

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMARI De Tizi-Ouzou

Faculté Des Sciences Biologiques et Des sciences Agronomiques

Département Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en Ecologie et Environnement

Spécialité : Biodiversité et Ecologie végétale

Thème

**Etude phytochimique d'un extrait éthanolique racinaire de
l'espèce « *Olea europaea subsp sylvestris* »
dans la région de Tizi-Ouzou (Cas de Tizi Rached).**

Réalisé par

M^{elle} SADI KORICHENE Kenza

M^{elle} AMI SAADA Soraya

Devant le jury

Présidente : M^{me} IRATNI G.

M.C.B

UMMTO

Promotrice : M^{me} MESTAR GUECHAOUI N.

M.C.B

UMMTO

Examinatrice : M^{elle} LAHCENE S.

M.C.B

UMMTO

Promotion 2020/2021

REMERCIEMENTS

Nous tenons, en premier lieu, à rendre grâce à dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de Ressources Naturelles et le laboratoire de valorisations des plantes de l'UMMTO, de ce fait nous remercions celles qui nous avoir facilité l'accès et nous avoir fourni l'appui technique nécessaire à la réalisation de ce travail :

M^{me} SMAIL-SAADOUN N. Professeur à l'UMMTO.

M^{me} BOUDIAF-NAIT KACI M. M.C.A à l'UMMTO qui ne fait plus partie de ce monde, qu'elle soit en paix.

Nos vifs remerciements et Nos profondes reconnaissances vont à notre promotrice M^{me} MESTAR-GUECHAOUI N. M.C.B à l'UMMTO, qui nous a proposé ce thème qui assisté de près tout le long de ce modeste travail en intervenante par ses paroles, ses écrits, ses conseils, ses critiques qui ont guidé nos réflexions.

Nous adressons nos remerciements à M^{me} IRATNI-AICHE G. M.C.B à l'UMMTO, de nous honorer en présidant le jury.

Nous remercions également M^{elle} LAHCENE S. M.C.B à l'UMMTO, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier M^{elle} HOCEINI Melia doctorante à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret, pour son orientation pendant la réalisation de ce travail.

Nos remerciements et nos profondes reconnaissances vont aussi à Lydia AISSAOUI, pour son aide, sa patience, son orientation et ses encouragements pendant la réalisation de ce travail.

Nous remercions également Tafat BEN KACIMI qui nous a donné ces échantillons pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qu'on n'a pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Nous remercions l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de ma très chère arrière-grand-mère ;

Ma chère grand-mère ;

Mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leurs amours, leurs soutiens et leurs prières tout au long de mes études ;

Ma sœur, mon frère, mes tantes et leurs familles pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral ;

Amar qui m'a été d'un ferme appui, d'une grande aide et à toute sa famille ;

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire ;

A Soraya cher amie avant d'être binôme ;

Tous mes amis (es) du laboratoire biotechnologie et valorisation des plantes et de ma promotion master Biodiversité et écologie végétale ;

Toutes les personnes m'ayant aidé de près ou de loin.

Kenza

Dédicaces

*Nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer mes profondes affections et mes immenses
gratitudes*

*A mes très chers parents (hocine, farida) source de vie d'espoir d'amour et de sacrifice ceux
qui m'ont chaleureusement encouragé tout au long de mon parcours, qu'ils trouvent en moi la
source de leur fierté à qui je dois tout*

*Puisse dieu vous prêter bonne santé et longue vie a fin que je puisse ; à mon tour ; vous
combler*

*A mes très chers frères : Tayeb Dida Cylia en particulier Dida ma moitié merci pour ton
appui ton encouragement permanent ton soutien moral*

A ma chère tante Djazira

*A celui qui m'a toujours témoigné un soutien sans faille et qui ne cesse de me tirer vers le
haut...Sofiane*

A mon cher ami Hacene, mazigh, mess

*A toutes mes amies : Malha, latifa, Djidji, Drifa, Cylia, Hayet, Ryma, Fatma, Assia, mélissa,
tinhinane, lynda*

A kenza cher amie avant d'être binôme

A mes collègues de la promotion master 2 biodiversité et écologie végétal 2020/2021

A tous ceux qui m'aiment

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués et le fruit de votre soutien
infaillible*

Soraya

Liste des figures

Figure 1. Arbre de l'oléastre.....	4
Figure 2. Rameaux épineux.	5
Figure 3. Feuilles de l'oléastre.	6
Figure 4. Fruit de l'oléastre avant sa maturité.	7
Figure 5. Distribution naturelle du complexe <i>Olea europaea</i> dans le monde.	10
Figure 6. Schéma de la répartition géographique du genre <i>Olea</i>	11
Figure 7. Situation géographique du site de Tizi Rached.	24
Figure 8. Structure végétale de la population de Tizi Rached.	25
Figure 9. Broyage des racines.	27
Figure 10. Etape de l'agitation des solutions.	28
Figure 11. Centrifugation afin d'obtenir le surnageant.	29
Figure 12. Evaporation à l'abri de la lumière et de l'humidité.	29
Figure 13. Protocole de dosage des composés phénolique.	30
Figure 14. Dosage des phénols totaux.	31
Figure 15. Protocole de dosage des flavonoïdes.	32
Figure 16. Dosage des flavonoïdes.	33
Figure 17. Lecture pour les flavonoïdes.	33
Figure 18. Distribution des teneurs en (PPT) des extraits d' <i>O. europaea subsp sylvestris</i>	35
Figure 19. Distribution des teneurs en flavonoïdes des extraits d' <i>O. europaea subsp sylvestris</i>	36

Liste des tableaux

Tableau 1 : principaux composés chimiques identifiés dans l'extrait aqueux des feuilles d' <i>Olea europaea subsp europaea L var sylvestris (Miller)</i>	13
Tableau 2 : principales classes de composés phénoliques dans les plantes.	17
Tableau 3 : quelques méthodes utilisées pour l'extraction des composés phénoliques.	19
Tableau 4 : activités biologiques des composés polyphénoliques.	20
Tableau 5 : principales classes flavonoïdes.	21
Tableau 6 : composés phénoliques déterminés dans les extraits foliaires d' <i>Olea europaea L</i>	23
Tableau 7 : comparaison des teneurs en PPT des extraits racinaires.	38

Liste des abréviations

UV : Ultraviolet

PPT : Teneur totale en polyphénol

FT : Teneur totale en flavonoïde

AGMI : Acides gras monoinsaturés

LDL: Low Density Lipoprotein

HDL: High Density Lipoprotein

ERO : Espèces Réactives à Oxygène

ROS : Espèces réactives oxygénées

OH : Radical hydroxyle

ADN : Acide désoxyribonucléique

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

CH₃COOK : Solution d'acétate de potassium

RS : Résidus sec

MS : Matière sèche

PV : Poudre végétale

EQ : Equivalent Quercétine

EAG : Equivalant acide gallique

Sommaire

Introduction générale	1
------------------------------------	---

I. Synthèse bibliographique

Chapitre 1. Généralités sur *Olea europaea subsp sylvestris*

1.1. Historique	3
1.2. Présentation de l'espèce étudiée	3
1.2.1. Description de l'oléastre	3
1.2.2. Description botanique	5
1.2.2.1. Feuilles	6
1.2.2.2. Fleurs	6
1.2.2.3. Fruit	7
1.2.3. Classification	8
1.2.4. Répartition géographique	9
1.2.5. Caractéristiques écologiques de l'espèce	11
1.2.6. Composition chimique	12
1.2.7. Propriétés biologiques	13
1.2.8. Vertus thérapeutiques	14

Chapitre 2. Métabolites secondaires

Introduction	15
1. Métabolites secondaires	16
1.1. Polyphénols	16
1.1.1. Classification	17
1.1.2. Extraction des polyphénols totaux	18
1.1.3. Dosage des polyphénols	19

1.1.4. Effet biologique	20
1.2. Flavonoïdes	21
1.2.1. Classification	21
1.2.2. Dosage des flavonoïdes	22
1.2.3. Effets biologiques	22
2. Métabolites secondaires de la rhizosphère	22
3. Les métabolites secondaires synthétisés au niveau des feuilles	22

II. Partie expérimentale

Chapitre 1. Matériels et méthodes

1.1. Présentation de la zone d'étude	24
1.2. Echantillonnage des racines	25
1.3. Matériel du laboratoire	26
1.4. Préparation des extraits	26
1.4.1. Broyage	27
2. Extraction éthanolique	27
2.1. Macération	27
2.2. Centrifugation	28
2.3. Evaporation du solvant	29
3. Dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux	30
3.1. Dosage des phénols totaux	30
3.1.1. Principe	30
3.1.1. Mode opératoire	30
3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	31
3.2.1. Principe	31
3.2.2. Mode opératoire	32

4. Analyse statistique	34
------------------------------	----

Chapitre II. Résultats et discussion

1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux	35
--	----

2. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux	36
--	----

Conclusion et perspectives	40
---	----

Références

Résumé

Introduction générale

Les plantes sont exposées d'une façon continue à divers stress biotiques causés par l'attaque d'herbivores et d'agents pathogènes comme les (champignons, les bactéries, les virus, les nématodes et les insectes, ...etc) affectant leur croissance. Ils peuvent même causer leur mort (Madlung et Comai, 2004). Elles sont aussi exposées à divers stress et abiotiques comme la (température, la sécheresse, l'alcalinité, la salinité, UV...etc). (Ramakrishna et Ravishankar, 2011). Ces derniers entraînent des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent la croissance et la productivité (Aziz et *al.*, 2008). Ce qui engendrent une libération de radicaux libres, appelés ERO (Espèces réactives d'oxygènes) qui sont susceptibles d'interagir avec d'autres composés de la cellule telles que les protéines et l'ADN (Mario et Andreas, 2008).

Face à ces stress, les plantes ont développé des stratégies d'adaptation grâce à leurs capacités de produire des substances naturelles très diversifiées (Macheix et *al.*, 2005), appelées métabolites secondaires qui jouent un rôle dans l'interaction de la plante avec son environnement (Pagare et *al.*, 2015).

Parmi ces métabolites secondaires, on trouve les composés phénoliques qui représentent un ensemble très vaste de structures chimiques et sont caractérisés par une variation qualitative et quantitative selon les espèces et les organes, les tissus et les stades physiologiques (Macheix, 1999). Les principaux groupes de ces composés phénoliques sont les flavonoïdes et les acides phénoliques (Beta et *al.*, 2005).

Olea europaea subsp *sylvestris* est une espèce caractéristique importante de la végétation méditerranéenne en particulier de l'étage de végétation thermoméditerranéenne dont il est un des principaux indicateurs (Bouby et Terral, 2016). Il compte parmi les espèces méditerranéennes qui ont une forte capacité d'adaptation aux divers aléas physiques (froid, sécheresse, salinité) et biologiques (maladies, insectes ravageurs).

Olea europaea, rencontrée dans le bassin méditerranéen, est subdivisée en deux sous espèces l'oléastre ou olivier sauvage (*Olea europaea* subsp *sylvestris*) et l'olivier cultivé (*Olea europaea* subsp *sativa*) (Hannachi et *al.*, 2010).

L'oléastre est un arbuste appartenant au genre *Olea* dans la famille des oléacées qui comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. Il existe sous deux formes non distinguables morphologiquement, indigène et férale (Besnard et Berville, 2000).

La rhizosphère est un continuum qui commence immédiatement autour de la racine (l'ectorhizosphère), comprend la surface de la racine (le rhizoplan) et continue dans le cortex racinaire (l'endorhizosphère), cependant la production et l'effet des métabolites secondaires dans les racines différent d'une partie à l'autre et il est probable que la majeure partie serait produite dans l'ectorhizosphère et le rhizoplan (Lynch, 1986).

L'objectif de notre travail est de doser et évaluer les teneurs en composés phénoliques (PPT) et en flavonoïdes d'une solution éthanolique des racines de l'oléastre *Olea europaea subsp sylvestris*, récoltées dans une population à Tizi Rached dans la wilaya de Tizi Ouzou.

