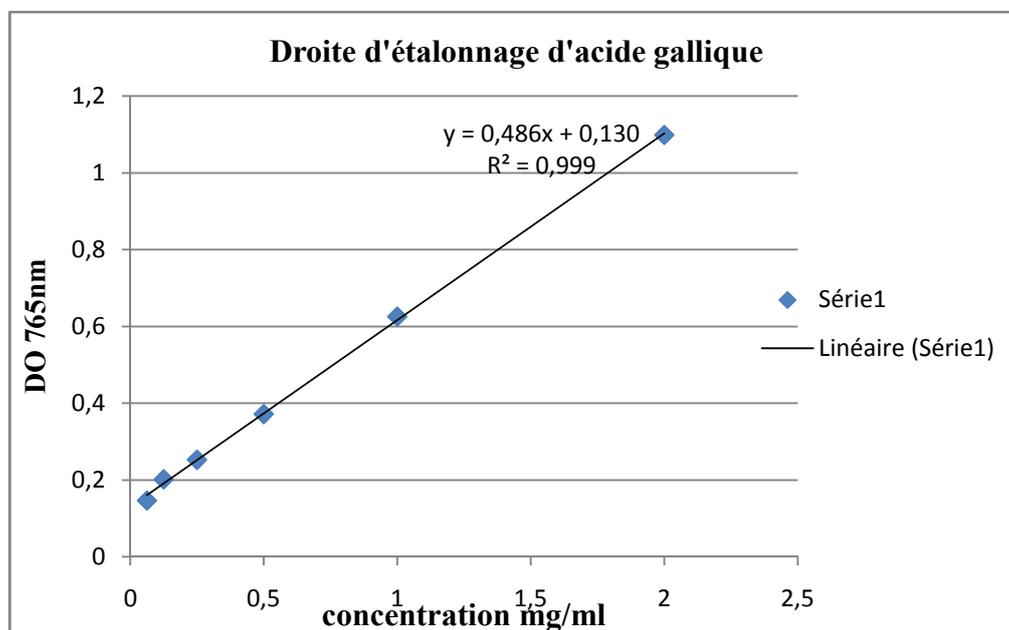


Figure 7. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

3.3.2.2. Dosages des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahorun et *al.*,1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits.

a. Principe

La méthode repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), cette propriété est propre aux groupements hydroxyle des polyphénols flavonoïdes capable de donner un complexe jaunâtre en présence d'aluminium. La coloration jaune est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau, 1982).

b. Mode opératoire

Avec une légère modification. 50µl de chaque extrait est mélangé avec de 50µl de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (200mg d' AlCl_3 sont dissouts dans 10ml d' H_2O) après 5 min ajoute 150µl de d'acétate de sodium ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) (500mg d' $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ son dissouts dans 10ml d' H_2O) est ajouté au mélange, durant 2h 30 heures à la température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 440nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration des flavonoïdes a été déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage (fig.8) réalise par un standard étalon la quercétine a différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon, et exprimée en mg d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait sec).

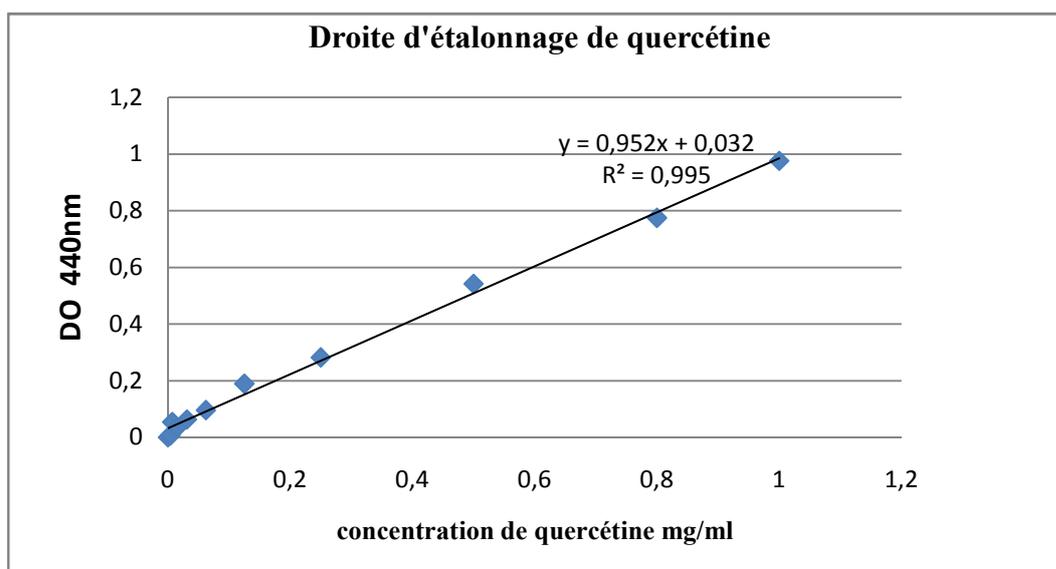


Figure 8. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Chapitre 04.

Résultats et discussions

Chapitre 04. Résultats et discussions

4.1. Etude qualitative (Criblage phytochimique)

L'analyse qualitative des extraits des plantes qui a pour but la mise en évidence la présence de certains types de métabolites secondaires, basées sur des réactions de colorations, de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques.

Tableau 6. Résultats du criblage phytochimique dans la plante de luzerne.

Extrait	S	SG1	SG2	SR1	SR2
Alcaloïdes	+	++	+	+++	++
Flavonoïdes	+	+	+	+++	++
Tanins Cachectiques	+	++	+	+++	++
Tanins Gallique	+	++	+	+++	++
Terpène	+	++	+	+++	++

(+) Présence en faible quantité

(++) Présence en quantité moyenne

(+++) Présence en quantité importante

Le criblage à été réalisé sur la plante de la luzerne (*Medicago sativa* L.) traité par deux types d'hormones végétale : l'acide gibbérellique comme hormone synthétique et l'extrait de racine de réglisse comme hormone naturelle et l'eau distillée.

Les teste menés visent à mettre en évidence la quantité présence des principaux pigments : Alcaloïdes, Flavonoïdes Tanins cachectiques, Tanins gallique, Terpène.

Les résultats des teste phytochimiques effectuée sur les extraits de la plante luzerne sont mentionnes dans le (tab.6), la présence de tous ces groupes de composé chimiques dans ce plante explique et / ou justifiée la couleur observée dans les extraits.

4.1.1. Luzerne traitée avec l'eau distillée (témoin)

Le criblage phytochimique des parties aériennes de (*Medicago sativa* L.) a indiqué la présence en faible quantité des flavonoïdes, alcaloïdes, tanins cachectiques et gallique et terpène.

