



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERY – Tizi -Ouzou

Faculté des Sciences Biologique et Des sciences Agronomique

Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire de Master

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Contribution biotechnologique à l'évaluation saisonnière des teneurs en Métabolites secondaires dans un extrait racinaire de « *Quercus suber L.* » dans la population de Ait Hemad , Wilaya de Tizi – Ouzou (Kabylie).

Réalisé par :

SAKER Yasmine

SAHOUANE Akila

Le jury :

Président : Mme AICHE IRATNI GH.

M.C.B

UMMTO

Promotrice : Mme MESTAR GUECHAOUI N.

M.C. B.

UMMTO

Co-promotrice : Mlle HOCEINI M. DOCTORANTE

UIK

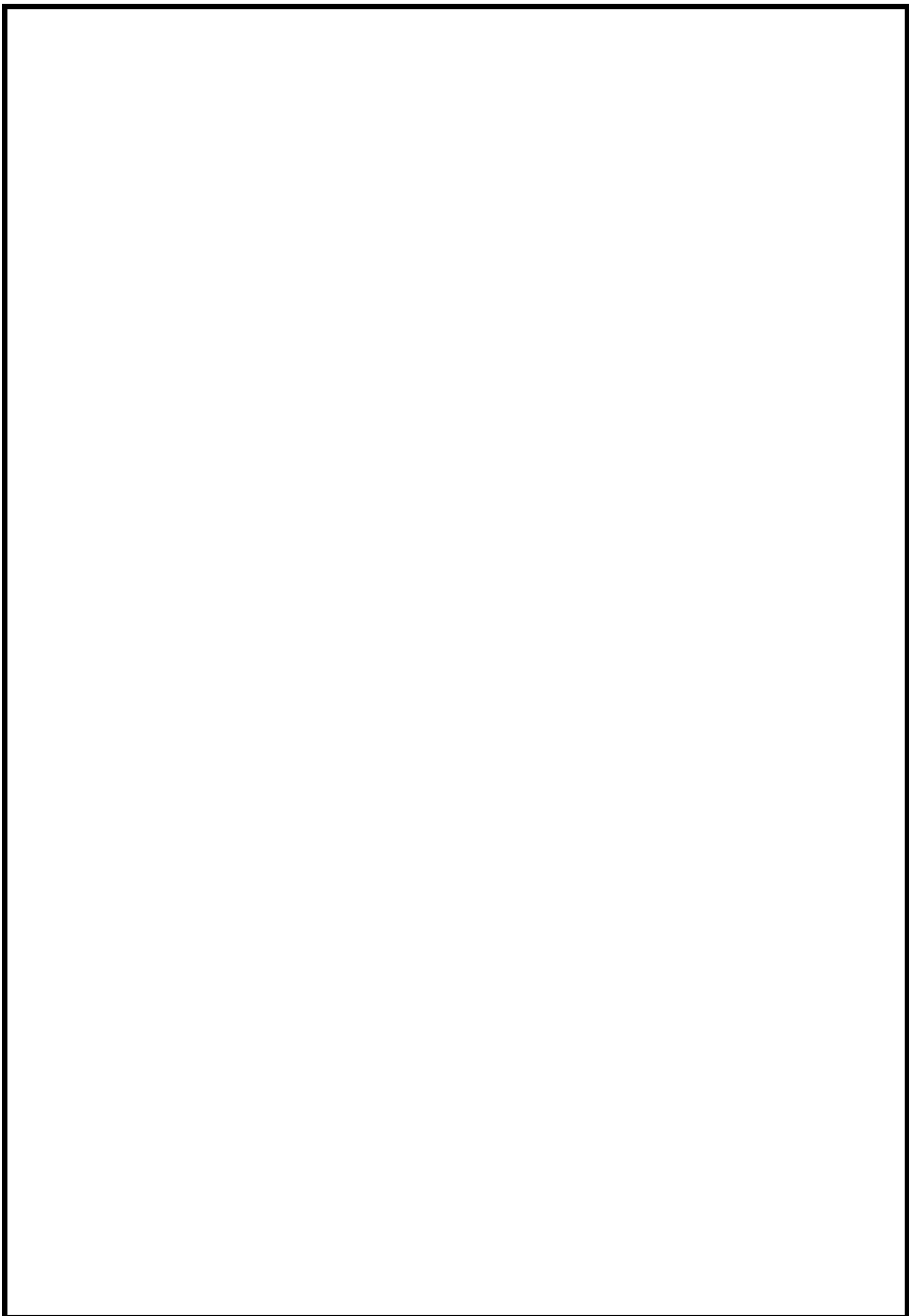
Tiaret

Examineur : Melle ZAREB A.

M.A.A

UMMTO

Promotion : 2020-2021



Remerciements :

Au terme de ce mémoire, nous tenons à remercier toutes les personnes ayant contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail,

Dans un premier lieu nous tenons à rendre hommage à la défunte Mme **BOUDIAF NAIT KACIM**, qui nous a accueillie dans son laboratoire et transmis son savoir. Nous la remercions pour ses précieux conseils et pour tous les bons moments qu'elle a partagé avec nous.

Puisse dieu le tout puissant et miséricordieux accorder à la défunte sa sainte miséricorde et l'accueillir en son vaste paradis.

Nous remercions notre promotrice Mme **MESTAR GUECHAOUI N.** d'avoir encadré et suivi la réalisation de ce travail par sa disponibilité et ses judicieux conseils.

Nous exprimons nos remerciements pour notre Co-promotrice Mme **HOUCIENI M.** pour ses encouragements, son aide et son orientation.

Nous remercions Mme **AICHE IRATNI GH.** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre mémoire.

Nous remercions également Mme **ZAREB A.** d'avoir accepté d'examiner notre travail et pour qui nous avons beaucoup de respect et de considération.

Nous exprimons nos remerciements au professeur **SMAIL SAADOUN N.** de nous avoir accueillies dans son laboratoire de recherche pour accomplir notre pratique.

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents « Hamid » et « Houria » pour leur soutien, leur patience, leur encouragement, et leur amour.

A mes sœurs « Celia » et « Kamelia » et mon frère « Tarik ».

A ma famille maternelle et paternelle.

A tous mes ami(e)s et mes camarades du laboratoire Biotechnologie et valorisation des plantes.

A notre promo et toutes les personnes qui m'aiment.

A ma sœur ma binôme et meilleure amie « Yasmine » avec qui j'ai passé mes meilleures années d'université.

Ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Akila.

Je dédie ce modeste travail,

A celle qui a toujours cru en moi, qui m'a soutenu dans tout ce que je fais, à ma source de force et de motivation, ma maman. A celui qui a vécu dans la misère et l'endurance, mais qui a tout fait pour que je ne manque de rien, mon cher papa. Quoi que je fasse ou que je dise je ne saurais point vous remercier comme il se doit, j'espère juste vous rendre encore plus fière que vous l'êtes déjà.

A mes chers frères et sœurs.

A mon binôme, ma sœur du cœur « Akila » qui était là pour moi dans les bons et les mauvais moments ; sans toi mes années d'université ne seront pas pareilles.

A mes meilleurs amis.

A mes amis du laboratoire biotechnologie et valorisation des plantes.

A un être cher à mes yeux qui est parti rejoindre les cieux, Mme BOUDIAF NAIT KACI Malika. Vous étiez, vous êtes et vous serez toujours mon exemple dans la vie, que votre âme repose en paix. Je ne vous oublierai jamais.

Yasmine.

Liste des figures

Figure 1. Racine de <i>Quercus suber</i> L. (Saker et Sahouane, 2021).....	3
Figure 2. Tronc de <i>Quercus suber</i> L. (Saker et Sahouane, 2021).	4
Figure 3. Feuilles de <i>Quercus suber</i> L. (Saker et Sahouane, 2021).....	5
Figure 4. Les chatons de <i>Quercus suber</i> L. (Saker et Sahouane, 2021).....	6
Figure05. Glands de <i>Quercus suber</i> L. (Saker et Sahouane, 2021).	7
Figure 06. Air de répartition du chêne liège en Algérie (Silva et Catry,2006).	9
Figure 07. Principaux systèmes antioxydants (Bunaciu et <i>al.</i> ,2012) modifiée.	13
Figure 08. Classification des polyphénols (Harborne,1980).	15
Figure 09. Structure chimique de l'acide hydroxybenzoïque (Teissedre et <i>al.</i> ,1996).	16
Figure 10. Structure chimique de l'acide hydrocinnamique (Teissedre et <i>al.</i> ,1996).....	16
Figure 11. Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (chaouche, 2014).....	17
Figure 12. Structure de base des flavonoïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).....	19
Figure 13. Structure des principaux groupes des flavonoïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).	19
Figure 14. Localisation de la zone d'étude (Google earth,2021).	22
Figure 15. (a, b, c, d, e et f) Méthode d'échantillonnage des racines de <i>Q.suber</i> L.....	28
Figure 16. (a et b)Nettoyage et séchage des racines de <i>Q.suber</i> L.....	28
Figure 17. (a et b)Broyage des échantillons.	29

Figure 18. (a, b, c, d, e, et f)Préparation des extraits.....	30
Figure 19. Dosage des polyphénols totaux.....	31
Figure 20. Dosage des flavonoïdes.....	32
Figure 21. Variations saisonnières des teneurs en polyphénols totaux (mg/g).	33
Figure 22. Variations saisonnières des teneurs en flavonoïdes totaux (mg/g).	33

Liste des tableaux

Tableau I: Répartition mondiale de la subéraie (Silva et Catry,2006).....	8
Tableau II. Situation géographique de la zone d'étude.	23
Tableau III. Principales espèces en contact avec <i>Quercus suber</i> L.	25
Tableau V. Tableau des espèces comparées.....	37

Liste des abréviations.

ADN : Acide désoxyribonucléique

EAG : Equivalant acide gallique

EQ : Equivalent quercétine

ERO :Espèces réactives d'oxygène

PPT :Polyphénols totaux

PSII :Photosystème II

PV :Poudre végétale

ROS :Reactiveoxygenspecies

RS :Résidu sec

UV :Ultraviolet

Sommaire

Sommaire	page
Introduction.....	1
CHAPITRE I. Synthèse Bibliographique	
I. Généralités sur <i>Quercus suber</i> L.	2
I.1. Historique	2
I.2. Présentation de l'espèce étudiée.....	2
I.2.1. Systématique de <i>Quercus suber</i> L.	2
I.2.2. Caractéristiques botaniques	2
I.2.2.1. Système racinaire	3
I.2.2.2. Ecorce	4
I.2.2.3. Feuilles	5
I.2.2.4. Fleur	6
I.2.2.5. Fruit	7
I.2.3. Exigences écologiques.....	7
I.3. Aire de répartition	8
I.3.1. Dans le monde	8
I.3.2. En Algérie.....	8
I.4. Importance et usages de <i>Quercus suber</i> L.	9
II. Facteurs responsables du stress chez les végétaux.....	10
II.1. Facteurs abiotiques.....	10
II.1.1 Salinité des sols	10
II.1.2 Froid.....	10
II.1.3 Sècheresse	11
II.1.4 Edaphique.....	11
II.2. Facteurs biotiques	11
III. Stress oxydatif et les Métabolites secondaires.....	11
III.1. Introduction	11
III.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et Radicaux libres	12
III.1.2. Définition d'un antioxydant.....	13
III.2. Métabolites secondaires.....	14
III.2.1. Les composés phénoliques (polyphénols)	14
III.2.1. 1. Classification des composés phénoliques.....	14
III.2.1.1.1. Les acides phénoliques	15
a. Les acides hydroxybenzoïques	15
b. Les acides hydroxycinnamiques	16
III.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques.....	16
a. Voie de l'acide shikimique	17

b. Voie de l'acétate-malonate.....	18
III.2.3. Rôles et activités biologiques des composés phénoliques.....	18
III.2.4. Les flavonoïdes	18
III.2.4.1. Rôles des flavonoïdes.....	19

Chapitre II. Matériels et méthodes

I. Présentation de la zone d'étude	22
I.1. Situation géographique.....	22
I.2. Description du site.....	23
II. Echantillonnage des racines	26
III. Partie expérimentale.....	29
III.1. Préparation des extraits.....	29
III.2. Dosages.....	31
III.2.1. Détermination des phénols totaux.....	31
III.2.2. Détermination des flavonoïdes totaux.....	31
IV. Analyses statistiques	32

CHAPITRE III. Résultats et Discussion

Résultats	33
Discussion	35
Conclusion et perspectives.....	39

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Résumé

Dans la nature, les plantes peuvent être (et sont souvent) soumises à des conditions défavorables dues à l'absence, l'insuffisance ou la prédominance d'un ou plusieurs facteurs exogènes (eau, lumière, température, substances chimiques), ces derniers liés à l'environnement sont des facteurs abiotiques, ou les attaques par des parasites (champignons) qu'on appelle les facteurs biotiques. Pour faire face à ces différents stress la plante produit des composés chimiques appelés métabolites secondaires.

Le chêne-liège (*Quercus suber* L.) est une espèce d'importance écologique et sociale, elle a également une valeur économique importante en raison de la production du liège. Compte tenu de son adaptabilité xérophytique, cette espèce développe différentes stratégies d'adaptation afin de faire face aux différents stress au quels elle pourrait être soumise.

C'est dans cette optique que le niveau (N1) est considéré pour la récolte de racines de *Quercus suber* L. Des extraits méthanoliques racinaires sont préparés pour l'évaluation de la variation saisonnière des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux.