Ce travail de recherche est divisé en deux grandes parties

-une première partie consacrée à une analyse bibliographique de l'espèce et un aperçu général sur les métabolites secondaires polyphénols et flavonoïdes.

-Une deuxième partie porte sur la méthodologie expérimentale adoptée dans ce travail comprenant la présentation du matériel utilisé pour le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux des racines de l'oléastre, ainsi qu'une interprétation et discussion des résultats obtenus.

-Et enfin une conclusion générale accompagnée de perspectives pour finaliser ce travail.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur *Olea europaea subsp sylvestris*

1. Généralités sur *Olea europaea subsp sylvestris*

1.1. Historique

Les données archéo et paléobotaniques montrent aujourd'hui que l'oléastre s'est maintenu en divers points de la Méditerranée, même au plus fort du refroidissement (Pléniglaciaire) (Carrión et *al.*, 2010).

D'après Figueiral et Terral, (2002) ; Carrión et *al.* (2010), l'existence de refuges au cours de la phase glaciaire a favorisé une expansion rapide de l'oléastre sur les bords de la Méditerranée avec le réchauffement holocène.

Les flux de gènes, notamment le transport du pollen par les vents, de l'olivier vers l'oléastre, étant continus, se pose la question de la préservation de l'oléastre. En effet, l'avenir de l'oléastre pourrait être perturbé par ces flux et conduire à une réduction des capacités d'adaptation dans les milieux actuels (Ellstrand, 2003).

1.2. Présentation de l'espèce étudiée

1.2.1. Description de l'oléastre

L'olivier sauvage, ou oléastre (*Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris*) est un élément caractéristique de la végétation méditerranéenne, dont il est un des principaux indicateurs (Zohary et *al.*, 2012).

L'oléastre est la forme sauvage de l'olivier (*Olea europaea subsp sativa*). Nombreux sont les auteurs qui ont fait une description de l'olivier sauvage. D'après Polese, (2009) ; Artaud, (2008) ; Ghedira, (2008) ; Breton et *al.* (2006) et Comte, (1990) c'est un arbuste buissonnant de 4 à 6 m de hauteur (Fig.1) avec un tronc lisse et gris, les branches régulières et a la particularité de posséder des rameaux épineux (Fig.2), de petites feuilles et de petites fleurs blanc jaunâtre. Les fruits sont moins charnus et fournissent moins d'huile. Il pousse dans le maquis de la zone littorale, sur des sols schisteux, où il forme des fourrés denses en compagnie d'autres arbustes, notamment le lentisque.

Trois types d'oliviers sont distingués :

- L'olivier sauvage n'ayant aucun parent domestiqué parmi ses ancêtres, véritable Oléastre.
- L'olivier sauvage descendant d'oliviers cultivés, dit Olivier féral.

- L'olivier cultivés ou abandonné, dont seul l'aspect peut évoquer l'oléastre mais qui appartient à une variété issue d'une sélection anthropique.



Figure 1. Aspect général de l'oléastre (Sadi Korichene et Ami Saada, 2021).



Figure 2. Rameaux épineux (Sadi Korichene et Ami Saada, 2021).

1.2.2. Description botanique

L'oléastre est un arbuste de 4 à 6 m de hauteur (Edward et *al.*, 1993) et commence à produire des fruits à l'âge de 8 ans (Loussert et Brousse, 1978). La période de floraison se situe en Mai-Juin (Boucher et *al.*, 2011).

L'olivier sauvage présente un enracinement à la fois pivotant, traçant et très développé qui lui permet de vivre plusieurs années sur ses réserves (Sadki, 1988).

La pollinisation chez l'olivier est assurée par les insectes et elle est entomogame ; mais il ne faut pas omettre le rôle joué par le vent dans la dispersion du pollen. Comme de nombreux arbres, *Olea europaea* est une espèce allogame avec une floraison abondante.

1.2.2.1. Feuilles

Les feuilles de l'oléastre sont plus petites que l'olivier cultivé. Elles sont simples ovales et persistantes avec une durée de vie de 3ans. La face supérieure des feuilles est d'un vert foncé grisâtre quant à la face inférieure, elle présente un aspect blanc argenté (Fig.3) (Bezanger-Beauquesne et *al.*, 1980).



Figure 3. Feuilles de l'oléastre. A : Face supérieure ; B : Face inférieure (Sadi Korichene et Ami Saada, 2021).

1.2.2.2. Fleurs

Les fleurs sont petites et blanches, hermaphrodites. Chaque fleur comporte un calice segmenté en quatre, une corolle tubulaire avec quatre lobes, deux étamines et un ovaire avec deux carpelles et style court (Besnard et *al.*, 2000). Elles sont blanches formant des grappes courtes aux extrémités des rameaux.

1.2.2.3. Fruit

Le fruit de l'oléastre appelé drupe a une taille de (0,5-1.3cm) et un poids de (1,8-2,3 g) (Fig.4) (Aparicio et Luna, 2002).

Il est composé de trois parties anatomiques distinctes :

L'épicarpe : qui est l'épiderme du fruit, imperméable à l'eau, il passe de couleur verte à la couleur violette puis noire à maturité.

Le mésocarpe : qui est la pulpe du fruit, constitué de cellules dans lesquelles les gouttelettes d'huile vont s'accumuler au cours de la maturation.

L'endocarpe : qui est constitué par un noyau fusiforme, très dur. Il contient deux ovaires dont l'un stérile et le second produit un embryon (Loussert et Brousse, 1978).



Figure 4. Fruit de l'oléastre avant sa maturité (Sadi Korichene et Ami Saada, 2021).

1.2.3. Classification

L'olivier sauvage appartient à la famille des Oléacées, le genre *Olea* qui comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. L'espèce qui est cultivée dans le bassin méditerranéen est *Olea europaea*, dans laquelle sont rencontrées l'oléastre et l'olivier cultivé (Hannachi et al., 2010).

Selon Artaud, (2008), plus de 2000 variétés sont recensées dans le monde. Les techniques de la biologie moléculaire ont apporté un positionnement exact de l'olivier sauvage et de l'olivier cultivé, depuis le siècle dernier.

Cronquist, (1981) a classé cette espèce comme suit :

- **Embranchement** : Magnoliophyta.
- **Sous embranchement** : Magnoliophytina.
- **Classe** : Magnoliopsida.
- **Sous classe** : Asteridae.
- **Ordre** : Scrophulariales.
- **Famille** : Oleaceae.
- **Genre** : *Olea* L.
- **Espèces** : *Olea europaea* L.
- **Sous-espèces** : *Olea europaea* L. ssp. *sativa* Hoffm. et Link (= *O. europaea* L. ssp. *europaea*) ; *Olea europaea* L. ssp. *oleaster* Hoffm. et Link (= *O. europaea* L. ssp. *sylvestris* Miller).

Noms vernaculaires de l'oléastre est donnée comme suit :

- Berbère : azebboudj, désigné sous cette appellation en Kabylie et dans le haut Atlas au Maroc (Boudribila, 2004), ahecad (Ait Youssef, 2006).
- Arabe : berri (Maroc), zebboudj (Algérie) (Ait Youssef, 2006).
- Français : oléastre, olivier sauvage.
- Anglais : wild olive, oleaster.

L'olivier sauvage se distingue de l'olivier cultivé par la présence des pousses courtes et épineuses et par un stade juvénile long. Ses fruits sont également plus petits, avec une faible épaisseur de pulpe, et ils donnent donc peu d'huile. A cause de sa faible hauteur, ces fruits sont facilement consommés par les animaux : la dissémination des noyaux est zoochore (Comte, 1990). L'olivier se caractérise par une distribution plus vaste que celle de l'oléastre (Hannachi et *al.*, 2009).

L'olivier sauvage se multiplie par voie sexuée (graines), alors que l'olivier cultivé par voie végétative (bouturage ou greffage).

L'olivier sauvage est un arbuste de 4 à 6 m de hauteur, dense, branches minces, courtes et épineuses avec des feuilles ovales et elliptiques et un fruit de 1cm.

1.2.4. Répartition géographique

Jusqu'en 1955, l'oléastre n'a reçu aucun intérêt de la part des chercheurs, concernant ses origines et sa répartition. Néanmoins, une multitude de travaux a émergé, à l'instar de ceux de l'équipe du Centre de Bio-archéologie et d'Écologie de l'Institut de Botanique de Montpellier (Centre national de recherche scientifique CNRS et Université Montpellier 2), pour montrer que lors des dernières glaciations les oléastres ont reculé vers le sud, à l'est et à l'ouest du bassin méditerranéen (Terral et *al.*, 2012).

L'aire naturelle de l'oléastre est très étendue recouvrant les plaines et les basses collines (jusqu'à 700 m d'altitude) d'Afrique du Nord depuis le rivage méditerranéen jusqu'aux hautes plaines, là où le climat est relativement doux (Harfouche et *al.*, 2005).

Les études archéologiques et paléobotaniques montrent aujourd'hui que l'oléastre s'est maintenu en divers points de la Méditerranée, même au plus fort du refroidissement (Carrión et *al.*, 2010).

L'extension géographique de l'oléastre est donc plus réduite que celle de l'olivier cultivé. Il est actuellement présent dans le Maghreb, le sud de la péninsule ibérique, les îles de la Méditerranée, le sud de l'Italie, le Péloponnèse, les côtes de Grèce, de Turquie, du Levant du nord de la Lybie et beaucoup plus sporadiquement sur le littoral nord méditerranéen (Zohary et *al.*, 2012) (Fig.5).

L'espèce est plus réduite dans l'Est (Turquie, Chypre et Palestine) par rapport au centre méditerranéen (Corse, France, Tunisie) et l'Ouest (Maroc, Algérie Espagne) (Breton et *al.*, 2006).

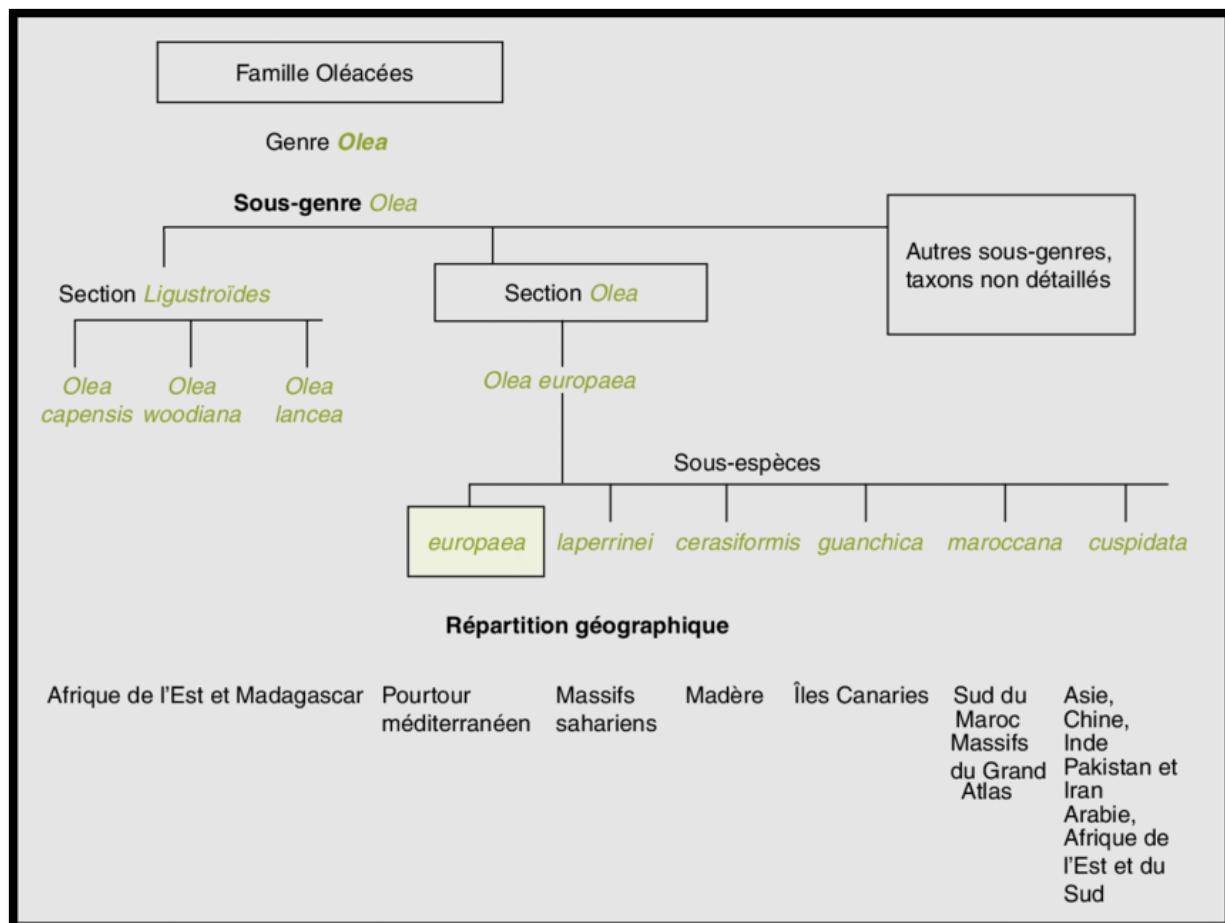


Figure 6. Schéma de la répartition géographique du genre *Olea* (Breton et al., 2006).