4.1.2. Luzerne traitée avec gibbérelline (50 mg / 1L et 100 mg / 1L)

Nous remarquons aussi la présence des Alcaloïdes, Flavonoïdes Tanins cachectiques, Tanins gallique, Terpène à quantité déférente entre luzerne traitée avec gibbérelline de concentration (50mg / 1L) et gibbérelline de concentration (100 mg / 1L) où nous avons remarqué :

La présence des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins cachectiques, tanins gallique et terpène en quantité moyenne de luzerne traitée avec gibbérelline de concentration (50mg / 1L) par apport à la luzerne traitée par gibbérelline de concentration (100 mg / 1L).

4.1.3. Luzerne traitée avec l'extraits de racine de réglisse (5 g /1 L et 10 g / 1 L)

Les alcaloïdes , flavonoïdes ,tanins cachectiques , tanins gallique et terpène sont présentes dans les deux traitement par extrait de racine de réglisse (10 g /1 L) et l' extrait de racine de réglisse (5 g /1 L) mais les notes étaient les suivantes :

R1 : Les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins cachectiques, tanins gallique et terpène est présent en quantité importante.

R2 : Le criblage qui réalisé sur la plante est présent en moyen quantité.

Nous remarquons que la plante traité par extraits de racines de réglisse avec concentration (5g / 1L) est les plus riches alcaloïdes, flavonoïdes, tanins cachectiques, tanins gallique et terpène.

nos résultats indiquant que l'extrait de réglisse augmente le taux de croissance des légumes, ce qui a contribué à l'accumulation d'une grande quantité de nutriments qui aident à augmenter le poids sec et la proportion de solides qui fondent (Elabdali, 2002 ;Elsahaf et Elmarssoumi, 2001).

L'extrait de réglisse joue un rôle similaire à gibbérelline en termes de son effet physiologique dans la stimulation de la croissance des plantes (Mahmoud et ElKhalifaoui, 2013 ;Eljabouri et *al.*, 2006) .

4.2. Rendement d'extraction

Pour l'obtention des différents extraits à partir de poudre de la partie aérienne sur la plante luzerne (*médicago sativa* L.) nous avons réalisé une extraction par macération (Falleh *et al.*, 2008). Le rendement d'extrait aqueux a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, sont obtenus à partir de poids sec d'extrait.

Tableau 7. Résultats des couleurs des extraits dans la plantes de luzerne.

Les plantes	S (témoin)	SG1	SG2	SR1	SR2
Couleur des extraits	Marron claire	Marron	Marron	Marron foncé	Marron clair

Après la méthode d'extraction nous avons remarqué une nette différence dans la couleur des extrait depuis la luzerne traitée avec l'eau distillée est d'une couleur marron claire, par rapport à la luzerne traitée avec gibbérelline (50 mg / 1L et 100 mg / 1L) et la plante traitée avec l'extrait de racine de réglisse (10 g / 1L) d'une couleur maronne.

L'extrait de la luzerne traitée avec l'extrait de racine de réglisse SR1 (5 g / 1L) d'une couleur maronne foncée.

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux de la famille des polyphénols qui sont responsable de la couleur variée des fleurs et des fruits.

Et de notre étude et des observations des différentes couleurs, nous pouvons attribuer la cause de différente couleur aux différentes quantités des flavonoïdes et polyphénols dans la plante, c'est-à-dire plus la quantité de flavonoïdes et polyphénols élevée, plus la couleur de l'extrait pour les autres extraits n'est plus marron foncée. Alors en peut dire que l'extraits de la plante traité par racine de réglisse SR1 (5 g / 1L) est la plus riche en flavonoïdes et polyphénols (Amallesh *et al.*, 2011)..

Tableau 8. Rendement (%) obtenu de l'extrait aqueux.

Les plantes	Masse de la plante sèche (g)	Masse d'extrait en (g)	Rendement (%)
S (témoin)	10	1,2	12
SG1	10	1,4	14
SG2	10	1,3	13
SR1	10	1,5	15
SR2	10	1,4	14

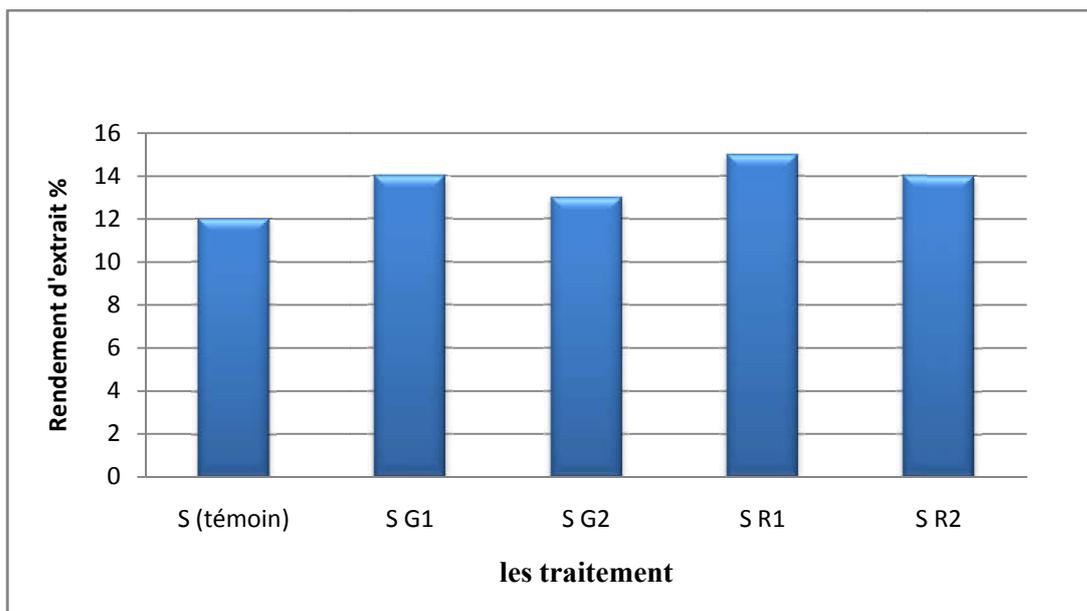


Figure 9. Les rendements des extraits aqueux de la plante luzerne (*Medicago sativa* L.).

Les résultats présentés dans la (Fig.9) montrent que le rendement de l'extrait SR1 (traitée avec de l'extrait de racine de réglisse 5g/1L) présente la plus grande valeur (15%) suivie par l'extrait SG1 (traitée avec de Gibbérelline 50mg /1L) et SR2 (traitée avec de l'extrait de racine de réglisse 10g/1L) avec un rendement de (14%), puis l'extrait SG2 (traitée avec de Gibbérelline 50mg /1L) avec un rendement de (13%). Le rendement d'extrait du S (traitée avec de l'eau distillée témoin) qui a été trouvé était inférieur (12%).