Les résultats obtenus en mg EAG/ g RS révèlent un taux élevé de polyphénols en été. Il est de l'ordre de $1039,31 \pm 13,33$ mg EAG/ g RS comparativement à celle enregistré en hiver $672,87 \pm 21,85$ mg EAG/ g RS.

Concernant les flavonoïdes les résultats obtenus indiquent un taux plus élevé en hiver qui est de l'ordre de $6,78 \pm 0,37$ mg E Q/g RS comparativement à celle enregistré en été $1,99 \pm 0,42$ mg EQ/ g RS. Ce qui est dû à l'influence de facteurs abiotiques et biotiques sur la production des métabolites secondaires de la plante.

Mots clés : *Quercus suber* L. polyphénols totaux, flavonoïdes, stress biotique, stress abiotique, variations saisonnières, station Ait Hemad.

Abstract

In nature, plants can be (and often are) submitted to unfavorable conditions due to the absence, insufficiency or predominance of one or more exogenous factors (water, light, temperature, chemical substances), the last ones linked to the environment are abiotic factors, or parasites attacks (fungi) called biotic factors, to confront these different stresses the plant produces chemical compounds called secondary metabolites.

Cork oak (*Quercussuber* L.) is an ecologically and socially important species, which also has an important economic value due to the production of cork. Given the fact that it is xerophytic, this species develops different adaptation strategies to cope with the different stresses to which it may be subjected.

With this perspective, the level (N1) is considered for the harvesting of roots of *Quercussuber* L. Root methanolic extracts are prepared for the evaluation of the seasonal variation of total polyphenol and flavonoid contents.

The results obtained in mg EAG/ g RS reveal a higher level of TPP in summer in the order of 1039.31 ± 13.33 mg EAG/ g RS compared to that recorded in winter 672.87 ± 21.85 mg EAG/g RS.

Concerning flavonoids, the results obtained indicate a higher level in winter in the order of 6.78 ± 0.37 mg E Q/g SR compared to that recorded in summer 1.99 ± 0.42 mg EQ/ g SR. This can be attributed to the influence of abiotic and biotic factors on the production of secondary metabolites in the plant.

Key words: *Quercussuber* L. total polyphenols, flavonoids, biotic stress, abiotic stress, seasonal variations, station AitHemad.

ملخص

في الطبيعة ، النباتات يمكن (وغالبًا ما تكون) معرضة لظروف غير مناسبة بسبب غياب أو عدم كفاية أو غلبة عامل أو أكثر من العوامل الخارجية (الماء، الضوء، درجة الحرارة، المواد الكيميائية) ، وهذا الأخير مرتبط بالبيئة هم عوامل غير حيوية ، أو هجمات الطفيليات (الفطريات) التي تسمى العوامل الحيوية ، للتعامل مع هذه الضغوط المختلفة ، ينتج النبات مركبات كيميائية تسمى المستقلبات الثانوية.

بلوط الفلين (*Quercus suber* L.) هو نوع ذو أهمية بيئية واجتماعية ، وله أيضًا قيمة اقتصادية مهمة بسبب إنتاج الفلين. نظرًا لقدرتها على التكيف مع الجفاف ، يطور هذا النوع استراتيجيات تكيف مختلفة من أجل التعامل مع الضغوط المختلفة التي يمكن أن تتعرض لها.

من هذا المنظور ، تم أخذ مستوي (NI) بعين الاعتبار لحصاد جذور *Quercus suber* L. تم تحضير مستخلصات ميتانولية للجذور لتقييم التباين الموسمي لمحتويات البوليفينول والفلافونويد الكلي.

كشفت النتائج التي تم الحصول عليها في mg EAG / g RS من معدل أعلى من البوليفينول في الصيف $1039,31 \pm$ mg EAG / g RS 33.13 مقارنة بالمستويات المسجلة في الشتاء $21,85 \pm 672,87$

فيما يتعلق بمركبات الفلافونويد ، تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى معدل أعلى في الشتاء بترتيب $0,37 \pm 78,6$ mg EQ / g RS مقارنة بالمستويات المسجلة في الصيف $0,42 \pm 1,99$ هذا يرجع إلى تأثير العوامل اللاأحيائية والحيوية على إنتاج المستقلبات الثانوية للنبات.

الكلمات المفتاحية: *Quercus suber* L. ، البوليفينول الكلي ، الفلافونويد ، الإجهاد الحيوي ، الإجهاد اللاأحيائي ، التغيرات الموسمية، محطة ايت حمد.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GENERALE

Au cours de leur développement, les végétaux sont soumis à différentes contraintes environnementales, affectant leur physiologie, leur morphologie et leurs teneurs en certaines substances phytochimiques (Pintó-Marijuan,2006).

Les stress biotiques et abiotiques sont potentiellement nocifs pour les plantes et entraînent des changements qui affectent leur croissance et leur productivité. Ces derniers provoquent également la perturbation de l'homéostasie cellulaire, qui peut conduire à un stress oxydatif lorsque le niveau des espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites dépasse les mécanismes de défense. Pour faire face à ces différents stress, les plantes produisent des composés chimiques appelés « métabolites secondaires » (Sharma et *al.*, 2012 ; Krol et *al.*, 2014). Ces derniers sont des composés qui n'ont pas un rôle dans le maintien des processus vitaux des plantes, mais ils sont importants pour l'interaction entre la plante et son environnement. Parmi ces composés nous retrouvons les polyphénols et les flavonoïdes qui font partie des molécules organiques anti-oxydantes, et qui interviennent dans la protection des plantes contre l'herbivorie et les différentes attaques microbiennes et pathogènes. Ils ont également des actions protectrices en relation avec les stress abiotiques tels que les changements de température, l'exposition aux UV, et les nutriments minéraux (Kaufman et *al.*, 1999 in Briskin ,2000 ; Akula et Ravishankar, 2011).

Le chêne-liège (*Quercus suber* L.) est une espèce endémique du bassin méditerranéen occidental. Cette essence naturelle est l'une des plus remarquables et des plus précieuses formations forestières en Algérie. Les forêts de chênes sont importantes pour la conservation du sol et de la biodiversité (Chaves et *al.*, 2011 ; Rached-Kanouni et *al.*, 2012).

Q. suber est considéré comme une espèce xérophyte tolérante à la sécheresse et possédant une adaptation aux conditions estivales, mais Il est prévu que les futurs scénarios de réchauffement climatique seront particulièrement sévères dans la région méditerranéenne. Il est donc important de comprendre comment les différents facteurs biotiques et abiotiques affectent- ils le métabolisme du chêne-liège, et en particulier les composés ayant un rôle protecteur contre les stress (Chaves et *al.*, 2011 ; Daoudi et *al.*, 2016).

La sécheresse estivale est souvent identifiée comme le principal stress environnemental auquel la végétation forestière des écosystèmes méditerranéen est exposée. Cependant les basses températures de l'hiver peuvent également exercer un stress considérable sur les espèces des régions méditerranéenne (Aranda et *al.*, 2005).

Le but de notre travail est d'évaluer les variations saisonnières des teneurs en polyphénols totaux (PPT) et en flavonoïdes totaux d'un extrait méthanolique des racines de *Quercus suber* L. dans la région de Ait Hemad , Wilaya de Tizi Ouzou .

Notre travail est structuré en quatre chapitres. Nous présentons dans le premier chapitre une synthèse bibliographique de l'espèce *Quercus suber* L. ainsi qu'un aperçu général sur les métabolites secondaires et le stress oxydatif. Suivis par un second chapitre représentant la partie expérimentale, effectuée au niveau du laboratoire de recherche biotechnologie et valorisation des plantes. Le troisième chapitre est consacré à l'interprétation et la discussion des résultats, enfin une conclusion générale et des perspectives sont faites afin de clôturer notre travail.

CHAPITRE I
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur *Quercus suber* L.

I.1. Historique

Le chêne-liège (*Quercus suber* L.) est une espèce endémique de la région Méditerranéenne occidentale, poussant dans différents pays et territoires européens et africains (Toribio et al., 2005). Elle est un descendant de la flore pliocène supérieure (Quezel, 2000).

Des études palynologiques ont montré l'apparition de ce végétal au sud de l'Espagne et au niveau de l'actuelle frontière franco-espagnole entre 10 000 et 6500 ans avant JC (Bouhraoua, 2014).

Cette espèce existait en Afrique du Nord depuis six mille ans avant JC (Quezel et Medail, 2003) et elle est désignée sous les noms d'Ahlidj en iderren, Igiqi, Agout, Harnech, Aferi, Aferki ou Iferki (Bouhraoua, 2014).

I.2. Présentation de l'espèce étudiée

I.2.1. Systématique de *Quercus suber* L.

Quercus suber L. appartient au sous-genre Cerris, au genre *Quercus*, qui est l'une des plus importantes de la foresterie. Ce genre fait également partie de la famille des Fagacées (Toribio et al., 2005).

Selon la classification APG III (Chase et Reveal, 2009), le chêne liège (*Quercus suber* L.) est une essence qui appartient systématiquement au :

- **Clade :** Angiospermes
- **Clade :** Eudicotylédones
- **Clade :** Rosidées
- **Clade :** Fagidées
- **Ordre :** Fagales
- **Famille :** Fagacées
- **Genre :** *Quercus*
- **Espèce :** *Quercus suber* L.

I.2.2. Caractéristiques botaniques

Le chêne-liège est un arbre de taille variable allant de 10 à 15m en moyenne, il peut atteindre 20 à 25 m en peuplements denses, Son port varie en fonction de la densité du peuplement. Il peut vivre jusqu'à 300 ans mais les levées successives du liège, les éventuels incendies et les

conditions stationnelles, diminuent fortement cette longévité jusqu'à environ 150 à 200 ans (Gil et Varela,2008).

I.2.2.1. Système racinaire

Il est pivotant avec des ramifications latérales puissantes évoluant horizontalement d'une distance de 22 à 32 cm environ (Pereira, 2011). Il est caractérisé par de longues racines fixant l'arbre solidement même dans les sols les plus rocheux jusqu'à 20m, ce qui explique pourquoi en été le chêne-liège est capable d'extraire l'eau pour maintenir une hydratation foliaire élevée (Nardini et *al.*,1999 ; Pereira, 2011) (Figure 01).



Figure 1. Racine de *Quercus suber* L.(Saker et Sahouane, 2021).

I.2.2.2. Ecorce

Peut atteindre une épaisseur de 15cm. Vers l'extérieur, elle est composée d'un tissu compact élastique et thermiquement isolant (Touati et *al.*,2015) de cellules mortes aux, parois très imperméables (Pereira, 2011). La première récolte de liège a lieu lorsque l'arbre a environ 30 ans, puis à un intervalle de 9 à 12 ans (Silva et *al.*,2005) (Figure 02).



Figure 2. Tronc de *Quercus suber* L. (Saker et Sahouane, 2021).

I.2.2.3. Feuilles

Le chêne-liège est une espèce sclérophylle à feuillage persistant «2 à 3 ans ». Il peut perdre fortement ses feuilles après une forte glandée, à la suite des conditions atmosphériques défavorables ou après une récolte exagérée de liège (Silva et *al.*,2005 ; Petroselli et *al.*,2013). Elles sont de forme et de dimension variables d'un arbre à un autre et même sur le même arbre. De forme ovale et dentée, celles-ci sont dures, coriaces, de couleur vert foncé, lustrées sur la face supérieure, tomenteuses et gris-blanchâtre sur la face inférieure (Saccardy,1938)(Figure 03).



Figure 3. Feuilles de *Quercus suber* L.(Saker et Sahouane, 2021).

I.2.2.4. Fleur

Le chêne-liège est un arbre monoïque, les fleurs mâles en chatons filiformes de 4 à 8 cm apparaissent sur les rameaux de l'année précédente. Les fleurs femelles en chatons courts de 0.5 à 4 cm de long groupées par 2 ou 3 à l'extrémité des rameaux de l'année. Les fleurs sont plus courtes et plus rigides (Natividade,1956 ; Lamey,1893). D'après Lamey(1893), le climat et l'exposition conditionnent la floraison qui commence vers l'âge de 12 à 15 ans et se déroule entre la fin avril jusqu'à la fin du mois de mai. (Figure 04).



Figure 4. Les chatons de *Quercus suber* L.(Saker et Sahouane, 2021).

I.2.2.5. Fruit

Les fruits sont des glands présentant, selon l'arbre, des formes et des dimensions très variables, variant de 2 à 5 cm de long et de 1 à 2 cm en large. Ces derniers, sont de couleur brune à maturité, avec un pédoncule jusqu'à 4 cm de long (Pereira, 2011). Les glands mûrissent, généralement, l'année même de floraison et tombent en octobre et novembre parfois jusqu'à janvier (Natividade, 1956) (Figure 05).



Figure05. Glands de *Quercus suber* L. (Saker et Sahouane, 2021).

I.2.3. Exigences écologiques

Le chêne liège est une espèce méditerranéo-atlantique. La répartition géographique de l'espèce est définie selon ses exigences écologiques qui sont de quatre ordres : exigence en lumière, chaleur, humidité et refus des sols calcaires (Bekdouche, 2010).

C'est une espèce strictement calcifuge qui colonise les sols siliceux (Quézel et Médail, 2003). Elle préfère les sols à pH acide, avec peu de contraintes pour la pénétration des racines (Pausas, 2009).

Le chêne liège est héliophile et thermophile ; il pousse sous des climats tempérés à hiver doux car il craint les gelées persistantes et a besoin d'une période de sécheresse en été pour prospérer (Bekdouche,2010).

Le chêne liège croit bien dans les régions recevant une pluviométrie moyenne annuelle supérieur à 600 mm et une température moyenne annuelle de l'ordre de 15°C (Pausas, 2009).