1.2.5. Caractéristiques écologiques de l'espèce

Olea europaea subsp sylvestris est caractéristique de l'étage thermoméditerranéenne. L'espèce est, souvent, rencontrée dans les matorrals et boisements des zones méditerranéennes xérophiles.

Sa longévité et la qualité de son bois surpassent celles de l'olivier cultivé (Jean Pagnol, 1996).

Il nécessite des sols à pH neutres, de plus un sol riche en cuivre n'altère pas sa croissance (Chatzissavidis, 2002). Il pousse sur n'importe quel pic élevé, choisissant une crevasse pour enfoncer ses racines pivotantes.

Ses feuilles sont bien adaptées aux conditions de pénuries d'eau grâce à la présence des stomates uniquement sur leur surface inférieure (Fernandez et al., 1997 ; Connor, 2005).

Arbre rustique, il résiste mieux aux excès de température. Il survie à des températures plus élevées que 40°C, mais par contre se détériore à des températures basses moins de 7°C et les pluies de septembre sont importantes pour la maturation du fruit (Pansiot et Rebour, 1961).

L'oléastre est caractérisé par une forte capacité d'adaptation aux diverses conditions physiques (froid, sécheresse, salinité) et biologique (maladie, insecte ravageurs).

Les peuplements d'oléastres présentent une structure, souvent, très complexe et dense, parfois mélangé avec le lentisque (*Pistacia lentiscus*), la Filaire à larges feuilles (*Phillyrea latifolia*) et le Caroubier (*Ceratonia siliqua*). En strate arbustive, plusieurs espèces apparaissent dans les peuplements à oléastre, c'est le cas du Myrte (*Myrtus communis*), le Ciste (*Cistus monspelliensis*), l'Arbousier (*Arbutus unedo*) et la Bruyère (*Erica arborea*).

1.2.6. Composition chimique

Les olives d'oléastre produisent des huiles de bonne qualité en termes d'acides gras, d'antioxydants naturels et de stabilité oxydative (Baccouri et *al.*, 2008). Pour Dabbou et *al.* (2011). Les huiles d'oléastre présenteraient un profil intéressant en termes de composés mineurs composés volatils et phénoliques. Les principaux antioxydants présents dans les olives sont les caroténoïdes et les composés polyphénoliques.

L'étude menée par Hannachi et *al.* (2013), montre que les huiles d'oléastre sont riches en acide oléique et en acides gras monoinsaturés (AGMI), et en polyphénols.

Le fruit d'oléastre est composée d'eau, de glucides et d'huile ainsi que des protéines, cellulose, acides organiques, pigments, minéraux et polyphénols (Boskou et *al.*, 2006). Les polyphénols sont l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et l'alpha tocophérol.

Les feuilles d'oléastres sont riches en composés phénoliques et d'autres composés chimiques. Une étude a été menée par Mestar et *al.* (2018) afin de déterminer la composition chimique d'extrait des feuilles d'oléastre (Tab. 1).

Tableau 1 : principaux composés chimiques identifiés dans l'extrait aqueux des feuilles d'*Olea europaea subsp europaea* L. var *sylvestris* (Miller) (Mestar et al., 2018).

Composants chimiques	Extraits aqueux	
	Temps de rétention (min)	Surface (%)
Hydroxytyrosol	4,898	1,24
Tyrosol	5,865	0,62
Acide caféique	7,076	2,58
Hydroxyquinone	3,869	0,65
Acide 3 hydroxy 4 méthoxycinamique	9,788	3,23
Oleuropéine	9,982	2,68
Naringénine 7 oglucoside	10,395	8,16
Acide 3, 4, 5 triméthoxybenzoïque	10,828	2,48
Glucose 7 Lutéoline	9,236	20,69
Quercétine	12,827	5,45
Acide trimétoxy cinamique	12,827	5,45
Apigénine	14,383	1,12
Rutine	8,827	4,73

1.2.7. Propriétés biologiques

L'acide oléique présent dans les extraits d'oléastre est préventif contre le développement d'athérome et augmente la résistance à l'oxydation. Les niveaux accrus en LDL (Low Density Lipoprotein) sont des facteurs importants dans l'artériosclérose, en facilitant le transport du cholestérol vers les artères. Par contre, les HDL (Hight Density Lipoprptein) sont anti-athérogéniques et transportent le cholestérol vers le foie pour être métabolisé et réutilisé (Huang et Sumpio, 2008).

L'alpha tocophérol qui un polyphénol présent dans l'oléastre, connu comme la forme active de la vitamine E, est hautement résistant à l'oxydation protégeant ainsi le corps humain contre les radicaux libres et la peroxydation lipidique (Huang et Sumpio, 2008).

D'après Mestar, (2019) les extraits aqueux des feuilles d'oléastre possèdent une activité antioxydante croissante ainsi qu'une activité anti-radicalaire, comme ils sont efficaces pour les utiliser comme bio insecticides.

1.2.8. Vertus thérapeutiques

Hutchings et *al.* (1996), rapportent qu'au sud du Maroc la décoction des feuilles est utilisée dans le traitement du diabète et l'hypertension, et aussi comme lotion de l'œil pour les humains et les animaux, et pour traiter le rhume, le mal de gorge, les amygdales agrandies et la diphtérie. Elles sont aussi anti-viral, anti-microbiennes, anti-fongique et hypolipidémiant (Khan et *al.*, 2007).

L'huile d'oléastre possède les mêmes usages thérapeutiques que celles de l'olivier, donc sa consommation limite les maladies cardiovasculaires, les maladies neurologiques, cancers du sein et du colon (Gimeno et *al.*, 2002).

Chapitre 2

Métabolites secondaires

Introduction

Le changement des facteurs environnementaux tels que la température atmosphérique, les précipitations, l'exposition au vent, l'intensité lumineuse, le rayonnement UV-B, la fertilité du sol, la densité d'ozone, les polluants atmosphériques oxydants et la pression partielle de CO₂, exercent une forte influence sur le comportement des végétaux, qui se traduit par des changements, non seulement dans leur morphologie et leur anatomie, mais aussi dans leur physiologie et leur productivité (Kofidis et *al.*, 2003).

Les plantes dans ce cas vont développer des mécanismes pour lutter contre les dégâts causés par ces facteurs par la synthèse de certaines substances appelées « métabolites secondaires » et c'est le cas des composés phénoliques. Par conséquent, leurs quantités et qualités vont être influencées par les facteurs environnementaux et génétiques (Bernal et *al.*, 2013 ; Duarte et *al.*, 2012).

Ces perturbations biotiques et abiotiques, engendrent un stress qui n'est autre qu'un déséquilibre entre la balance des pro-oxydants et les systèmes de défenses antioxydants. Ce déséquilibre déclenche, au sein du végétal, la production de radicaux libres, dits également Espèces Réactives à Oxygène (ERO). C'est l'exemple du radical hydroxyle (OH). Par conséquent, l'oxydation de ces radicaux affecte le système biologique et entraîne des dommages au niveau de l'ADN (Yen et Chen, 1995 ; Gul et *al.*, 2013).

Pour limiter ces dégâts, les plantes vont synthétiser des substances secondaires qui sont des molécules antioxydantes, ayant pour rôle le piégeage des radicaux libres pour empêcher leur accumulation et leur oxydation dans les cellules. Parmi ces substances, on trouve la vitamine C, le β -carotène et les métabolites secondaires, tels que les phénols, des flavonoïdes et des tannins (Popovici et *al.*, 2009 ; Gairola et *al.*, 2010).

1. Métabolites secondaires

Il existe un métabolisme secondaire exclusif au monde végétal. Ces produits, à structures chimiques souvent complexes, sont très dispersés et très différents selon les espèces (Cuendet, 1999).

Les métabolites secondaires sont des substances dérivées des métabolites primaires qui ne participent pas directement au développement des plantes, mais interviennent dans les relations avec les stress biotiques et abiotiques et améliorent l'efficacité de la reproduction (Laurent, 2012).

Ce sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement et représentent des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Merghem, 2009).

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes selon leur appartenance chimique : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes, les composés acétyléniques et les cires (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006).

1.1. Polyphénols

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal retrouvés dans toutes les parties d'une plante.

Ces composés de structures chimiques extrêmement variées participent à l'identité chimique de la plante (Scalbert et Williamson, 2000).


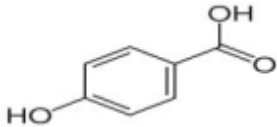
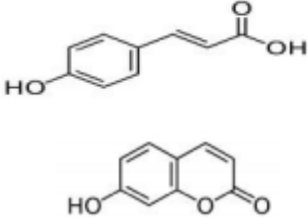

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des substances qui constituent une vaste famille, difficile à définir, et sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique lié directement par un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une fonction : éther, ester, hétéroside (Harborne, 1988).

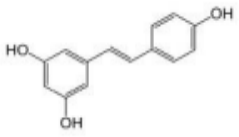
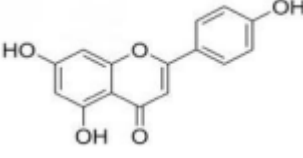
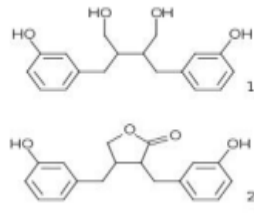
Le terme composé phénolique végétaux englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (Stalikas, 2007).

1.1.1. Classification

Les différentes classes des polyphénols sont distinguées en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base (Tab.2) (Harborne, 1980).

Tableau 2 : principales classes de composés phénoliques dans les plantes (Harborne, 1980 ; Bruneton, 2009).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple	Structure de base
6	C6	Phénols simples	Catéchol, hydroquinone	
7	C6-C1	Acides phénoliques	Gaulois, salicylique	
8	C6-C2	Acétophénone Dérivés de la tyrosine Acides phénylacétiques	3-acétyl-6-méthoxybenzaldéhyde Tyrosol p-hydroxyphénylacétique	/
9	C6-C3	Acides hydroxycinnamiques Phénylpropènes Coumarines Isocoumarines Chromones	Caféique, myristicine férulique, eugénol Umbelliférone, aesculétine Bergenon Eugenin	
10	C6-C4	Naphtoquinones	Juglone, plumbagin	

13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine	/
14	C6-C2-C6	Anthraquinones Stilbènes	Resvératrol Emodin	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine génistéine	
18	(C6-C3)2	lignanes néolignanes	pinosésinol Eusésinol	
30	(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes	Amentoflavone	/

1.1.2. Extraction des polyphénols totaux

La diversité structurale des composés phénoliques et la variabilité de leurs propriétés physico-chimiques a permis de réfléchir et aboutir à différentes méthodes d'extraction et d'isolement des principes actifs (Tab.3). D'après Dai et Mumper, (2010), divers solvants sont utilisés pour leur facilité d'utilisation.