La différence de rendement entre les extraits est probablement due aux plusieurs facteurs, tels que les propriétés génétiques, le contenu chimique de chaque extrait, ainsi que l'effet de l'origine géographique de la plante (climat et sol), la saison de la récolte, la durée et les conditions de stockage. En plus de la méthode d'extraction, le système solvant utilisé est l'un des facteurs qui influencent le rendement d'extraction et même la qualité de l'extrait (Zaaror, 2012).

4.3. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

Ce chapitre collecte tous nos résultats obtenues au cours de notre travail dans l'axe d'avoir l'influence de traité La plante de Luzerne par une phytohormone, Les gibbérellines et par l'extrait des racines de réglisse sur la teneur de polyphénols et flavonoïde.

4.3.1. Teneurs en Polyphénols totaux

La détermination de la teneur des poly phénols totaux dans les différents extraits aqueux a été déterminée par la méthode décrit par (Djeridane *et al.*, 2006) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

Tableau 9. Résultats du dosage des polyphénols (mg EAG/g d'extrait sec).

Les extraits	Polyphénols mg EAG/gd'extrait
S	120,75 ± 4,45
SG1	127,43 ± 3,95
SG2	126,99 ± 2,29
SR1	147,78 ± 0,94
SR2	133,17 ± 2,64

4.3.2. Teneurs en flavonoïdes totaux

D'autre part, Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Bahorun *et al.*,1996) où le quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été dans une longueur d'onde de 440 nm. La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait sec).

Tableau 10. Résultats du dosage des flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait sec).

Les extraits	Flavonoïdes mg EAG/gd'extrait
S	46,877±1,365
SG1	59, 630 ± 3,003
SG2	48, 737 ± 0,399
SR1	64,667 ± 1,002
SR2	53,410 ±1,291

L'ensemble des résultats obtenues sont présentées dans la figure ce dessous (Fig.10).

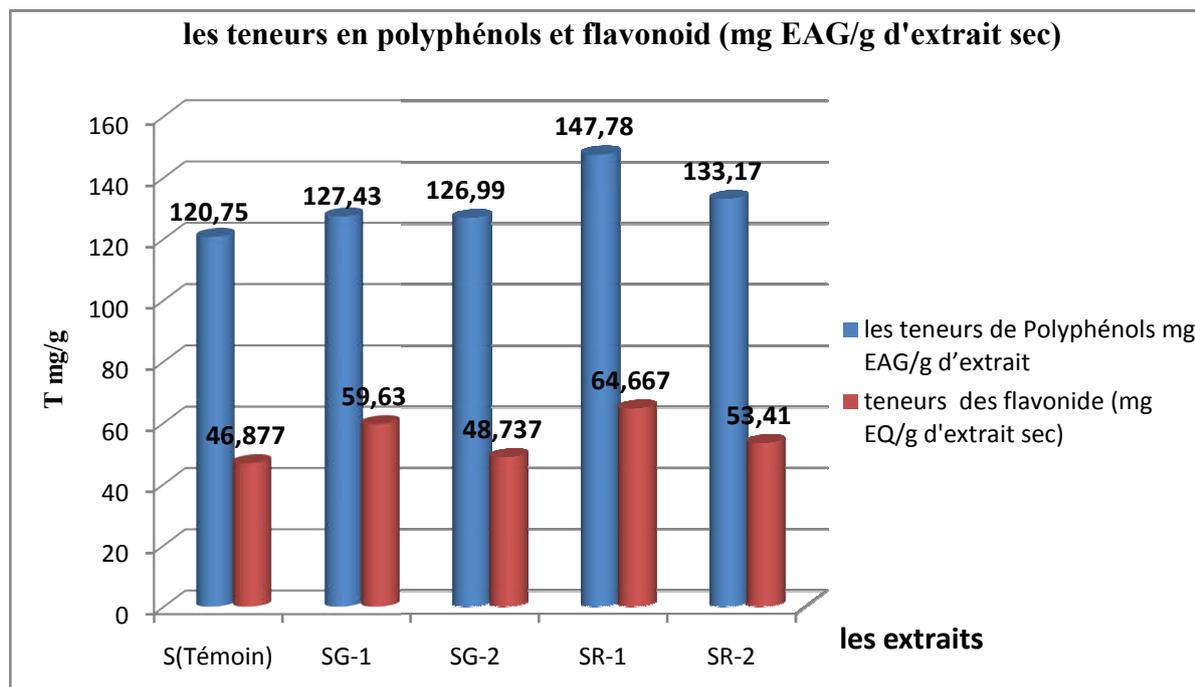


Figure 10. Les teneurs totales des polyphénols et flavonoïdes de différents extraits de Luzerne traité par gibbérelline et l'extraits des racines de réglisse.

D'après cette figure, les teneurs les plus élevés sont enregistré dans l'extrait de Luzerne traitée par l'extrait de racine de réglisse (5g/L) avec $147,78 \pm 0,94$ (mg EAG/g d'extrait sec) et $64,667 \pm 1,002$ (mg EQ/g d'extrait sec) pour les polyphénols et les flavonoids recepectivement. En effet, la plus faible concentration est enregistrée chez l'extrait de Luzerne non traité (témoin). D'autre part les extraits de luzerne traitée par gibbérelline de 50 et 100 mg/L marquent des teneurs raisonnablement faible par rapport les extraits des plantes traités par l'extraits des racines de réglisse par les deux concentrations (5g/L et 10g/L). En comparaison, les teneurs obtenues d'après les extraits traités par gibbérelline à 50mg/L et 100mg/L, les meilleures concentrations de polyphénols et flavonoïdes sont marquées l'extrait des racines de réglisse en 5g/L de gibbérelline que celles de 100 mg/L. Sachs et Hackett (1969,1977) affirmant que l'effet de l'acide gibbérellique sur les plants peut être favorable ou défavorable suivant les espèces et les doses utilisées.

Concernant les valeurs issues de traitement de luzerne par l'extrait des racines de réglisse, les concentrations les plus élevées de polyphénols et flavonoïdes sont de l'extrait à 5g/L avec 147,78% et 64,667% respectivement.

D'autre part, (Maudu, M. E. et *al.*, 2011) dans leur étude réalisée sur le thé de brousse (*Athrixia phylicoides* DC) dans l'objectif d'étudier les effets des gibbérellines sur la germination des boutures de thé de brousse et leur qualité ont réalisé un traitement consistant en des gibbérellines (Progibb 40%) appliquées à divers taux comme suit : 0, 1, 2, 3 et 4 %. Les résultats de cette étude sont en désaccord avec nos résultats, ils ont montré une réponse favorable de la croissance où les meilleures concentrations de polyphénols ont été enregistrées à des taux d'application de 0% de gibbérelline, par contre la plus basse concentration en polyphénols à un taux d'application à 3% de gibbérelline.