I.3.Air de répartition

I.3.1. Dans le monde

Le chêne liège croît spontanément dans des régions spécifiques de la Méditerranée occidentale (Silva et *al.*,2005). Dans le sud de la France et une partie de l'Italie ainsi que sur la côte atlantique, principalement au Portugal et en Espagne. Cette essence est répartie également en Afrique du Nord (Maroc, Algérie et Tunisie) (Touati et *al.*,2015)

Les subéraies couvrent une superficie globale de 2,5 millions d'hectares sur les sept pays, environ 1.5 millions d'hectares en Europe et 1 million d'hectares en Afrique du Nord (Bugalho et *al.*, 2011) (Tableau 01).

Tableau I: Répartition mondiale de la subéraie(Silva et Catry,2006).

PAYS	Superficie (hectares)	%
Portugal	730.000	32.2
Espagne	500.000	22.0
Algérie	410.000	18.1
Maroc	340.000	15.0
France	100.000	4.4
Tunisie	99.000	4.3
Italie	90.000	4.0

I.3.2. En Algérie

En Algérie, le chêne liège domine dans les bioclimats humides ; ces peuplements montrent une énorme dispersion géographique allant de l'Est d'Alger jusqu'aux frontières marocaines et tunisiennes.Ils'étend du littoral méditerranéen au nord, aux chaines telliennes au sud. Dans la partie Ouest, il reste disséminé et constitue des îlots de moindre importance (Bekdouche,2010).

Il se situe principalement à Tizi-Ouzou, Kherrata, Jijel, El Kala, Guelma et Souk Ahras (à moins de 50 km de la mer). Le chêne liège est également présent dans la partie ouest du pays, dans les régions de Tlemcen et Mascara (Silva et Catry,2006).

L'Algérie offre une superficie appréciable de 410.000 hectares (tableau 01) selon les estimations données par Silva et Catry(2006), (figure 06).

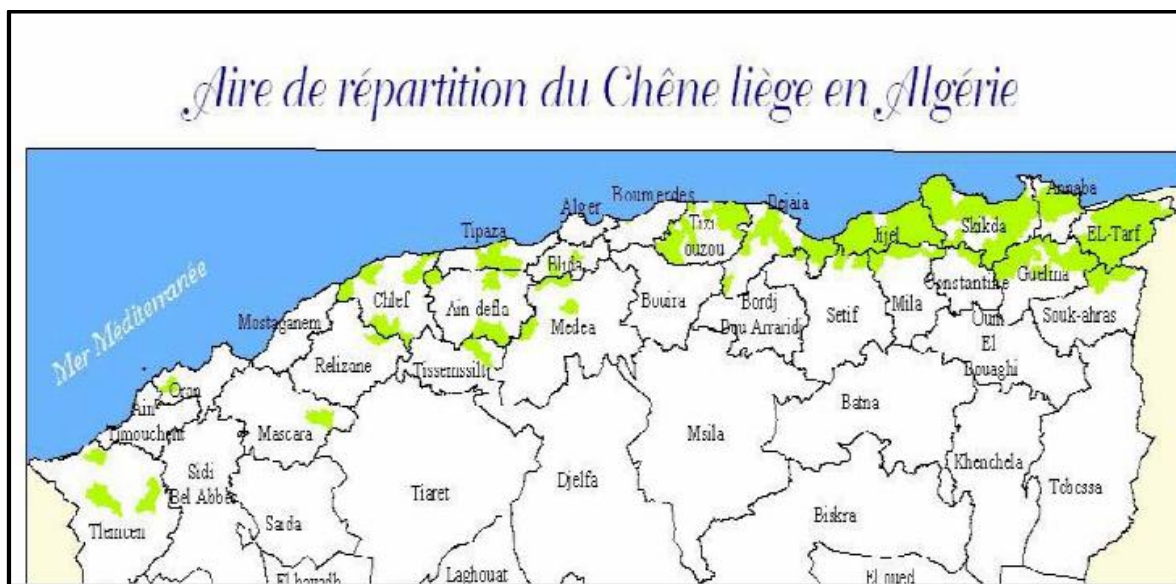


Figure 06. Aire de répartition du chêne liège en Algérie (Silva et Catry,2006).

I.4. Importance et usages de *Quercus suber* L.

Le chêne-liège est considéré depuis fort longtemps comme une essence particulièrement précieuse, ses forêts offrent en effet une multitude de produits dont certaines constituent de véritables richesses économiques en raison de la qualité et la valeur de son écorce et de son bois (Silva et Catry,2006 ;Bugalho et *al.*,2011).

Le liège est la principale matière première produite par cette espèce (Rives et *al.*,2012b), présentant des propriétés uniques, telles que l'imperméabilité aux liquides, l'élasticité et la résilience, une bonne isolation thermique et acoustique et la résistance aux maladies et aux attaques chimiques et microbiennes (Silva et *al.*,2005).

Il est utilisé dans la fabrication des bouchons(Costa et *al.*,2003), des panneaux d'agglomérés et l'isolation, pour la décoration et le revêtement et article divers. Il contient des tanins utilisés dans l'industrie de tannage. Son bois sert à la fabrication des traverses de chemin de fer, et de tonneaux et autres usages en menuiserie (Boudy,1952).

Les caractéristiques physiques et chimiques uniques du liège sont à la base d'un secteur industriel remarquable dans le secteur Méditerranéen occidental, (Varela,2014).

II. Facteurs responsables du stress chez les végétaux

II.1. Facteurs abiotiques

La salinité du sol et le climat font partie des différents facteurs abiotiques ayant un impact sur le comportement des végétaux (Mestar,2019).

II.1.1 Salinité des sols

La salinité est l'un des facteurs abiotiques qui affecte les diverses fonctions physiologiques, biochimiques et moléculaires chez les végétaux. Elle inhibe la germination des graines, la croissance, le développement et le rendement des plantes (Zhang et Dai,2019 ; Arif et *al.*,2020). Ce facteur entrave également la machinerie photosynthétique, la transpiration et les échanges gazeux en diminuant la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes, en déformant l'ultra structure du chloroplaste et le système PSII et en réduisant la conductance stomatique (Pan et *al.*,2020).

La salinité du sol abaisse le potentiel hydrique du sol et des feuilles ; elle perturbe les relations hydriques des plantes et réduit la turgescence de la plante, ce qui conduit finalement à un stress osmotique. Elle augmente la teneur en espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules végétales et crée un stress oxydatif (El Ghazali,2020 ;Navada et *al.*, 2020).

II.1.2 Froid

Les basses températures représentent l'un des stress abiotiques (stress thermique) les plus nocifs affectant la croissance et le développement des plantes tempérées. Ces dernières s'adaptent aux variations saisonnières de température en ajustant leur métabolisme et en augmentant leur teneur en composés cryoprotecteurs pour maximiser leur tolérance au froid (Janska et *al.*,2010).

Les plantes subissent ce stress lorsque la température chute à des valeurs inférieures au point de congélation, un tel stress inhibe, de manière importante, l'absorption d'eau et initie la déshydratation cellulaire induite par le gel (Mehrotra et *al.*,2020).

Il abaisse thermodynamiquement la fluidité de la membrane et devient mortel pour la plante, car il inhibe directement plusieurs réactions métaboliques (Jouyban et *al.*,2013).

II.1.3 Sècheresse

La hausse des températures et le stress hydrique font partie des facteurs environnementaux qui influencent les processus de croissance et de développement des végétaux. Ces deux contraintes se produisent généralement en combinaison (Prasad et *al.*,2011).

Ces stress provoquent de nombreux changements biochimiques et physiologiques au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière (Prasad et *al.*,2008).

II.1.4 Edaphique

Les caractéristiques physiques et chimiques des sols ont un effet considérable sur la disponibilité et la teneur des composés phénoliques dans le végétal (Castells et Peñuelas,2003).

Ces derniers jouent un rôle dominant dans le contrôle de nombreux aspects des interactions plante-sol, y compris la disponibilité ,le cycle des nutriments, et la dynamique de la matière organique (Kuiters,1990 ; Northup et *al.*,1998 ; Schimel et *al.*,1996 in Castells et Peñuelas, 2003).

II.2. Facteurs biotiques

Les stress biotiques comprennent les attaques d'agents pathogènes comme les bactéries, les parasites, les mycètes et les virus, ce stress est également causé par l'herbivorie (Madlung et Comai,2004).

Selon Canelo et *al.* (2018), L'herbivorie des insectes limite la croissance, la survie et la reproduction des végétaux, elle constitue également l'une des principales interactions antagonistes entre les plantes et les insectes, étant le déclencheur de nombreux processus de coévolution (Strauss et Zangerl,2002 in Canelo et *al.*, 2018).

III. Stress oxydatif et les Métabolites secondaires

III.1. Introduction

Les conditions extérieures qui ont un impact négatif sur les plantes peuvent être biotiques, imposées par d'autres organismes, ou abiotiques, causé par un excès ou une carence de l'un des facteurs dans l'environnement. Ces conditions peuvent conduire à la production d'Espèces

Réactives de l'Oxygène (ERO) ou encore ReactiveOxygenSpecies (ROS) (Appel et Hirt,2004).

Pour faire face à ces stress et pour se protéger des effets délétères des ROS les végétaux ont développé des stratégies d'adaptation grâce à leur capacité de produire des substances naturelles très diversifiées (Macheix et *al.*,2005). Selon Pietta(2000) et Heo(2007), ces substances présentent diverses propriétés biologiques, telles que les effets antioxydants qui protègent contre le stress oxydatif des ROS endogènes et des radicaux libres.

III.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et Radicaux libres

Les radicaux libres et leurs précurseurs sont membres d'une famille chimique réactive appelée espèces réactives de l'oxygène ERO. Ces radicaux sont par définition des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdal et Serres, 2011 ; Favier, 2003).

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent :

- L'anion superoxyde O_2^- ;
- Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ;
- Le radical hydroxyle OH ;
- L'oxygène singulet 1O_2 ;
- Le monoxyde d'azote NO .

Ils sont formés en tant que sous-produits dans les mitochondries, les chloroplastes et les peroxysomes. Dans des conditions de croissance optimales, elles sont principalement produites à un faible niveau et sont éliminées par divers composants de défense antioxydants, qui sont généralement confinés dans des compartiments spécifiques. Cependant, lors d'un stress, leur taux de production est dramatiquement élevé et cela peut perturber l'équilibre entre la production et la capture de ces ROS (Apel et Hirt,2004 ; Davidson et Schiest,2001 *in* Suzuki et Mittler,2006).

L'oxygène singulet 1O_2 et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactifs et peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

L'anion radicalaire superoxyde O_2^- comme le monoxyde d'azote NO ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives (Favier,2003).

Les différents types des ERO ont en commun la capacité à provoquer des dommages oxydatifs aux protéines, à l'ADN et aux lipides (Apel et Hirt, 2004 ; Park *et al.*, 2007). Ces dommages provoqués aux protéines peuvent conduire à des changements structuraux et altérer l'activité enzymatique (Deaton et Marlin, 2003).

III.1.2. Définition d'un antioxydant

Heo(2007), a défini Les antioxydants comme des molécules qui peuvent empêcher ou retarder le processus d'oxydation causé par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène dans les aliments et les systèmes biologiques.

Il existe deux types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques.

Les polyphénols , les flavonoïdes , les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes sont des antioxydants non enzymatiques qui agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. Les antioxydants enzymatiques complètent les antioxydants non enzymatiques et catalysent les réactions pour éliminer les ERO ou pour régénérer (réduire) les antioxydants oxydés (Deaton et Marlin,2003 ; Favier,2003) (Figure 07).

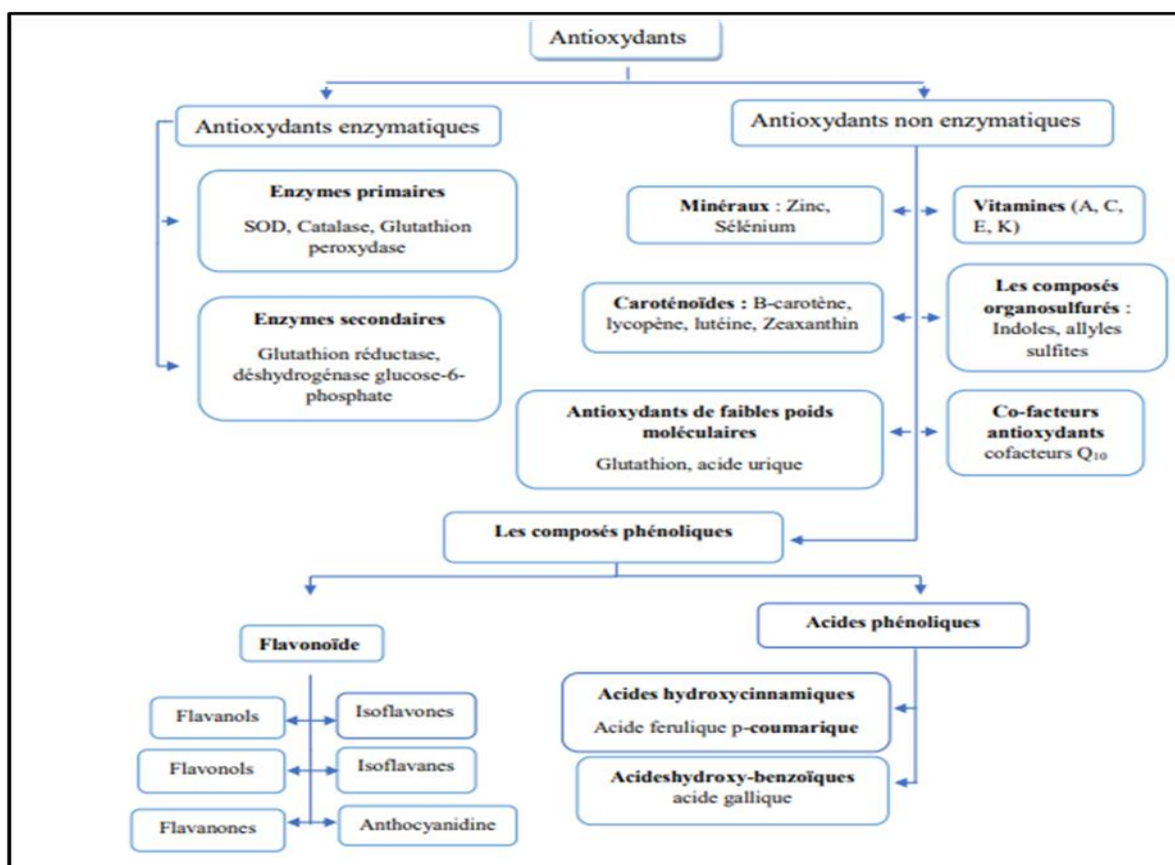


Figure 07. Principaux systèmes antioxydants (Bunaciu *et al.*, 2012) modifiée.