Le rendement des extractions dépend du type d'échantillons, la nature du solvant, de la température d'extraction, et du temps d'agitation.

Les co-solvants les plus fréquemment utilisés sont le méthanol et l'éthanol qui induisent des interactions dipôle/dipôle et à former une liaison hydrogène avec des groupes fonctionnels polaires.

Tableau 3 : quelques méthodes utilisées pour l'extraction des composés phénoliques.

Techniques	Principe	Référence
Extraction par les solvants (macération)	Le contact entre le solvant et la matière végétale a pour but d'isoler une espèce chimique.	(Owen et Johns, 1999)
Extraction assistée par micro-ondes (EAM)	-Elle consiste à chauffer le solvant en contact avec l'échantillon au moyen de l'énergie des micro-ondes, permet d'atteindre au moins d'une minute des rendements d'extractions habituellement atteints après plusieurs heures d'extractions.	(Hudaib et al., 2003)
Extraction par fluide supercritique (SFE)	Cette extraction utilise le dioxyde de carbone (CO ₂) comme solvant d'extraction, du fait de sa densité élevée lui confère un pouvoir de solvatation, ce qui confère un meilleur taux d'extraction.	(Chan et Maznah, 2009)

La lyophilisation aussi est une méthode très utilisée pour l'étude d'un matériel végétal car c'est la technique qui le préserve le mieux. Elle est effectuée à partir d'échantillons végétaux frais, secs ou congelés, elle permet une meilleure extraction des composés phénoliques (Abascal et al., 2005).

1.1.3. Dosage des polyphénols

Chez les végétaux, plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés présentant des variations qualitatives et quantitatives. De ce fait, diverses méthodes de dosage et d'identification ont été adoptées pour étudier aussi bien la quantité et la qualité de ces composés. Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par Singleton et Rossi, (1965).

Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines les plus diverses. La lecture de l'absorbance se fait à 765 nm, par le biais de la gamme étalon. La teneur en polyphénols présents dans les extraits végétaux est exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de résidu sec ou de poudre verte (mg EAG/g RS ou PV).

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une technique assez performante pour la mise en évidence et la quantification des composés d'un extrait végétal (Wollgast et Anklam, 2000).

1.1.4. Effet biologique

Les polyphénols sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques et leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-arthérogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, antithrombotique, cardio protective et vaso- dilatatoire (Tab.4) (Middleton *et al.*, 2000).

Tableau 4 : activités biologiques des composés polyphénoliques (Bahorun, 1997)

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides Phénols (cinnamiques et et Benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et Antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes

Ils sont considérés comme des produits antioxydants naturels et peuvent agir à deux niveaux en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Cai *et al.*, 2004).

Chaque classe de ces composés phénoliques semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques, en ce qui concerne les flavonoïdes. Ces composés peuvent empêcher les dommages oxydatifs par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes (Hodek *et al.*, 2002).

Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (Chung et *al.*, 1998).

Les acides phénols et ses dérivés présentent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti radicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Bruneton, 1999).

1.2. Flavonoïdes

Le mot flavonoïde a été introduit en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette (C6-C3-C6), provenant du latin flavus qui signifie jaune. Ils constituent le plus large groupe des phénols dans la plante. Ils sont également responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles et susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (Hadi, 2004).

1.2.1. Classification

Les flavonoïdes sont classés selon leur structure moléculaire (Tab.5) (Benbrook, 2005) :

Tableau 5 : principales classes flavonoïdes (Benbrook, 2005).

Classe	Exemple
Flavonols	quercétine, kaempférol, myricétine
Flavones	lutéoline, apigénine
Flavanones	herpérétine, naringénine
Flavanols	catéchine, gallocatéchine
Anthocyanines	cyanidine, delphinidine

1.2.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes totaux est fréquemment réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). La courbe d'étalonnage est établie avec la catéchine ou la quercétine en qualité de standard. La lecture se fait à 415 nm, par le biais de la gamme étalon ; les résultats sont exprimés en équivalence et ne présentent pas de spécificité. (Dehpeur et *al.*, 2009).

1.2.3. Effets biologiques

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydantes et anti-cancéreuses (Meddleton et Kardasnam, 1993).

Ils sont reconnus aussi pour leurs nombreuses activités biologiques, qui sont attribuées en partie à leurs propriétés anti-oxydantes, et ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (ROS) (Fuhrman et *al.*, 1995).

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs nombreuses propriétés antimicrobiennes vis-à-vis de différents micro-organismes pathogènes (Yadava et Tiwari, 2005).

2. Métabolites secondaires de la rhizosphère

La rhizosphère peut être définie comme la zone du sol immédiatement en contact avec le système racinaire des plantes et qui est sous son influence (Chen et *al.*, 2006). D'après Boudiaf Nait Kaci, (2014) elle correspond aux premiers millimètres de sol entourant la racine et elle représente un compartiment fondamental des écosystèmes terrestres en raison de son influence majeure sur les cycles biogéochimiques.

Petridis et *al.*, (2012) ont étudié la présence des composés phénoliques dans les racines de quatre cultivars d'olivier (*Olea europaea* L.) et ont identifié, principalement les deux groupes Hydroxytyrosol et l'oleuropéine.

3. Les métabolites secondaires synthétisés au niveau des feuilles

Les composés phénoliques dans les feuilles d'olivier, aussi bien cultivé que sauvage, sont très divers. Elles contiennent plusieurs classes de composés phénoliques comme les flavonoïdes, secoiridoides, hydroxytyrosol (Talhaoui et *al.*, 2015) et présentent une teneur en composés phénoliques variant de 2,8 mg/g MS (Altiok et *al.*, 2008) à 250 mg/g MS (Mylonaki et *al.*, 2008).

Des études ont été faites par Benavente-Garcia et *al.* (2000) sur la composition phénolique des feuilles de l'olivier, dont ils ont identifié cinq groupes principaux de composés phénoliques : oleuropéosides, flavones, flavonols, flavanes-3-ols et composés phénoliques (Tab. 6).

Tableau 6 : composés phénoliques déterminés dans les extraits foliaires d'*Olea europaea* L (Benavente-Garcia, 2000).

Composés phénoliques	Pourcentage d'abondance dans un extrait (%)
Hydroxytyrosol	1.46
Tyrosol	0.71
Catéchine	0.04
Acide caféique	0.34
Acide vanillique	0.63
Vanilline	0.05
Rutine	0.05
Luteolin-7-glucoside	1.38
Verbascoside	1.11
Apigenin-7-glucoside	1.37
Diosmetin-7-glucoside	0.54
Oleuropéine	24.54
Lutéoline	0.21
Diosmetin	0.05

Partie expérimentale

Chapitre 1

Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes

La partie expérimentale concernant ce travail a été réalisée au sein des Laboratoires de Valorisation des Plantes et celui des Ressources Naturelles de Biologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

1.1. Présentation de la zone d'étude

Dans cette étude, la population échantillonnée est localisée au centre de la wilaya de Tizi-Ouzou à la commune de Tizi Rached située à 20 km du chef-lieu de la wilaya. Elle est située à 216 m d'altitude, entre les latitudes ($36^{\circ}41'20,88''$ Nord et $36^{\circ}41'19,26''$ Nord) et les longitudes ($4^{\circ}12'45,84''$ et $4^{\circ}12'47,75''$ Est) (Fig.7).



Figure 7. Situation géographique du site de Tizi Rached (Mestar-Guechaoui, 2019).

La population est exposée sur un versant ubac humide et occupe approximativement 150 m². En 2008, un incendie a complètement décimé les oliviers cultivés du verger. Ces conditions ont permis la réinstallation d'un agroécosystème par le développement de rejets d'oléastre pouvant atteindre, actuellement, 2,5 m de haut.

Cette espèce constitue, par conséquent, le seul phanérophyte de la strate arborée dans cette station. Son recouvrement moyen (à peu près de 50 %), permet l'installation d'espèces arbustives de l'ambiance humide, telles que *Rubus ulmifolius* (la ronce), en plus de l'espèce qui accompagne l'olivier, *Pistacia lentiscus* (Fig.8) (Boudiaf Nait Kaci, 2014 ; Mestar Guechaoui, 2019).



Figure 8. Structure végétale de la population de Tizi Rached. A : *Pistacia lentiscus* ; B : *Rubus ulmifolius* (Mestar Guechaoui, 2019).

Elle est caractérisée par une flore sylvatique très pauvre, en conséquence de l'incendie. La strate herbacée est, également, présente en recouvrement très dense, où sont notées des orchidées (*Ophrys apifera*), des renoncules (*Ranunculus macrophyllus*) et des légumineuses (*Vicia sativa*), preuve d'une ambiance très humide (Mestar-Guechaoui, 2019).

1.2. Echantillonnage des racines

Les racines d'*Olea europaea* subsp *sylvestris* ont été prélevées pendant le repos végétatif, sur 7 arbres, âgés de 15 ans, pendant le mois de janvier de l'année 2016.

Le prélèvement a été réalisé sur 3 profondeurs, par l'utilisation d'un quadra de (25X25X10) cm³. Ce dernier a été enfoncé avec précaution jusqu'à ce que la surface de la couche à prélever atteigne le niveau du quadra (10cm), elles ont été ensuite extraites avec le volume contenu selon la méthode décrite par Uterano et *al.* (2000).

Cette opération a été répétée sur les trois (3) horizons explorés sous chaque oléastre.

-Horizon (H1) : 0 à 10 cm de profondeur.

-Horizon (H2) : 10 à 20 cm de profondeur.

-Horizon (H3) : 20 à 30 cm de profondeur.

Les échantillons prélevés ont été mis immédiatement dans des sacs en plastique et acheminés au laboratoire.

1.3. Matériel du laboratoire

➤ Appareillages

- Agitateur magnétique,
- Balance de précision,
- Réfrigérateur,
- Spectrophotomètre de UV mini-1240,
- Vortex de Neuation,
- moulin à café de Moulinex.

➤ Produits chimiques

- Ethanol à 70 %,
- Carbonate de sodium Na_2CO_3 ,
- Folin–Ciocalteu,
- Solution de chlorure d'aluminium AlCl_3 et
- Solution d'acétate de potassium CH_3COOK .

➤ Autres

- Eau distillée

1.4. Préparation des extraits

Une fois nettoyées et lavées, les racines de l'oléastre ont été séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière.

1.4.1. Broyage

Les racines séchées ont été broyées finement à l'aide d'un moulin à café. Le broyat obtenu a été conservé dans des flacons à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation (Fig.9).



Figure 9. Broyage des racines.

Un échantillon moyen est obtenu à partir des racines des différents arbres (Orgeas et Bonin, 1996).

2. Extraction éthanolique

2.1. Macération

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par Ouzid et *al.* (2018) modifié. 3,5 g du matériel végétal broyé est mis à macérer dans 35ml d'éthanol à 70% à une température ambiante.

Les mélanges obtenus sous agitation magnétique pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière ont été conservés dans des flacons au réfrigérateur pendant 24 heures. (Fig.10).



Figure 10. Etape de l'agitation des solutions.

2.2. Centrifugation

Les solutions ont été centrifugées à 4000 tours/min pendant 15 min pour recueillir le surnageant. Cette opération a été répétée trois fois (Fig.11).



Figure 11. Centrifugation afin d'obtenir le surnageant.