Des études récentes ont montré l'utilisation d'extraits de plantes pour préserver l'environnement, Et comme alternatives aux régulateurs de croissance industriels et aux engrais chimiques car ce sont des matériaux naturels (Sabry et *al.*, 2009). Il a mentionné (Ghaloum et Frajh, 2012) La pulvérisation foliaire de feuilles d'oignon avec de l'extrait de réglisse (5g/L) a contribué à obtenir une augmentation de la hauteur de la plante et du poids moyen du bulbe.

Selon (Saadan et *al.*, 2004) lors de la pulvérisation de plants de tomates avec de l'extrait de réglisse a montré une augmentation du pourcentage de solides solubles totaux dans les fruits.

D'après (Hocin et Rokabi, 2006) a indiqué que la pulvérisation de plants de concombre avec de l'extrait de réglisse (5g/L) à raison de deux pulvérisations, la première à la floraison et la seconde deux semaines après la première, a entraîné une augmentation de la surface foliaire et de la teneur en feuilles, et l'augmentation du pigment chlorophyllien à la présence de nutriments entrant dans la composition de l'extrait de réglisse, notamment les éléments azotés, Magnésium et fer, qui entrent dans la composition de la molécule de chlorophylle, et augmentent ainsi l'efficacité du processus de photosynthèse et augmentent la fabrication des nutriments et leur transfert vers des lieux de stockage dans la graine et cela correspond à (Reeta et Bhatnagar, 2011 ;Ghaloum et Farajh, 2012).

Brièvement, nos résultats démontrant que le traitement hormonal par gibbérelline et les extraits de réglisse a réussi d'augmenter le taux des métabolites secondaires dans les extraits de Luzerne. Par conséquent ces attributs chimiques sous forme de polyphénols totaux et flavonoïdes avaient la tendance à diminuer avec l'augmentation du taux d'application de gibbérelline (Maudu, M. E. et al., 2011) le même effet pour l'application d'extrait des racines de réglisse.

4.4. Analyse de corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et les polyphénols

D'après nos résultats obtenus, en arrivant à confirmer l'ensemble des hypothèses qui signalent une coordination entre les polyphénols et les flavonoïdes, cette coordination est représentée dans le diagramme suivant.

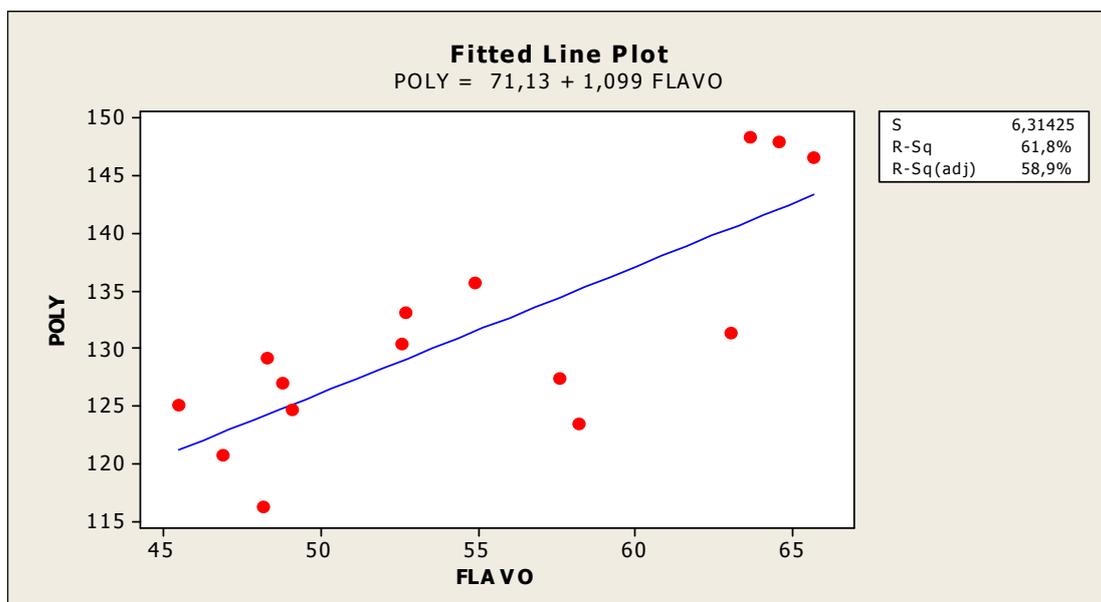


Figure 11. Graphique de la régression représentant des polyphénols et flavonoïdes de différents extraits de Luzerne traité par gibbérelline et l'extrait des racines de réglisse.

Le dosage de polyphénol et flavonoïdes existant dans les extraits de luzerne traité par différentes doses de gibbérelline et les racines de réglisse nous permet de mettre en évidence une corrélation modérément positive entre la teneur des extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes. Ceci explique l'augmentation des concentrations de polyphénols et des flavonoïdes en parallèle.

Conclusion

Conclusion

La présente étude, à caractère biochimique, s'intéresse à la partie arienne de la plante de luzerne (*Medicago sativa* L.) dans la région de Biskra (Elhajeb). Afin de caractériser cette plante, une analyse qualitative a été réalisée par les tests phytochimiques, deux paramètres biochimiques ont été étudiés : polyphénols et flavonoïdes totaux. Ces métabolites secondaires ont été extraits par la méthode de macération aqueuse.

L'analyse qualitative par les tests phytochimiques a montré la présence de certains composés bioactifs : tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, tanins, et terpènes dans les parties aériennes sur la plante de luzerne (*Medicago Sativa* L.).

La détermination des rendements en extraits a montré un rendement important chez la plante luzerne. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de SR1 (traité avec de l'extrait de racine de réglisse 5g/L) a manifesté un bon rendement avec 15 % et, alors que le rendement le plus faible a été 12% d'extrait de S (traité avec de l'eau distillé).

La quantification des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 qui nous mène à conclure que ce plante contiennent une quantité considérable de flavonoïdes et polyphénols, et que l'extrait SR1 traité avec de l'extrait de racine de réglisse 5g/L) est le plus riche, les valeurs suivantes avec $147,78 \pm 0,94$ (mg EAG/g d'extrait sec) et $64,667 \pm 1,002$ (mg EQ/g d'extrait sec) pour les teneurs polyphénols et les flavonoïdes respectivement.

Ainsi, les résultats contenus dans cette étude modeste confirment ce que d'autres études ont déclaré que l'extrait de réglisse a un effet similaire à la gibbérelline. Nous avons également noté à travers ce travail qu'une augmentation de la concentration de gibbérelline entraîne une nette augmentation de taux polyphénols et flavonoïdes, ce qui affecte positivement le rendement de la plante.