III.2. Métabolites secondaires

L'une des principales originalités des plantes est leur capacité à produire une grande variété de substances naturelles. En effet, en plus des principaux métabolites classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), et qui intervient directement dans la croissance, le développement et la reproduction des plantes (Marriott,2000), les végétaux accumulent également des métabolites dits « secondaires », dont les fonctions physiologiques ne sont pas toujours évidentes. Ces derniers sont une source importante de molécules qui peuvent être utilisées par l'homme dans différents domaines (Macheix et *al.*,2005).

Les métabolites secondaires jouent un rôle important dans l'adaptation des plantes à l'environnement. Ces molécules sont capables de protéger les plantes des agents pathogènes et ils ont également des actions protectrices vis-à-vis des stress abiotiques (Kaufman et *al.*,1999 *in* Briskin,2000 ; Bourgaud et *al.*, 2001).il existe trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Raven et *al.*, 2007).

III.2.1. Les composés phénoliques (polyphénols)

Les composés phénoliques sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques et constituent une famille importante d'antioxydants, ils sont présents chez tous les végétaux supérieurs et répartis dans toutes les parties végétales ; racines, écorces, tiges, feuilles, fruits et fleurs (Boizot et Charpentier,2006).

Dans la vacuole, ils présentent des formes simples et solubles ainsi que des formes polymérisées plus ou moins solubles (tannins). Les formes insolubles (lignines, formes liées à la subérine, la cutine et des macromolécules glucidiques) sont directement associées à la paroi (Macheix,1996).

III.2.1.1. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont caractérisés par la présence des cycles aromatiques avec des groupes hydroxyles libres ou liés aux glucides (Boizot et Charpentier,2006).

Les polyphénols peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette de carbone.

En effet, les composés phénoliques possèdent plus de 8 000 structures phénoliques connues (Lugasi et *al.*, 2003). Les principales classes de composés phénoliques sont : les phénols simples, les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique, les coumarines, les tanins, les lignines, les lignanes et les flavonoïdes (Khoddami et *al.*, 2013) (Figure 08).

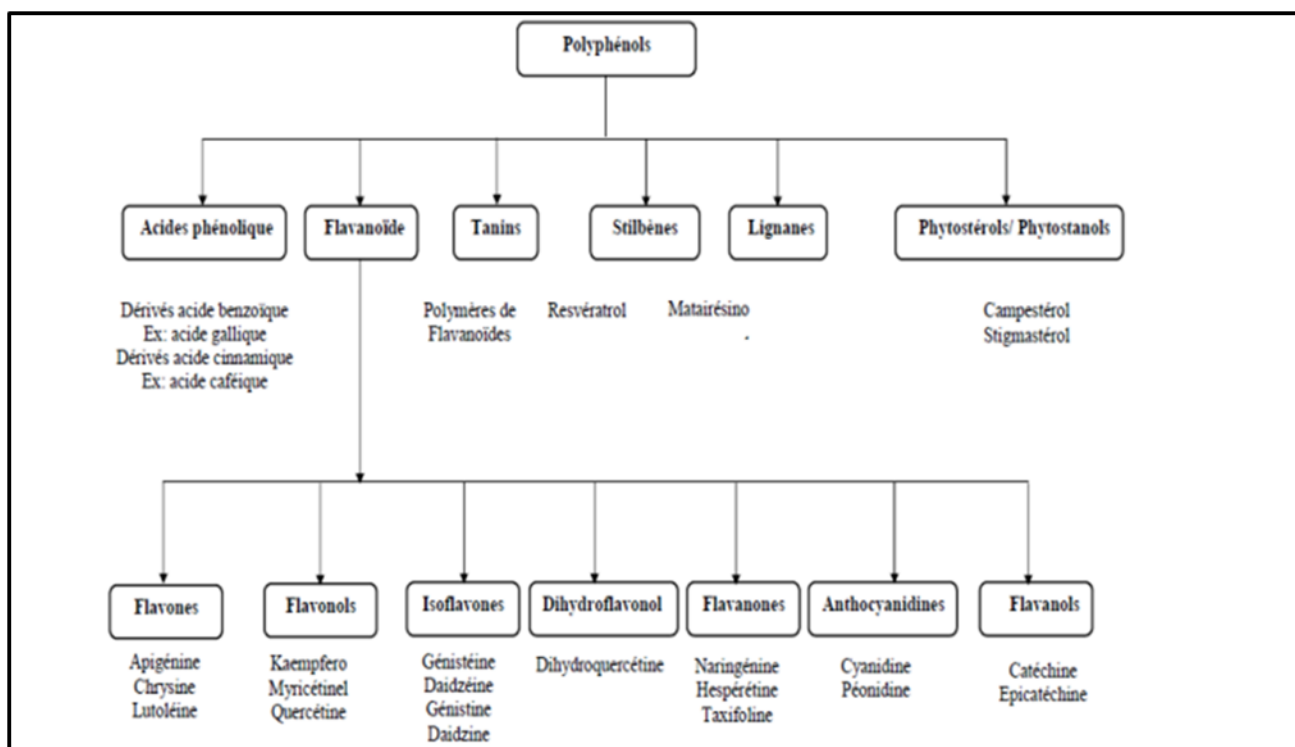


Figure 08. Classification des polyphénols (Harborne, 1980).

III.2.1.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques (phénols simples) font partie des formes les plus simples dont la structure de base (C6), et constituent l'une des grandes classes phénoliques du règne végétal (Macheix et *al.*, 2005).

La plupart des phénols simples sont des composants monomères et des acides qui composent certains tissus végétaux, notamment la lignine et la mélanine et ils sont présents en concentrations relativement faibles (Cseke et *al.*, 2006). Les phénols simples se divisent en deux grands groupes distincts :

a. Les acides hydroxybenzoïques :

Ces composés répondent à une représentation structurale de type (C6-C1) (Figure 09). Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque comprennent l'acide gallique, vanillique et salicylique (Khoddami et *al.*, 2013).

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges, dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais (Bendini et *al.*,2007).

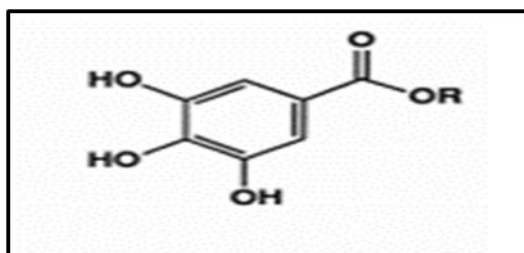


Figure 09. Structure chimique de l'acide hydroxybenzoïque (Teissedre et *al.*, 1996).

b. Les acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques sont des composés retrouvés presque chez toutes les plantes ; ils répondent à une représentation structurale de type (C6-C3) (Figure10). Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique comprennent les acides férulique, caféique, p-coumarique et sinapique (Khoddami et *al.*,2013).

Le principal représentant des acides hydroxycinnamiques est l'acide caféique, qui se trouve dans les aliments, principalement, sous la forme d'un ester avec l'acide quinique appelé acide chlorogénique (acide 5-caféoylquinique) (Tapiero,2002).

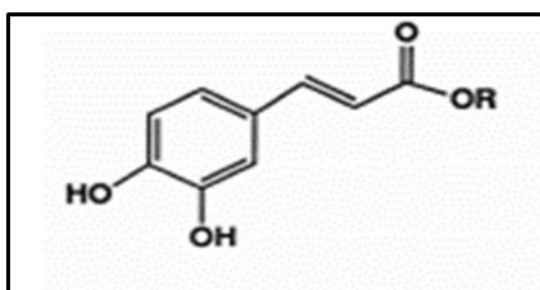


Figure 10. Structure chimique de l'acide hydrocinnamique (Teissedre et *al.*,1996).

III.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

C'est à partir de deux acides aminés aromatiques, tyrosine et phénylalanine que la plupart des molécules phénoliques sont formées. Ces acides aminés sont formés de façon variable suivant les végétaux, à partir de la voie de l'acide shikimique (Macheix et *al.*, 2005). La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales :

a. Voie de l'acide shikimique :

La voie de l'acide shikimique est l'une des principales voies de biosynthèse des composés aromatiques chez les plantes, les animaux et les micro-organismes, y compris les acides aminés protéiques la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011). Ces acides aminés sont le résultat de la condensation du phosphoénol pyruvate et du l'érythrose 4-phosphate qui sont produits à partir des hydrates de carbone respectivement par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse (Dewick, 1995).

La désamination de ces acides aminés conduit aux acides hydroxycinnamiques dont les esters CoA sont à leur tour à l'origine de la plupart des classes de composés phénoliques (les flavonoïdes et les tanins condensés) (Macheix,1996). Les tanins hydrolysables sont directement produits par l'acide gallique lui-même formé à partir de l'érythrose 4-phosphate (Figure 11)(Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

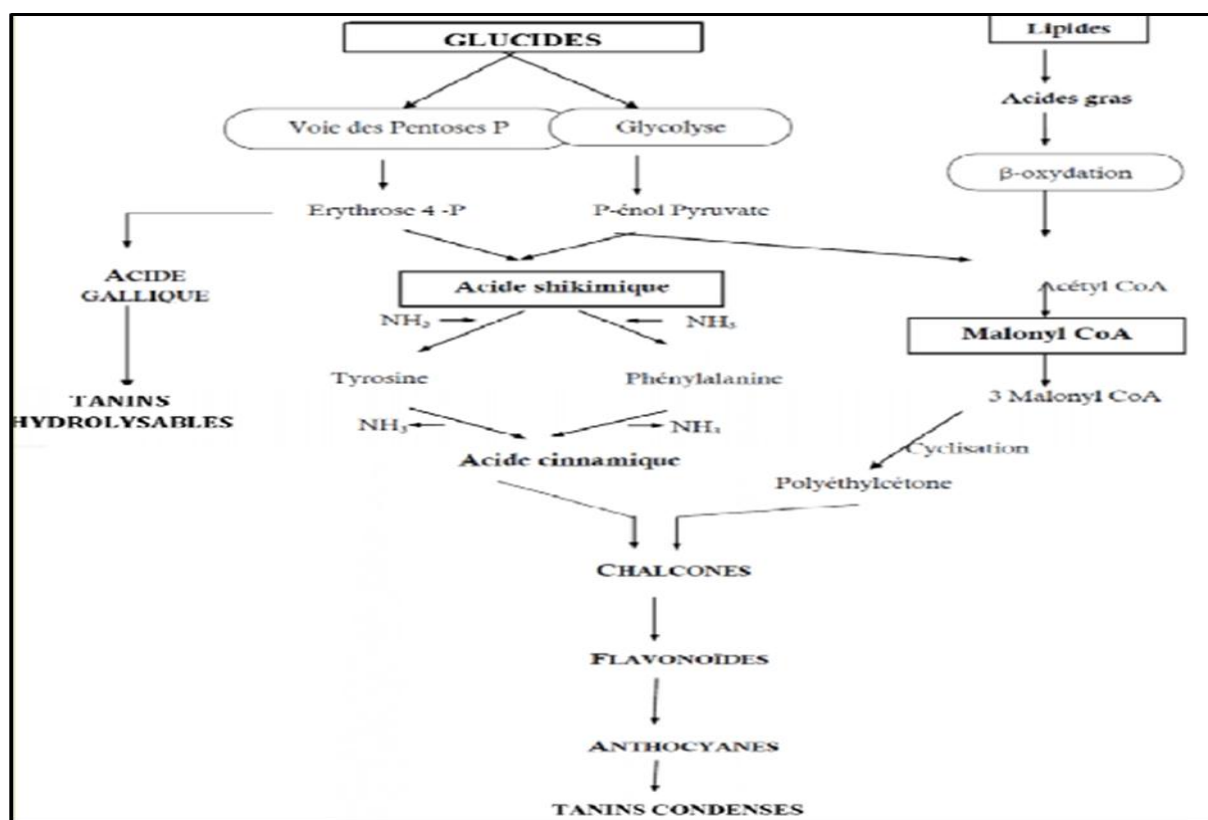


Figure 11. Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (chaouche, 2014).

Après la biosynthèse la plupart des composés phénoliques sont localisés dans les vacuoles et les parois cellulaires (Zaprometov et Nikolaeva, 2003).

b. Voie de l'acétate-malonate :

La glycolyse et la β -oxydation conduisent à la formation de l'acétyl-CoA qui produit le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate », réalisée par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse, 1964).