2.3. Evaporation du solvant

L'extrait sec a été obtenu après séchage à l'air libre et à l'abri de la lumière (Fig.12).



Figure 12. Evaporation à l'abri de la lumière et de l'humidité.

3. Dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

3.1. Dosage des phénols totaux

3.1.1. Principe

Le dosage des phénols totaux (PPT) a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu suivant le protocole décrit par Li et *al.* (2007) (Fig. 13).

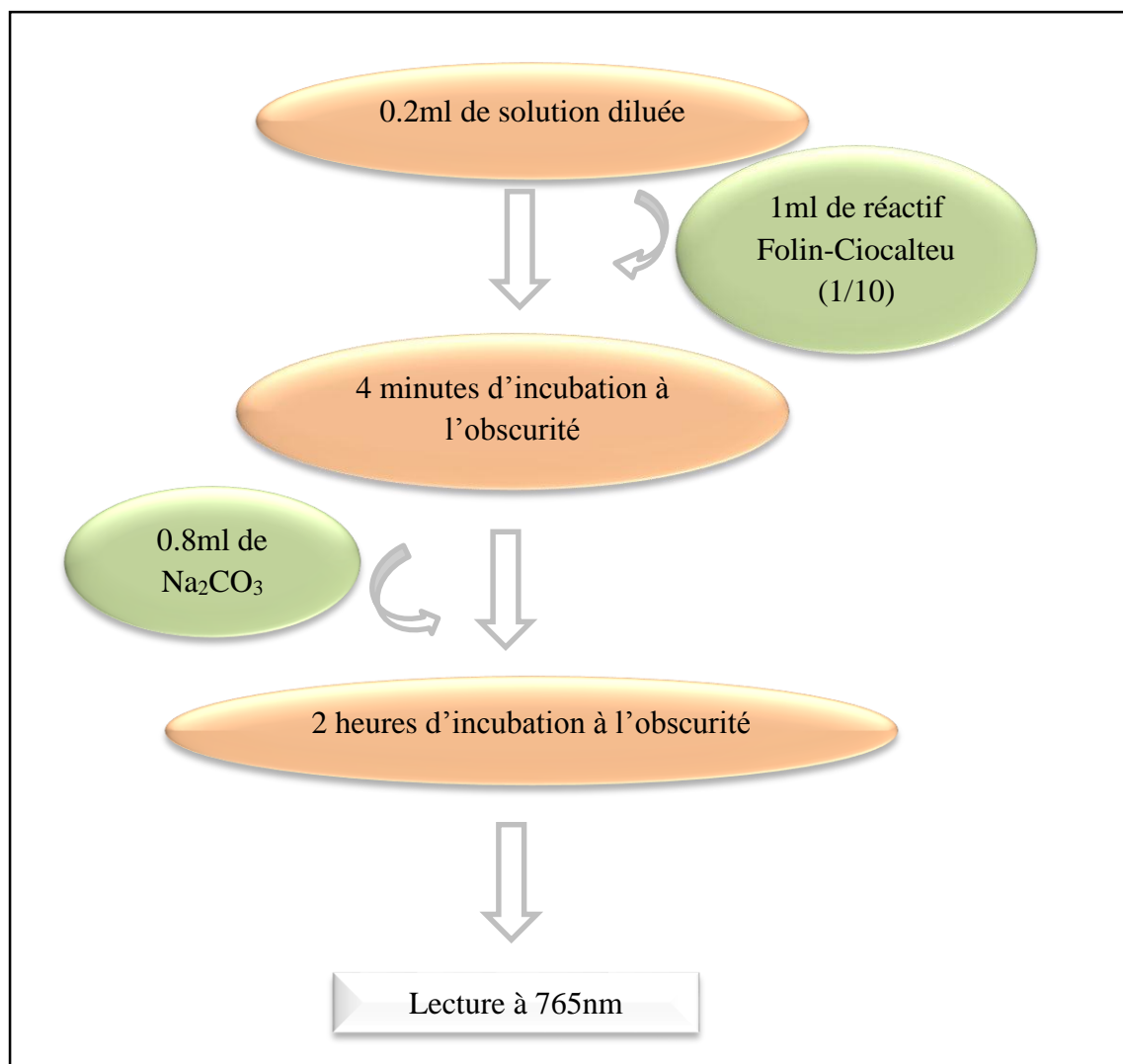


Figure 13. Protocole de dosage des composés phénolique.

3.1.2. Mode opératoire

Un volume de 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au 1/10) est ajouté à 200 μL d'extrait. Le mélange est maintenu pendant 4 min à l'obscurité à la température ambiante puis 0,8 mL de carbonate de sodium (75 g/L) y sont ajoutés (Fig.14).

La solution est alors incubée pendant 2h. La lecture de l'absorbance est réalisée au spectrophotomètre UV-visible à $\lambda=765$ nm. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence pour la quantification des polyphénols totaux et les résultats sont exprimé en mg d'acide gallique par g de résidu sec (mg EAG/g RS) suivant l'équation $y = 0,0103x + 0,0194$.



Figure 14. Dosage des polyphénols totaux.

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

3.2.1. Principe

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ décrite par Ibrahim et *al.* (2015) (Fig.15).

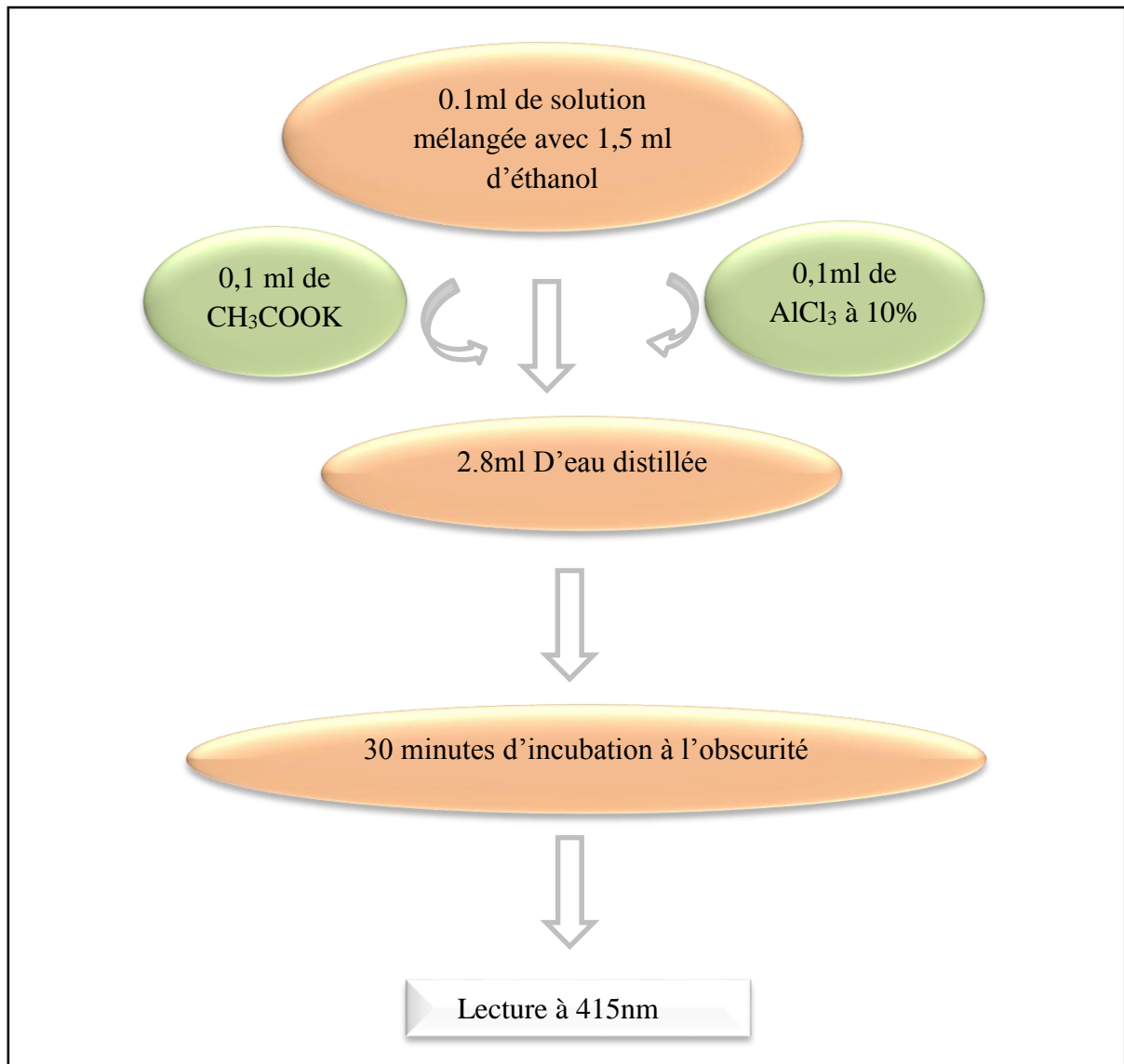


Figure 15. Protocole de dosage des flavonoïdes.

3.2.2. Mode opératoire

0,1 ml de solution a été mélangé avec 1,5 ml d'éthanol, 0,1 ml de AlCl₃, 0,1 ml de CH₃COOK et ajustée avec 2,8 ml d'eau distillée (Fig.16).

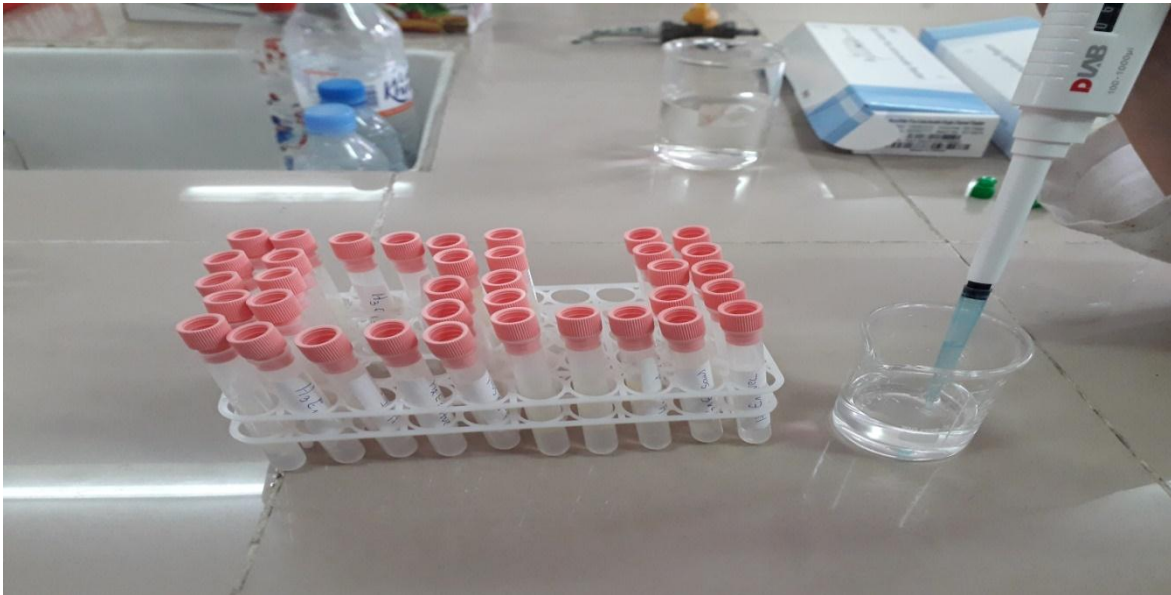


Figure 16. Dosage des flavonoïdes.

Après une incubation de 30 min à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre (Fig.17). Une gamme étalon a été réalisée en utilisant une solution sans $AlCl_3$ et avec 1,6 ml d'éthanol. La teneur en flavonoïdes totaux a été exprimée en mg équivalent quercétine par gramme de résidu sec (mg EQ /g RS) suivant l'équation $y = 0.0017x + 0.0289$.