En fait, il ne faut pas s'arrêter à ces seuls résultats, mais il faut continuer les expériences sur le terrain et confirmer ou infirmer plusieurs hypothèses sur l'extrait de réglisse, notamment, l'effet de la réglisse augmente plus la réglisse est vieille, que la réglisse a un effet sur la matière active de la plante.

Références bibliographiques

A

1. Amalesh S., Gouranga D.E., SANJOY K.D. 2011. Roles of flavonoïds in plants. In *T J Pharm Sci Tech*, 6-12.
2. Anonyme. 1995. Plan directeur d'aménagement d'urbaine (commune d'EL Hadjeb). URBA, p.113.

B

3. Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. and Pinkas M. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. (46) : 1086-1089
4. Blumenthal M, Goldberg A et Brinckmann J. 2000. Herbal Medicine, Expanded Commission E Monographs, 1ère éd., Integrative Medicine Communications, USA, 233-5.
5. Boudjouefm M. 2011. Etude de l'activité antioxydant et antimicrobien d'extraits d'artémisia campatrist. L'obtention du diplôme de magistère, université Ferhat Abbas, Stif, 2.3.9p.
6. Bouquet A. 1972. Plante médicinale de Congo Brazzaville Ed : O.R.S.T.O.M., PP. 76-78.
7. Brielmann, H.L., Setzer, W.N., Kaufman, P.B., Kirakosyan, A., Cseke LJ, P., 2006. The chemical components of plants. *Nat. Prod. Plants* 1–50.
8. Bruneton J. 1999. Pharmacognosie et Phytochimie, Plantes médicinales, 3^e édition. Lavoisier.
9. Bruneton J. 2009. Pharmacognosie et Phytochimie, plantes médicinales. 4^e édition. Paris : Edition Tec & Doc. Edition médicales internationales, p.3 et 1292.

C

10. Chaabena, A. et Abdelguerfi, A. (1999), de 08 au 10-11-1999. Résumé de séminaire, Qu'en est-il de la production fourragère dans l'agriculture saharienne. Centre universitaire d'Ouargla. 1p.
11. Charonnat C et Deblay S. 1997. Croissance et développement des plantes

cultivées, 2^e, Educagri éditions. PP : 24.

12. Childers W.R., 2008. Encyclopédie Canadienne ([http://www. The Canadian encyclopedia.com](http://www.TheCanadianencyclopedia.com)).
- Mauriès M., 2003. Luzerne, culture, récolte, conservation, utilisation. Edition France agricole.
13. Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N.G. 2000. Natural products secondary metabolites. Eds, Biochemistry and Molecular Biology Plant. American Society of Plant Physiologists, Rockville, 11D, Crystallinum, Australian National Herbarium, pp. 10-1318.
14. Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H., 2008. Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human diet. John Wiley & Sons.

D

15. Dangles O., Stoeckel C., Wigand MC. Brouillard R. 1992. Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. Tetrahedron Lett. 33: 5227-30.
16. Dinelli G., Bonetti A., Minelli M., Marotti I., Catizone P. et Mazzanti A., 2006. Content of flavonols in italian bean (*Phaseolus vulgaris L.*) ecotypes. *Food Chemistry* (99):105-114.
17. Djeridane A., Yousfi M., Ndjemi B., Boutassouna D., Stocker P., and Vidal N. 2006. Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food chemistry* 97: 654-660.
18. Dohou N., Yamni K., Tahrouch S. 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bullin de la société de pharmacie*, 142:61-78.
19. Douglas JA, Douglas MH, Lauren DR, Martin RJ, Deo B, Follett JM et Jensen DJ. 2004. Effet de la densité de la plante et de la profondeur de récolte sur la production et la qualité de la racine de réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) récoltée sur 3 ans, NZJC, 32, 363 - 73.
20. Dubost D. 2002. Mutation agricole dans les oasis algériennes: l'exemple des Ziban in cahier sécheresse, spécial oasis vol.9, N° 2.

E

21. El-Haci. I. A. 2015. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. Et Dur., *Anabasis aretioides* Moq. Et Coss. Et *Limnium feei* (Girard) Batt. Thèse de doctorat, Université abou-bekr-belkaid tlemcen, 188p.
22. Elbili R. 2015. Effet de la pulvérisation foliaire d'extrait de racine de réglisse et d'acide gibbérellique sur la croissance des plants d'oignons dans des conditions de stress hydrique

F

23. Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies* 331: 372-379.

G

24. Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A., 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and Vegetable samples. *Molecules* (15): 8813-8826.

H

25. Hanson, J.R., 2003. Natural products: the secondary metabolites. Royal Society of Chemistry.
26. Hayashi H, Hiraoka N, Ikeshiro Y, Yammamoto H et Yoshikawa T, Variation saisonnière des glycosides de *glycyrrhizine* et d'isoliquiritigénine dans la racine de *Glycyrrhiza glabra* L., *Bulletin biologique et pharmaceutique*, 21 (9), 1998, 987-9.
27. Hedden, P. Sponsel, V. Un siècle de recherche sur la gibbérelline. *J. Plant Growth Regul.* 2015, 34, 740–760.
28. Heller R., Esnault R and Lance C., 2000 : *Physiologie végétale* (tome 2.développement). Dunod 6^e édition : paris. PP : 64-183.
29. Hooley R. 1994. Gibberellins: perception, transduction et réponses. *Biologie moléculaire végétale* 26, 1529–1555.

30. Hopkins W.G., 2003 : Physiologie végétale. 2^e. Boeck. : Paris. PP : 335-362.

I

31. Jiang Y, Lu TH et Chen F, 2004. Purification préparative de la *glycyrrhizine* extraite de la racine de réglisse en utilisant une chromatographie à contre-courant à grande vitesse, J. Chromatogr., 1033, 183-6.

J

32. Kansole M.M.R. 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposstavahl* et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

K

33. Lafon J. P., THARAUD-PRAYER C et LEVY G., 1988 : Biologie des plantes cultivées. Tome 1-organisation physiologie de la nutrition. Ed. Technique et documentation. PP : 11-35.
34. Létard J-C., Canard J-M., Costil V., Dalbiès P., Grunberg B., Lapuelle J. (2015). Phytothérapie - Principes généraux. *J. Hegel. Vol.5.* pp. 29-35

L

35. Masser M. 1996. Le secteur phoenicole algérien : situation et perspectives à l'horizon 2010. Option Méditerranéennes : séries A. Séminaires Méditerranéennes, n 28. Zaragoza. Ed. ciheam/station de recherche phoenix, Zaragoza, 260 p.
36. Mauriès M., 1994. La luzerne aujourd'hui : vaches laitières, vaches allaitantes, brebis, chevaux, chèvres. Ed. France Agricole. Paris 254p.
37. Mohammed Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques parties de région de Telemcen, l'obtention du diplôme de magistère, université Abou Baker Belkhaire, Telemcen, 43.49 p.
38. Morot-Gaudry G.F et Prat R., 2009. Biologie végétale (croissance et développement). Dunod 2^e édition : Paris. PP : 7-17.