III.2.3. Rôles et activités biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques présents dans les herbes, les légumes et les fruits sont impliqués dans divers processus en tant que mécanisme de défense contre le stress biotique (Boizot et Charpentier, 2006). D'après Bourgaud et *al.* (2001), ils ont été décrits comme étant antibiotiques, antifongiques et antivirales. Rocha-Guzmán et *al.* (2019), ont mentionnés qu'ils agissent aussi comme antioxydants car ils sont facilement oxydés.

Les polyphénols ont également des actions protectrices vis-à-vis des stress abiotiques tels que ceux associés aux changements de température, d'état hydrique, de niveaux de lumière, d'exposition aux UV et de nutriments minéraux (Kaufman et *al.*, 1999 in Briskin, 2000).

La croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits sont des processus physiologiques dans lesquels ces composés phénoliques sont impliqués (Boizot et Charpentier, 2006). Et ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie (Heimeur et *al.*, 2004).

III.2.4. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes font partie des composés phénoliques les plus courants, largement distribués dans les tissus végétaux, et souvent responsables, avec les caroténoïdes et les chlorophylles, de leur couleur bleue, jaune, orange, rouge et violette.

Tous les flavonoïdes sont dérivés des acides aminés aromatiques, la phénylalanine et tyrosine. La variation de la structure des flavonoïdes résulte des réactions d'hydroxylation, de prénylation, d'alcalinisation et de glycosylation qui modifient la molécule de base (Khoddami et *al.*, 2013). Ils sont généralement solubles dans l'eau (Cseke et *al.*, 2006).

Les flavonoïdes partagent le squelette structurel de base C₆-C₃-C₆, constitué de deux cycles aromatiques en C₆ (A et B) et d'un cycle hétérocyclique (C) qui contient un atome d'oxygène (Figure 12).

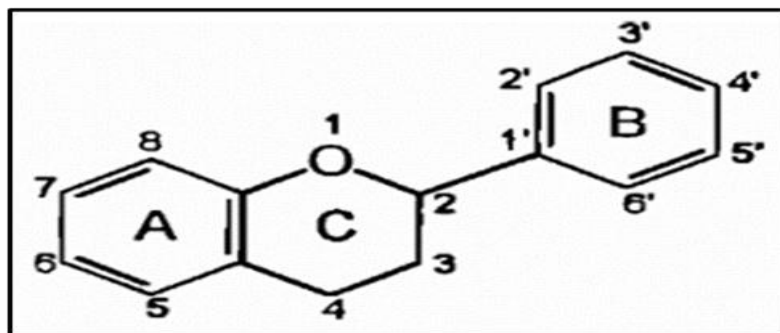


Figure 12. Structure de base des flavonoïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

Ils ont été classés en six sous-groupes : Flavones, flavonols, Flavanones, Flavan-3-ols, Isoflavones et les anthocyanidines (figure 13).

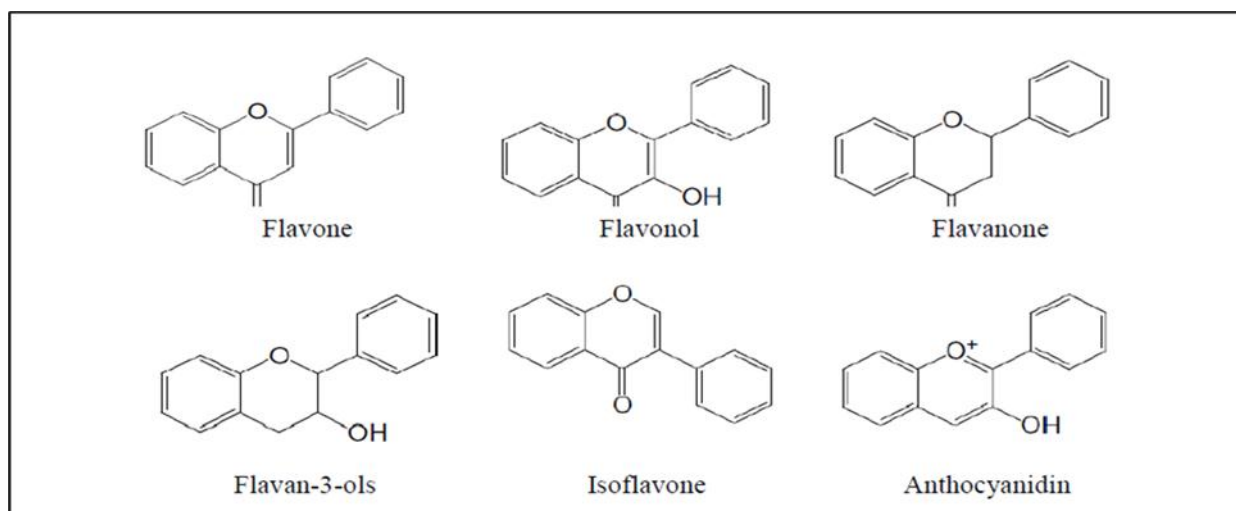


Figure 13. Structure des principaux groupes des flavonoïdes (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

À ce jour, environ 6000 composés flavonoïdes ont été isolés et identifiés, et beaucoup sont communs dans les plantes supérieures, La plupart des composés flavonoïdes sont souvent accumulés dans les vacuoles des cellules végétales et sont représentés par des glycosides (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011).

III.2.4.1. Rôles des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont différents rôles dans les plantes, la diversité de ces derniers représente un vaste système de défense contre les attaques des herbivores et un système de protection contre les dommages au matériel génétique causé par les rayons ultraviolets (Rocha-Guzmán et *al.*, 2019). Ils présentent également des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et anti tumoraux (Wang et Mazza, 2002).

En raison de leurs couleurs attrayantes et leurs arômes les flavonoïdes peuvent servir de signaux visuels pour les insectes pollinisateurs, car ils font partie des substances chimiques qui confèrent à la plante un goût riche et une coloration pour les différentes parties du végétal (fleur, feuille, fruit) (Harbone, 1976 *in* Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011 ; Stalikas, 2007).

Chapitre II
Matériels et méthodes

I. Présentation de la zone d'étude

I.1. Situation géographique

L'étude a été réalisée dans la forêt domaniale d'Azzouza située dans la commune de Zekri de la wilaya de Tizi-Ouzou. Elle est limitée au nord par la forêt de Tigrineet au sud par la commune de Beni Zekkri, à l'ouest par la commune de Yakouren et à l'est par la commune de d'Acif El Hemmam (Figure 14). Cette forêt couvre une superficie de 2155 ha.

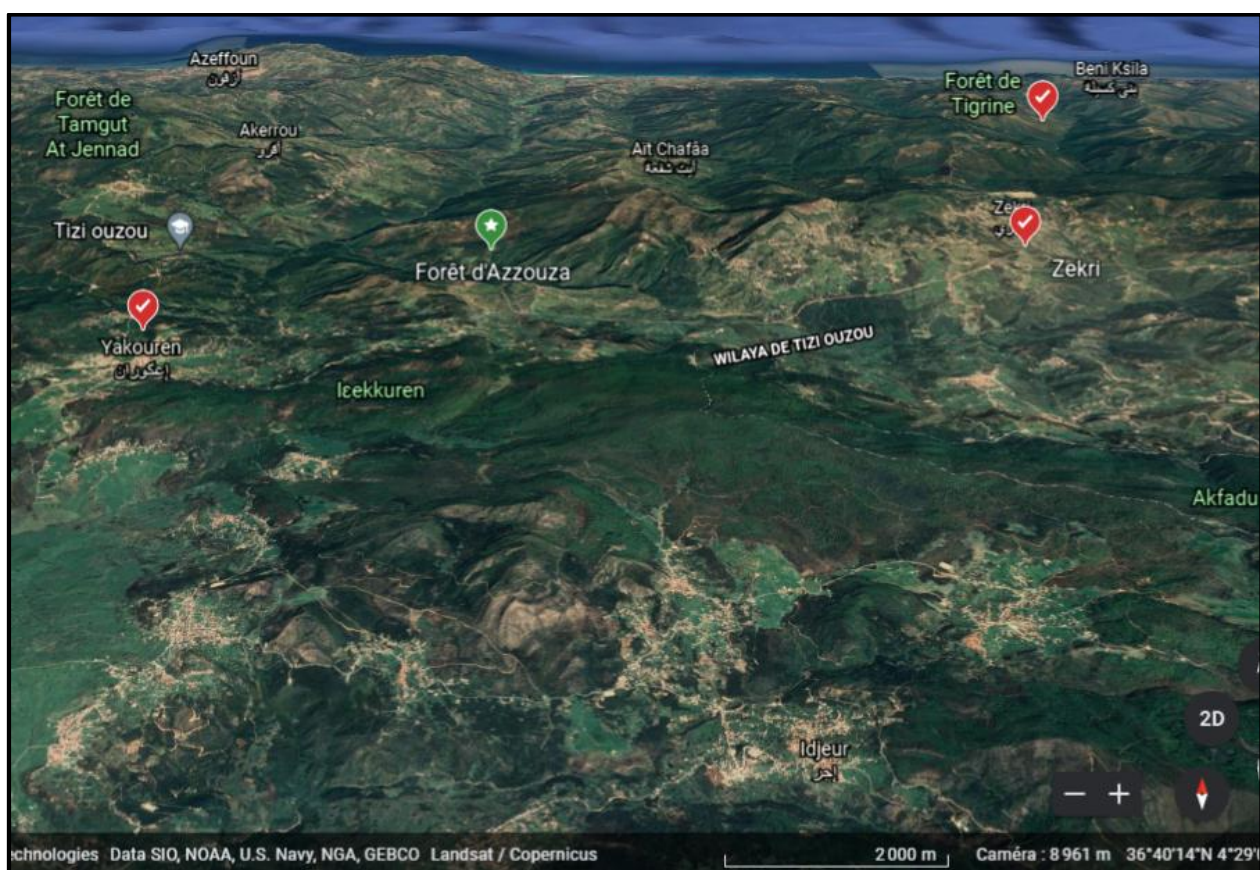


Figure 14. Localisation de la zone d'étude (Google earth,2021).

Le tableau ci-dessous résume la situation géographique de la zone d'étude.

Tableau II. Situation géographique de la zone d'étude.

Nom de station.	Altitude (m)	Latitude	Longitude (°)	Pente (°)	Superficie (m)	Orientation
Ait Hamad	800	E 004° 32' 40,1"	N 36° 47' 24,8"	0	50 X 50	N - E




I.2. Description du site




Le site est une jeune futaie régulière située sur une lithotoposéquence homogène, de type grès numidiens, dans la forêt domaniale d'Azzouza, dans le canton d'Ait Hamad à Zekri wilaya de Tizi-Ouzou. Ce peuplement se trouve dans l'étage de végétation thermo-méditerranéen, avec un régime saisonnier de type HPAE (Hiver, Printemps, Automne, Eté). Elle est classée dans le bioclimat sub-humide à variante tempérée (Aissaoui et Guellal,2020).

Le sous-bois est dominé surtout par le cytise (*Cytisustriflorus*) qui atteint une hauteur de 1.5m associé aux ronces (*Rubus ulmifolius*). Nous avons observé la présence du Diss (*Ampelodesmamauritanica*) qui est une espèce indicatrice des milieux dégradés par les incendies. Ainsi que, la présence d'une flore fongique.

Les principales espèces en contact avec le chêne liège (*Quercus suber* L.) sont résumées dans le tableau (03).

Tableau III. Principales espèces en contact avec *Quercus suber* L.

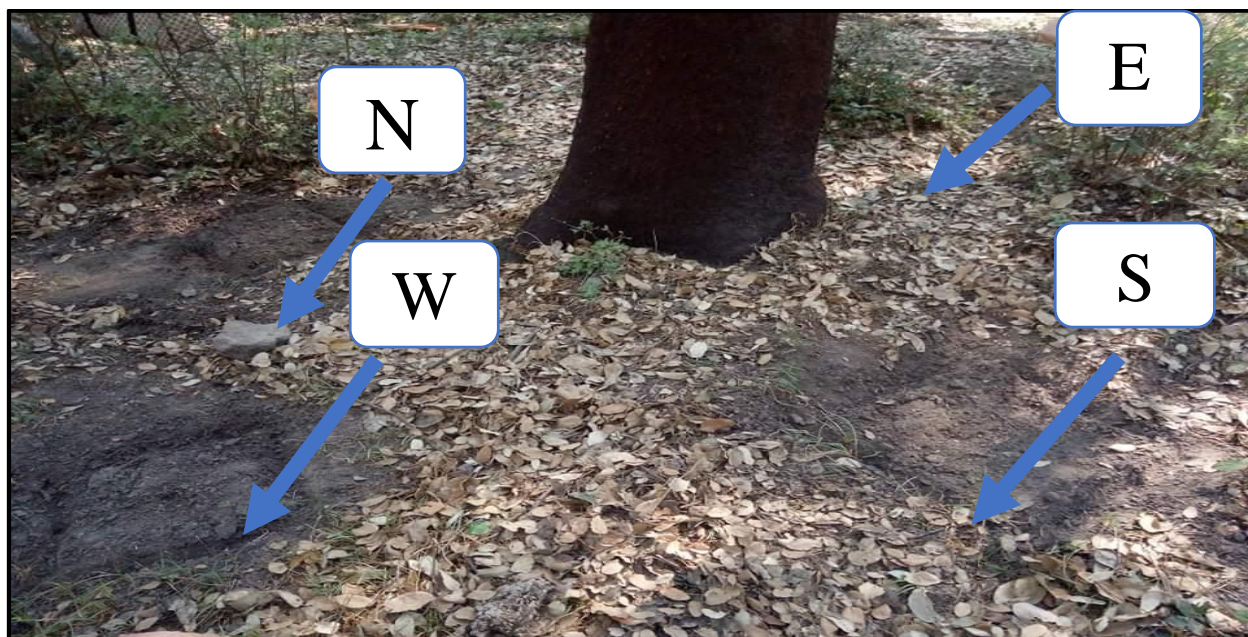
Nom scientifique de l'espèce.	Nom commun de l'espèce.	
<i>Ampelodesma mauritanica</i>	Diss	
<i>Cytisustriflorus</i> (<i>Cytisusvillosus</i>)	Cytise	
<i>Rubus ulmifolius</i>	Ronces	

<i>Erica arborea</i>	La Bruyère	
<i>Macroleprotaprocera</i>	Coulemelle	
<i>Armillariamellea</i>	Armillaire	

II.Echantillonnage des racines

Dix (10) sujets de *Quercus suber* L. ont été choisis selon le protocole de Leroy(1968) et Bonneau(1988). Le principe de ces deux derniers est de choisir les arbres d'une unité homogène sur une superficie de 2500 m² au milieu du peuplement. Le matériel végétal et les sols ont été récoltés suivant la méthode de Uterano et *al.*(2000), avec un quadra de 25 x 25 x 5 cm³. Les racines ont été récupérées dans des sachets en papier.