Figure 17. Lecture pour les flavonoïdes.

4. Analyse statistique :

Les moyennes et les écarts type ainsi que les teneurs sont calculés à partir de 3 essais avec Excel de Microsoft office 2010. Les bases de données établies pour les dosages sont soumises à une analyse de la variance (ANOVA) au risque de 5% avec le logiciel STATISTICA.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux (PPT) des racines d'*Olea europaea* Subsp *sylvestris* révèle leur présence en quantité importante.

Les teneurs en PPT sont observées sur la figure 18. Les résultats des dosages font apparaître des PPT dans trois horizons de différentes profondeurs. Cependant, une variation quantitative est révélée entre les trois horizons.

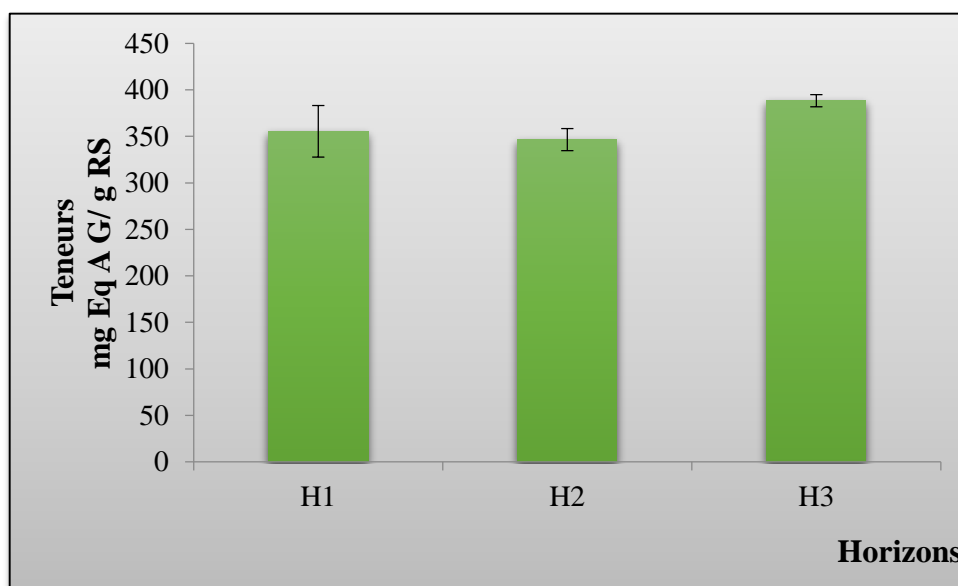


Figure 18. Distribution des teneurs en (PPT) des extraits d'*O. europaea subsp sylvestris*.

Selon les résultats présentés dans la figure 18, l'horizon 3 présente la teneur la plus importante ($388,30 \pm 6,52$ mg Eq AG/ g RS), suivi par l'horizon 1 ($355,37 \pm 27,65$ mg Eq AG/ g RS) et la plus faible teneur correspond donc à l'horizon 2 ($346,46 \pm 11,80$ mg Eq AG/ g RS).

L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative pour les teneurs en PPT entre les horizons, vérifié par la valeur ($p \text{ value} = 0.0000001 < \alpha$).

2. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux :

La distribution des teneurs en flavonoïdes est observée dans la figure 19. Les résultats des dosages font apparaître une présence des flavonoïdes dans les trois horizons. Cependant, une variation quantitative est révélée entre les trois horizons.

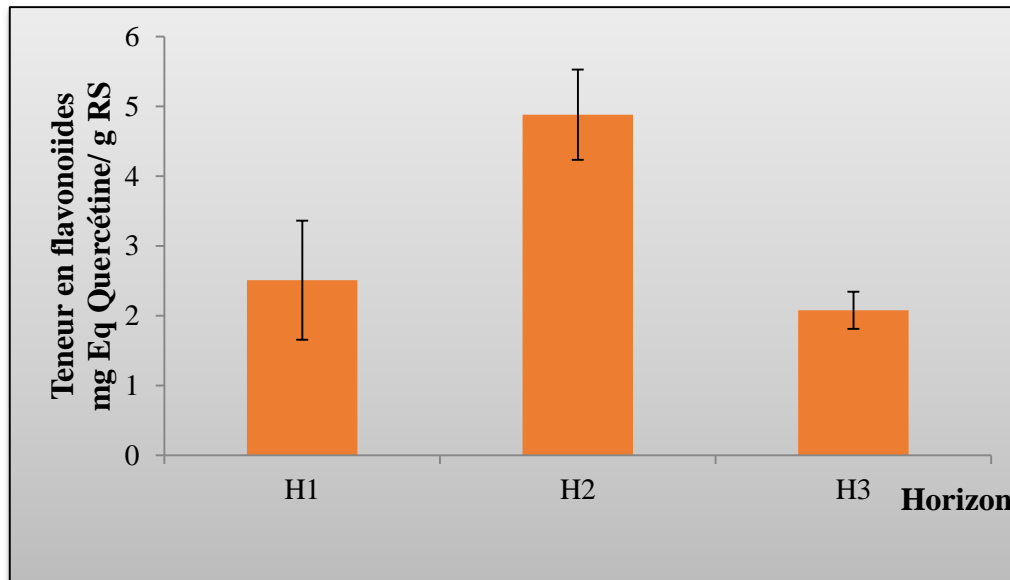


Figure 19. Distribution des teneurs en flavonoïdes des extraits d'*O. europaea subsp sylvestris*.

Selon les résultats présentés dans la figure 19, l'horizon 2 présente la teneur la plus importante en flavonoïdes ($4,88 \pm 0,64$ mg Eq Q/ g RS), suivi par l'horizon 1 ($2,50 \pm 0,85$ mg Eq Q/ g RS) et la plus faible teneur pour l'horizon 3 ($2,07 \pm 0,26$ mg Eq Q/ g RS).

L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative pour les teneurs en flavonoïdes entre les horizons, vérifiée par la valeur ($p \text{ value} = 0,000006 < \alpha$).

Les racines d'*Olea europaea* subsp *sylvestris* sont caractérisées par leur richesse en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux comme les valeurs obtenues l'expriment. Ceci, peut être expliquer par son exposition aux divers stress biotiques et abiotiques, tels que le froid, qui provoque une déshydratation cellulaire et un déséquilibre phytohormonal et une production des ERO (Mehrotra et *al.*, 2020). Ceux-ci peuvent engendrer une production importante des composés phénoliques, de plus les facteurs édaphiques qui sont liées aux caractéristiques physiques et chimiques du sol (stress nutritionnel) ont un effet marqué sur le niveau phénolique.

En effet, le sol de Tizi Rached présente des teneurs très faible en phosphore et en azote (Boudiaf Nait Kaci, 2014 ; Mestar, 2019), ce qui conduit à cette production élevée en PPT et FT.

Néanmoins, une variation quantitative est relevée entre les trois horizons en fonction de la profondeur qui peut être due à la longueur, diamètre, biomasse ainsi que les poils racinaires, c'est-à-dire plus ces derniers sont grands dans une partie de la racine plus elle produise des PPT et FT.

La teneur en flavonoïdes de tous les extraits préparés présente un profil différent de celui des polyphénols. Cependant dans notre cas la teneur en PPT est plus importante que celles des flavonoïdes cela peut être expliqué par le fait que Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols. Beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif donnant un taux phénoliques apparent élevé (Tawaha et *al.*, 2007).

En plus les horizons à teneur élevée en PPT ($H_3 > H_1 > H_2$) présentent des valeurs plus faibles pour les flavonoïdes ($H_2 > H_1 > H_3$).

H_1 : PPT= $355,37 \pm 27,65$ mg Eq AG/ g RS ; FT= $2,50 \pm 0,85$ mg Eq Q/ g RS.

H_2 : PPT= $346,46 \pm 11,80$ mg Eq AG/ g RS ; FT= $4,88 \pm 0,64$ mg Eq Q/ g RS.

H_3 : PPT= $388,30 \pm 6,52$ mg Eq AG/ g RS ; FT= $2,07 \pm 0,26$ mg Eq Q/ g RS.

Une comparaison est effectuée avec des extraits aqueux foliaires de l'espèce. Les concentrations des PPT et FT obtenues dans les racines d'oléastre dans les trois horizons sont inférieures à celle des feuilles ($834,55$ EAG/g RS) et ($33,88$ mg EQ/g RS) respectivement pour les PPT et FT en comparaison des valeurs obtenues dans l'étude menée par Mestar, (2019) sur les feuilles de ce dernier. Les feuilles sont beaucoup plus exposées aux stress tels que les rayonnements solaire (radiations UV), le froid, les attaques des insectes pathogènes...etc.

Nos résultats peuvent être appuyés par l'étude de Kraus, (2003) où la concentration des PPT des racines est toujours inférieure à celle des feuilles de *Bolander pine*, *Huckleberry*, *Labrador tea*.

La teneur en ces composés diffère d'un organe à un autre pour la même variété. Ce qui montre que la répartition des polyphénols est faite de façon inégale dans la plante (Macheix et al., 2005).

Les teneurs en polyphénols totaux obtenues par Bentab et al. (2014) pour les racines de *Fredolia aretioides* (tab.7), sont plus importantes $971,05 \pm 0,83$ mg E AG/g RS que celles enregistrées dans nos résultats sur les racines d'*Olea europaea* subsp *sylvestris*.

Tant dit que les teneurs obtenues par Petridis et al. (2012) pour les racines de l'olivier (*Olea europaea* L.) ainsi que celles de Aissaoui et Guellal, (2020) pour les racines de *Quercus suber* L. sont moins importantes que celles enregistrées dans les racines de l'oléastre pour les trois horizons que nous avons obtenu (tab.7). La différence de teneur en PPT entre nos résultats et ceux des auteurs pourrait être due aux méthodes d'extractions utilisées et la nature du sol qui conditionne la nutrition, la croissance et le développement des racines à travers des processus d'élongation des cellules et donc la longueur des racines, leur diamètre tandis que le développement influencera la durée de la croissance, l'embranchement et l'orientation des racines. Ainsi que l'architecture racinaire qui contribue à l'ancrage de la plante dans le sol, mais aussi sa capacité d'exploration du profil de sol, et donc son accès aux ressources (Matthieu et al., 2018).

Tableau 7. Comparaison des teneurs en PPT des extraits racinaires

Espèces	Teneurs en PPT	Auteurs
<i>Fredolia aretioides</i>	$971,05 \pm 0,83$ mg E AG/g RS	Bentabet et al., (2014)
Olivier (<i>Olea europaea</i> L.)	18 mg E AG/g	Petridis et al., (2012)
<i>Quercus suber</i> L	13.225 ± 0.264 µg EAG /mg PV	Aissaoui et Guellal, (2020)

Selon Ebrahimi et *al.* (2008), les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs (édaphiques, climatiques et environnementaux ...etc). Le patrimoine génétique, la période de récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas et *al.*, 2004), l'état physiologique et l'âge de la plante (De leonardis et *al.*, 2008), la méthode d'extraction et la méthode de quantification qui peut également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux et flavonoïdes (Lee et *al.*, 2003).

Conclusion et perspectives

Les polyphénols et les flavonoïdes sont des molécules du métabolisme secondaire synthétisées par les végétaux afin de s'adapter et surmonter des mauvaises conditions, caractéristiques de la méditerranée. Ils protègent les espèces contre plusieurs types de stress biotiques (l'attaque des herbivores et des ravageurs...etc.) et abiotiques (sécheresse, froid...etc.).