39. Mpho Edwin Maudu, Fhatuwani Nixwell Mudau et Irvine Kwaramba Mariga, 2011. The effect of gibberellins on sprouting of cuttings and quality of bush tea (*Athrixia phycoides* DC). *African Journal of Biotechnology*, 10(44): 8741-6745.

M

40. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD.1996. Médicaments à base de plantes: un guide pour les professionnels de la santé. Londres, Royaume-Uni: The Pharmaceutical Press; 183-186.

N

41. Okmu D.E. 2005. Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants .*International Journal of Molecular Advance Sciences*.1(14): 375-381.
42. Ong ES et Len SM .2003. Extraction à l'eau chaude sous pression de la berbérine et de la baicaleine et de la *glycyrrhizine* dans les plantes médicinales, *Analytica Chimica Acta*, 482,, 81 - 9.
43. Ozenda P. 1991. Flore et végétation du Sahara (3eme édition mise à jour et augmentée) Paris, Edition du CNRS, 662 p.

O

44. Paquin R., 1961. Effet de l'acide gibbérellique sur la flétrissure fus arienne des tomates et la forme des fruits. *Ed. Plant Science*, 42, 259-261.
45. Petit A. C. 2011. Toxicité et utilisation de quelques fabaceae alimentaires et médicinales. Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie, Université Henri Poincaré – Nancy1, France, 2011 p.

P

46. Quezel, P. et Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Ed. CNRS. Paris. 566 p.

Q

47. Ramade F. 2003. Eléments d'écologie, écologie fondamentale. Ed .Dunod, Paris, 690 p

48. Raven P.H., Evert R.F et Eichhorn S.E., 2000 : Biologie végétale. Boeck. 6^e édition. Paris. PP : 672-700.
49. Ribéreau G. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod Paris, 254 p
50. Ribéreau Gayon P. 1982. Notions générales sur les composés phénoliques, méthodes générales d'études des composés phénoliques. In composés des végétaux. Edition: Dunod, Paris, pp. 173-201.
51. Roberts, M.F., 2013. Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications. Springer Science & Business Media.

R

52. Sabbioni C, Ferranti A, Bugamelli F, Cantelli Forti G et Augusta Raggi M , 2005. Analyse HPLC simultanée, avec élution isocratique, de la *glycyrrhizine* et de l'acide *glycyrrhétique* dans la racine de réglisse et les produits de confiserie, Analyse phytochimique, 17, 25 - 31.
53. Sachs R.M., Hackett W.P., 1969. Control of vegetative and reproductive development in seed plants, Horticultural Science, (4): 103-107.
54. Sachs R.M., Hackett W.P., 1977. Chemical control of flowering. Acta Hort., (68): 29-49.
55. Solfo R. 1973. Etude d'une plante médicinale Malgach *Baxus madagascariensis* Bail et ses variétés Ed : O.R.S.T.O.M, PP. 123-124.
56. Strack, D., Wray, V., Metzger, J.W., Grosse, W., 1992. Two anthocyanins acylated with gallic acid from the leaves of *Victoria amazonica*. Phytochemistry, The International Journal of Plant Biochemistry 31, 989-991.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80054-I](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80054-I)

S

57. Taiz L and Zriger E., 2010: Plant physiology. Ed. *Sunderland* : *Sinauer Associates*. PP : 423-559.
58. Tourte Y., Bordonneau M., Henry M et Tourte E C., 2005 : Le monde des

végétaux (Organisation, physiologie et génomique). Dunod : Paris. PP : 240-253.

T

59. Williams, C.A., Grayer, R.J., 2004. Anthocyanins and other flavonoids. Nat. Prod. Rep. 21,539–573. <https://doi.org/10.1039/B311404J>.
60. Wink, M., 1998. Chemical ecology of alkaloids, in: Alkaloids. Springer, pp. 265–300.

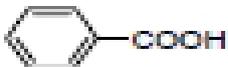
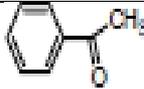
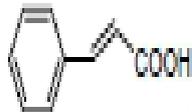
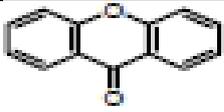
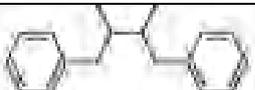
U

61. Zaaror B. 2012. Etude photochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Artéracées) et évaluation de leur activité antioxydante. Mémoire de master académique, université kasdi merbah, ouargla, 66 p.

Les annexes

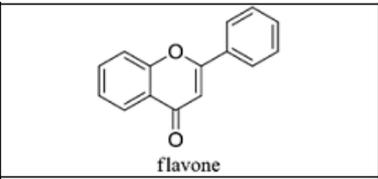
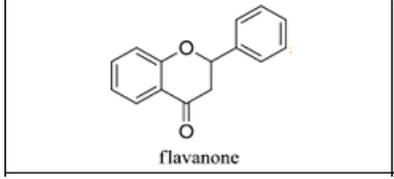
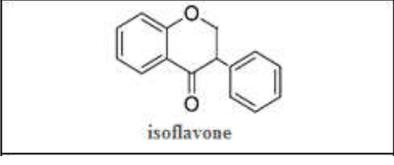
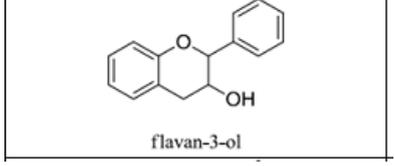
Les annexes

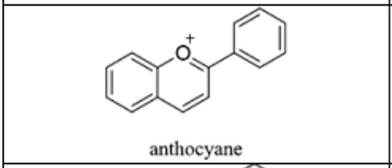
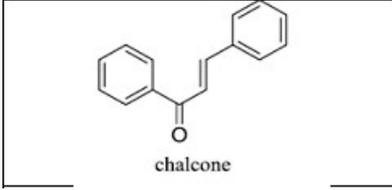
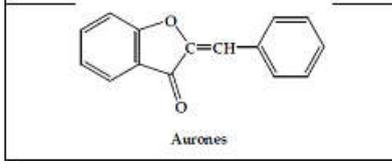
Annexe1. Classification des familles des composés phénoliques (Garcia-Salas et al., 2010).