L'échantillonnage a été réalisé pendant deux saisons, la saison hivernale et la saison estivale. Les prélèvements se sont faits en janvier et en juillet de l'année 2020. Sous chaque arbre les quatre (4) points cardinaux sont délimités autour du tronc (figure 15).



a- Quatre (4) points cardinaux autour du tronc.



b-Enlever la litière



c- Quadrat



d- bêchage.



e - racines.



f-Récupération des racines dans un sachet en papier.

Figure 15. (a, b, c, d, e et f) Méthode d'échantillonnage des racines de *Q.suber*L.

Au laboratoire, nous avons nettoyé toutes les racines à l'aide d'une brosse afin d'extraire tout le sol rhizosphérique et le rhizoplan. Elles sont étalées pour sécher à l'air libre et à l'obscurité (figure 16).



a-Nettoyage.



b-Séchage

Figure 16. (a et b) Nettoyage et séchage des racines de *Q.suber*L.

Ensuite, nous avons pris une même biomasse racinaire pour chaque sujet échantillonné. Ces derniers sont mélangés soigneusement afin d'avoir un échantillon moyen homogène puis le réduire en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (figure 17). La poudre obtenue est interposée dans un récipient en verre propre pour des analyses ultérieures.



a-Broyage



b-Poudre de racines

Figure 17. (a et b)Broyage des échantillons.

III. Partie expérimentale

III.1. Préparation des extraits

L'extraction méthanolique est réalisée suivant le protocole élaboré par Ouzid et *al.* (2018) modifié. Cette extraction est réalisée pour les deux saisons (hiver ; été 2020).

2g de poudre de racine sont mélangés à 20 ml de méthanol dilué à 70 %. Cette étape est suivie d'une agitation pendant 30 min, la solution est ensuite mise en macération à 4°C pendant 24 heures. Une centrifugation est effectuée à 4000 tours pendant 15 min pour recueillir le surnageant. Ce processus a été répété trois fois. Ensuite, le solvant a été éliminé par évaporation (Figure 18).



a- Peser la poudre.



b- Macération (30 min).



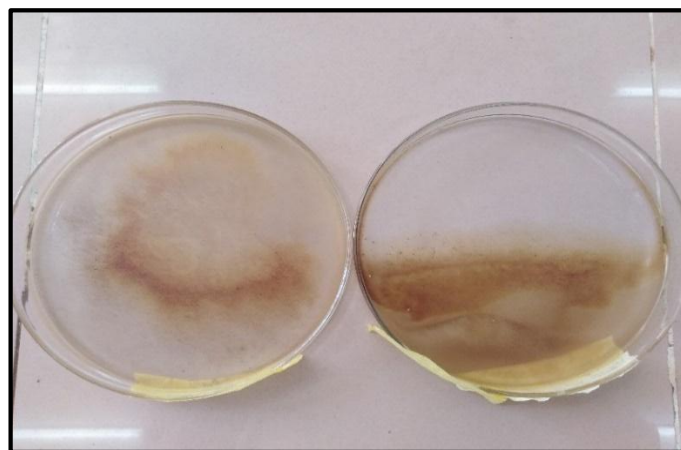
c- Conservation à 4°C (24H).



d- Centrifugation.



e- Récupération du surnageant.



f- Evaporation.

Figure 18. (a, b, c, d, e, et f) Préparation des extraits.

III.2. Dosages

III.2.1. Détermination des phénols totaux

Les polyphénols totaux sont estimés en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu suivant le protocole élaboré par Li et *al.* (2007). 200 µl de l'extrait sont mélangés avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10. Après 4 min, 800 µl de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75mg/ml) est rajouté à la solution. Après 2h d'incubation à température ambiante, la mesure de l'absorbance est faite à 765 nm. (Figure 19).

Une gamme étalon (10 -100 µg/ml) a été préparée avec de l'acide gallique et les résultats sont exprimés en mg d'acide gallique par g de résidu sec (mg EAG/ g RS).

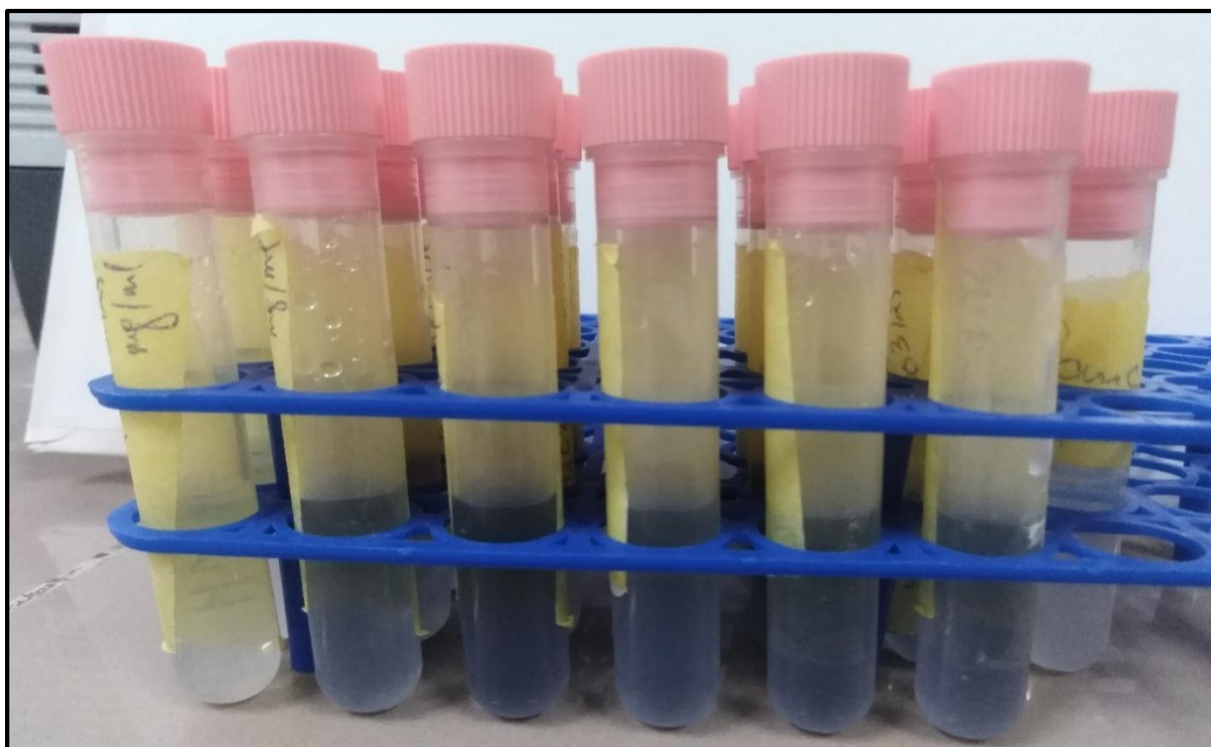


Figure 19. Dosage des polyphénols totaux.

III.2.2. Détermination des flavonoïdes totaux

La détermination des flavonoïdes totaux est réalisée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium suivant le protocole élaboré par Ibrahim et *al.* (2015). 0,1 ml sont prélevés de chaque extrait (10 mg/ml) auxquels sont ajoutés 1,5 ml d'éthanol dilué à 70%, 0,1 ml de AlCl₃ à 10%, 0,1 ml de CH₃COOK (1 M) et 2,8 ml d'eau distillée. Conservé à

température ambiante pendant 30 min, la lecture est faite à 415 nm (Figure 20). Une gamme étalon (10 -100 $\mu\text{g/ml}$) a été préparée avec de la quercétine et les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par g de résidu sec (mg EQ/ g RS).



Figure 20. Dosage des flavonoïdes.

IV. Analyses statistiques

Les données établies pour les dosages sont soumises à une analyse de la variance (ANOVA) au risque de 5% avec le logiciel Minitab.

CHAPITRE III
RÉSULTATS ET DISCUSSION

Résultats

L'étude phytochimique de l'extrait méthanolique des racines de *Quercus suber* L. révèle la présence des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

Les figures 21 et 22 montrent une variation entre les deux saisons été (juillet), hiver (janvier).

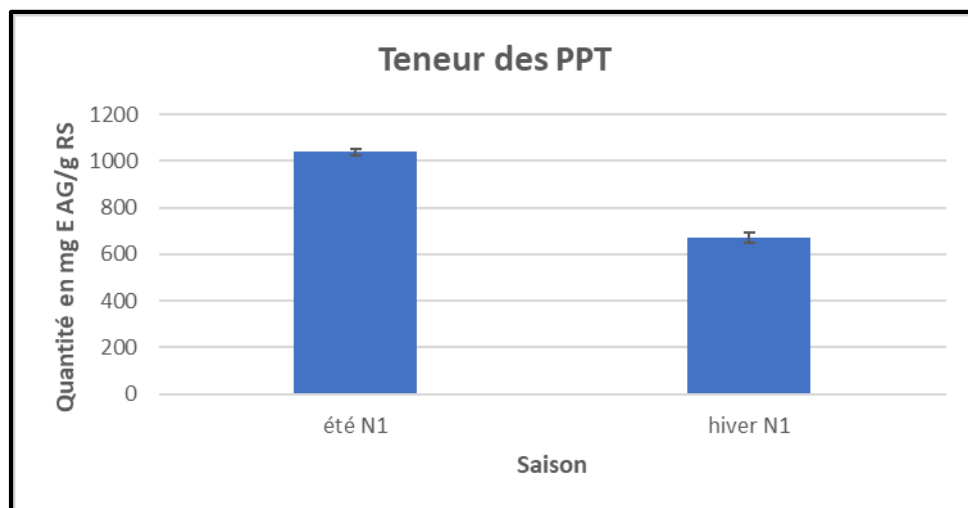


Figure 21. Variations saisonnières des teneurs en polyphénols totaux (mg/g).

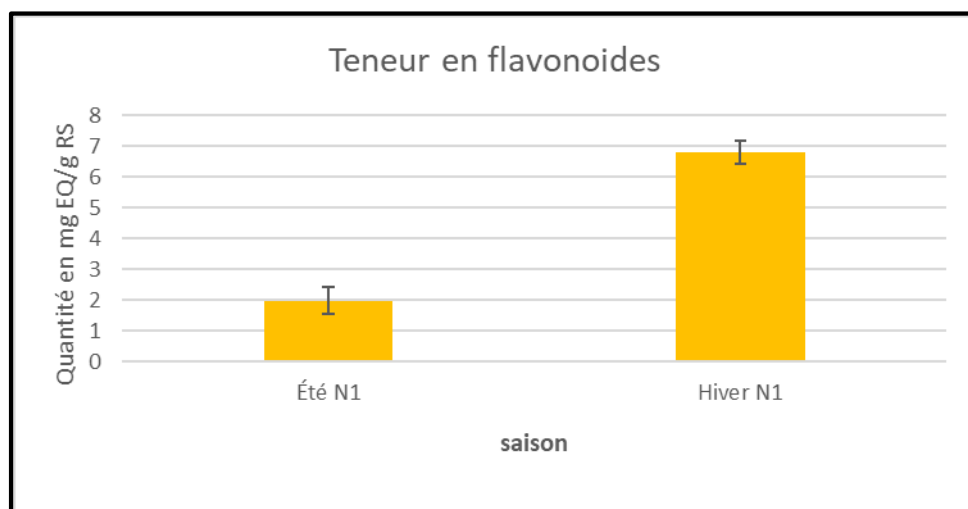


Figure 22. Variations saisonnières des teneurs en flavonoïdes totaux (mg/g).

Tableau IV. Teneurs en PPT et flavonoïdes des solutions méthanoliques des racines de *Quercus suber* L.

	Teneur en polyphénols totaux (mg E AG/g RS).	Teneur en flavonoïdes totaux (mg E Q/g RS).
Hiver (Janvier)/ Niveau 1	672,87 ± 21,85	6,78± 0,37
Été (juillet) / Niveau 1	1039,31 ± 13,33	1,99 ± 0,42

La valeur la plus élevée a été enregistrée durant la saison estivale (tableau IV). Les teneurs en (PPT) sont de 1039,31± 13,33 pour l'été (juillet) et 672,87 ± 21,85 mg E AG/g RS pour l'hiver(janvier). Ce qui se traduit par une différence significative qui est vérifié par la valeur Fobs = 8,55 au risque de 5%.