L'oléastre est une espèce sclérophylle caractéristique de l'étage de végétation thermoméditerranéenne rencontrée dans des milieux très anthropisés, il compte parmi les espèces méditerranéennes les plus résistantes aux mauvaises conditions.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à l'évaluation des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux d'un extrait racinaires d'*Olea europaea* subsp *sylvestris* dans la wilaya de Tizi Ouzou, à la commune de Tizi Rached. Ce travail a été effectué sur des solutions éthanoliques de trois horizons des racines

L'identification des polyphénols et flavonoïdes extraits au niveau des trois horizons d'*Olea europaea* subsp *sylvestris* a permis de déduire que les racines sont riches en polyphénols et en flavonoïdes respectivement pour les trois horizons.,

H₁ : PPT= 355,37 ± 27,65 mg Eq AG/ g RS ; FT= 2,50 ± 0,85 mg Eq Q/ g RS.

H₂ : PPT= 346,46 ± 11,80 mg Eq AG/ g RS ; FT= 4,88 ± 0,64 mg Eq Q/ g RS.

H₃ : PPT= 388,30 ± 6,52 mg Eq AG/ g RS ; FT= 2,07± 0.26 mg Eq Q/ g RS.

Ce qui indique qu'ils sont spécialisés dans les mécanismes de défense contre les différents stress.

Nous avons constaté qu'il existe une variation quantitative entre les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes et cette variation a été enregistrée aussi entre les horizons, ce qui peut être traduit par l'exposition des racines à des stress différents ainsi que la longueur et le diamètre racinaires.

En comparaison avec d'autres études, nous avons enregistré des différences qui sont peut-être dues à plusieurs facteurs comme la période d'échantillonnage, le type de solvant et la méthode d'extraction utilisés...etc. Cette variation a été également observée entre les organes d'une même variété.

En perspective, il serait intéressant de compléter cette étude avec une analyse phytochimique plus approfondie, afin de :

- Utiliser d'autres méthodes d'extraction avec différents solvants.
- Déterminer d'autres composés phénoliques totaux.

- Etudier les propriétés biologiques des racines de cette plante, à savoir les propriétés antioxydantes, antivirales et autres.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abascal K., Ganora L. & Yarnell E. (2005). The effect of freeze drying and its implications for botanical medicine: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(8): 655-660.

Aissaoui, L., Guellal, M. (2020). Contribution à l'étude de la variation saisonnière des teneurs en polyphénols totaux d'une solution aqueuse des racines de chêne liège « *Quercus suber* L. » dans la forêt domaniale d'Azzouza (Mémoire de master). Université Mouloud MAMMARI De Tizi-Ouzou P 41.

Ait Youssef M. (2006). Plantes médicinales de Kabylie. Ed. IBIS Press, Paris, 349p.

Altıok E., Bayçın D., Bayraktar O. & Ülkü S. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, 62(2): 342-348.

Aparicio M. & Luna G. (2002). Characterization of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 614-637.

Artaud M. (2008). L'olivier sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique. Ed. C.O.I, 30 p.

Aziz, E.E., Hendawi, E. & Omer E.A. (2008). Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. *American-Eurasian J Agr & Env Sci* 4:443-450.

Baccouri O., Guerfel M., Baccouri B., Cerretani L., Bendini A., Lercker G., Zarrouk M. & Daoud Ben Miled D. (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry* 109 :743–754.

Bahorun T. (1997). Substances Naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*, p 83.

Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A. & Del Rio J.A. (2000). Antioxydant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4): 457-462.

Références bibliographiques

Benbrook C.M. 2005. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique. The Organic Center of Education Promotion. P : 83.

Bentabet N. Z., Boucherit-Otmani, K. Boucherit. (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.

Bernal M., Llorens L., Julkunen-Tiitto R., Badosa J. & Verdaguer D. (2013). Altitudinal and seasonal changes of phenolic compounds in *Buxus sempervirens* leaves and cuticles. *Plant physiology and biochemistry*, 70(1): 471-482.

Besnard G. & Berville A. (2000). Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea europaea* L. *subsp. europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences Série III.*, **323**, 81-173.

Beta T., Nam S., Dexter J.E. & Sapirstein H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4): 390-393.

Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Tork M. & Trotin F. (1980). Plantes médicinales des régions tempérées. Ed. Maloine S.A, Paris, 440p.

Boskou D., Blekas G. & Tsimidou M. (2006). Olive Oil Composition in Olive Oil, Chemistry and Technology, Ed., The American Oil Chemists Society. 41-72.

Bouby L. & Terral J. F. (2016). Archéobiologie et agrobiodiversité de l'olivier : domestication et diffusion dans l'Ouest de la Méditerranée. *Options méditerranéennes.*, **118**, 17-27.

Boucher Ch., Yves D., Chaux D. & Nestle S. (2011). Guide des arbres et arbustes de méditerranée. Ed. Delachaux, Paris, 291p.

Boudiaf nait kaci M. (2014). Biodisponibilité du phosphore dans la rhizosphère de l'olivier (*Olea europea* L.) (Thèse de doctorat) Université Mouloud MAMMARI Tizi-Ouzou.

Boudribila M. (2004). Les anciens Amazighs avant les phéniciens : Mode de vie et organisation sociale. AWAL. 29 : 17-31.

Références bibliographiques

- Breton C., Tersac M. & Berville A. (2006).** SSR genetic diversity in wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) suggests several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin and gene flow with olive. *Journal of Biogeography* 33:1916-1928.
- Breton C, Médail F, Pinatel C & Bervillé A, (2006).** De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*. Vol. 15, n° 4 : 329-336.
- Bruneton J. (1999).** Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, *Tec et Doc Lavoisier*, p 1120.
- Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie. Lavoisier, 4eme édition. Paris: 901-904.
- Cai Y., Luo Q., Sun M. & Corke H. (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17): 2157-2184.
- Carrion Y., Ntinou M., Badal E. (2010).** *Olea europaea* L. in the North Mediterranean basin during the Pleniglacial and the early-middle Holocene. *Quaternary Science Reviews*, April 2010, vol. 29, n. 78: 952-968.
- Chan K.N. & Maznah I. (2009).** Supercritical carbon dioxide fluid extraction of hibiscus *Canna bimus* L. seed oil: A potential solvent-free and high antioxidant edible oil. *Food chem* 6: 1291-1296.
- Chen YM., Wang MK., Zhuang SY., Chiang PN. 2006.** Chemical and physical properties of rhizosphere and bulk soils of three tea plants cultivated in Ultisols. *Geoderma* **136**, 378-387.
- Chung K., Wong T.Y., Wei C., Huang Y & Lin Y. (1998).** Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 38: 421-464.
- Comte H. (1990).** Le tour de l'olivier. Ed. Régine Vallée, Paris, 116p.
- Connor D.J. (2005).** Adaption of olive (*Olea europaea* L.) to water-limited environments. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56:1181-1189.

Références bibliographiques

Cronquist A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, USA. P 1262.

Cuendet M. (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, P 24.

Dabbou S., Selvaggini R., Urbani S., Taticchi A., Servili M. & Hammami M. (2011). Comparison of the Chemical Composition and the Organoleptic Profile of Virgin Olive Oil from Two Wild and Two Cultivated Tunisian *Olea europaea*. *Chemistry & Biodiversity* 8:189–202.

Dai J. & Mumper R.J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10): 7313-7352.

Dehpour M. A., Ibrahimzadeh N., seyed Fazel. & N. Seyed Mohammad. (2009). Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas Y Aceites*. Vol. 60. pp. 405-412.

De leonardis A., Acetini A., Alfano G., Macciola V & Ranalli G. (2008). Isolation of a hydroxytyrosol rich extract from olive leaves (*Olea Europaea* L) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *Eur. Food. Res. Technol*, 226, 653-659.

Duarte A. R., Santos S C., Seraphin J.C. & Ferri P.H. (2012). Influence of spatial, edaphic and genetic factors on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23 (4): 737-746.

Ebrahimi N.S., Hadian. J., Mirjalili M.H., Sonboli A. & Yousefadi M. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry*. 110(4): 927-931.

Edward F. & Gilman (1993). Associate professor Environmental Horticulture Departement Dennis G., Watson., Associate professor Agricultural Engineering. Sciences. University of florida. Gainseville.3: 26-1 1.

Références bibliographiques

Ellstrand (2003). NC. Dangerous liaisons? When cultivated plants mate with their wild relatives. In: Schneider SS, ed. Synthesis in Ecology and Evolution. Baltimore; London: The Johns Hopkins University Press, 2003.

Fernandez J.E., Moreno F., Gironi F., Blázquez O.M. (1997). Stomatal control of water use in olive tree leaves. *Plant Soil* 190:179-192.

Figueiral & Terral, (2002). Late Quaternary refugia of Mediterranean taxa in the Portuguese Estremadura : charcoal based palaeovegetation and climatic reconstruction. *Quaternary Sciences Reviews*, February 2002, P 549-558.

Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. (1995). Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation *Nutr.* 61: 549-554.

Gairola S., Shariff N.M. & Bhatt A. (2010). Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants: issues needs immediate attention. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(18): 1825-1829.

Ghedira K. (2008). L'olivier. *Phytothérapie.*, 6 : 83-89.

Gimeno E., Fit M., Lamuela-Raventós R.M., Castellote A., Covas M. & Farré M. (2002). Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56: 114-120.

Green P.S. (2002). A revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bull.*, 57: 91-140.

Gul M.Z., Ahmad F., Kondapi A.K., Qureshi I.A. & Ghazi I.A. (2013). Antioxidant and anti proliferative activities of *Arbus precatorius* leaf extracts – an in vitro study. *BMCComplementary and Alternative Medicine*, 13(1): 53-64p.

Hadi M. 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres : Etudes et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur.

Hannachi H., Breton C., Msallem M., Ben El Hadj S., El Gazza M & Bervillé A. (2008). Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms: a case study in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 116 : 280-290.

Références bibliographiques

Hannachi H., Breton C., Msallem M., Ben El Hadj S., EL Gazzah M. &

Berville A. (2010). Genetic Relationships between Cultivated and Wild Olive Trees (*Olea europaea* L. var. *europaea* and var. *Sylvestris*) based on nuclear and chloroplast SSR Markers. *Natural Resources.*, **2**, 95-103.

Hannachi H., Nasri N., Elfalleh W., Tlili N., Ferchichi A., & Msallem M. (2013). Fatty Acids, Sterols, Polyphenols, and Chlorophylls of Olive Oils Obtained from Tunisian Wild Olive Trees (*Olea europaea* L. var. *sylvestris*). *International Journal of Food Properties* 16:1271–1283.

Hannachi H., Sommerlatte H. & Breton C. (2009). Oleaster (var. *sylvestris*) and subsp. *cuspidata* are suitable genetic resources for improvement of the olive (*Olea europaea* subsp *europaea* var *europaea*). *Genetic Resources and Crop Evolution.*, **56**, 393-403.

Harborne J.B. (1980). Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series, **8**, 329-402.

Harborne J.B. (1988). The flavonoids, Advances in research since 1980. Chapman & Hall. London.

Harfouche A., Nedjahi A., Ellatifi M. & Daly-Hassen H. (2005). Les ressources génétiques forestières Nord-Africaines et leur conservation. *Revue forestière française*, LVII - (1) : 15-32.

Hodek P., Trefil P., Stiborova M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.*, **139** : 1–21.

Huang C-L & Sumpio B-E. (2008). Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health. Vol. 207, No. 3: 407-416.

Hudaib M., Gottir R., Pomponio R., Cavrini V., (2003). Recovery evaluation lipophilic markers from *Echinacea purpurea* roots applying microwave-assisted solvent of extraction versus conventional methods. *J. Sep. Sci.*, **26**, 97-104.

Hutchings A., Scott A.H., Lewis G C. & Unningham A. (1996). Zulu Medicinal Plants. An Inventory. University of Natal Press, Pietermaritzburg: 235-236.