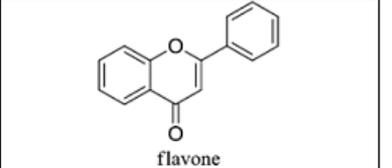
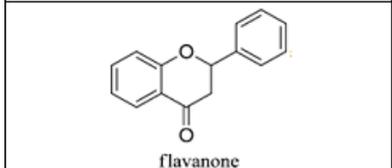
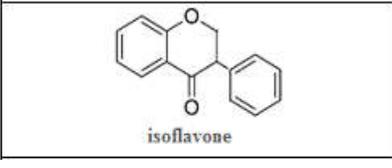
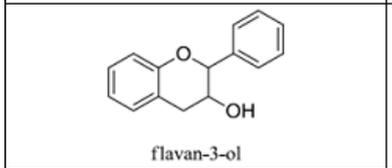
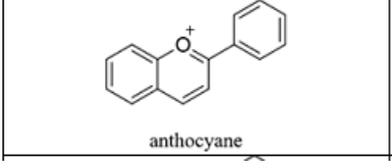
Nombre de carbone	Classe	Structure chimique	Sources
C6	Phénols simples		Céréales, abricot, banane, chou-fleur
	Benzoquinones		
C6-C1	Acide benzoïque		
C6-C2	Acétophénonnes		
	Acide phénylacétique		
C6-C3	Acide cinnamique		Carotte, tomate, céréales, aubergine
	Coumarines		Carotte, céleri, citron, persil
C6-C4	Naphthoquinones		Abricot
C6-C1-C6	Xanthones		Mangue
C6-C2-C6	Stilbènes		Raisin
	Anthraquinones		
C6-C3-C6	Flavonoïdes		Largement distribués
(C6-C3) ₂	Lignanes		Seigle, blé

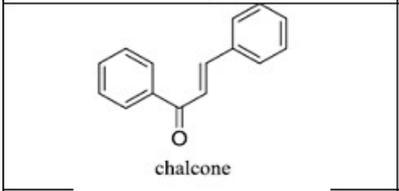
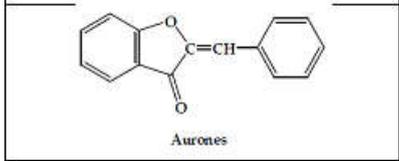
(C6-C1) _n	Tanins hydrolysables	Polymère hétérogène composé d'acides phénoliques et de sucres simples	Grenade, framboise
(C6-C3) _n	Lignines	Polymère aromatique fortement réticulé	

Annexe2. Différentes classes de flavonoïdes d'après Bruneton (2009).

Structure des différentes classes de flavonoïdes	Exemples	Substitutions 5 6 7 3' 4' 5'
 <p>flavonol</p>	<p>Kaempférol</p> <p>Quercétine</p> <p>Myricétine</p>	<p>OH H OH H OH H</p> <p>OH H OH OH OH H</p> <p>OH H OH OH OH OH</p>
 <p>flavone</p>	<p>Apigénine</p> <p>Chrysin</p> <p>Lutéoline</p>	<p>OH H OH H OH H</p> <p>OH H OH H H H</p> <p>OH H OH OH OH H</p>
 <p>flavanone</p>	<p>Hespéridine</p> <p>Naringénine</p>	<p>OH H OH OH Me H</p> <p>OH H OH H OH H</p>
 <p>isoflavone</p>	<p>Daidzéine</p> <p>Génistéine</p>	<p>OH H OH OH OH H</p> <p>OH H OH OH OH OH</p>
 <p>flavan-3-ol</p>	<p>Catéchine</p> <p>Gallocatéchine</p>	<p>H H OH H OH H</p> <p>OH H OH H OH H</p>

 <p>anthocyanine</p>	<p>Pélargonidine Cyanidine Delphinidine</p>	<p>OH H OH H OH H OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH</p>
 <p>chalcone</p>		
 <p>Aurones</p>		

 <p>flavone</p>	<p>Apigénine Chrysin Lutéoline</p>	<p>OH H OH H OH H OH H OH H HH OH H OH OH OH H</p>
 <p>flavanone</p>	<p>Hespéridine Naringénine</p>	<p>OH H OH OH OMe H OH H OH H OH H</p>
 <p>isoflavone</p>	<p>Daidézéine Génistéine</p>	<p>OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH</p>
 <p>flavan-3-ol</p>	<p>Catéchine Gallocatéchine</p>	<p>H H OH H OH H OH H OH H OH H</p>
 <p>anthocyanine</p>	<p>Pélargonidine Cyanidine Delphinidine</p>	<p>OH H OH H OH H OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH</p>

 <p style="text-align: center;">chalcone</p>		
 <p style="text-align: center;">Aurones</p>		

Annexe. Composition chimique des plantes (Létard *et al.*, 2015).

Composé	Propriétés
Phénols	Composés organiques aromatiques (acide salicylique, caféique, ester phénolique, coumarine...etc.) dont le rôle est antiseptique, antibactérien et antihelminthique.
Coumarine	Antimicrobien et antispasmodique.
Tannins	Le plus gros sous-groupe des polyphénols, astringents et asséchants.
Anthraquinolones	Entrainant une teinture jaune et aux effets laxatifs.
Flavonoïdes	Qui donnent la couleur jaune, orange et rouge aux fruits et aux fleurs. Antioxydants, ils protègent les vaisseaux et le cœur.
Terpènes	Le groupe des terpènes avec les sesquiterpènes donnent le gout amer, leur action est anti-inflammatoire et antimicrobienne. Les principes amers de façon générale stimulent aussi les sécrétions digestives, sont sédatifs et relaxants.

Huiles volatiles et fixes	Riches en acides gras saturés, mono-insaturés, poly-saturés et essentiels fondamentaux pour la croissance cellulaire (parois cellulaires).
Polysaccharides	Les polysaccharides ou grands sucres : fructose, lactose, cellulose incluant gommés, mucilages et fructosane (immunostimulant, anti-inflammatoire et anti-tumoral).