Les teneurs en flavonoïdes sont de 1.99± 0,42pour l'été (juillet) et 6,78± 0,37 mg E Q/g RS pour l'hiver (janvier) (Tab. IV) La valeur la plus élevée a été enregistrée durant la saison hivernale (tableau IV).

Ce qui se traduit par une différence significative qui est vérifié par la valeur Fobs = 1,41 au risque de 5%.

Discussion

Ces résultats obtenus ainsi que les différentes recherches faites viennent confirmer l'influence des facteurs abiotiques ainsi que les changements de saison sur la teneur en polyphénols dans les extraits racinaires de *Quercus suber* L.

Ces résultats révèlent la présence de polyphénols et de flavonoïdes dans les racines de *Quercus suber* L. ce qui démontre la richesse de cette partie souterraine en métabolites secondaires.

Gargallo-Garriga et *al.* (2018), ont montré que la sécheresse estivale, a un effet important sur la composition des exsudats racinaires de *Quercus ilex*, dans l'ensemble, les exsudats en période de sécheresse étaient principalement constitués de métabolites secondaires.

Nos résultats peuvent être appuyés par l'étude réalisée par Almeida et *al.* (2020), qui montre la capacité de *Quercus suber* L. à tolérer les hautes températures (sécheresse) étant considérée comme une espèce xérophyte, ce dernier, présente une grande vulnérabilité au changement climatique et développe différentes stratégies d'adaptation. Parmi elles, la production de quantités très importantes de polyphénols en saison estivale.

Lors d'un stress abiotique, *Quercus suber* L. produit des composés phénoliques qui montrent une activité antioxydante très importante. Cela lui permet de se protéger contre les effets néfastes provoqués par l'augmentation des espèces réactives de l'oxygène (Fernandes et al., 2009).

Les résultats obtenus par Chaves et al. (2011), indiquent qu'à basse température la synthèse des flavonoïdes sont favorisée, alors qu'à haute température c'est la synthèse des polyphénols qui est à son tour favorisée.

Nos résultats montrent que la teneur en flavonoïdes est plus élevée en saison hivernale (janvier) comparativement à la saison estivale (juillet). Ceci a été également rapporté par l'étude faite par Aranda et al. (2005), qui indique que le chêne liège présente une grande sensibilité aux basses températures, ce qui augmente la production de flavonoïdes.

Les résultats obtenus par Aissaoui et Guellal (2020), sur les racines de *Quercus suber* L., montrent que la teneur en polyphénols est quatre fois plus élevée en été ($54,147 \pm 0.713 \mu\text{g EAG/mg de PV}$) qu'en hiver ($13,225 \pm 0.264 \mu\text{g EAG/mg de PV}$). Ceci dit, nous avons trouvé une teneur qui est plus élevée avec $1039,31 \pm 13,33 \text{ mg E AG/g RS}$ pour l'été (juillet), $672,87 \pm 21,85 \text{ mg E AG/g RS}$ pour l'hiver (janvier), cela pourrait être dû à la différence dans les méthodes d'extraction. Etant donné que nous avons fait une extraction méthanolique contrairement à elles qui ont utilisés une solution aqueuse

En raison du manque de travaux sur les teneurs en PPT et en flavonoïdes des racines de *Quercus suber* L., nous avons abordé un éventuel rapprochement entre nos résultats et ceux enregistrés pour d'autres parties de la plante ainsi que pour d'autres espèces appartenant à la même famille ou subissant l'action du climat méditerranéen (tableau V).

Les résultats obtenus par Mokri et Moubarek (2020), sur les feuilles de *Quercus suber* L. indiquent des teneurs en polyphénols plus élevé en été ($89,48 \pm 0.6 \text{ mg E AG/ g PV}$) comparant à l'hiver ($45,65 \pm 0.56 \text{ mg E AG/ g PV}$). A ce propos l'étude réalisée par Salminen et al. (2004), sur les feuilles de *Quercus suber* L. vient confirmer ces résultats en indiquant que la teneur en polyphénols augmente en saison estivale et diminue progressivement à partir de septembre (saison hivernale).

Touati et al. (2015), ont pu identifier 15 composés phénolique chez le liège avec des teneurs relativement élevé en polyphénols ($786,97 \pm 55.47$ mg E AG/ g E) ainsi qu'en flavonoïdes (49.00 ± 2.00 mg E AG/ g E).

D'autres études réalisées par Ghanbary et al. (2019), sur *Quercus infectieux* et *Quercus libani*, montrent que le stress hydrique augmente la teneur en flavonoïdes chez les racines de *Quercus infectieux*, contrairement au *Quercus libani* qui n'est gère affecté par ce stress. Néanmoins la teneur en polyphénols ainsi qu'en flavonoïdes a augmenté considérablement lorsque ce dernier (*Quercus libani*) est exposé à un stress hydrique ainsi qu'à une attaque d'agent pathogène et infectieux.

L'exposition des racines d'*Olea europaeae* a différents stress environnementaux, augmente la production des espèces réactives d'oxygènes (ROS) ce qui entraîne la production des antioxydants naturels (métabolites secondaires). Ce mécanisme est observé particulièrement lors du stress salin, étant donné que ces racines augmentent leurs concentrations en polyphénols, les protégeant ainsi des dommages oxydatifs (Petridis et al., 2012).

Akula et Ravishankar (2011), ont prouvé que l'exposition au rayon UV-B (300 à 400 nm) augmente la concentration en flavonoïdes chez *Hordum vulgare*(orge).

Les études menées par Bentabet (2014), sur les racines de *Fredolia aretioides* montrent une grande richesse en polyphénols avec une teneur de l'ordre de $971,05 \pm 0,83$ mg GAE/g. Ceci est expliqué par le fait que la variation du contenu polyphénolique peut être attribuée à plusieurs facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies, etc.), le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante ainsi que la méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

Une étude réalisée par Daoudi et al.(2016), sur *Quercus suber* L. montrent que les polyphénols sont synthétisés à grande quantité lors des stress hydrique, des hautes températures, ou d'exposition au rayonnement solaire, conditions qui caractérisent l'été méditerranéen. Cette étude a également montré que la production des quantités très importante de polyphénols en condition de sècheresse diminue la mycorhization.

Tableau IV. Tableau des espèces comparées.

Espèce	Organe végétatif	Teneur en PPT	Auteur
<i>Quercus suber</i> L.	Racines	13.225 ± 0.264 µg EAG /mg de PV	Aissaoui et Guellal (2020).
<i>Fredoliaaaretioides</i>	Racines	971.05 mg E AG/g RS	Bentabet (2014).
<i>Vitis vinefera</i>	Feuilles	861 ± 16 mg GAE/g RS	Krol et al. (2014).
<i>Quercus suber</i> L.	Feuilles	89,48 ± 0.6 µg EAG /mg de PV	Mokri et Moubarek (2020).
<i>Olea europaea</i>	Racines	18 mg E AG/g	Petridis et al. (2012).
<i>Quercus suber</i> L.	Liège	0,29 ±0,02mg GAE/g E	Santos et al. (2009).
<i>Quercus suber</i> L.	Liège	786,97±55mg GAE/g E	Touati et al. (2015).

D'autres études réalisées par Ghanbary et al. (2019), sur *Quercus infectieux* et *Quercus libani*, montrent que le stress hydrique augmente la teneur en flavonoïdes chez les racines de *Quercus infectieux*, contrairement au *Quercus libani* qui n'est gère affecté par ce stress. Néanmoins la teneur en polyphénols ainsi qu'en flavonoïdes a augmenté considérablement lorsque ce dernier (*Quercus libani*) est exposé à un stress hydrique ainsi qu'à une attaque d'agent pathogène et infectieux.

L'exposition des racines d'*Olea europaea* a différents stress environnementaux, augmente la production des espèces réactives d'oxygènes (ROS) ce qui entraîne la production des antioxydants naturels (métabolites secondaires). Ce mécanisme est observé particulièrement lors du stress salin, étant donné que ces racines augmentent leurs concentrations en polyphénols, les protégeant ainsi des dommages oxydatifs (Petridis et al., 2012).

Une autre étude réalisée par Krol et al. (2014), sur les extraits méthanolique de la partie foliaire de *Vitis vinefera* (vigne) en saison estivale révèle la présence des quantités très importante de polyphénols totaux de l'ordre de 861 ± 16 mg GAE/g RS qui est en particulier dû à la sècheresse.

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Dans notre cas, la teneur en PPT est plus prononcée dans la saison estivale (juillet)

comparativement à la saison hivernale (janvier). Cela peut être due au climat méditerranéen caractérisé par la présence d'une saison sèche où les précipitations sont faibles voir nulles et les températures très élevées, ceci explique le rôle des polyphénols dans la lutte contre les différents stress abiotiques (Gil-Pelegrín et *al.*, 2017).

Ces derniers indiquent également que les métabolites secondaires (polyphénols et flavonoïdes) sont spécialisés dans les mécanismes de défense contre les différents stress biotiques et abiotiques.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de notre travail était de mettre en évidence les variations saisonnières de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les racines de *Q. suber* L. dans la région de Ait Hemad, Wilaya de Tizi-Ouzou (Kabylie).

Le chêne liège est une espèce forestière xérophile répandue dans la zone climatique méditerranéenne, souvent soumise à des contraintes environnementales. La capacité de cette espèce à survivre dans des environnements défavorables est attribuée à différentes stratégies, notamment une production élevée en métabolites secondaires.

L'analyse phytochimique réalisée nous a permis de constater que *Quercus suber* L. est une espèce qui renferme des métabolites secondaires dont les Polyphénols totaux (PPT) et les flavonoïdes totaux au niveau des racines avec une prédominance des PPT dans la saison estivale et une augmentation remarquable en flavonoïdes au cours de la saison hivernale.

Les résultats que nous avons obtenus nous ont permis de constater une différence significative entre les saisons (hiver et été) étudiés. La teneur la plus élevée en PPT a été enregistré en été avec une valeur de $1039,31 \pm 13,33$ mg E AG/g RS comparé à l'hiver, ce qui démontre l'influence de la saison estivale sur la production des métabolites secondaires particulièrement les polyphénols qui possèdent des activités biologiques, spécifiquement, l'activité anti oxydante qui agit directement dans le système de défense contre les agressions externes et contre la production élevée des espèces réactives de l'oxygène. Ces dernières provoquent un stress oxydatif sous différents stress environnementaux plus particulièrement ceux liés au climat.

Les résultats enregistrés pour les flavonoïdes ont montré l'augmentation en ces composés précisément dans la saison hivernale avec une valeur de $6,78 \pm 0,37$ mg EQ/g RS comparé à la saison estivale où nous avons enregistré la plus faible teneur en flavonoïdes. Ces derniers appartiennent aux composés phénoliques et possèdent une activité antioxydante contre les ROS produites lors d'un stress mais leurs teneurs restent toujours plus faibles comparant aux PPT car leur production est majoritairement dirigée à la pigmentation responsable des colorations des organes aériens.

Perspectives :

Afin de déterminer la durabilité future des forêts de chêne-liège il est primordial de comprendre les réponses ainsi que l'adaptation de ce dernier aux conditions estivales, il faut

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

également mettre en évidence les effets toxiques et néfastes des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

***RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUE***

- **Aissaoui, L. Guellal, M (2020).** Contribution à l'étude de la variation saisonnière des teneurs en polyphénols totaux d'une solution aqueuse des racines du chêne liège « *Quercus suber* L. » dans la forêt domaniale d'Azzouza. Mémoire de master II en Biotechnologie et valorisation des plantes. Université Mouloud MAMMERI TiziOuzou., 28-31.
- **Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011).** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & behavior*, 6(11), 1720-1731.
- **Almeida, T., Pinto, G., Correia, B., Gonçalves, S., Meijón, M., & Escandón, M. (2020).** In-depth analysis of the *Quercus suber* metabolome under drought stress and recovery reveals potential key metabolic players. *Plant Science*, 299, 110606.
- **Apel, K., & Hirt, H. (2004).** Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- **Aranda, I., Castro, L., Alía, R., Pardos, J. A., & Gil, L. (2005).** Low temperature during winter elicits differential responses among populations of the Mediterranean evergreen cork oak (*Quercus suber*). *Tree Physiology*, 25(8), 1085-1090.
- **Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020).** Salinity induced physiological and biochemical changes in plants : An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77.
- **Bekdouche, F. (2010).** Evolution après feu de l'écosystème subéraie de Kabylie (nord algérien) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007).** Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules*, 12(8), 1679-1719.
- **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371.
- **Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- **Bonneau, M. (1988).** Le diagnostic foliaire. *Revue forestière française*.
- **Boudy, P. (1952).** Guide forestier en Afrique du Nord. (ed) La Maison Rustique. Paris, p196.
- **Bouhraoua, R. T., Piazzetta, R., & Berriah, A. (2014).** Les reboisements en chêne-liège en Algérie, entre contraintes écologiques et exigences techniques. *Forêt méditerranéenne*.
- **Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.
- **Briskin, D. P. (2000).** Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant physiology*, 124(2), 507-514.
- **Bugalho, M. N., Caldeira, M. C., Pereira, J. S., Aronson, J., & Pausas, J. G. (2011).** Mediterranean cork oak savannas require human use to sustain biodiversity and ecosystem services. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(5), 278-286.