Références bibliographiques

- Ibrahim M.M., Al 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.
- Jean Pagnol. (1996).** L'Olivier. 5^{ème} Ed AUBANEL. Préface de P. Bonnet Président de la Fédération Internationale d'Oléiculture. 15p.
- Khan M.Y., Panchal S., Vyas N., Butani A & Kumar V. (2007)** *Olea europaea*: a phyto-pharmacological review. *Pharmacognosy Reviews*. 1:114-118.
- Kofidis G., Bosabalidis A.M. & Moustakas M. (2003).** Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in Origanum (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany*, 92(5): 635-645.
- Kraus, T. E. C., Zasoski, R. J. & Dahlgren, R. A. (2004).** Fertility and pH effects on polyphenol and condensed tannin concentrations in foliage and roots. *Plant and Soil*, 262(1-2), 95-109.
- Laurent Bray. 2012.** initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert Interactions végétales Conservation du jardin botanique de la ville Paris science végétale la guerre biologique est déclarée vu dans l'officiel jardin motoculture - n°150 janvier/février le magazine référence de l'acmotoculture de jardin –espaces verts l'officiel jardin tualité jardin – espaces verts.
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. & Lee C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51(25) :7292-7295.
- Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F & Tian Y. (2007).** Évaluation de la capacité antioxydante et du contenu phénolique total de différentes fractions de microalgues sélectionnées. *Food Chimestry*, 102 : 771-776.
- Loussert R. & Brousse G. (1978).** L'olivier. Coll. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, 480p.
- Lynch M. (1986).** Rhizosphere Microbiology and its Manipulation, *Biological Agriculture & Horticulture: An International Journal for Sustainable Production Systems*, 3:2-3, 143-152. <http://dx.doi.org/10.1080/01448765.1986.9754468>.

Références bibliographiques

Matthieu Carof, Anne Laperche, Patrice Cannavo, Safya Menasseri-Aubry, Olivier Godinot, et al. (2018). Valorisation des interactions plante-sol pour la nutrition et la santé des plantes. Innovations Agronomiques, INRAE, 2018, 69, pp.71 - 82. 10.15454/D8RT59ff. hal-01949953ff.

Macheix J J. (1999). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle? Acta botanica gallica, 143(6) : 473-479.

Macheix J J., Fleuriet A. & Jay-Allemand. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes (PPUR) : Lausanne, Switzerland. 192 p. <http://books.google.com>.

Madlung, A., & Comai, L. (2004). The effect of stress on genome regulation and structure. Annals of Botany, 94(4), 481-495.

Mario E. G., Andreas L., (2008). Reactive species: a cell damaging rout assisting to chemical carcinogens. Cancer Lett., 266, 73-83.

Merghem R. (2009). Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine : 107-133.

Mestar Guechaoui N. (2019). Effet des facteurs de l'environnement sur les activités antioxydante et bioinsecticide d'un extrait végétal aqueux de l'espèce *Olea europaea* subsp *sylvestris* dans la région de Tizi Ouzou (Thèse de doctorat) Université Chadli Bendjedid El-Tarf P 55, 56 et 66.

Mestar-G. N., Boudiaf-N. M., Lahcene. S., Abbaci. H., I-Aiche. G., Metna. B., Smail-Saadoun. N., Faiza Taibi. & Houali. K. (2018). Bio-insecticidal effects of Oleaster leaves aqueous extracts against *Psylla* larvae (*Euphyllura olivina* (Costa)), a primary pest of *Olea europaea* L. E-ISSN : 1165-158X / P-ISSN : 0145-5680. www.cellmolbiol.org.

Middleton E & Kandaswami J.C. (1993). The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London,p 617-652 .

Middleton E., Kandaswami C & Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.

Références bibliographiques

Miliauskas G., Venskutonis P.R. & Van Beek T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*. 85(2) :231- 237.

Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P & Kefalas P. (2008). Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal Bioanal. Chem.* 392 (5) : 977-985.

Orgeas J.& Bonin G. (1996). Variabilité des nutriments foliaires de *Quercus suber* L dans différentes situations écologiques dans le massif des Maures (Var, France), et relation avec la production de liège. *Ann. Sci. For.* 53 : 615-624.

Ouzid. Y., Smail-Saadoun. N & Houali. K (2018). Etude comparative de in vitro activité antioxydante des champignons endophytiques foliaires et des extraits de feuilles de *Peganum harmala* de dayateaiat (Laghouat, Algérie). *Journal des sciences fondamentales et appliquées*, ISSN 1112-9867.

Owen P. & Johens T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *J. Ethnoph.* 64: 149-160.

Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., et al. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview *CurrTrendsBiotechn&Pharmy* 9:293-304.

Pansiot F. P & Rebour H. (1961). Improvements in Olive Cultivation. Rome : FAO.40- 1.

Petridis, A., Therios, I., Samouris, G. & Tananaki, C. (2012). Salinity-induced Changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. *Environmental and Experimental Botany*, 79, 37-43.

Popovici C., Saykova I. & Tylkowski B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4(1) : 25-39.

Ramakrishna A & Ravishankar G A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 6(11), 1-12.

Références bibliographiques

- Rubio De Casas R., Besnard G., Schönswetter P., Balaguer L. & Vargas P. (2006).** Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 113(4): 575-583.
- Sadki N. (1988).** Contribution à l'étude des groupements à olivier et lentisque de la region d'Annaba. Essai phytosociologique. Th. Doc. Sci. Biologiques. USTHB. 198p.
- Scalbert A & Williamson G. (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, 130, 2073-2085.
- Sidhoum. (2011).** Contribution à l'étude pédologique et génétique de quelques variétés de l'olivier dans la wilaya de Tlemcen. Mém. Mag. Univ. Tlemcen, 144p.
- Singleton VL & Rossi JA (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-15.
- Stalikas C. D (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295.
- Talhaoui N., Taamalli A., Gomez-Caravaca A.M., Fernandez-Gutierrez A & Segura-Carretero A. (2015).** Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77 : 92-108.
- Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M., & Eliamat T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected jordanian plant species. *Food Chem*, (in press).
- Terral J.F., Newton C., Ivorra S., Gros- Balthazard M., de Morais C.T., Picq S., Tengberg M. & Pintaud J.-C. (2012).** Insights into the historical biogeography of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) using geometric morphometry of modern and ancient seeds. *Journal of Biogeography*, 39(5) : 929-941.
- 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.
- Vermerris W. (2006).** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 14020-5163-8 (HB).

Références bibliographiques

Wollgast J. & Anklam E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6): 423-447.

Yadava R.N & Tiwari L. 2005: A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *Butea monosperma*. O. Kuntze. *J. Asian. Nat. Prod. Res.* 7(2): 185-188.

Yen G.C. & Chen H.Y (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1):27-32.

Zohary D., Hopf M., Weiss E. (2012). Domestication of plants in the Old World. 4. Ed. Oxford: Oxford University Press. 243 p.

RESUME

Olea europaea subsp *sylvestris* est une espèce qui appartient à la famille des Oléacées. Elle est très importante sur le plan écologique et socio-économique. Cette espèce compte parmi les espèces méditerranéennes les plus résistantes aux mauvaises conditions, car elle présente une forte capacité d'adaptation aux stress biotiques et abiotiques, ce qui lui permet de reconstituer les écosystèmes après leurs dégradations. De plus, elle est dotée de diverses vertus thérapeutiques. Son huile et ses feuilles sont très utilisés pour le traitement de plusieurs maladies comme les infections, le diabète, les cancers et l'hypertension. Cette espèce est exposée d'une façon continue à divers stress ce qui traduit par la production des radicaux libres au niveau de tous ses organes comme les racines. Afin de s'adapter, elle synthétise certains métabolites secondaires comme les polyphénols et les flavonoïdes qui jouent un rôle dans l'interaction de la plante avec son environnement. Pour l'évaluation des teneurs en polyphénols totaux (PPT) et en flavonoïdes totaux (FT) d'une solution éthanolique des racines de l'oléastre *Olea europaea* subsp *sylvestris*, un échantillonnage des racines a été effectué sur sept sujets d'oléastre, au mois de janvier (2016). Les échantillons nettoyés et séchés ont subi un broyage afin d'obtenir une poudre végétale. Trois horizons sont considérés (H1, H2, H3) en fonction de la profondeur. Le dosage des (PPT) a permis de révéler leurs présences en quantités importantes qui sont respectivement $355,37 \pm 27,65$ mg Eq AG/g RS, $346,46 \pm 11,80$ mg Eq AG/g RS et $388,30 \pm 6,52$ mg Eq AG/g RS pour l'horizon 3 qui présente la plus forte teneur. L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative pour les teneurs en PPT entre les horizons. Contrairement au (PPT) le dosage des (FT) a permis de révéler leurs présences mais pas en quantités importantes qui sont respectivement $2,50 \pm 0,85$ mg Eq Q/g RS, $4,88 \pm 0,64$ mg Eq Q/g RS et $2,07 \pm 0,26$ mg Eq Q/g RS pour l'horizon 3 qui présente la plus faible teneur. L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative pour les teneurs en flavonoïdes entre les horizons. Ces résultats expliquent qu'il existe une variation quantitative entre les teneurs en (PPT) et en flavonoïdes confirmé par une analyse statistique qui a révélé une différence significative entre les teneurs en (PPT) et les teneurs en (FT) donc on a enregistré une corrélation négative qui est peut-être due à l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu qui peut réagir avec plusieurs d'autres composés ainsi que l'exposition des racines à des stress différents. Comme nous avons synthétisé une différence en comparaison à d'autres organes d'oléastre et d'autre racines végétales qui attribué à plusieurs facteurs édaphiques, climatiques et environnementaux.

Mots clés : Oléastre (*Olea europaea* subsp *sylvestris*), teneurs en polyphénols totaux, teneurs en flavonoïdes, stress environnementaux, métabolites secondaires.

SUMMARY

Olea europaea subsp *sylvestris* is a species that belongs to the Oleaceae family. It is very important from an ecological and socio-economic point of view. This species is one of the most resistant Mediterranean species to bad conditions, because it has a strong capacity of adaptation to biotic and abiotic stresses, which allow it to restore ecosystems after their degradation. In addition, it has various therapeutic virtues. Its oil and leaves are widely used for the treatment of several diseases such as infections, diabetes, cancers and hypertension. This species is continuously exposed to various stresses, which results in the production of free radicals in all its organs such as the roots. In order to adapt, it synthesizes certain secondary metabolites such as polyphenols and flavonoids, which play a role in the interaction of the plant with its environment. For the evaluation of total polyphenol (TPP) and total flavonoid (TF) contents of an ethanolic solution of the roots of oleaster *Olea europaea* subsp *sylvestris*, root sampling was performed on seven oleaster subjects, in the month of January (2016). The cleaned and dried samples underwent grinding to obtain a plant powder. Three horizons are considered (H1, H2, H3) according to the depth. The determination of (PPT) revealed their presence in significant quantities which are respectively 355.37 ± 27.65 mg Eq AG/g RS, 346.46 ± 11.80 mg Eq AG/g RS and 388.30 ± 6.52 mg Eq AG/g RS for horizon 3 which presents the highest content. Statistical analysis revealed a very highly significant difference in TPP content between horizons. Contrary to (TPP), the determination of (FT) revealed their presence but not in significant quantities which are respectively 2.50 ± 0.85 mg Q Eq/g SR, 4.88 ± 0.64 mg Q Eq/g SR and 2.07 ± 0.26 mg Q Eq/g SR for horizon 3 which presents the lowest content. Statistical analysis revealed a very highly significant difference in flavonoid content between horizons. These results explain that there is a quantitative variation between (PPT) and flavonoid contents confirmed by statistical analysis which revealed a significant difference between (PPT) and (FT) contents so we recorded a negative correlation which is perhaps due to the use of the Folin-Ciocalteu reagent which can react with several other compounds as well as the exposure of the roots to different stresses. As we synthesized a difference in comparison to other organs of oleaster and other plant roots that attributed to several edaphic, climatic and environmental factors.

Key words : Oleaster (*Olea europaea* subsp *sylvestris*), total polyphenol contents, flavonoid contents, environmental stresses, secondary metabolites.