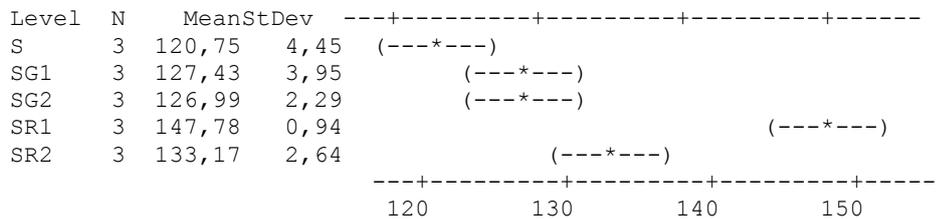
Annexe4

One-way ANOVA: POLY versus HORM

Source	DF	SS	MS	F	P
HORM	4	1259,67	314,92	32,47	0,000
Error	10	96,99	9,70		
Total	14	1356,66			

S = 3,114 R-Sq = 92,85% R-Sq(adj) = 89,99%

Individual 95% CIs For MeanBased on PooledStDev



PooledStDev = 3,11

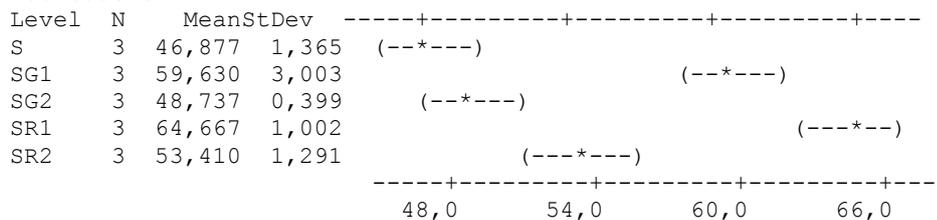
Annexe5

One-way ANOVA: FLAVO versus HORM

Source	DF	SS	MS	F	P
HORM	4	666,19	166,55	60,73	0,000
Error	10	27,42	2,74		
Total	14	693,61			

S = 1,656 R-Sq = 96,05% R-Sq(adj) = 94,46%

Individual 95% CIs For MeanBased on PooledStDev



PooledStDev = 1,656

Annexe6**ARegressionAnalysis: POLY versus FLAVO**

The regression equation is
 $POLY = 71,13 + 1,099 FLAVO$

$S = 6,31425$ $R-Sq = 61,8\%$ $R-Sq(adj) = 58,9\%$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	838,35	838,352	21,03	0,001
Error	13	518,31	39,870		
Total	14	1356,66			

Résumé

ملخص

من خلال عملنا ، تم تطبيق علاج هرموني على نبات البرسيم من اجل معرفة تأثيره على تراكيز مواد الايض الثانوي. يشمل هذا العلاج الجبرلين بتركيز 50 مجم / لتر ، 100 مجم / لتر ومستخلص جذور عرق السوس كهرمون نباتي طبيعي بجرعة 5 جم / لتر ، 10 جم / لتر. يتم استخلاص النباتات المعالجة بتقنية النقع المائي بعد دراسة نوعية مبنية على تفاعلات التلوين ، أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود أنواع معينة من مواد الايض الثانوي ، أفضل النتائج كانت في مستخلص البرسيم المعالج بجذور عرق السوس. من 5 جم / لتر ، 10 جم / لتر على التوالي ، بالإضافة إلى محتويات البولي فينول ، الفلافونويد ، والتي يتم تقديرها عن طريق التحديد اللوني باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu ، $AlCl_3$ على التوالي ، تم تسجيل أعلى المحتويات في البرسيم المطبق عن طريق مستخلص جذور عرق السوس في 5 غ / لتر مع 147.78 ± 0.94 (مغ EAG / غ من المستخلص الجاف) و 64.667 ± 1.002 (مغ EQ / غ من المستخلص الجاف) للبوليفينول واتباع مركبات الفلافونويد عن طريق معالجة 10 غ / لتر من مستخلص جذر عرق السوس ، يزيد استخدام مستخلصات الجذر بشكل ثانوي مستويات مواد الايض الثانوي أفضل من الجبرلين. أظهرت كل هذه النتائج تأثير علاجات الجبرلين والجذر على مواد الايض الثانوي ، كما كشفت عن وجود علاقة إيجابية متوسطة بين محتوى المستخلصات في المركبات الفينولية وفي مركبات الفلافونويد

الكلمات المفتاحية: (*Medicago sativa* L.)، الجبرلين ، جذور عرق السوس ، البولي فينول ، الفلافونويد ، الارتباط

Résumé :

A travers notre travail, un traitement hormonal a été appliqué sur la plante de Luzerne dans le but de connaitre leur effet sur les concentrations des métabolites secondaires. Ce traitement comporte la gibbérelline de concentration 50mg/L, 100mg/L et l'extrait des racines de réglisse comme une phytohormone naturelle de dose 5g/L, 10g/L. L'extraction des plantes traitées est faite par la technique de macération aqueuse suivant par une étude qualitative basées sur des réactions de colorations, le criblage phytochimique a révélé la présence de certains types de métabolites secondaires, les meilleurs résultats sont marqués dans l'extrait de luzerne traité par les racines de réglisse de 5g/L, 10g/L respectivement, ainsi que Les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, qui sont estimées par dosage colorimétrique avec le réactif de Folin- Ciocalteu, $AlCl_3$ successivement, les teneurs le plus élevé sont enregistrées dans luzerne appliqué par l'extrait des racines de réglisse à 5g/L avec $147,78 \pm 0,94$ (mg EAG/g d'extrait sec) et $64,667 \pm 1,002$ (mg EQ/g d'extrait sec) pour les polyphénols et les flavonoïdes suivant par le traitement de 10g/L de l'extrait des racines de réglisse, l'application des extraits des racines augmente les teneurs des métabolite secondaire mieux que la gibbérelline. Tous ces résultats ont mis en évidence l'effet de traitements des racines et gibbérelline sur les métabolites secondaire, de plus révélé la présence d'une corrélation modérément positive entre la teneur des extraits en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Les mots clés : Luzerne (*Medicago sativa* L.), la gibbérelline, les racines de réglisse, polyphénols, flavonoïdes, corrélation

Abstract:

Through our work, hormonal treatment was applied to the Alfalfa plant in order to know their effect on the concentrations of secondary metabolites. This treatment includes gibberellin at a concentration of 50mg / L, 100mg / L and extract of liquorice roots as a natural phytohormone at a dose of 5g / L, 10g / L. The extraction of the treated plants is performed by the technique of aqueous maceration following by a qualitative study based on colorations reactions, phytochemical screening revealed the presence of certain types of secondary metabolites, the best results are marked in the extract of Alfalfa treated with liquorice roots of 5g / L, 10g / L respectively, as well as The contents of polyphenols, flavonoids, which are estimated by colorimetric determination with the Folin-Ciocalteu reagent, $AlCl_3$ successively, the highest contents are recorded in alfalfa applied by extract of liquorice roots at 5g / L with 147.78 ± 0.94 (mg EAG / g of dry extract) and 64.667 ± 1.002 (mg EQ / g of dry extract) for polyphenols and following flavonoids by processing 10g / L of licorice root extract, application of root extracts increases secondary metabolite levels better than gibberellin. All these results demonstrated the effect of root and gibberellin treatments on secondary metabolites, furthermore revealed the presence of a moderately positive correlation between the content of the extracts in phenolic compounds and in flavonoids..

Keywords: Alfalfa (*Medicago sativa* L.), gibberellin, licorice roots, polyphenols, flavonoids, correlation