- **Bunaciu, A. A., Aboul-Enein, H. Y., & Fleschin, S. (2012).** FTIR spectrophotometric methods used for antioxidant activity assay in medicinal plants. *Applied Spectroscopy Reviews*, 47(4), 245-255.
- **Canelo, T., Gaytan, A., GONZÁLEZ- BORNAY, G., & Bonal, R. (2018).** Seed loss before seed predation: experimental evidence of the negative effects of leaf feeding insects on acorn production. *Integrative zoology*, 13(3), 238-250.
- **Castells, E., & Peñuelas, J. (2003).** Is there a feedback between N availability in siliceous and calcareous soils and *Cistus albidus* leaf chemical composition? *Oecologia*, 136(2), 183-192.
- **Chaouche, T. M. (2014).** contribution à l'étude des activités biologiques des métabolites secondaires de quelques plantes médicinales (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid).
- **Chase, M. W., & Reveal, J. L. (2009).** A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 122-127.
- **Chaves, I., Passarinho, J. A. P., Capitão, C., Chaves, M. M., Fevereiro, P., & Ricardo, C. P. (2011).** Temperature stress effects in *Quercus suber* leaf metabolism. *Journal of plant physiology*, 168(15), 1729-1734.
- **Costa, A., Pereira, H., & Oliveira, A. (2003).** Variability of radial growth in cork oak adult trees under cork production. *Forest ecology and management*, 175(1-3), 239-246.
- **Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S., Duke, J. A., & Brielmann, H. L. (2016).** Natural products from plants. CRC press.
- **Daoudi, H., Derridj, A., Hannachi, L., & Mevy, J. P. (2016).** Growth, ectomycorrhization and biochemical parameters of *Quercus suber* L. seedlings under drought conditions. *African Journal of Biotechnology*, 15(38), 2082-2090.
- **Deaton, C. M., & Marlin, D. J. (2003).** Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3), 278-291.
- **Dewick, P. M. (1995).** The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural product reports*, 12(2), 101-133
- **El Ghazali, G. E. (2020).** Suaeda vermiculata Forssk. ex JF Gmel.: Structural Characteristics and Adaptations to Salinity and Drought: A Review. *International Journal of Sciences*, 9(02), 28-33.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- **Fernandes, A., Fernandes, I., Cruz, L., Mateus, N., Cabral, M., & de Freitas, V. (2009).** Antioxidant and biological properties of bioactive phenolic compounds from *Quercus suber* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(23), 11154-11160.
- **Fleeger, J. L., & Flipse, R. J. (1964).** Metabolism of bovine semen. XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *Journal of Dairy Science*, 47(5), 535-538.
- **Gargallo-Garriga, A., Preece, C., Sardans, J., Oravec, M., Urban, O., & Peñuelas, J. (2018).** Root exudate metabolomes change under drought and show limited capacity for recovery. *Scientific reports*, 8(1), 1-15.
- **Ghanbary, E., Tabari Kouchaksaraei, M., Zarafshar, M., Bader, K. F. M., Mirabolfathy, M., & Ziaei, M. (2020).** Differential physiological and biochemical responses of *Quercus infectoria* and *Q. libani* to drought and charcoal disease. *Physiologia plantarum*, 168(4), 876-892.

- **Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011).** Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of medicinal plants research*, 5(31), 6697-6703.
- **Gil, L., & Varela, M. C. (2008).** Technical Guidelines for genetic conservation of Cork oak (*Quercus suber*). Bioversity International.
- **Gil-Pelegrín, E., Saz, M. Á., Cuadrat, J. M., Peguero-Pina, J. J., & Sancho-Knapik, D. (2017).** Oaks under Mediterranean-type climates: functional response to summer aridity. In *Oaks physiological ecology. Exploring the functional diversity of genus Quercus L.* (pp. 137-193). Springer, Cham.
- **Harborne, J. B. (1980).** Plant phenolics. Secondary plant products.
- **Heimeur, N., Idrissi Hassani, L. M., & Amine Serghini, M. (2004).** Les polyphénols de *Pyrus mammosana* (Rosaceae). *Reviews in biology and biotechnology*, 3(1), 3742.
- **Heo, H. J., Kim, Y. J., Chung, D., & Kim, D. O. (2007).** Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry*, 104(1), 87-92.
- **Ibrahim, M. M., Sahli, A. A. A., Alaraidh, I. A., Al-Homaidan, A. A., Mostafa, E. M., & El-Gaaly, G. A. (2015).** Assessment of antioxidant activities in roots of Miswak (*Salvadora persica*) plants grown at two different locations in Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 168-175.
- **Janská, A., Maršík, P., Zelenková, S., & Ovesná, J. (2010).** Cold stress and acclimation—what is important for metabolic adjustment?. *Plant Biology*, 12(3), 395-405.
- **Jouyban, Z., Hasanzade, R., & Sharafi, S. (2013).** Chilling stress in plants. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 5(24), 2961-2968.
- **Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013).** Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- **Król, A., Amarowicz, R., & Weidner, S. (2014).** Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(6), 1491-1499.
- **Lamey, A. (1893).** Le chêne-liège : sa culture et son exploitation. Berger-Levrault.
- **Leroy, P. (1968).** Variations saisonnières des teneurs en eau et éléments minéraux des feuilles de chêne (*Quercus pedunculata*). In *Annales Des Sciences Forestières* (Vol. 25, No. 2, pp. 83-117). EDP Sciences.
- **Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- **Lugasi, A. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologiaszegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- **Macheix, J. J. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta botanicagallica*, 143(6), 473-479.
- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Madlung, A., & Comai, L. (2004).** The effect of stress on genome regulation and structure. *Annals of Botany*, 94(4), 481-495.

- **Marriott, B. M. (2000).** Functional foods : an ecologic perspective. The American journal of clinical nutrition, 71(6), 1728S-1734S.
- **Mehrotra, S., Verma, S., Kumar, S., Kumari, S., & Mishra, B. N. (2020).** Transcriptional regulation and signalling of cold stress response in plants: an overview of current understanding. Environmental and Experimental Botany, 104243.
- **MestarGuechaoui, N. (2019).** Effet des facteurs de l'environnement sur les activités antioxydantes et bioinsecticides d'un extrait végétal aqueux de l'espèce *Olea europaeasubspylvestris* dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse doctorat Université Chadli Bendjedid El-taref., p23.
- **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. médecine/sciences, 27(4), 405-412.
- **Mokri , S. Mobarek , S (2020).** Contribution à l'étude de la variation saisonnière des teneurs en polyphénols totaux d'une solution foliaire aqueuse de l'espèce *Quercus suber* L. dans la forêt de Zekri région de Tizi Ouzou. Mémoire de master II en biotechnologie et valorisation des plantes. Université Mouloud MAMMERI Tizi Ouzou.,52.
- **Nardini, A., Lo Gullo, M. A., &Salleo, S. (1999).** Competitive strategies for water availability in two Mediterranean Quercus species. Plant, Cell&Environment, 22(1), 109-116.
- **Natividade, J. V. (1956).**Subericulture. Ecolenational des eaux et des forêts. Nancy. Francia 281p.
- **Navada, S., Vadstein, O., Gaumet, F., Tveten, A. K., Spanu, C., Mikkelsen, Ø.,&Kolarevic, J. (2020).** Biofilms remember: osmotic stress priming as a microbial management strategy for improving salinity acclimation in nitrifying biofilms. Water research, 176, 115732.
- **Ouzid Y., Smail-Saadoun N., &Houali K. (2018).** Champignons endophyteset epiphytesfoliaires de*Peganumharmala* L. (zygophyllaceae) de Dayateaiait (Laghouat, ALGERIE). Algerian Journal of AridEnvironment "AJAE", 8(1).
- **Pan, T., Liu, M., Kreslavski, V.D., Zharmukhamedov, S.K., Nie, C., Yu, M., Kuznetsov, V. V., Allakhverdiev, S.I., Shabala,(2020).** Non-stomatal limitation of photosynthesis by soil salinity. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1-35.
- **Park, W. H., Han, Y. W., Kim, S. H., & Kim, S. Z. (2007).** A superoxide anion generator, pyrogallol induces apoptosis in As4. 1 cells through the depletion of intracellular GSH content. Mutation Research/Fundamental and MolecularMechanisms of Mutagenesis, 619(1-2), 81-92.
- **Pausas, J. G., & Keeley, J. E. (2009).** A burning story : the role of fire in the history of life. BioScience, 59(7), 593-601.
- **Pereira, H. (Ed.). (2011).**Cork : biology, production and uses. Elsevier.
- **Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., &Tananaki, C. (2012).** Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Oleaeuropaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. Environmental and Experimental Botany, 79, 37-43.
- **Petroselli, A., Vessella, F., Cavagnuolo, L., Piovesan, G., &Schirone, B. (2013).** Ecological behavior of *Quercussuber* and *Quercus ilex* inferred by topographic wetness index (TWI). Trees, 27(5), 1201-1215.

- **Pietta, P. G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- **Pintó-Marijuan, M., de Agazio, M., Zacchini, M., & Fleck, I. (2006).** Seasonal and diurnal monitoring of leaf polyamine content in *Quercus ilex* L. resprouts after fire in relation to changes in irradiation and photosynthetic parameters. *Trees*, 20(5), 649-655.
- **Prasad, P. V. V., Pisipati, S. R., Momčilović, I., & Ristic, Z. (2011).** Independent and combined effects of high temperature and drought stress during grain filling on plant yield and chloroplast EF-Tu expression in spring wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(6), 430-441.
- **Quézel, P. (2000).** Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen (Vol. 1, pp. 1-10). Paris : Ibis Press.
- **Quézel, P., & Médail, F. (2003).** Que faut-il entendre par "forêts méditerranéennes". *Forêt méditerranéenne*, 24(1), 11-31.
- **Rached-Kanouni, M., Alatou, D., & Sakr, S. (2012).** Effects of high temperature on concentrations of soluble sugars and quercitol of Cork oak (*Quercus suber*) seedlings. *International Journal of Management Sciences and Business Research*, 1(6), 1-13.
- **Raven, P. H., Evert, R. F., & Eichhorn, S. E. (2007).** *Biologia vegetal*. In *Biologia vegetal* (pp. 830-830).
- **Rives, J., Fernandez-Rodriguez, I., Gabarrell, X., & Rieradevall, J. (2012).** Environmental analysis of cork granulate production in Catalonia–Northern Spain. *Resources, conservation and recycling*, 58, 132-142.
- **Rocha-Guzmán, N. E., González-Laredo, R. F., Vázquez-Cabral, B. D., Moreno-Jiménez, M. R., Gallegos-Infante, J. A., Gamboa-Gómez, C. I., & Flores-Rueda, A. G. (2019).** Oak leaves as a new potential source for functional beverages: their antioxidant capacity and monomer flavonoid composition. In *Functional and Medicinal Beverages* (pp. 381-411). Academic Press.
- **Saccardy, L. (1938).** Le Chêne-Liège et le Liège en Algérie (Suite et fin). *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 18(204), 574-593.
- **Salminen, J. P., Roslin, T., Karonen, M., Sinkkonen, J., Pihlaja, K., & Pulkkinen, P. (2004).** Seasonal variation in the content of hydrolyzable tannins, flavonoid glycosides, and proanthocyanidins in oak leaves. *Journal of Chemical Ecology*, 30(9), 1693-1711.
- **Santos, A. O., & Kaye, O. (2009).** Composition qualitative-quantitative de la production de "Syrah" cultivée sous stress hydrique transitoire. *Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering*, 13, 272-281.
- **Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012).** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012.
- **Silva, J. S., & Catry, F. (2006).** Forest fires in cork oak (*Quercus suber* L.) stands in Portugal. *International Journal of Environmental Studies*, 63(3), 235-257.
- **Silva, S. P., Sabino, M. A., Fernandes, E. M., Correlo, V. M., Boesel, L. F., & Reis, R. L. (2005).** Cork : properties, capabilities and applications. *International Materials Reviews*, 50(6), 345-365.
- **Stalikas, C. D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.

- **Suzuki, N., & Mittler, R. (2006).** Reactive oxygen species and temperature stresses : a delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia plantarum*, 126(1), 45-51.
- **Tapiero, H., Tew, K. D., Ba, G. N., & Mathe, G. (2002).** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies?. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(4), 200-207.
- **Teissedre, P. L., Waterhouse, A. L., Walzem, R. L., German, J. B., & Frankel, E. N. (1996).** Composés phénoliques du raisin et du vin et santé. *Bulletin de l'OIV*, 69(781-82), 251-277.
- **Toribio, M., Celestino, C., & Molinas, M. (2005).** Cork Oak, *Quercus suber* L. In *Protocol for somatic embryogenesis in woody plants* (pp. 445-457). Springer, Dordrecht.
- **Touati, R., Santos, S. A., Rocha, S. M., Belhamel, K., & Silvestre, A. J. (2015).** The potential of cork from *Quercus suber* L. grown in Algeria as a source of bioactive lipophilic and phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, 76, 936-945.
- **Uterano C., Turpault M.P. & Bonnaud P. (2000).** Soil minerals: fine markers of the spatial and temporal variation. United Kingdom. *Journal of Conference Abstract*, 5(2) 1027A.
- **Varela, M. C., & Piazzetta, R. (2014).** Méthodes de régénération du chêne-liège au Portugal. *Forêt méditerranéenne*.
- **Wang, J., & Mazza, G. (2002).** Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 850-857.
- **Zaprometov, M. N., & Nikolaeva, T. N. (2003).** Chloroplasts isolated from kidney bean leaves are capable of phenolic compound biosynthesis. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(5), 623-626.
- **Zhang, Q., & Dai, W. (2019).** Plant response to salinity stress. In *Stress Physiology of Woody Plants* (pp. 155-173). CRC Press.